



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
COLEGIO DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS



Elaboración a pequeña escala de una bebida carbonatada de Ginger Beer Plant

Tesis que para obtener el grado de
Licenciatura en Ingeniería en Alimentos

PRESENTA:

Rodrigo Tellezroa Ruiz

ASESOR DE TESIS:

Dr. Héctor Ruiz Espinosa

CO-ASESOR DE TESIS:

Dra. Sara Abigail Vargas Castro

H. Puebla de Z. Septiembre 2025

AGRADECIMIENTOS

Con reconocimiento extendiendo mi gratitud a mis asesores de tesis, el Dr. Héctor Ruiz Espinosa y la Dra. Sara Abigail Vargas Castro. Su dedicación como docentes y valiosa orientación han sido soportes primordiales en la dirección y consolidación de la investigación presente.

De la misma manera, expreso mi gratitud a las lectoras, M.E.S. Madai Gizeh Sánchez Arzubide y M.I.Q. Montserrat González Limón, por sus observaciones que ayudaron al crecimiento de este documento.

Agradezco a mis amigos, quienes siempre me han apoyado, y sobre todo a mi familia, quienes con su esfuerzo, cariño y aliento me han formado y educado, además de convertirme en una persona de provecho, y a quienes nunca podré pagar todos sus desvelos. Por esto y mucho más, gracias.

ABREVIATURAS

Bx Grados Brix

°C Grados Celsius

ΔE Diferencia de color

μt Velocidad específica de crecimiento

ρ Densidad

\bar{x} Media aritmética o promedio

atm Unidades atmosféricas

ANOVA Análisis de varianza

BHA Ácido beta hidroxicarboxílico

BHT Butilhidroxitolueno

CO₂ Dióxido de carbono

g Gramos

GBP Ginger Beer Plant

h Horas

H₀ Hipótesis nula

H₂O Agua

H₂CO₃ Ácido carbónico

LAB Sistema de evaluación de color

L* Luminosidad de negro a blanco

a* Luminosidad de rojo a verde

b* Luminosidad de azul a amarillo

m, m̄ Masa

ml Mililitros

N Normalidad

NaOH Hidróxido de sodio

pH Potencial de hidrógeno

qs Consumo específico

S_0 Concentración inicial de azúcares totales

S Concentración final de azúcares totales

SO_2 Dióxido de azufre

P Valor de probabilidad analítica

T Temperatura

t Tiempo

td Tiempo de duplicación

\tan^{-1} Función tangente inversa

v volumen

X Concentración inicial de biomasa

X_0 Concentración final de biomasa

x_s Fracción de contenido de sólidos

x_H Fracción de contenido húmedo

X_t Producción total de biomasa

YX/S Rendimiento de sustrato

ÍNDICE

Contenido

AGRADECIMIENTOS	ii
ABREVIATURAS	iii
ÍNDICE	v
LISTA DE TABLAS	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE ANEXOS.....	x
RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	3
OBJETIVOS	6
General.....	6
Específicos	6
HIPÓTESIS	7
1. MARCO TEÓRICO	8
1.1 Bebidas refrescantes.....	8
1.1.1 Definición, clasificación y características relevantes.....	8
1.1.2 Ingredientes típicos	8
1.1.2.1 Agua.....	9
1.1.2.2 Azúcares y endulzantes	10
1.1.2.3 Jugos de fruta natural.....	11
1.1.2.4 Dióxido de carbono (CO ₂) y acidulantes	12
1.1.2.5 Colorantes y saborizantes	13
1.1.2.6 Antimicrobianos sintéticos.....	14
1.1.2.7 Otros ingredientes de bebidas refrescantes.....	16
1.2 Alternativas a bebidas refrescantes azucaradas.....	18
1.2.1 Ingesta excesiva de bebidas azucaradas y salud pública	18
1.2.2 Bebidas dietéticas	19
1.2.3 Posibles problemas asociados al consumo de bebidas dietéticas.....	19
1.2.4 Formulación de bebidas <i>saludables</i> y otras tendencias de mercado	23
1.2.5 Desarrollo de bebidas probióticas.....	24
1.3 Bebidas de jengibre	25
1.3.1 Jengibre.....	25

1.3.1.1	Clasificación botánica y origen	25
1.3.1.2	Características composicionales, nutraceuticas y sensoriales del jengibre	26
1.3.2	Bebidas elaboradas y saborizadas con jengibre	27
1.3.2.1	Ginger Ale	27
1.3.2.2	Cerveza de jengibre.....	27
1.3.3	Ginger Beer Plant (GBP).....	28
1.3.4	Características de productos elaborados con GBP	28
1.4	Microbiología de bebidas fermentadas.....	29
1.4.1	Cinéticas microbianas y fabricación de bebidas fermentadas	29
1.4.2	Contaminación microbiana y deterioro en bebidas fermentadas	30
2.	METODOLOGÍA	35
2.1	Diseño experimental.....	35
2.2	Materiales y métodos	36
2.2.1	Preparación de los sistemas de fermentación	36
2.2.2	Cinéticas de fermentación	38
2.2.2.1	Determinación de acidez titulable.....	38
2.2.2.2	Determinación de sólidos solubles	39
2.2.2.3	Medición de pH.....	39
2.2.2.4	Determinación de cinéticas de fermentación	39
2.2.2.5	Balance de masa	40
2.2.2.6	Parámetros cinéticos	41
2.2.2.7	Análisis colorimétrico	41
2.2.2.8	Análisis sensorial	42
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	44
3.1	Elaboración de los sistemas de fermentación.....	44
3.2	Cinéticas de fermentación	45
3.3	Rendimiento biomasa/sustrato en los sistemas de fermentación y parámetros cinéticos	48
3.4	Análisis colorimétrico	51
3.5	Caracterización de jugo natural de zarzaparrilla	52
3.5.1	Sólidos solubles totales y pH.....	52
3.5.2	Análisis colorimétrico	53
3.6	Caracterización de las bebidas pretotipo	54

3.6.1	Sólidos solubles totales y pH.....	54
3.6.2	Análisis colorimétrico	55
3.6.3	Evaluación Sensorial.....	57
3.7.1	Cinéticas de fermentación	59
3.7.2	Rendimiento biomasa/sustrato.....	60
3.7.3	Sólidos solubles totales, pH y acidez titulable	60
	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	64
	REFERENCIAS	66
	ANEXOS	85

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Composición de los Sistemas de fermentación.....	35
Tabla 2. Rendimiento biomasa/sustrato de los sistemas de fermentación.....	49
Tabla 3. Peso seco final de biomasa de los sistemas de fermentación.....	50
Tabla 4. Parámetros cinéticos de biomasa de GBP.....	50
Tabla 5. Espectros colorimétricos de producto fermentado de GBP.....	52
Tabla 6. °Bx de bebidas pretotipo previo a su envasado y tras almacenamiento en refrigeración.	55
Tabla 7. Análisis colorimétrico de las bebidas carbonatadas pretotipo a base de GBP y saborizadas con jugo de zarzaparrilla.....	56
Tabla 8. Rendimiento biomasa/sustrato.....	60
Tabla 9. Análisis colorimétrico de insumo (jugo natural de zarzaparrilla), producto fermentado de GBP y prototipo final de bebida carbonatada.....	62

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama general de elaboración de bebida carbonatada pretotipo a base de GBP.....	37
Figura 2. Diagrama general de elaboración de bebida carbonatada prototipo a base de GBP.....	38
Figura 3. Balance de masa por componentes.....	40
Figura 4. Espacio de color CIElab.....	42
Figura 5. Círculo de color cromático.....	42
Figura 6. Sistemas de fermentación.....	44
Figura 7. Cinéticas de reacción ($^{\circ}$ Bx y pH) de los sistemas de fermentación	45
Figura 8. Gráficas de crecimiento de biomasa, consumo de sustrato y cambio de pH, simulación a 10 h.....	48
Figura 9. Gráficas de crecimiento de biomasa, consumo de sustrato y cambio de pH, simulación a 72 h.....	48
Figura 10. Representación ángulo-circular de valores de Hue para los sistemas de fermentación.....	53
Figura 11. Representación ángulo-circular de valores de Hue para insumo de jugo natural de zarzaparrilla	54
Figura 12. Representación ángulo-circular de valores de Hue para las bebidas pretotipo.....	56
Figura 13. Evaluación sensorial de las bebidas pretotipo.....	58
Figura 14. Diagrama de araña para análisis sensorial de muestras pretotipo.....	59
Figura 15. Cinética de fermentación $^{\circ}$ Bx y pH, Sistema 3.....	59
Figura 16. Prototipo estándar de bebida carbonatada a base de GBP y saborizada con jugo natural de zarzaparrilla.....	61
Figura 17. Representación ángulo-circular de valores de Hue para prototipo estándar de bebida carbonatada de zarzaparrilla a base de GBP.....	61
Figura 18. Evaluación sensorial de la bebida prototipo.....	63

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Crecimiento de biomasa, consumo de sustrato y cambio de pH.....	85
Anexo 2. ANOVA Unidireccional: °Bx en muestras con sus respectivos tiempos óptimos de consumo de azúcares en relación a pH.....	89
Anexo 3. ANOVA Unidireccional: °Bx previo vs almacenamiento en refrigeración.....	91
Anexo 4. ANOVA Unidireccional: Análisis colorimétrico de las bebidas carbonatadas pretotipo a base de GBP y saborizadas con jugo de zarzaparrilla.....	95

RESUMEN

El Ginger Beer Plant (GBP) es una colonia simbiótica conformada de manera esencial por los microorganismos *Saccharomyces florentinus* y *Lactobacillus hilgardii*, la cual es activada mediante la adición de agua apta para consumo humano y azúcares ricos en minerales. Dicho inóculo puede ser empleado para la elaboración y producción de bebidas fermentadas carbonatadas, saludables y reducidas en sacarosa. En este trabajo se utilizaron dos fuentes de carbono en diferentes concentraciones para determinar la afinidad del consorcio microbiano por un sustrato en particular, la velocidad de crecimiento microbiano, los cambios en los valores de potencial de hidrógeno (pH), y los cambios en la concentración de azúcares (°Bx) a lo largo del proceso fermentativo. Para alcanzar cierto grado de aceptabilidad sensorial por parte de los consumidores finales, el producto carbonatado fue mezclado con jugo natural de zarzaparrilla.

Para el diseño experimental, en una primera etapa se determinó un diseño factorial unidireccional, considerando un 50% y 75% del nivel de uso recomendado en tasas de adición de azúcares y concentración de sólidos solubles como variables independientes, y cambios en el contenido de azúcar y en el nivel de pH, como variables dependientes. Durante el desarrollo experimental, se elaboraron cuatro bebidas pretotipo, considerando cuatro sistemas de fermentación que variaban en la cantidad de inóculo (1.71 y 2.5 g de GBP), azúcar y agua empleados. El sustrato de los sistemas 1 y 2 estaba compuesto de 50% de azúcar refinada y 50% de azúcar mascabado, mientras que el de los sistemas 3 y 4 de 75% de azúcar refinada y 25% de azúcar mascabado. En todos los sistemas de fermentación, el sistema acuoso estaba compuesto de agua natural y mineral en una relación 1:2. El proceso fermentativo se detuvo cuando los sistemas alcanzaron un nivel de pH de ~4. Enseguida el inóculo de cada sistema de fermentación fue retirado, y 65 ml del fermentado se mezclaron con 195 ml de jugo de zarzaparrilla para la preparación de las bebidas. Se verificó que las bebidas tuvieran un contenido de sólidos de 42g y un nivel de pH de ~3.5. Los pretotipos se mantuvieron en refrigeración a 4°C durante 32 días para verificar su estabilidad durante el almacenamiento.

Las bebidas pretotipo fueron caracterizadas fisicoquímicamente evaluando el nivel de pH, la cantidad de sólidos solubles, el nivel de acidez, color (CIELab) y sabor. La

evaluación sensorial de los prototipos se realizó utilizando una escala hedónica. De acuerdo con el análisis de resultados la muestra con mayor aceptabilidad fue elegida para elaborar el prototipo y tenía la siguiente composición: 2.4 g de inóculo GBP, 50% de azúcar refinada y 50% de azúcar refinada.

Para la elaboración de la bebida prototipo, el proceso fermentativo se detuvo cuando se alcanzó un contenido de azúcares de 7.9 °Bx, y un nivel de pH de 4. Se respetaron las condiciones de manufactura utilizadas en los prototipos. Finalmente, el prototipo fue caracterizado fisicoquímicamente y se volvió a realizar la evaluación sensorial para la verificación del prototipo.

INTRODUCCIÓN

En México, el consumo de bebidas carbonatadas azucaradas es uno de los temas más controversiales en materia de salud pública. El consumo per cápita de éstas en el país asciende a 163 L/año, lo cual ubica a México como el primer lugar a nivel mundial (Delgado, 2019). Esta cifra podría incrementarse, considerando que se ha reportado un aumento anual del 3% en la tasa de consumo desde 2014, a pesar de las medidas gubernamentales que se han tomado para disminuir su consumo, como el aumento en los impuestos, lo que ha traído como consecuencia un aumento en los precios (Rodríguez, 2019; 2021), así como también las limitantes de etiquetado y de marketing establecidas por la modificación de la Norma NOM-051 vigente desde enero del 2020 (Hernández, 2020). Debido a su bajo costo, a la garantía de inocuidad microbiológica y a su alta disponibilidad, derivada de los amplios canales de distribución, los refrescos forman parte de la dieta diaria de un amplio sector de consumidores (Cabrera, 2019), esto, aunado a otros factores como el sedentarismo, el nivel de estrés, y la ingesta excesiva podría aumentar el riesgo de padecer enfermedades crónico-degenerativas como diabetes, sobrepeso y obesidad.

El gasto médico gubernamental en pacientes con obesidad, diabetes y otras enfermedades relacionadas con una alimentación desbalanceada, tiene un impacto significativo en las finanzas públicas. En este sentido, se estima que, durante la década 2000-2010, el costo asociado a condiciones asociadas con la obesidad fue de aproximadamente, 26 mil millones de dólares, lo que representó alrededor del 2.1% del producto interno bruto (PIB); si se mantiene esta tendencia, este gasto se elevaría hasta 159 mil millones de dólares para el año 2060 (Ramírez, 2021). Por otra parte, de acuerdo con cifras del 2020, los costos promedio de medicamentos requeridos para la atención de un paciente diabético durante diez años ascendía a aproximadamente 50,000 pesos (Pérez-Lozano et al., 2023), y dado que esta enfermedad puede conllevar complicaciones a corto y largo plazo, los costos de atención pueden aumentar dramáticamente; se estima que para 2025 los gastos médicos totales requeridos para la atención de esta enfermedad excedan los 6 mil millones de dólares (Pico-Guzmán et al., 2022).

Tomando en cuenta el impacto de estas bebidas sobre la salud pública, diversos grupos de consumidores conscientes de esta problemática han buscado alternativas de bebidas que sean percibidas como más saludables, incluyendo bebidas bajas en calorías y

azúcares, provocando un aumento importante en la demanda de productos de este tipo. En consecuencia, se estima que, en la última década, el consumo de bebidas reducidas o bajas en azúcar ha aumentado en 60% (Market Data México, 2022). Por otra parte, otra categoría similar con crecimiento significativo es la de bebidas funcionales, por considerarse que éstas pueden ayudar a prevenir enfermedades crónico-degenerativas selectas. Dentro de este rubro, se ubican bebidas lácticas a base de lactosuero, probióticas, energizantes, isotónicas, de sustituto alimenticio, bebidas con cafeína o frutales y varios tipos de bebidas fermentadas. Aunque muchas de estas últimas se encuentran en versiones industrializadas, otras como kombucha, kéfir, té de burbujas, tepache y bebidas carbonatadas no alcohólicas como aquellas basadas en jengibre y elaboradas con cultivos como el denominado como *ginger beer plant*, se elaboran artesanalmente e incluso de forma casera; por su naturaleza, la mayoría de estas bebidas son bajas en calorías y pueden proporcionar múltiples beneficios a la salud, tales como la estimulación del sistema inmune y una buena digestión gracias a su microbiota diversa y compleja, con presencia importante de microorganismos probióticos (Gaonkar, 2024). Sin embargo, para aumentar la tasa de consumo de estas bebidas y permitir que puedan representar una opción más saludable de consumo, se requieren plantear estudios que aborden el diseño de formulaciones y procedimientos estandarizados de elaboración, que garanticen su inocuidad y consistencia sensorial y fisicoquímica lote a lote y coadyuven a su inserción en el mercado.

De acuerdo con datos reportados por el INEGI el gasto para la producción de refrescos en territorio nacional en el periodo 2016-2020 aumentó hasta un 14% en términos de volumen, mientras que la demanda de dichos productos tuvo un repunte del 9%. Si bien gran parte del consumo estuvo enfocado hacia las típicas bebidas gaseosas, se observó un crecimiento de la industria de bebidas procesadas no alcohólicas en el país debido principalmente a una mayor expansión de otras categorías, además del agua embotellada, jugos y refrescos con bajo o nulo contenido calórico, se notó la aparición de nuevas variedades de bebidas isotónicas, energizantes, tés y bebidas basadas en productos percibidos como nutritivos como el jengibre (García, 2023).

Diversas bebidas, tanto alcohólicas como no alcohólicas pueden elaborarse a partir del jengibre y existe un mercado moderado para éstas; las bebidas basadas en o saborizadas con jengibre son valoradas por su característico sabor especiado, con notas dulces, a pimienta

y levemente pungentes. Probablemente las más conocidas sean los refrescos carbonatados con sabor a jengibre (conocidos como *ginger ale*), y la cerveza de jengibre (*ginger beer*), una bebida fermentada que hoy en día generalmente se comercializa en su variedad no alcohólica. El proceso de fermentación se puede realizar de manera artesanal o industrial. Aquellas realizadas de manera casera usualmente emplean un cultivo complejo denominado *ginger bug*; por otra parte, la mayoría de las bebidas fabricadas industrialmente hacen uso de un cultivo estandarizado conocido como *ginger beer plant* (GBP); el término hace referencia a una colonia simbiótica de consistencia grumosa y gelatinosa conformada por *Lactobacillus hilgardii* y *Saccharomyces florentinus*, cuyo crecimiento en conjunto genera ácido láctico mediante un proceso fermentativo anaerobio (Tonsmeire, 2008). El GBP se ha empleado para elaborar bebidas fermentadas emergentes introducidas en mercados selectos alrededor del mundo y comienza a valorarse en México como una alternativa de uso para el desarrollo de nuevos productos. Existen diferencias notables entre los productos hechos a partir de ambos inóculos, incluyendo un perfil de sabor ácido característico otorgado por el GBP, además de que, si se desea, permite obtener contenidos superiores de etanol (2 a 5%), y un burbujeo proveniente del dióxido de carbono (CO₂) generado en el proceso fermentativo (Yemoos Nourishing Cultures, 2019).

Si bien el GBP es utilizado principalmente para la elaboración industrial de cervezas de jengibre, también puede utilizarse para bebidas probióticas fermentadas no alcohólicas. Recientemente, se ha propuesto su uso para fabricar bebidas carbonatadas funcionales, dirigidas a un mercado similar al que actualmente consume productos como kombucha, reportándose que poseen efectos benéficos sobre la salud, en particular en el sistema digestivo, fortaleciendo el microbiota intestinal y previniendo algunas enfermedades (Accetta-Scott, 2019). Por otra parte, y adicionalmente a su rol como especia o ingrediente alimentario, al jengibre se le han atribuido diversas funciones biológicas, incluyendo propiedades antimicrobianas, antiparasitarias, antiinflamatorias, antioxidantes y de estimulación del sistema inmune, entre otras; éstas se han relacionado con su alta concentración de compuestos bioactivos, fundamentalmente fenólicos, como gingeroles, shogaoles, paradoles y zingeronas, entre otros (Nutakor et al., 2020). Entonces, el empleo del jengibre en el desarrollo de esta bebida permite la incorporación de nutrientes deseables y compuestos bioactivos, así como fibras alimentarias, prebióticos, proteínas, péptidos, ácidos

grasos insaturados, vitaminas y minerales que enriquecen su potencial funcional; nuevamente, de manera similar a como ocurre con la kombucha, las bebidas fermentadas con GBP se pueden adicionar con jugos frutales e infusiones herbales de origen natural (Chaudhary, 2019) por lo que se considera pueden resultar productos de interés en mercados selectos como una alternativa saludable a refrescos altos en azúcar y con propiedades que, en el contexto de un dieta saludable, pueden ayudar a prevenir enfermedades crónico-degenerativas como la diabetes. Sin embargo, la información disponible para la elaboración de estas bebidas es escasa, dada su naturaleza artesanal, por lo cual resulta imperativo definir condiciones de proceso adecuadas para la obtención de un producto fermentado con GBP con características fisicoquímicas consistentes que sirva como base para formulaciones de bebidas saborizadas orientadas al mercado de productos *saludables*. Por ello, es necesario explorar las variables que pueden afectar a un proceso fermentativo a pequeña escala con GBP, incluyendo la tasa de adición de cultivo y la concentración de sólidos solubles, así como definir una formulación mixta de jugo natural de zarzaparrilla (*Smilax aristolochiifolia*) selecta con la bebida fermentada elaborada que sea estable durante el almacenamiento refrigerado, así como sensorialmente aceptable. Adicionalmente, el jugo natural de zarzaparrilla es una matriz saborizante con propiedades benéficas para la salud, tal como el tratamiento de enfermedades cutáneas y el control de glucosa en el sistema circulatorio (Romo-Pérez, 2019).

OBJETIVOS

General

Definir un proceso estandarizado a pequeña escala para la elaboración de una base fermentada con GBP y evaluar su uso como ingrediente en la formulación de una bebida refrescante.

Específicos

- Establecer las condiciones de fermentación adecuadas para la elaboración de una bebida baja en azúcar y fermentada con GBP, variando la proporción de inóculo utilizado y la concentración de sólidos solubles.

- Seleccionar la formulación adecuada de fermentación a partir de los resultados de caracterización fisicoquímica, evaluación sensorial, y estabilidad durante el almacenamiento, para delimitar porcentajes del sistema acuoso de fermentación.
- Elaborar y caracterizar el prototipo final de la bebida con GBP.

HIPÓTESIS

El GBP puede utilizarse como inóculo para preparar una base fermentada mediante un proceso estandarizado, la cual se puede utilizar para formular una bebida refrescante con jugo de frutas que resulte sensorialmente aceptable y estable durante su almacenamiento refrigerado.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Bebidas refrescantes

1.1.1 Definición, clasificación y características relevantes

Los refrescos son bebidas dulces y ácidas de alto consumo preparadas con agua carbonatada o no carbonatada con agentes edulcorantes y algunos tipos de saborizantes, tanto naturales como sintéticos. Si bien, existen desde la antigua Roma, donde se combinaba agua natural y frutos, o jugos azucarados y miel como edulcorante, a partir del siglo XVIII algunos de ellos empezaron a comercializarse como productos para mejorar procesos digestivos (Mavrogiannidou et al., 2023). Estos incluían a los refrescos denominados *sodas* (elaborados con agua, bicarbonato sódico y anhídrido carbónico), las *Seltz* (con agua y anhídrido carbónico) y poco después, el *agua tónica* (mezcla con saborizantes y quinina). Mientras tanto, a mediados del siglo XIX, surgieron las bebidas refrescantes *carbonatadas*, elaboradas con jarabe, agua carbonatada, azúcar, vainilla y nueces de cola (Vinci et al, 2019). Debido a su sabor agradable, esta nueva gama de bebidas pronto sobrepasó el ámbito médico y empezaron a popularizarse como alternativas refrescantes de uso no terapéutico. Sin embargo, la cantidad de azúcar incorporada a estos productos empezó a causar alerta entre la comunidad médica, al considerar que su consumo excesivo implicaba un riesgo importante para la salud de los consumidores (Muhammad y Dickinson, 2019). Por ello, a partir de los 1960's se empezó a trabajar en la reformulación de refrescos para reducir su aporte calórico; así surgieron los refrescos *reducidos en azúcar* que, con el tiempo, se incorporaron a la oferta mercantil. Una mayor conciencia de la relación entre la alimentación y la salud influyó en la creación de nuevas variantes de refrescos, que incluían a aquellos orientados a mejorar el desempeño de los consumidores (como las bebidas energéticas para deportistas) o a incrementar la ingesta de productos con propiedades funcionales (bebidas a bases de té, con vitaminas, con antioxidantes, etc.) (BaniHani y Tahmassebi, 2019).

1.1.2 Ingredientes típicos

De acuerdo con Alcaroz (2019) los principales ingredientes de una bebida refrescante son agua natural o agua mineral como principal componente (85 al 95% del producto) para actuar como portador de los demás ingredientes. Debe ajustarse a los requerimientos de calidad, pues no debe interferir con el sabor, apariencia, carbonización y otras características

de la bebida. El perfil de dulzor deseable en la bebida puede lograrse mediante una combinación de distintos tipos de edulcorantes, siendo sacarosa y jarabe de maíz de alta fructosa los más empleados. El dióxido de carbono (CO₂) es un gas incoloro que no es considerado un acidulante normativamente; su adición otorga burbujeo, sensación bucal, sabor y nitidez a la bebida. Los acidulantes permiten obtener productos con pH 2.5 - 4.0. La acidez coadyuva a saciar la sed, estimula el flujo salival y puede potenciar el sabor, dependiendo de los componentes presentes. Pueden exhibir acción antimicrobiana moderada y ayudar a prevenir rancidez y decoloración del producto, actuando de forma sinérgica con antioxidantes (BHA, BHT y ácido ascórbico). Los aromatizantes: consisten en una mezcla de sustancias aromáticas balanceadas con el fin de transmitir sensaciones agradables al consumidor, dependiendo del perfil deseado. Los colorantes pueden ser naturales o sintéticos; estandarizan el color de las bebidas refrescantes, y pueden ayudar a identificar cambios no deseados durante almacenamiento, debido a fluctuaciones de temperatura o efectos microbianos nocivos; entre éstos se encuentran antocianinas, carotenoides, clorofila, aceites solubles, tartrazina, carmoisina, rojo Allura, entre otros, los cuales se agregan de acuerdo con una normativa estricta específica para cada país.

1.1.2.1 Agua

Las bebidas azucaradas usualmente contienen un porcentaje aproximado de agua de 90, y para la elaboración de variantes dietéticas se emplea hasta un porcentaje de 99 en contenido (Azeredo, 2022). Como se es establecido químicamente, el agua apta para el consumo humano contiene una gran cantidad de iones que pueden modificar el sabor del producto, por lo que en la elaboración industrial de refrescos suele emplearse agua descalcificada a través de técnicas como ósmosis inversa o polímeros de intercambio iónico para evitar sabores no deseados generados por los residuos de cloro (Wang, 2024). El agua destinada a la elaboración de bebidas azucaradas debe cumplir con diversos criterios establecidos por legislaciones y normativas de distintos organismos internacionales, los cuales especifican características físicoquímicas y microbiológicas óptimas (Abdulmalik Ali, 2019). Entre las primeras se incluyen parámetros como el pH, la turbidez, el contenido de sólidos solubles totales, y la ausencia de compuestos tóxicos como metales pesados o residuos de pesticidas. Desde el punto de vista microbiológico, el agua debe estar libre de

patógenos y coliformes fecales, cuya presencia indicaría contaminación y representaría un riesgo sanitario. Estas condiciones no solo garantizan la inocuidad del producto final, sino que también son fundamentales para preservar sus propiedades sensoriales y mantener una adecuada estabilidad durante su almacenamiento.

1.1.2.2 Azúcares y endulzantes

Exceptuando nuevamente a los productos dietéticos, las bebidas azucaradas contienen entre porcentajes de 1 y 12 en contenido de azúcar (w/w). El uso de distintas formas de sacarosa, glucosa y fructosa es considerado como edulcorante natural, con el más común siendo la glucosa, el carbohidrato principal como fuente de energía (Villacis, 2023). La sacarosa es un disacárido compuesto de moléculas de glucosa y fructosa unidos por un enlace α -1,2, y puede preservar e incluso intensificar el sabor placentero de una bebida. Otros edulcorantes naturales que suelen ser utilizados en la producción industrial de refresco son la trehalosa, isomaltosa, y D-tagatosa (Silvia, Cruz y Casal, 2021). La trehalosa es un disacárido formado por dos moléculas de glucosa unidos por un enlace α -1,1, y se caracteriza por su alta estabilidad térmica y de pH. Su metabolismo es muy parecido al de otros disacáridos, ya que puede ser absorbida en el intestino delgado tras hidrolizarse como glucosa; y adicionalmente, su nivel de dulzor es muy equiparable con respecto a la sacarosa (Kageyama y Waditee-Sirisattha, 2023). La isomaltosa es un disacárido formado a partir de glucosa y fructosa mediante un enlace glucosídico α -1,6, tiene bajos niveles glicémicos y un dulzor leve (Singh, 2023). La tagatosa es un monosacárido con una estructura química muy parecida a la fructosa, y tras su ingesta es fermentada por la microbiota intestinal, produciendo ácidos grasos de cadena corta que son metabolizados. En cuanto a su sabor, tiene propiedades potenciadoras del mismo (Liu, 2023).

Las inquietudes de este tipo de productos con respecto a la salud cardiovascular y bucal han llevado que edulcorantes artificiales y sustitutos de azúcar sean añadidos a refrescos que usualmente son etiquetados como libres de azúcar (Vahid, 2022). La mayoría de las bebidas en bajas calorías contienen este tipo de edulcorantes, los cuales deben ser aprobados y estar al margen de las distintas regulaciones alimentarias. Los edulcorantes artificiales más utilizados son el acesulfamo de potasio (E 950), aspartamo (E 951), sacarina

(E 954) y sucralosa (E 955), los cuales tienen un límite de uso y contenido máximo en diversos países (Chakraborty y Das, 2019).

Las características del acesulfamo-K (E 950) son una estabilidad térmica y de pH estable, soluble en agua y propiedades de sabor mucho más dulces que la sacarosa, y al no ser metabolizado o almacenado en el cuerpo, diversos comités y organizaciones científicas lo han catalogado como un edulcorante artificial sin riesgos sanitarios en la elaboración de alimentos y bebidas (Battacharya, 2023).

El aspartamo (E 951) se compone de los aminoácidos L-fenilalanina y ácido L-aspartico, tiene un sabor placentero y es doscientas veces más dulce que la sucralosa. A pesar de esto, no mantiene una estabilidad al ser sometido a altas temperaturas, por lo que su uso en bebidas pasteurizadas no es conveniente. De la misma manera, es inestable en soluciones acuosas debido a que gradualmente se torna en una amida dicetopiperazina (Suckling, 2023). En cuanto a legislaciones alimentarias, el aspartamo está permitido en más de cien países, aunque las bebidas azucaradas con aspartamo deben indicar que el producto contiene fenilalanina, el cual puede resultar dañino para pacientes fenilcetonuricos que deben evitar el consumo de dicho aminoácido, ya que es dividido en fenilalanina, ácido aspártico y metanol tras su ingesta (Maler, 2023).

Con respecto a la sacarina (E 954), su empleo en alimentos data de inicios del siglo XX en más de cien países debido a ser más dulce que la sacarosa, aunque otorga un sabor amargo inmediato tras su degustación (Abdulah, 2020). La sucralosa (E 955) se deriva de sacarosa a través de un reemplazo selectivo de átomos de cloro de tres grupos hidroxilo. Es soluble en agua y soluciones ácidas, y se hidroliza lentamente para formarse en monosacáridos, además de no tener calorías y ser mucho más dulce que la propia sacarosa (BeMiller, 2019).

1.1.2.3 Jugos de fruta natural

Los jugos de fruta naturales son una fuente primordial de diversos nutrientes y compuestos bioactivos, tales como fibra, azúcares, ácidos orgánicos, vitaminas y minerales, así también como de antioxidantes (Castro Muñoz, 2022). El contenido de azúcar en los jugos de fruta naturales depende del tipo de fruta de la cual provienen, ya que a pesar de contener

fructosa se puede encontrar una diferencia en las cantidades presentes de sacarosa, glucosa y sorbitol. Por ejemplo, cítricos como el limón y la lima, y bayas como frambuesas, zarzamora, arándanos y zarzaparrilla contienen niveles relativamente bajos de azúcares, mientras que frutas con altos niveles de sacáridos incluyen a la uva, las mandarinas, las cerezas, el mango, los higos y los plátanos (Sun, 2023).

Además de azúcares, vitaminas y minerales, las frutas y los jugos obtenidos a partir de ellas contienen mucha fibra, la cual es definida como un carbohidrato no digerible y una lignina, incluyendo almidón o polisacáridos no amiláceos, hemicelulosas, pectinas, hidrocoloides y oligosacáridos (Dicklin, 2022). Las dietas con alto contenido de fibra mejoran la digestión y ayudan a prevenir enfermedades cardiovasculares, diabetes, aumento de peso e incluso algunos tipos de cáncer. Las frutas ricas en fibra incluyen la manzana, la pera y las bayas, y una ingesta de por lo menos 14 gramos por cada 1000 calorías es recomendada sin importar el peso, sexo o edad del consumidor (Hu, 2023).

1.1.2.4 Dióxido de carbono (CO₂) y acidulantes

El dióxido de carbono (CO₂) es suministrado ya sea de manera sólida como hielo seco o en forma líquida mantenida bajo alta presión. Dicho proceso otorga burbujeo, sensación bucal, sabor y nitidez a la bebida, con la carbonatación de refrescos variando de 3 a 7 g/L (Kuntzleman y Stugirs, 2020). Los acidulantes hacen que la bebida se acidifique, coadyuvando a saciar la sed, estimulan el flujo salival y potencian el sabor, dependiendo de los componentes presentes (Shi, 2022). La saliva del ser humano es casi de un pH neutral, con valor de 6.5 a 7.5 dentro de la escala, y al momento de interactuar con los ácidos presentes en los alimentos y bebidas, percibe una sensación denominada como acidez (Pérez, 2017). Los acidulantes pueden también exhibir acción antimicrobiana moderada y ayudar a prevenir rancidez y decoloración del producto, actuando de forma sinérgica con antioxidantes como BHA, BHT y ácido ascórbico (Shi, 2022).

El ácido cítrico (E 330) es empleado en múltiples bebidas del mercado como el principal acidulante debido a sus beneficios adicionales, tal como potencializar la actividad de antioxidantes beneficiosos y otorgar aroma al producto (Kirimura y Yoshioka, 2019). El ácido málico (E 296) es utilizado cuando se requiere mejorar sabores prominentes y es usualmente mezclado con ácido cítrico. Otro acidulante, el ácido succínico (E 336), tiene

múltiples ocasiones en productos lácteos y panadería, pero su uso en bebidas azucaradas es delimitado a preparaciones caseras de manera instantánea por regulaciones sanitarias oficiales. El ácido fosfórico (E 338) tiene un efecto potente sobre el pH y es comúnmente empleado para otorgar un perfil específico de sabor a los refrescos de cola (Gün y Dursun, 2023).

1.1.2.5 Colorantes y saborizantes

El uso de colorantes en refrescos tiene importantes funciones puntuales, como lograr que el producto sea estéticamente llamativo, corregir variaciones naturales del color durante su elaboración y en almacenamiento, o ayudar en mantener las cualidades por las que una bebida sea conocida. Las tres categorías en las que se catalogan los colorantes son por origen natural, por colores artificiales y Caramelo (Kizil y Soylak, 2024). Los colorantes de origen natural pueden ser obtenidos a partir de plantas, frutas o vegetales, y pueden clasificarse como carotenoides si son de colores amarillo-naranja, y como antocianinas si tienen una coloración roja- púrpura. Los colorantes naturales son añadidos a las bebidas azucaradas principalmente por sus propiedades antioxidantes, y debido al incremento en la preferencia de los consumidores por productos en el mercado elaborados con colorantes naturales en los últimos años, se ha implementado la reducción en el uso de colorantes artificiales por parte de manufactureros y comerciantes (Singh, 2023).

El empleo de colorantes artificiales está regido por diversas regulaciones de distintos países y se encuentra disponible en sus respectivos anexos, tal como el Diario Oficial de la Federación en México. Todos los colorantes están listados con sus respectivas limitaciones específicas en su uso. Por ejemplo, amarillo ocaso (E 110) para bebidas saborizadas no alcohólicas tiene un límite máximo de 100 mg/L, al igual que otros como azul brillante FCF (E 133) y azorrubina (E 122) (Procuraduría General del Consumidor, 2020). El Panel Científico de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), el cual trata con aditivos alimentarios indicó de una posible genotoxicidad de rojo allura AC (E 129) y otros “colorantes azoicos” como amaranto (E 123), ponceau 4R (E 124), amarillo ocasio (E 110), tartracina (E 102) y azorrubina (E 122) (Amchova, Siska y Ruda-Kucerova, 2024). De manera específica, Ponceau 4R es un alérgeno que puede provocar intolerancia en personas sensibles a salicilatos, además de ser un liberador de histamina, la cual puede intensificar

síntomas asmáticos. En países como EE.UU., Canadá, Noruega y Finlandia es incluso considerado como una sustancia carcinógena (Hafaiedh y Bellakhal, 2016).

En contraste con los colorantes, los saborizantes son utilizados en pequeñas cantidades, por lo que su riesgo al consumidor es considerado como mínimo. La legislación de la Unión Europea clasifica a los diferentes tipos de saborizantes como naturales, idénticos al natural y artificiales (Dwivedi, 2022). Los saborizantes naturales se refieren a jugos extraídos de frutas o verduras, especias, hierbas y plantas comestibles, productos lácteos fermentados y huevo. La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) define a los saborizantes idénticos al natural como sustancias químicamente aisladas de materias primas aromáticas u obtenidas sintéticamente, y son llamados de esta forma debido a que son idénticas de manera química a sustancias presentes en productos naturales destinados para el consumo humano, sean o no procesadas (Siegener, 2018). Por último, los artificiales son simplemente aditivos diseñados para imitar el sabor de los saborizantes naturales (Chen, 2023).

1.1.2.6 Antimicrobianos sintéticos

La función principal de los conservadores químicos en las bebidas azucaradas carbonatadas es mantener su estabilidad microbiológica. La elección del tipo de conservador depende de factores como el pH de la bebida, la presencia de vitaminas, el tipo de empaque y las condiciones de almacenamiento. Entre los conservadores más comunes se encuentran los sorbatos, benzoatos y el dicarbonato de dimetilo (E 242), cada uno con propiedades específicas y modos de acción que se ajustan según las características fisicoquímicas del producto (Bruhn y Feng, 2021; Kalpana y Rajeswari, 2019).

Los sorbatos —sorbato sódico (E 201), potásico (E 202) y cálcico (E 203)— son derivados del ácido ascórbico (E 200) y destacan por su eficacia para inhibir el crecimiento de mohos, levaduras y bacterias. Su acción antimicrobiana está influida por las condiciones de la bebida, y frecuentemente se utilizan en combinación con benzoatos para potenciar su efecto, sobre todo en bebidas con un pH inferior a 7.0 (Younes, 2019). El ácido ascórbico también tiene una función específica: inhibe el crecimiento de levaduras al afectar la disponibilidad de aminoácidos y la acción de ciertas enzimas, mientras que el ácido benzoico

actúa sobre los niveles de protones intracelulares de las células microbianas, desestabilizándolas (Njus, 2020).

El ácido benzoico (E 210), presente de forma natural en frutas como la canela y los arándanos, ha sido ampliamente utilizado en la industria alimentaria como conservador. Las sales de benzoato tienen mayor solubilidad y estabilidad que el ácido benzoico puro, y son especialmente efectivas en medios ácidos como los de muchas bebidas industrializadas (Lubbers y de Vries, 2021). Sin embargo, cuando se combinan benzoatos con ácido ascórbico en presencia de calor y almacenamiento prolongado, puede formarse benceno, un hidrocarburo potencialmente dañino. Aunque existen métodos para minimizar su formación y los riesgos asociados son bajos, esta reacción ha generado preocupación. Por ello, algunos fabricantes han reducido su uso, aunque siguen siendo necesarios en ciertas formulaciones para asegurar la calidad del producto (Hashim Al Sutani, 2019; Azuma, Quartey y Ofosu, 2020).

El dicarbonato de dimetilo (DMDC) es un conservador de naturaleza reactiva usado principalmente en bebidas esterilizadas en frío. Al ser añadido, se descompone rápidamente en metanol y dióxido de carbono. Aunque puede sonar preocupante, las concentraciones de metanol que resultan son tan bajas que no representan un riesgo toxicológico. El DMDC actúa penetrando las células microbianas y desactivando sus enzimas, eliminando levaduras, hongos y bacterias patógenas. Su uso está regulado, con límites establecidos de hasta 250 mg/L en refrescos y jugos, para evitar efectos negativos en la salud (Jafari, 2021; Zhang, 2022; Liu, 2022).

Los sulfitos también se han empleado tradicionalmente en jugos para conservar sabor y frescura, aunque se han relacionado con reacciones alérgicas, especialmente en personas asmáticas. Por ello, las regulaciones internacionales exigen que se informe en la etiqueta cuando un producto contiene más de 10 partes por millón de sulfitos, garantizando que los consumidores puedan tomar decisiones informadas sobre su consumo (Hajri, 2023; Irwin, 2017).

A pesar de su efectividad, el uso de conservadores químicos genera inquietudes tanto en los consumidores como en los productores. Un mal manejo puede llevar al desarrollo de microorganismos más resistentes a los procesos térmicos y tecnologías de preservación tradicionales. Por eso, ha crecido el interés por alternativas naturales con propiedades

antimicrobianas, en respuesta al deseo del público por productos más saludables y menos procesados (Warner, 2024; Kaczmarek, Avery y Singleton, 2019).

Entre estas alternativas destacan los conservadores de origen natural extraídos de frutas y bayas como moras, arándanos, frambuesas, zarzamoras y aronias, los cuales han demostrado tener efectos antimicrobianos similares a los de los conservadores sintéticos (Teshome, 2022). Su efectividad se atribuye a compuestos bioactivos como los terpenoides, aceites esenciales y compuestos fenólicos, incluyendo flavonoides, taninos, cumarinas y quinonas. Estos actúan desestabilizando las membranas celulares microbianas o interfiriendo en funciones enzimáticas esenciales (Gao, 2023).

En las bebidas azucaradas no carbonatadas, por ejemplo, se han usado aceites esenciales que contienen geraniol, limoneno y linalol, muchas veces combinados con tratamientos térmicos suaves para evitar el desarrollo de levaduras. Otros ejemplos incluyen aceites de salvia, orégano, limón y enebro, especialmente efectivos en jugo de manzana en condiciones ácidas. Si bien estos ingredientes pueden modificar el sabor o aroma del producto, su uso combinado con otros métodos de conservación permite un enfoque sinérgico que ayuda a controlar la proliferación microbiana sin comprometer la calidad sensorial (Abers, 2021).

Los conservadores sintéticos continúan siendo fundamentales en la producción de bebidas azucaradas, aunque su uso está siendo reevaluado frente a nuevas tecnologías y preocupaciones del consumidor. El interés en conservantes naturales crece como una alternativa prometedora, con potencial para mantener la seguridad y estabilidad del producto, respetando las preferencias actuales de salud y transparencia en la industria alimentaria.

1.1.2.7 Otros ingredientes de bebidas refrescantes

Algunas gomas como guar, garrofín, pectina y xantana son utilizadas como estabilizantes y espesantes por su naturaleza hidrocoloide en bebidas dietéticas y jugos de fruta industrializados, esto con el fin de mejorar la sensación bucal y reducir las posibles fases de separación de los sistemas (Tahmouzi, 2023). Por otra parte, antioxidantes como el ácido ascórbico son empleados para evitar la pérdida de sabores y colores intrínsecos de productos que son embotellados en recipientes que permitan el flujo de oxígeno. Las bebidas funcionales, nutracéuticas y catalogadas como “saludables” son elaboradas a partir de una

formulación poco convencional, incluyendo frutas como la granada o el noni, bayas como arándanos, zarzamora, fresas y moras, o raíces como el jengibre o productos a partir de una raíz como el betabel (Eksi, Kurbanoglu y Ozkan, 2019). Algunas de las bebidas funcionales contienen esteroides y ácidos grasos omega-3 que pueden mejorar la salud cardiovascular. De igual forma, otros productos incluyen fibras como la inulina de agave o la maltodextrina, las cuales son alimentos prebióticos que regulan microbiota con beneficios a la salud (Panse y Phalke, 2019).

Por sus efectos beneficios a la salud, los ingredientes con alto contenido de fibra a base de cereales han ido abarcando terreno para su uso nutricional en diversos productos. Por ejemplo, el consumo de beta-glucanos, presentes en avena, cebada, amaranto y respectivos salvados, pueden reducir el colesterol en la sangre en adultos con niveles altos o normales de dicho lípido presente en el torrente sanguíneo (Bouchard, 2022).

Otros ingredientes comúnmente utilizados en otros tipos de bebidas, como las energizantes, son la cafeína, taurina y extractos de plantas como té o ginseng. Esta gama de productos contiene vitaminas B3, B6 y B12, y su formulación se conforma a partir de carbohidratos, específicamente en la adición de glucosa, fructosa y maltodextrina, así como de sales y agua (Raizel, 2019). Cabe mencionar que hay otro tipo de ingredientes funcionales que han tomado relevancia para formar parte del contenido en la elaboración de bebidas energizantes, ya que su posicionamiento en el mercado se deriva en los supuestos estimulantes de rendimiento físico y en beneficios en cuanto a una mayor actividad crítico-cognitiva. Además, son asociadas con una posible pérdida de peso de manera saludable, a pesar de que se han reportado múltiples casos de intoxicación por la ingesta de bebidas energizantes, principalmente por el contenido de cafeína (Bleakley, 2022). Este ingrediente resulta controversial debido a que puede perjudicar específicamente a niños y adolescentes, esto como consecuencia de que este sector y sus respectivos organismos no están acostumbrados al consumo habitual de cafeína, desarrollando una intoxicación por la baja tolerancia farmacológica del producto. También se ha considerado que las bebidas energizantes pueden fungir como una variable de la dependencia a sustancias sintéticas (Butragueño Laiseca, 2019).

1.2 Alternativas a bebidas refrescantes azucaradas

1.2.1 Ingesta excesiva de bebidas azucaradas y salud pública

El consumo en exceso de refrescos ha sido considerado como una problemática controversial y altamente visible en los sectores internacionales de salud pública desde años iniciales del siglo actual (Al-Amri, Albounni y Binalrimal, 2021). Los edulcorantes naturales presentes en los productos otorgan entre 1.5 y 4.0 calorías por gramo, por lo que su consumo desmesurado es nocivo. En el caso de la fructosa, esta aporta en la formación de productos finales de la glicación, los cuales son factores iniciales en el desarrollo de diabetes, procesos de envejecimiento prematuro y el engrosamiento de las paredes arteriales. Debido a que la tagatosa en el intestino es absorbida en un proceso lento y de manera incompleta, su ingesta desmedida puede causar problemas laxantes y flatulentos (Waingankar, 2018). Adicionalmente, la ingesta de este tipo de bebidas es considerada como uno de los principales causantes de obesidad, enfermedades cardiovasculares y dentales en el sector de adolescentes y niños, con la disponibilidad de refrescos en espacios escolares y recreativos siendo incluso prohibida en países como Reino Unido y Francia, mientras que en diversas ciudades de EE.UU. se ha limitado la venta de estos productos (Le Bodo, 2022). En México, para el año de 2012 se reportó un consumo *per cápita* de hasta 139.9 litros (Théodore, Blanco García y Juárez Ramírez, 2019).

Múltiples estudios han vinculado el consumo de bebidas azucaradas carbonatadas con el origen o empeoramiento específico de diversas enfermedades específicas. El consumo ácido fosfórico presente en refrescos de cola ha sido asociado con la hiperfosfatemia, la cual es el resultado de altos niveles de fósforo en la sangre y que pueden llegar a dañar múltiples órganos del cuerpo, especialmente las rodillas. Funciones deplorables en la rodilla pueden generar niveles bajos de calcio, incrementando el riesgo de padecer osteogénesis imperfecta. Además, el aumento de fósforo sanguíneo y otras anomalías minerales contribuyen tanto individual como colectivamente a la calcificación vascular (Lewis, 2023). Un grupo de pacientes con hipocalcemia mostró un incremento de calcio en la sangre después de evitar la ingesta de refrescos en un periodo determinado, debido al alto contenido de ácido fosfórico presente tras ser añadido como acidulante para potencializar el sabor y equilibrar los niveles de dulzor en varios productos (Guarnotta, 2017). Adicionalmente, el incremento de una porción en el consumo de refrescos durante diez años se asoció con el aumento de 2,08 mm

Hg (IC del 95 %: 0,21, 3,94) en la presión arterial sistólica y de 2,09 mm Hg (IC del 95 %: 0,81, 3,36) en la presión arterial diastólica (Hernández-López, 2022).

1.2.2 Bebidas dietéticas

Debido a que las ediciones dietéticas de los refrescos han sido posicionadas en el mercado como alternativas percibidas como más saludables a sus versiones convencionales, se ha empleado la adición de edulcorantes no calóricos en su elaboración como garantizadores de evitar el sobrepeso y la obesidad (Khan, Evangelista y Varua, 2023). El neotamo (E 961) es un saborizante artificial bajo en calorías, con estabilidad a altas temperaturas y con características potenciadoras de sabor, además de que tiene un perfil sensorial entre 7,000 veces más dulce que el azúcar convencional. En el año de 2002, la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA por sus siglas en inglés) de Estados Unidos aprobó su uso en alimentos y alimentos que lo requieran, como lo son refrescos dietéticos, siempre y cuando se aplique de acuerdo a las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), además de tener un uso más común en países de Europa, América del Sur, en Australia, Rusia y México por la revisión realizada por el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (Mooradian, Smith y Tokuda, 2017). El alitame (E 956), al igual que el aspartamo, es un edulcorante que está conformado por dos aminoácidos: por ácido L-aspártico y D-alaninamida, el cual puede obtenerse naturalmente o de manera sintética para tener una regulación sobre la acidez del producto, además de también ser estable al calor (More, Shaikh y Ali, 2021). En 1969, el uso de ciclamato de sodio (E 952) fue prohibido en Estados Unidos después de que análisis arrojaron resultados que una considerable cantidad de ingesta significa un riesgo en padecer cáncer de vejiga. A pesar de ello, el ciclamato de sodio sigue siendo utilizado en más de 50 países debido a que tiene un perfil sensorial treinta veces más dulce que la sacarosa (Das y Chakraborty, 2016).

1.2.3 Posibles problemas asociados al consumo de bebidas dietéticas

Todos los saborizantes artificiales que sean empleados en los refrescos denominados como bajos en calorías o no calóricos deben ser sometidos a lineamientos rigurosos de seguridad alimentaria por parte de múltiples organismos y agencias de cada país para que sea

aprobada su comercialización, además de indicar a los consumidores los niveles y límites de ingesta recomendados (Carocho, Morales y Ferreira, 2017). Como un ejemplo, la FDA ha establecido niveles de seguridad para el consumidor estadounidense enfocado en productos dietéticos que contengan aspartamo, acesulfamo K y sucralosa, mejor conocido como Ingesta Diaria Admisible (ADI por sus siglas en inglés) (Gray, 2024). Este nivel establece que en cada producto alimentario debe tener una cantidad máxima de ingesta diaria que no pueda significar nociva, siendo asignado que para los edulcorantes artificiales utilizados en bebidas azucaradas dietéticas de 350 ml abarquen ingestas del contenido como las que se indican a continuación: un límite de 18 a 19 latas de refresco dietético de cola con aspartamo, de 30 a 32 latas para refrescos dietéticos de lima-limón con acesulfamo K, y seis latas de refresco dietético de cola con sucralosa (Schiano, 2021).

A pesar de lo anterior, la cantidad de edulcorantes no calóricos en refrescos de dieta ha sido también vinculada a diversos riesgos a la salud, que van desde dolores espontáneos de cabeza, alergias a otros productos como botanas, panadería industria y cereales para desayuno, y problemas digestivos que pueden aumentar trastornos neurológicos y padecer cáncer. De acuerdo a una investigación realizada en Australia por Miller (2022), el sector infantil y adolescente en ese país ingiere mayores cantidades de las variantes dietéticas como reemplazo a las bebidas azucaradas estándar, desencadenando enfermedades como pérdidas dentales, aumento de peso y diabetes.

Estudios especializados sobre los efectos nocivos a la salud de la ingesta de bebidas dietéticas han denotado que pacientes con diabetes de tipo 1 pueden resultar afectados por este tipo de productos, así como personas que sufren de diabetes de tipo 2 pueden agravar su padecimiento, o generar indicios de padecerlo en el caso de personas sanas (Angelin, 2024).

Con respecto a la diabetes de tipo 2, estudios han arrojado que todas aquellas personas que ingieren diariamente una o más latas de refresco de dieta pueden desarrollar diabetes esta enfermedad con una probabilidad mayor al 67% de personas que no consumen esta gama de productos alternativos. De la misma manera, se ha señalado que el consumo por sí mismo de bebidas dietéticas no significa que estas sean las principales causantes de dichas enfermedades, si no que funcionan como un potenciador en los riesgos de padecimiento (Okoro y Markus, 2025). Es por ello que, a pesar de que los refrescos dietéticos no sean considerados como el factor primordial del desarrollo de diabetes en sus distintos tipos, se ha sugerido que

la ingesta de productos “libres de azúcar” puede tener un efecto crucial indirecto en los riesgos de padecer enfermedades cardiovasculares por un posible aumento de peso o una alteración en las actividades sanguíneas de insulina (Debras, 2023).

El consumo de refrescos de dieta ha sido relacionado a enfermedades como la nefropatía, la cual se refiere a estragos generados en el riñón, con personas tanto sanas como diabéticas teniendo un impacto negativo en las funciones del riñón después de beber por lo menos dos latas de 350 ml de estos productos. Este resultado se mostró inalterable en distintos sectores que incluían diferencias de edad, ingestas calóricas individuales, peso y estatus de padecimiento de diabetes (Rebholz, 2017).

Otros estudios revelaron que la ingesta diaria de un envase o más de bebidas dietéticas puede ser asociada con un riesgo de hasta el 35% de poder desarrollar síndrome metabólico, el cual aumenta de manera exagerada los niveles de colesterol y eleva tanto la presión arterial como la glucosa en la sangre, estimulando derrames cerebrales y diabetes (Crichton, Alkerwi y Elias, 2015). De la misma manera que en los resultados reportados en los estudios relacionados al consumo y diabetes de tipo 2, no se encontró evidencia alguna sobre una causa o efectos directos de la ingesta de refrescos de dieta con el síndrome metabólico, aunque si se denota una incidencia desencadenadora de las bebidas saborizadas con edulcorantes artificiales sobre el desarrollo de esta enfermedad (Wu, 2023).

Al ser considerados como productos alternativos con bajo contenido calórico, existen debates sobre si los edulcorantes sustitutos en realidad resultan beneficiosos en el control de peso con cualquier tipo de consumidor, ya sea paciente o no de algún tipo de diabetes (Sharma, 2016). Ciertas investigaciones han hecho observaciones puntuales, tales como que el consumo de refrescos dietéticos puede estimular el apetito y el anhelo de ingesta de productos con un alto contenido de carbohidratos, lo cual puede conllevar a un aumento de peso y signifique una posible etapa en el desarrollo de diabetes de tipo 2 y síndrome metabólico. Se han formulado otras hipótesis con respecto a que un aumento de peso sea posible en consumidores de bebidas dietéticas, todo como resultado de una dieta con alto contenido calórico que pueda ser “justificada” por la baja ingesta de azúcares ofrecida por los refrescos en cuestión (Escobar Gil y Laverde Gil, 2023).

El desarrollo de anomalías urogenitales congénitas también ha sido relacionado con el consumo de bebidas dietéticas. Investigadores han monitoreado la incidencia de

enfermedades renales en fase terminal en consumidores de este tipo de bebidas, y mediante ciertos estudios, se ha interrogado a las personas participantes como muestra sobre sus respectivos hábitos de consumo para poder supervisar el avance de la investigación (Lo, 2021). Varios casos de enfermedad renal en etapa final indicaron que la ingesta de uno a cuatro vasos a la semana de una bebida dietética es asociada a una probabilidad de 1.08 veces de poder padecer una enfermedad renal, mientras que las ingestas semanales de cinco a siete vasos y siete o más vasos significan probabilidades de 1.33 y 1.83 veces, respectivamente, de acuerdo con un ajuste programado de múltiples variables (Heo, 2024).

De manera específica, en décadas anteriores se tenía a los refrescos de dieta de sabor naranja como prospecto de riesgo litogénico al incrementar la excreción de citratos de orina. Sin embargo, se ha indicado que todas las personas que consuman bebidas dietéticas saborizadas a naranja más de tres veces al día, y en adición a su dieta regular, pueden incrementar la circulación de citratos de orina de hasta 60 mg por día, la cual es una cantidad que no significa un factor que deba ser considerado como comprometedor en la seguridad alimentaria. Tampoco hubo cambios considerables en el cambio de pH de la orina, ni en sus respectivos volúmenes o en la cantidad de creatinina desechada (Large, 2020).

Otras investigaciones han examinado el efecto que las bebidas azucaradas con edulcorantes artificiales puedan tener sobre el tracto urinario, dando como resultado que los productos que contienen cafeína incrementan los síntomas de las vías urinarias bajas, mientras que la ingesta de jugos de frutas cítricas disminuye dichos síntomas en los hombres. Con base a esto, se ha sugerido que debe limitarse el consumo de bebidas con cafeína en el caso de mujeres, aunque se ha considerado como beneficiosa la ingesta de jugos con sabor a cítricos en el caso de los hombres (Ringel, 2023). Cabe mencionar que aún falta mayor investigación científica que relacione los efectos que puedan tener los refrescos dietéticos con las funciones urinarias y la hiperactividad de vejiga.

También se ha analizado la posibilidad que propiedades cancerígenas pueden ejercer tras la ingesta excesiva de bebidas dietéticas (Llaha, 2021). El aumento de enfermedades autoinmunes, como la artritis reumatoide en mujeres vinculada al consumo de bebidas alternativas libres de azúcar, ha sido validado por proyecciones médicas. Un estudio realizado en Francia con 62,631 mujeres indicó que 481 mostraron una mayor incidencia en

artritis reumatoide, esto como resultado de una ingesta de uno a tres vasos semanales de refrescos dietéticos en su dieta habitual (Ascione, 2023).

Estudios realizados con mujeres planeando un periodo de maternidad y la contraparte de sus compañeros varones han sido ejecutados para evaluar la asociación de infertilidad con el consumo de bebidas saborizadas con saborizantes artificiales, monitoreando participantes con hasta doce ciclos menstruales o incluso ya embarazadas (Nassan, 2021). Los resultados han arrojado que consumidores habituales específicos de bebidas con edulcorantes sintéticos, tanto hombres como mujeres, sí fueron asociados con una fecundidad reducida, aunque el consumo directo de las bebidas dietéticas como tal casi no tiene asociación con los niveles de fertilidad (Hatch, 2018). Con respecto al envejecimiento prematuro en adultos, tampoco se han reportado incidencias directas del consumo de refrescos dietéticos que causen este trastorno genético, aunque cabe mencionar que los telómeros cortos son asociados con un consumo exacerbado de bebidas que sean saborizadas con edulcorantes artificiales, potencializando la aceleración de estructuras celulares subcutáneas (Sohn, Shin y Baik, 2023). Adicionalmente, el efecto del consumo de bebidas de dieta en la pérdida química de sustancias minerales dentales juega un papel fundamental, incrementando levemente la probabilidad de causar erosiones en la placa dental (Samman, 2022).

Por todo lo anterior, se considera necesario desarrollar nuevas formulaciones de bebidas no azucaradas o reducidas en sacarosa, jarabe de maíz de alta fructosa y otros endulzantes tradicionales y que tampoco no incluyan edulcorantes sintéticos de alta intensidad. Este tópico será explorado en la siguiente sección.

1.2.4 Formulación de bebidas *saludables* y otras tendencias de mercado

Considerando el impacto negativo que puede generar el consumo elevado de refrescos azucarados, frecuentemente percibidos como bebidas con alto aporte calórico y con mínimo valor nutrimental, una de las tendencias que ha ido cobrando fuerza en este segmento es la incorporación de ingredientes con propiedades nutraceuticas. Las bebidas fortificadas, deportivas, y energéticas han logrado adquirir un nicho de consumo asegurado debido al respaldo científico que indica los beneficios a la salud por la adición de ingredientes funcionales (Eksi, Kurbanoglu y Ozkan, 2019). En este sentido, se ha explorado el uso de ingredientes alternativos como especias, jugos naturales de frutas y derivados lácteos para la

elaboración de bebidas refrescantes por su alto valor nutrimental y/o actividad biológica, como reducción de presión arterial y control de colesterol, además de contribuir al desarrollo de propiedades sensoriales únicas (Dwivedi, 2022).

Un estudio reciente sobre sabores tradicionales y preferidos por los mexicanos basado en datos de ventas, tendencias de consumo y la opinión de especialistas reporta que un 49% de los *millennials* y *centennials* gustan de experimentar nuevos sabores en dulces, bebidas y alimentos. De manera notable, el jengibre creció casi 200% de preferencia en el período 2017-2019. Otros sabores que han aumentado su demanda son los florales y frutales, en este caso los consumidores buscan bebidas percibidas como naturales, con connotaciones saludables y de frescura (Mora, 2019).

1.2.5 Desarrollo de bebidas probióticas

En los últimos años se ha registrado un auge en el desarrollo y consumo de productos probióticos, expandiendo su posición dentro del mercado. Hay múltiples bebidas y productos ancestrales fermentados de naturaleza probiótica que han sido tradicionalmente ingeridos por las comunidades locales de su origen, tal como el pulque o el tepache en México, el kéfir de agua (tibicos) y kéfir de leche en el Cáucaso, o la kombucha en China, bebidas que en menor o mayor medida han ganado popularidad y han sido adoptadas en otros países debido a sus propiedades benéficas sobre la digestión y, en ocasiones, a su alto contenido de antioxidantes (Meenu, 2024).

Los microorganismos probióticos más comúnmente empleados en el desarrollo de bebidas y otros alimentos se clasifican en tres grupos. El primer grupo son aquellas pertenecientes al género *Bifidobacterium* sp, de los cuales son usualmente empleados en alimentos para mejorar el sistema inmunológico, limitar la presencia de agentes patógenos en el intestino y convertir la lactosa en nutrientes que sean óptimos para el cuerpo humano, de los cuales se distinguen *B. animalis*, *B. lactum* y *B. longum*. El segundo grupo, *Lactobacillus*, engloba a los microorganismos que generan la enzima lactasa, la cual digiere la lactosa y puede producir ácido láctico, además de otros metabolitos (Hecht, 2022); el tercero es un grupo heterogéneo, donde se sitúan bacterias, mohos y levaduras selectos, que pueden crecer de forma sinérgica con microorganismos de los primeros grupos.

La supervivencia de los microorganismos probióticos se puede ver comprometida, dependiendo de las condiciones de procesamiento y almacenamiento. Así, factores de conservación térmicos y no térmicos pueden disminuir su viabilidad; de forma análoga, su supervivencia puede verse comprometida durante el almacenamiento en productos ácidos (como aquellos que incluyen jugos cítricos) aún almacenados en refrigeración (Asaithambi, Singh y Singha, 2021). De cualquier manera, cada microorganismo probiótico presente en un sistema fermentado tiene una reacción distinta en matrices alimentarias específicas; en ocasiones se ha reportado que la adición de ingredientes selectos como vitamina C, extractos de bayas y té pueden incrementar la capacidad de sobrevivencia de éstos (Silva, 2022).

La variedad de bebidas probióticas a nivel global es muy amplia y éstas pueden dividirse en las siguientes categorías:

- a) De origen lácteo, donde destacan el yogurt, el kéfir y el kumis elaborados con bacterias acidolácticas o mezclas de éstas con levaduras (kéfir) o con bacterias de ácido acético (koumis); también se pueden ubicar en esta categoría bebidas lácteas probióticas comerciales, como el Yakult®.
- b) A base de té, entre las que destaca la kombucha, fabricada a partir de un consorcio simbiótico de bacterias y levaduras (SCOBY)
- c) A base de cereales, como el pozol, tradicionalmente elaborado en el sureste de México, o la chica, típica de Centro y Sudamérica.
- d) De base agua, como el kéfir de agua
- e) A base de frutas, vegetales y hierbas, como el tepache y la cerveza de jengibre, materia de estudio del presente proyecto y que se abordará en la siguiente sección.

1.3 Bebidas de jengibre

1.3.1 Jengibre

1.3.1.1 Clasificación botánica y origen

El jengibre (*Zingiber officinale*) es una planta herbácea de las 1,200 especies pertenecientes a la familia de las zingiberáceas, con hojas oblongas y lanceoladas de 20 cm, y de tallos simples, de los cuales también brotan flores sésiles de color amarillo. Es de carácter perenne y rizomatoso debido a su grosor, carnosidad y nudosidad, además de que el

rizoma puede alcanzar una altura de hasta 1 m tras su crecimiento bajo tierra. Dicha parte del jengibre es la más utilizada, tras un aproximado de entre 9 y 10 meses de plantación, la cual necesita un clima cálido, luz filtrada y un suelo profundo con abundante agua y materia orgánica (INECOL, 2022). El cultivo de jengibre data de hace 3,000 años y procede de Asia Central y Sudoriental, mientras que su uso culinario y medicinal se registra desde el siglo XI a.C. El arribo de la planta a territorio americano se debió a los colonos españoles (Maillard-Álvarez, 2019). Actualmente, se cultiva predominantemente en regiones tropicales y subtropicales de Asia y en zonas de África y de Brasil, mientras que en México las entidades donde más se produce son Oaxaca y Puebla (García, 2023).

1.3.1.2 Características composicionales, nutraceuticas y sensoriales del jengibre

Los macrocomponentes principales del jengibre son agua (79%) y carbohidratos (18%) y pequeñas cantidades de proteína y grasa (aproximadamente 2%). Dentro de sus componentes minoritarios se encuentran hidrocarburos sesquiterpénicos (incluyendo zingibereno, curcumeno, farneseno, bisaboleno y β -sesquifelandreno), minerales (potasio, fósforo, magnesio y hierro) y sustancias vegetales secundarias que otorgan efectos antioxidantes (Sharif, Ejaz, y Pasha, 2018). Los compuestos bioactivos presentes en el jengibre son principalmente gingeroles, shogaoles y los paradoles. En el jengibre fresco, los principales polifenoles son los gingeroles (aprox. 25%) siendo 6-gingerol y 10-gingerol los principales componentes de dicha fracción, que pueden ser transformados en shogaoles si se aplican tratamientos térmicos o son almacenados durante un largo tiempo. Con respecto a los restantes compuestos presentes en el jengibre, si éste es sometido a un proceso de hidrogenación, los shogaoles pueden ser transformados en paradoles. Adicionalmente se reporta la presencia de diversos compuestos fenólicos como quercetina, zingerona, gingerenona-A, y 6-dehidrogingerdiona. Todos ellos influyen decididamente el perfil sensorial y funcional de los productos con jengibre (Iara-Gomes de Oliveira, et al. 2024).

El jengibre posee un característico aroma perfumado debido a la mezcla de isómeros *cis* y *trans* del betaeudesmol y a los alcoholes sesquiterpénicos betasesquifelandrol y zingiberol. Su aroma característico se describe como refrescante, cítrico, relacionado con la presencia de neral y geranial. Con respecto a su sabor, se le describe como especiado, picante y penetrante, con un toque ligeramente dulce debido a que se cuenta con sustancias pungentes no volátiles y aceites esenciales (2.5-3%), principalmente los sesquiterpenos como el

curcumeno y el alfafarneseno. Por su parte, los gingeroles poseen propiedades analgésicas y efectos gastrointestinales, reduciendo flatulencia, espasmos y náuseas; además mediante la intensidad de su sabor característico están relacionados a la frescura y calidad de la planta, y junto con los shogaoles estimulan el flujo de saliva y la secreción de jugos gástricos (Garza Cadena, 2023).

1.3.2 Bebidas elaboradas y saborizadas con jengibre

Diversos productos alimenticios industrializados incluyen jengibre en su formulación, generalmente empleado como saborizante. Dentro de sus usos notables se reportan aplicaciones en panificación, *snacks*, lácteos como la mantequilla y, la que probablemente sea la categoría más relevante, las bebidas alcohólicas y no alcohólicas (Unuofin, 2021).

1.3.2.1 Ginger Ale

El *Ginger ale* es una bebida gaseosa elaborada con una mezcla de agua mineral, sacarosa o jarabe de maíz de alta fructosa y saborizante de jengibre. Tradicionalmente, su preparación se realizaba por fermentación con *ginger bug*, un cultivo iniciador a partir de la raíz de jengibre que, al adicionarse en agua y sacarosa, genera carbonatación y produce etanol como subproducto, pudiendo este último ser controlado al modificarse el tiempo de fermentación. De esta bebida existen dos variedades: el *ginger ale gold*, que por su característico color oscuro y elevada pungencia no se consume usualmente, y *ginger ale dry*, la cual es mayormente conocida y comercializada. Libre de etanol y con un pH inferior a 4.6, es consumida tradicionalmente como remedio para la prevención y alivio de náuseas, malestares estomacales y dolor de garganta (Reddy et. al, 2016).

1.3.2.2 Cerveza de jengibre

El término *ginger beer* hace alusión a la cerveza de jengibre, una bebida carbonatada saborizada con dicha raíz. El proceso de elaboración original consistía en la aplicación del *ginger bug* o de una colonia simbiótica denominada *Ginger Beer Plant* (GBP), las cuales fermentan el sistema y pueden generar etanol (hasta 11%), aunque el producto final sólo contiene concentraciones residuales. De manera industrializada, en la actualidad se llega a elaborar por extracción del jugo de jengibre con generación de dióxido de carbono (CO₂)

mediante la adición y mezclado de ingredientes apropiados, como ácido cítrico, sacarosa y citrato de sodio (Nunes Filho et al, 2021). La variedad de cerveza de jengibre libre de alcohol es considerada incluso como un refresco o bebida suave; para su elaboración industrial se adiciona sacarosa y no es producida por fermentación, ya que se carbonata con CO₂ presurizado, mientras que a pequeña escala se siguen empleando los métodos fermentativos. Es de un sabor ligeramente más dulce con el toque picante del jengibre, y puede obtenerse con una apariencia turbia, si así se desea (Bruner y Fox, 2020).

1.3.3 Ginger Beer Plant (GBP)

El término GBP se refiere a un cultivo, generalmente descrito como un grupo de gránulos sólidos, semi transparentes de consistencia gelatinosa empleado para fermentar una solución de agua, sacarosa y jengibre para producir *ginger beer* (cerveza de jengibre). El GBP es una colonia simbiótica conformada principalmente por *Saccharomyces florentinus* y *Lactobacillus hilgardii*, que otorga un sabor característico a la bebida. *S. florentinus* es una levadura que crece a una temperatura óptima de 25°C e induce fermentaciones en soluciones de sacarosa, produciendo CO₂, abundantemente, generando residuos sólidos voluminosos característicos de las colonias (Lencioni, 2016). Mientras tanto, *L. hilgardii* es un bacilo grampositivo presente en vino y mosto de uva, con la capacidad de generar ácido láctico, ácido acético y CO₂. Es catalasa negativa, sensible al dióxido de azufre (SO₂), tolerante a cambios de pH, y a concentraciones relativamente altas de etanol (20%) (Jackson, 2020).

1.3.4 Características de productos elaborados con GBP

Además de emplearse para elaborar *ginger beer*, los refrescos elaborados a base de GBP son productos libres de alcohol, con un frescor muy característico en paladar y nariz, con la presencia de las notas pungentes características del jengibre. Si bien es parecida a la gama de productos industrializados de *Ginger Ale*, no son el mismo tipo de producto, ya que la elaboración del último es a partir de la mezcla de agua mineral, jengibre, azúcar y limón, sin un proceso fermentativo del cultivo previo a su preparación como bebida refrescante (Garza Cadena, 2023).

1.4 Microbiología de bebidas fermentadas

Para la fabricación de bebidas fermentadas probióticas, es fundamental controlar y monitorear las variables que afectan el crecimiento microbiano en el producto, para garantizar su calidad sensorial y tecnológica, inocuidad y reproducibilidad. Las principales variables de interés incluyen pH, temperatura; tipo y cantidad de sustrato de fermentación (fuente de carbono), actividad de agua, concentración de oxígeno, fuente de nitrógeno, concentración de vitaminas y minerales, tipo, tasa y forma de adición del inóculo microbiano y tiempo de fermentación. Parámetros no propicios de fermentación pueden inhibir el crecimiento microbiano, reducir la velocidad de fermentación, favorecer fermentaciones parciales o insuficientes o inducir el crecimiento de microbiota contaminante no deseada.

1.4.1 Cinéticas microbianas y fabricación de bebidas fermentadas

La fermentación es un proceso bioquímico de microorganismos para la obtención de diferentes productos de alto valor biológico, tales como alimentos, enzimas, hormonas, entre otros. (Gosh, Bhattacharya y Mukhopadhyay, 2018). Los microorganismos utilizan los nutrientes presentes en el sustrato para su crecimiento y síntesis de productos. Cabe mencionar que cambios que se generen en el entorno químico o físico tienen un efecto directo en la formación de productos, así como en su calidad y rendimiento, por lo que análisis estadísticos y cálculos matemáticos son necesarios para un monitoreo óptimo (Dong et al., 2022). El proceso de fermentación es modelado mediante cinéticas, tomando en cuenta el tiempo evolutivo de biomasa, sustrato y concentraciones del producto. Diversos modelos de ecuaciones de cinética han sido propuestos para describir fermentaciones, siendo generalmente expresados de la siguiente manera:

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{1}{Y} \frac{dX}{dt} - mX$$

en donde X es la masa microbiana, S es el sustrato, t es el tiempo y m es el coeficiente de mantenimiento (Wang, Sun, Pan y Xiu 2024).

El rango de fermentación y el tiempo de eficiencia también dependen del tipo microorganismo y del sustrato que se utilizan en la fermentación. Por ejemplo, los sustratos energéticos de fermentación como azúcares comerciales y melaza son ampliamente

utilizados para la activación de levaduras debido a su alta afinidad (Kalil, Jalil y Ahmad, 2017). Los microorganismos hidrolizan los sustratos como parte de su metabolismo a través de distintas vías metabólicas secuenciadas, específicamente, cuando los carbohidratos se han reducido hasta monosacáridos, los microorganismos son capaces de convertir las hexosas en glucosa y obtener energía de la degradación de ésta a partir de la glucólisis. Este es un proceso anaerobio que se lleva a cabo en el citoplasma y en el que se obtienen dos moléculas de piruvato a partir de una molécula de glucosa. En condiciones aerobias, el piruvato ingresa el ciclo de Krebs y a la cadena de transporte de electrones para producir más energía. En condiciones anaeróbicas, el piruvato puede ser convertido a lactato o en etanol y dióxido de carbono (Wang et al, 2021). El GBP es un sistema complejo de microorganismos, por un lado las levaduras de naturaleza aerobia, producen dos moléculas de etanol y dos de dióxido de carbono por cada molécula de glucosa: $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_6O + 2CO_2$, mientras que las bacterias ácido lácticas producen dos moléculas de lactato a partir de una molécula de glucosa: $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_3H_6O_3$ (Ibrahim, 2016).

Por otro lado, el pH se monitorea durante el proceso fermentativo debido a que, dependiendo de su nivel, se desarrollan cierto tipo de microorganismos, que pueden ser benéficos o patógenos, por lo que es importante mantenerlo controlado, ya que de la actividad microbiana se pueden derivar cambios en el mismo durante la fermentación (Seer y Nandong, 2015). De acuerdo con el nivel de pH los microorganismos se pueden clasificar como acidófilos, neutrófilos y alcalófilos. Particularmente, los acidófilos se consideran importantes para ayudar a mantener los alimentos inocuos, ya que el pH del medio (<6.5) puede inhibir el desarrollo de organismos patógenos. En los productos fermentados de naturaleza ácida, las bacterias ácido-acéticas, cítricas o lácticas son las encargadas de acidificar el medio, de forma tal que estos productos tienen niveles bajo de pH (Wijayasinghe et al, 2019).

1.4.2 Contaminación microbiana y deterioro en bebidas fermentadas

El deterioro microbiológico en un producto es el proceso metabólico que causa características no deseadas o inaceptables para el consumo humano debido a una modificación de las características sensoriales. La contaminación microbiana de materias primas empleadas puede causar aromas desagradables, liberaciones precoces de CO_2 y otros

defectos en el producto final (Shankar, 2021). Al ser en muchas ocasiones ricas en vitaminas y minerales, y con alto contenido de actividad acuosa, las bebidas azucaradas suelen ser un foco principal en el desarrollo de actividad microbiana, además de contener distintos tipos de microorganismos, de los cuales los acidúricos representan la causa inicial del deterioro (Mayerová, 2022).

La contaminación de bebidas azucaradas puede iniciarse durante cualquier etapa del proceso de elaboración y producción, esto tomando en cuenta múltiples factores como lo son las materias primas, las condiciones ambientales, el estado microbiológico de los equipos y el empaque y embalaje, así como el manejo del personal que tiene contacto directo con el producto y su respectivo estatus de higiene al momento del proceso (Aadil, 2019). Los materiales de envase de latas y botellas también significan un riesgo de contaminación. Es por ello que hay dos maneras estandarizadas de elaborar bebidas azucaradas, con la primera diluyendo el jarabe saborizante con agua para posteriormente enfriar, carbonatar y embotellar el producto. La elaboración mediante la segunda manera se basa en medir una cantidad exacta de jarabe para cada envase, los cuales son llenados con agua carbonatada (Susanti, 2023).

Todos los procesos de mezcla de jarabe con agua, aseo y llenado de contenedores son realizados en su mayoría por maquinaria automática. Con respecto a botellas retornables, estas son lavadas en soluciones alcalinas a altas temperaturas durante cinco minutos y poder ser enjuagadas en su totalidad, mientras que los envases de un solo uso usualmente suelen ser enjuagados mediante aire ionizado o agua antes de ser llenados (Chikumbirike, 2021). La elaboración de bebidas azucaradas no carbonatadas requiere de un proceso similar, siendo estas pasteurizadas ya sea por lotes, por pasteurización HTST (*High Temperature/Short Time*) continua antes del llenado, o dentro de la botella, todo esto debido a que no se cuenta con la protección de la carbonatación en contra de un posible deterioro microbiológico. Un llenado aséptico en frío es necesario para bebidas energizantes, tés, aguas de sabor y jugos (Montanari, 2019).

Las condiciones en las que se encuentre la materia prima y el entorno de producción pueden afectar, ya sea de manera directa o indirecta, la inocuidad presente en los productos industrializados, por lo que es imperativo que se cumpla con las etapas establecidas por las BPM y los principios del Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP, por sus siglas en inglés) (Aadil, 2019). A pesar de todo, cualquier método para la producción de

bebidas tendrá un severo impacto negativo sobre un deterioro prematuro de los productos en caso de cometer errores durante los procesos tecnológicos e industriales.

Las levaduras son consideradas como los principales microorganismos causantes del deterioro de bebidas carbonatadas, primordialmente por ser resistentes a altos niveles de carbonatación y sistemas con pH ácido. Muchas de las especies de levaduras pueden desarrollarse en rangos de 1.5 a 8.5 de pH, con un crecimiento óptimo entre valores de 3.0 y 6.5 (Peña, 2024). Al ser productoras de etanol en la fase terminal de la fermentación, los niveles de etanol en bebidas azucaradas con deterioro microbiano pueden sobrepasar los estándares legales para la gama no alcohólica, además de que la fermentación puede causar explosiones o hinchamiento de envases, dependiendo del material con el que se encuentren elaborados. De manera similar, las levaduras pueden alterar el pH de la bebida o consumir sus conservantes (Vion, 2024). Las levaduras que pueden encontrarse en productos deteriorados son los géneros *Brettanomyces* sp. (*B. bruxellensis*, *B. anomala*), *Hanseniaspora* y *Saccharomyces*, siendo esta última muy común, con *S. cerevisiae* siendo capaz de degradar ácido ssórbico para formar 1,3-pentadieno, un hidrocarburo volátil, y el cual genera sabores relacionados a materiales que no son consumidos por el ser humano, como la pintura. Del mismo modo, algunas de estas levaduras poseen enzimas lipolíticas que pueden degradar ácidos grasos (Rivas, 2020).

En ciertas condiciones de crecimiento y tomando en cuenta las especies microbianas que se encuentran, ya sea de manera intrínseca o por un potencial desarrollo, el metabolismo de azúcares en un sistema puede llevar a cabo una creación de ácido láctico, etanol o acetato (Nwamba, 2021). Algunas BAL pertenecientes a los géneros *Leuconostoc* y *Lactobacillus*, tales como *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus paracasei*, *L. brevis* o *L. plantarum*, pueden formarse en bebidas azucaradas que sean elaboradas a partir de jugos naturales de fruta y realizar un deterioro en la calidad del producto, esto debido a su capacidad de soportar entornos con ácido benzoico y ácido sórbico (Shankar, 2021). Para tener un efecto preservativo en productos alimentarios, tales como el jugo de manzana y pepinillos en salmuera, el ácido fórmico ha sido empleado en cantidades específicas como una medida protectora para extender la vida útil (Teixeira, 2023). Los metabolitos de BAL son los principales causantes de la pérdida de carbonatación, aumento de astringencia, y presencia de aromas y sabores desagradables en refrescos, ya que algunas cadenas pueden producir

diacetilo, aunque en las bebidas probióticas fermentadas pueden mejorar el efecto antioxidante del producto en cuestión (Kadyan, 2021).

En cuanto a las acetobacterias o bacterias del ácido acético (BAA), su presencia en bebidas azucaradas es menos común que la de las BAL, ya que por su naturaleza estrictamente aerobia necesitan imperativamente oxígeno para poder desarrollarse (Yassunaka Hata, 2023). Las BAA son microorganismos tolerantes al ácido, por lo que pueden crecer en medios con un pH que se encuentre en un rango de 3.0 a 5.0, produciendo ácidos acético, glucónico, láctico y succínico, así como cetonas y acetaldehídos (Xu, 2020). Muchas BAA tienen también una tolerancia a varios conservantes que suelen ser aplicados en la industria alimentaria, incluyendo benzoatos, sorbatos y carbonato de dimetilo, dando esto como resultado en una modificación notoria en la taxonomía de este tipo de bacterias, ya que nuevos géneros han podido ser aislados y métodos en innovación identificativa han sido concebidos (Gomes, 2018). Su crecimiento en bebidas azucaradas puede generar cambios desagradables en su sabor, y abultamiento, sedimentaciones y empañamiento en sus envases, con algunas de sus especies siendo adicionalmente capaces de generar biopelículas. Es por ello que existen riesgos con las BAA en bebidas que sean embotelladas en contenedores con permeabilidad al oxígeno, como ciertas botellas de material PET (Han, 2024). Coliformes como lo son del género *Citrobacter*, *Enterobacter* y *Klebsiella*, así como otros miembros de *Enterobacteriaceae*, son usualmente tolerantes al ácido, aunque algunas pueden reproducirse en jugos con valores de pH menores a 5.0. Polímeros extracelulares pueden también crecer y microorganismos de característica Gram negativa pueden ser detectados como parte de consorcios microbianos en biopelículas presentes en plantas (Hernández-Anguiano, 2016).

Esporas fungales o conidios, así como fragmentos de micelio, pueden contaminar bebidas azucaradas durante o después de su elaboración, siendo visibles por su característica física de color blanco y esponjosa, equiparable al algodón (Rico-Munoz y dos Santos, 2019). El moho, así como las levaduras, puede aparecer en espacios de manufactura en donde se cuente con una poca o nula inocuidad, al igual que mediante un esparcimiento de envases ya contaminados (Hernández y Martínez, 2018). Su contenido de agua y alto nivel de acidez son las condiciones básicas para lograr el deterioro de bebidas azucaradas por estos agentes patógenos. Los valores limítrofes de pH para su crecimiento dependen de otros factores como

la actividad acuosa, temperatura y el tipo de ácido que esté siendo empleado en el proceso. Cabe mencionar que el ácido cítrico, el ácido fosfórico y el ácido tartárico impulsan el crecimiento en pH con valores inferiores a 6.0 cuando ácidos como el acético o el láctico están presentes (Mustafa, Anwer y Zrary, 2023). Ahora, su principal diferencia con las levaduras es que el moho si necesita de oxígeno para lograr su reproducción, exceptuando algunas especies que pueden desarrollarse en concentraciones bajas de oxígeno, tal es el caso del sistema perteneciente a los refrescos, en el que esporas fungales como *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Cladosporium*, y *Fusarium* no pueden crecer pero si sobrevivir en él, así también como en espacios industriales. Dichas esporas producen pectinasas que resultan en cambios no deseados del aroma y sabor del producto, y de manera más frecuente, en la formación exacerbada de gas (Sohlberg, Sarlin y Juvonen, 2022). La contaminación por moho también puede causar la pérdida de color, la formación de alérgenos y la producción de componentes tóxicos como las micotoxinas, las cuales son metabolitos fungales que pueden causar enfermedades o muerte prematura tras su ingesta, inhalación o absorción, tanto en personas como animales (Omotayo, 2019). Cuando se encuentran presentes en grandes cantidades, las micotoxinas pueden tener efectos tóxicos que van desde daños al riñón e hígado hasta incrementar el riesgo de padecer cáncer y suprimir el sistema inmunológico. Las micotoxinas que suelen aparecer con mayor frecuencia en alimentos y bebidas son las producidas por los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, y *Alternaria* (Mayerová, 2022).

2. METODOLOGÍA

2.1 Diseño experimental

La elaboración de la bebida se llevó a cabo a través de un proceso fermentativo previo a 27.5 °C. Con la finalidad de determinar las condiciones óptimas del sistema de fermentación, se realizó un diseño factorial unidireccional, tomando como variables independientes la tasa de adición de azúcares y la concentración de sólidos solubles y como variables dependientes la velocidad de fermentación (consumo de azúcares) y nivel de pH. Como resultado del diseño factorial, se propusieron cuatro sistemas de fermentación variando la concentración (1:1, 1:3) y tipo de azúcar, así como también el tipo de agua utilizada (1:1, 2:1) para solubilizar los azúcares (Tabla 1).

Tabla 1. Composición de los Sistemas de fermentación

	Inóculo (g)	Azúcares (g)		Agua (ml)	
		Refinada	Mascabado	Mineral	Natural
Sistema 1	1.7	21	21	251.37	251.37
Sistema 2	2.4	21	21	251.37	251.37
Sistema 3	1.7	10.25	31.75	326.79	175.96
Sistema 4	2.4	10.25	31.75	326.79	175.96

Para la elaboración de las bebidas pretotipo, el producto obtenido de la fermentación se mezcló con la matriz saborizante (jugo de zarzaparrilla comercial), previamente caracterizada, evaluándose color, nivel de pH y concentración de sólidos solubles. La proporción entre la base fermentada de GBP y el jugo de zarzaparrilla fue de 1:3. Enseguida, las bebidas pretotipo fueron caracterizadas fisicoquímicamente, se llevó a cabo la evaluación sensorial y la estabilidad durante el almacenamiento (4°C, 32 días).

Por otro lado, la elaboración de la bebida prototipo, se llevó a cabo considerando el análisis de resultados de las bebidas pretotipo, se seleccionó el sistema de fermentación que mejor se adecuó a los requerimientos sensoriales y nutricionales. Finalmente, para verificar

las características del producto, se llevó a cabo el análisis fisicoquímico evaluando color, pH, concentración de sólidos y evaluación sensorial, a fin de determinar el grado de aceptabilidad sensorial mediante una escala hedónica.

2.2 Materiales y métodos

Para la fermentación del inóculo, se emplearon distintos insumos, tales como agua mineral de manantial de origen natural (Ciel, The Coca-Cola Co., México), agua potable comercial no clorada (Ciel, The Coca-Cola Co., México), un cultivo estandarizado de GBP (Yemoos Nourishing Cultures), azúcar refinada comercial (Zulka, México) y azúcar mascabado comercial (Zulka, México), así como frascos Quattro Stagioni de 502.75 ml. Las bebidas fueron adicionadas con jugo natural de zarzaparrilla (*S. aspera*) proveniente de Teocelo, México, como fuente de sabor, y posteriormente embotelladas con frascos de 260 ml.

2.2.1 Preparación de los sistemas de fermentación

Los diagramas metodológicos para la elaboración de pre y prototipos se muestran en las Figuras 1 y 2 respectivamente. En una campana de flujo laminar, primero se disolvieron los azúcares en el agua natural, se añadió el inóculo y finalmente se incorporó el agua mineral. Los sistemas de fermentación fueron almacenados en frascos de vidrio con cierre hermético y se utilizó una gasa para cubrir la parte superior del frasco antes de colocar la tapa. La composición de los sistemas de fermentación se describe a continuación:

Para la elaboración del sistema 1 y 2 se utilizaron 1.71 g y 2.4 g de inóculo respectivamente. Como fuente de carbono: 21 g de azúcar refinada y 21 g de azúcar mascabado en una proporción 1:1, los azúcares se disolvieron utilizando 502.6 ml de agua guardando una proporción de 1:1 entre el agua natural y mineral utilizada.

Para los sistemas 3 y 4 se utilizaron 1.71 g y 2.4 g de inóculo respectivamente. El sustrato estaba compuesto de: 10.25 g de azúcar refinada y 30.75 g de azúcar mascabado, guardando una proporción de (1:3). Los azúcares se disolvieron utilizando 502.6 ml de agua, manteniendo una proporción de 2:1 entre el agua natural y mineral utilizada.

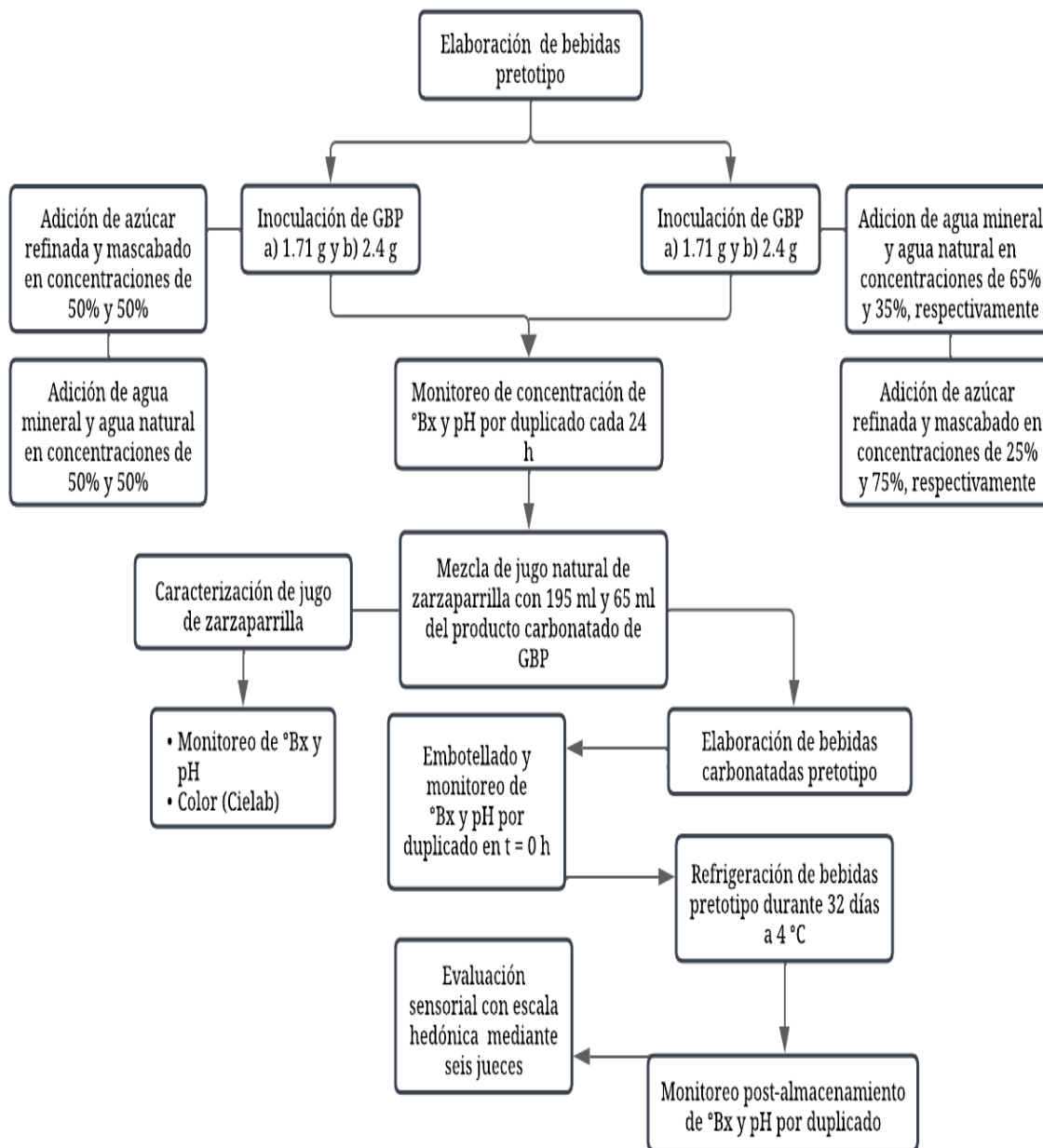


Figura 1. Diagrama general de elaboración de bebida carbonatada pretotipo a base de GBP.

Fuente: Elaboración propia.

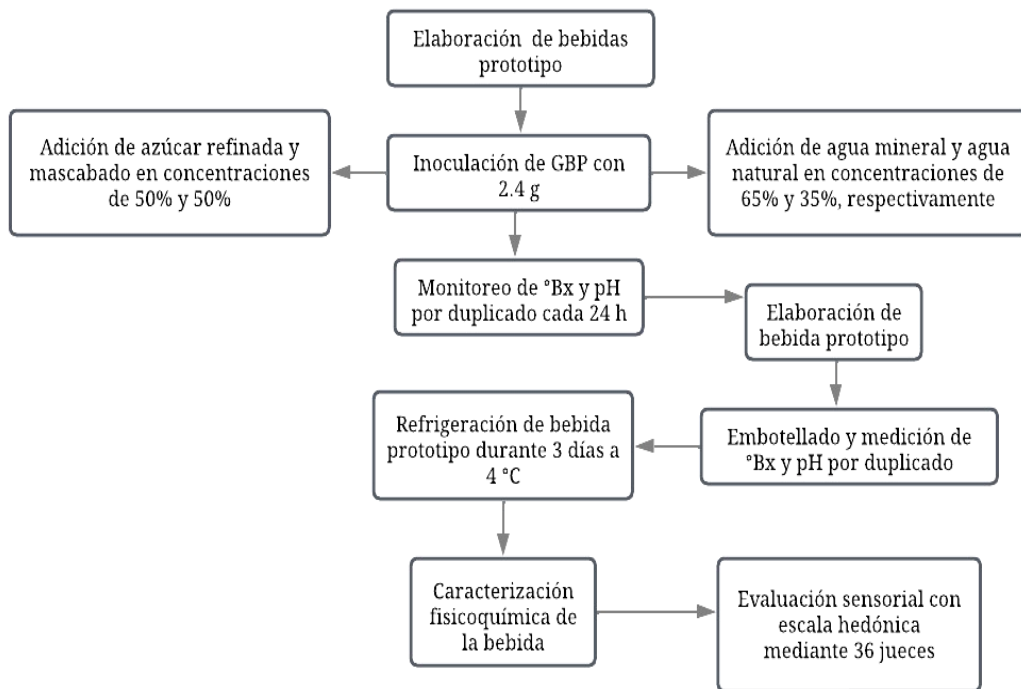


Figura 2. Diagrama general de elaboración de bebida carbonatada prototipo a base de GBP.

Fuente: Elaboración propia.

2.2.2 Cinéticas de fermentación

El monitoreo de un proceso fermentativo es crucial para asegurar la calidad, eficiencia y seguridad del producto final. A continuación, se describen los parámetros clave que se monitorearon cada 24 horas, y los métodos utilizados.

2.2.2.1 Determinación de acidez titulable

Se colocaron 9 ml de muestra en un matraz Erlenmeyer de 250 ml, agregando 100 ml de agua destilada hervida y fría utilizando fenolftaleína como indicador. La titulación se realizó con una solución 0.1N de hidróxido de sodio (NaOH) y el porcentaje de acidez se calculó como Nielsen (2008):

$$\% \text{ acidez} = \left[\frac{(0.064)(\text{Normalidad de NaOH})(\text{ml de NaOH})}{\text{Gramos de la muestra}} \right] (100)$$

Ec. 1

2.2.2.2 Determinación de sólidos solubles

La determinación de sólidos solubles se realizó utilizando un brixómetro calibrado (Atago, 3810 PAL-1) a 25 °C, tomando aproximadamente 2 ml de la muestra con apoyo de pipetas Pasteur de plástico (NOM-199-SCFI-2017).

2.2.2.3 Medición de pH

Las mediciones de pH se llevaron a cabo utilizando un potenciómetro (WPA, CD 510) previamente calibrado con buffer 4.0 y 7.0, esperando 60 segundos antes de tomar la lectura (Shim, 2012).

2.2.2.4 Determinación de cinéticas de fermentación

Para determinar la velocidad de consumo de azúcares, se realizaron mediciones de concentración de °Brix y pH al inicio del proceso y se tomaron muestras cada 24 h hasta alcanzar un pH final preestablecido entre un rango de valores de 3.5 a 4 (Kregiel, 2015). Con dichas mediciones se realizaron las cinéticas de °Brix y pH vs tiempo de fermentación. Posteriormente, se calculó el rendimiento de biomasa y sustrato, utilizando la siguiente ecuación (Adiandri, 2021):

$$Y_{x/s} = \frac{X_0 - X}{S_0 - S} \quad \text{Ec. 2}$$

donde S_0 se refiere a la concentración inicial de azúcares totales, S a la concentración final de azúcares totales, X_0 a la concentración inicial de biomasa, y X como la concentración final de biomasa.

2.2.2.5 Balance de masa

Para calcular el peso de la biomasa final se llevó a cabo el balance de materia por componentes utilizando las siguientes ecuaciones:

$$\dot{m}_1 + \dot{m}_2 = \dot{m}_3 + \dot{m}_4 \quad \text{Ec. 3}$$

$$\dot{m}_1(x_{S1}) + \dot{m}_2(x_{S2}) = \dot{m}_3(x_{S3}) + \dot{m}_4(x_{S4}) \quad \text{Ec. 4}$$

$$\dot{m}_1(x_{H1}) + \dot{m}_2(x_{H2}) = \dot{m}_3(x_{H3}) + \dot{m}_4(x_{H4}) \quad \text{Ec. 5}$$

Para los respectivos balances de materia por fracciones, \dot{m} se refiere a la masa del inóculo, x_s a la fracción de sólidos, y x_H al contenido de humedad. De manera específica, la serie \dot{m}_1 , \dot{m}_2 , \dot{m}_3 y \dot{m}_4 indica el peso de la masa del inóculo seco, la masa al iniciar la activación del inóculo, la masa final dentro del sistema fermentativo y el peso de la masa drenada, respectivamente. Estas ecuaciones fueron empleadas para calcular la \dot{m}_3 y fracciones necesarias, como se muestra en la Figura 3, utilizando los valores de °Bx que se obtuvieron a lo largo de las mediciones.

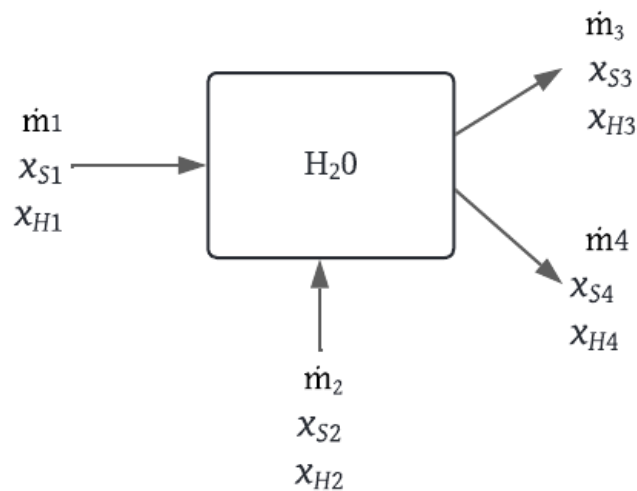


Figura 3. Balance de masa por componentes

Fuente: Elaboración propia

2.2.2.6 Parámetros cinéticos

Se contemplaron ciertos parámetros y aspectos del sistema biológico del inóculo de GBP a través de la velocidad específica de crecimiento (μ) a través de sus respectivas ecuaciones (Torres y Camacho Kurmen, 2022). El tiempo de duplicación se refiere al lapso específico que tarda la biomasa en duplicarse, y se obtuvo a partir de:

$$td = \ln(2) / \mu t \quad \text{Ec. 6}$$

La producción total de biomasa indica la cantidad final de biomasa producida durante un periodo específico de tiempo, donde X_0 se refiere a la biomasa inicial:

$$X_t = X_0 e^{\mu t} \quad \text{Ec 7.}$$

La relación de sustrato permite comparar las cantidades producidas de la biomasa (ΔX) y del sustrato (ΔS):

$$X/S = \Delta X/\Delta S \quad \text{Ec 8.}$$

Por último, el consumo específico mide el consumo de sustrato por unidad de biomasa por unidad de tiempo:

$$q_s = \mu / Y_{X/S} \quad \text{Ec 9.}$$

2.2.2.7 Análisis colorimétrico

Se llevó a cabo en un colorímetro (Hunterlab, COLORFLEX EZ) en escala CIELAB (Figura 4) colocando 9 ml de muestra en una caja Petri de vidrio; posteriormente, se determinaron los parámetros Hue y Chroma mediante las siguientes ecuaciones (Pazda y Thorstenson, 2018):

$$Chroma = (a^2 + b^2)^{\frac{1}{2}} \quad \text{Ec. 10}$$

$$Hue = 180^\circ C + \tan^{-1} \left(\frac{b}{a} \right) \text{ para } a < 0: b > 0 \quad \text{Ec. 11}$$

$$\text{Hue} = 360^\circ C + \tan^{-1}\left(\frac{b}{a}\right) \text{ para } a > 0: b < 0 \quad \text{Ec. 12}$$

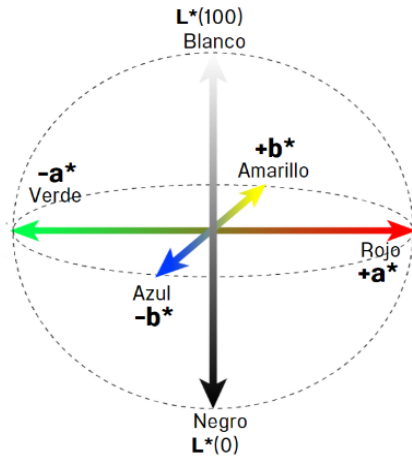


Figura 4. Espacio de color CIElab
Fuente: Imagen adaptada y modificada de Ly et al (2020)

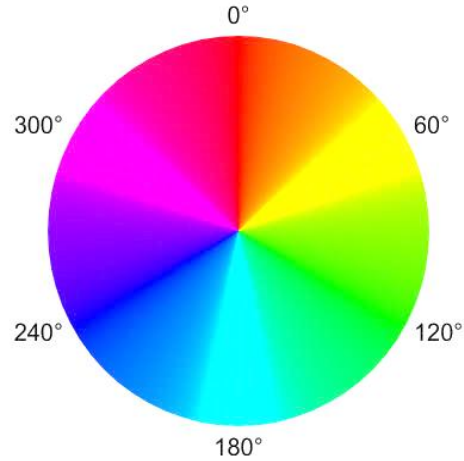


Figura 5. Círculo cromático
Fuente: Imagen adaptada y modificada de Witt (2014)

Hue indica la tonalidad de un alimento, ya que representa los colores primarios junto con todos los matices que pueden ser situados en un campo cromático (ver Figura 5), mientras que Chroma se refiere a la saturación. Los valores L , a y b se refieren, respectivamente, a la luminosidad de negro a blanco, de rojo a verde, y de azul a amarillo (Figura 4) (Pandiselvam et al, 2023). Finalmente, se calculó la diferencia neta de color (ΔE) entre el jugo natural de zarzaparrilla tomado como control y las bebidas mediante la Ec. 13.

$$\Delta E = (\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2)^{\frac{1}{2}} \quad \text{Ec. 13}$$

2.2.2.8 Análisis sensorial

Se realizaron pruebas sensoriales de aceptabilidad empleando panelistas no entrenados en un rango de edad entre los 18 y 25 años, denotando tanto agrado como desagrado con respecto al aroma, sabor y sensación de burbujeo característicos de las muestras. Se utilizó una escala hedónica calificativa de cinco puntos (Muy agradable,

agradable, ni agradable ni desagradable, desagradable y muy desagradable) que será utilizada para indicar las propiedades sensoriales del aroma, sabor y la sensación de burbujeo (Cardello, 2017). La evaluación sensorial de los pretotipos y el prototipo se realizaron con seis y 35 panelistas, respectivamente.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Elaboración de los sistemas de fermentación

En la figura 6 se observan las imágenes que corresponden a los cuatro sistemas de fermentación. Dependiendo del sistema se observan cambios físicos relacionados con la coloración y el burbujeo que se atribuyen al tipo y a la concentración de azúcares utilizados, así como también a la cantidad de agua mineral adicionada en cada formulación.

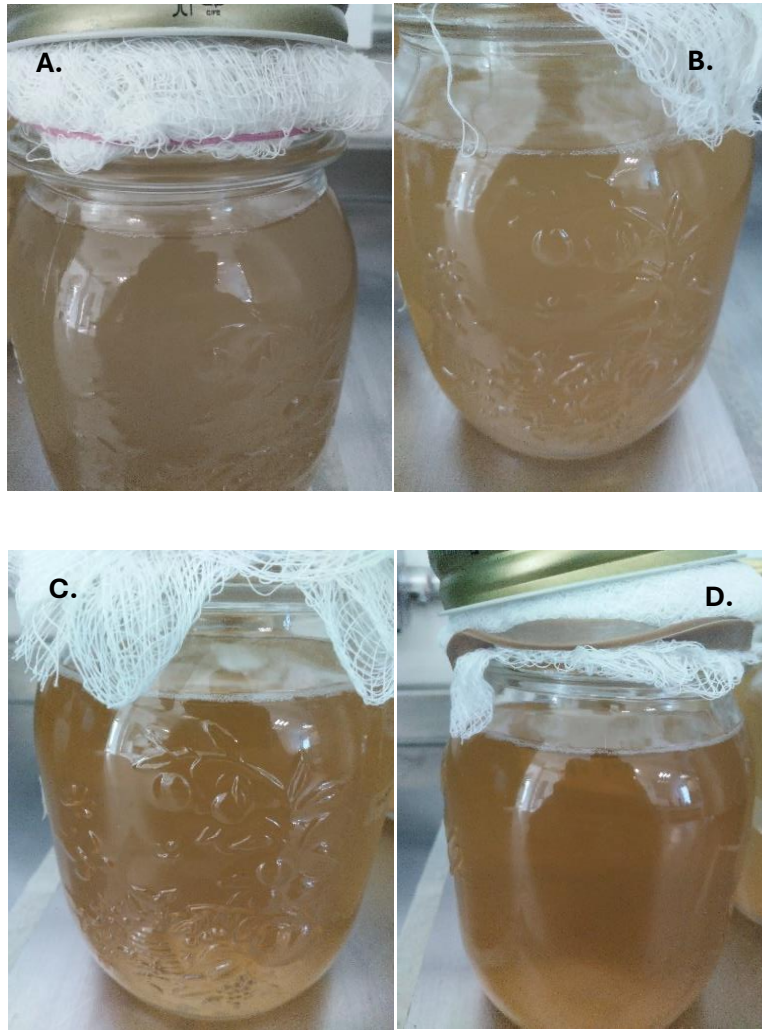


Figura 6. Sistemas de fermentación.

A. Sistema 1; **B.** Sistema 2. **C.** Sistema 3. **D.** Sistema 4

3.2 Cinéticas de fermentación

El pH y los °Bx tienen un efecto importante sobre el crecimiento y estabilidad de los microorganismos (Bazán et al, 2022). Los resultados de las cinéticas de °Bx y pH de los cuatro sistemas fermentativos (216 h, 27.5°C) se presentan en la Figura 7.

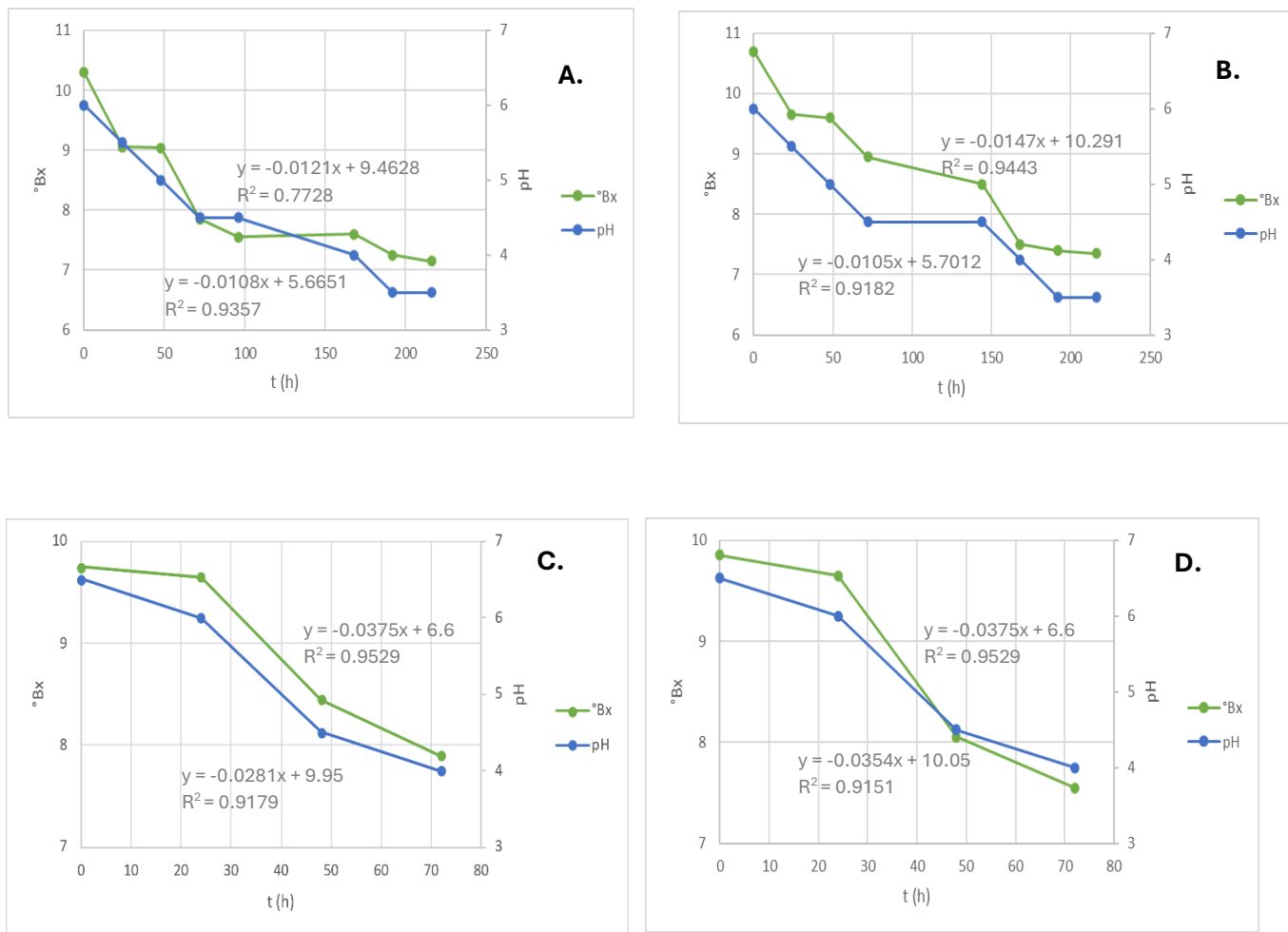


Figura 7. Cinéticas de reacción (°Bx y pH) de los sistemas de fermentación.

A. Sistema 1; **B.** Sistema 2. **C.** Sistema 3. **D.** Sistema 4

El Ginger Beer comercialmente estandarizado tiene un rango de pH entre 3 y 4 (Nunes Filho et al, 2021; Tozetto, 2019). Los sistemas 1 y 2 alcanzaron un nivel de pH de 4 después de las 168 horas de fermentación. Debido a la actividad microbiana, el pH continuó descendiendo hasta alcanzar un valor de 3.5 a las 192 horas. Por otro lado, en los sistemas 3 y 4, el tiempo de fermentación disminuyó considerablemente, probablemente debido al uso de una mayor cantidad de inóculo, alcanzando un nivel de pH de 4 a las 72 h.

Como se mencionó el GBP es una colonia simbiótica conformada principalmente por *S. florentinus* y *L. hilgardii*, cuyo metabolismo genera el sabor característico a la bebida. *S. florentinus* es una levadura que crece a una temperatura óptima de 25°C e induce fermentaciones en soluciones de sacarosa, produciendo CO₂, y etanol a partir de glucosa (Lencioni, 2016). Mientras tanto, *L. hilgardii* es un bacilo grampositivo presente en vino y mosto de uva, con la capacidad de generar ácido láctico, ácido acético y CO₂ (Jackson, 2020).

El consumo de azúcares durante la fermentación se puede observar con la disminución de los °Bx (Figura 7). Los cambios en el nivel de pH se atribuyen a los metabolitos producidos durante la fermentación, como el ácido acético, láctico y dióxido de carbono, las modificaciones en el nivel de pH pueden afectar la actividad metabólica de los microorganismos fermentación (Seer y Nandong, 2015). Estos metabolitos también influyen en las propiedades sensoriales de los productos fermentados, la producción de CO₂ puede generar una ligera carbonatación que puede favorecer el sabor. Esta carbonatación es visible y puede hacer que varios gránulos de GBP se eleven a la superficie para liberar CO₂ y nuevamente regresar al fondo del frasco (Yeemos, 2024).

Por otro lado, el tiempo de fermentación en los sistemas 1 y 2 disminuye de ~216 h a ~72 h, a pesar de aumentar la cantidad de inóculo utilizado entre sí. El tipo de azúcar y el contenido de agua mineral también influyen en la fermentación, el uso de agua mineral puede mejorar la interacción entre los insumos y el inóculo (Philip Ifesinachi, 2018), permitiendo su viabilidad, contrariamente, el agua destilada puede desintegrar los gránulos a largo plazo debido a la falta de minerales (Lenaburg et al, 2016), por su parte, el azúcar mascabado contiene pequeñas cantidades de nutrientes propios del jugo de la caña, así como también algunas vitaminas del complejo B y minerales como potasio, calcio, sodio, magnesio, fósforo, selenio y hierro (Chen, 2021) que podrían mejorar la calidad de la fermentación y la viabilidad del consorcio microbiano utilizado.

Por último, es importante mantener controlada la temperatura durante el proceso fermentativo ya que influye en el desarrollo biológico de los microorganismos, tanto *L. hilgardii* como *S. florentinus* son bacterias mesófilas que se desarrollan en rangos de temperatura entre 10 y 45 °C, específicamente *L. hilgardii* creciendo de mejor manera entre 30 y 35 °C (Jackson, 2020), mientras que *S. florentinus* en un rango comprendido de 25 a 30 °C (Bruner y Fox, 2020).

En las Figuras 8 y 9 ejecutadas mediante una simulación de Matplotlib, se muestran las respectivas gráficas generales de crecimiento de biomasa, consumo de sustrato y cambio de pH. La Figura 8 se basa en una visualización del programa basada en detener la fermentación durante las primeras 10 h, mientras que la figura 9 ilustra los tiempos reales de durante 72 h de cada sistema llevados a cabo por el GBP. Las gráficas superiores corresponden al crecimiento de biomasa, el cual indica que dicho crecimiento es más lento hacia el final debido a la disminución del pH y el agotamiento del sustrato. De acuerdo a un estudio realizado por Dahiya, Rapoport y Singh (2024), la manipulación de los niveles de sustrato puede mejorar o dañar la productividad y eficiencia microbiana, ya que el manejo adicional de la disponibilidad del sustrato puede impactar significativamente el rendimiento y el rango de la formación de bioproductos.

El consumo de sustrato, el cual se presenta en las gráficas intermedias, muestra como el sustrato se consume más rápido al inicio, pero a medida que el pH baja, la tasa de consumo se ralentiza. El pH no solamente afecta la actividad de las enzimas, sino también la carga química y forma del sustrato, por lo cual el sustrato no puede unirse al sitio activo del sistema o no puede ser catalizado para formar un producto (Espinoza-Vergara, 2022).

Por último, las gráficas inferiores muestran el cambio de pH que desciende de 6.0 a 4.0 de manera proporcional al consumo del sustrato, con una pendiente más pronunciada al inicio y estabilizándose al final. La reducción del pH impacta significativamente el crecimiento microbiano, especialmente hacia el final de la fermentación, debido a que el consorcio se adapta parcialmente al cambio de pH, pero con una reducción en la eficiencia metabólica (Lund, 2020).

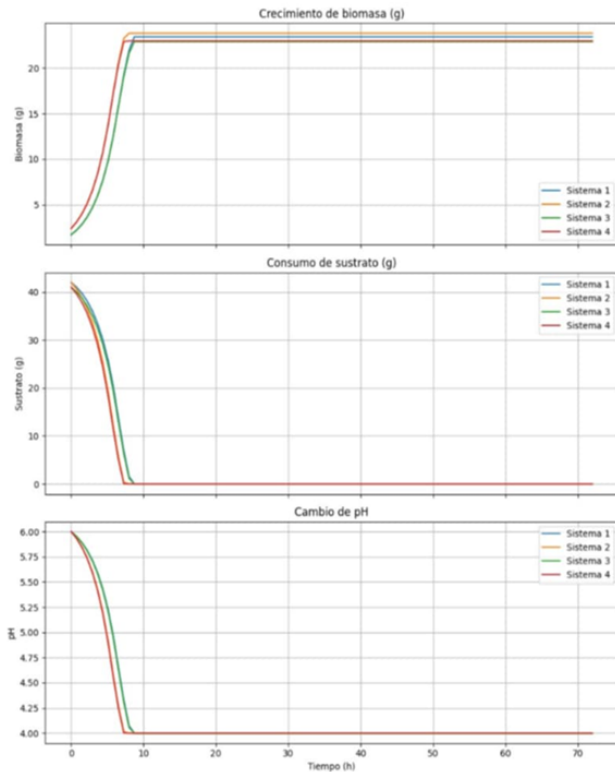


Figura 8. Gráficas de crecimiento de biomasa, consumo de sustrato y cambio de pH, simulación a 10 h.

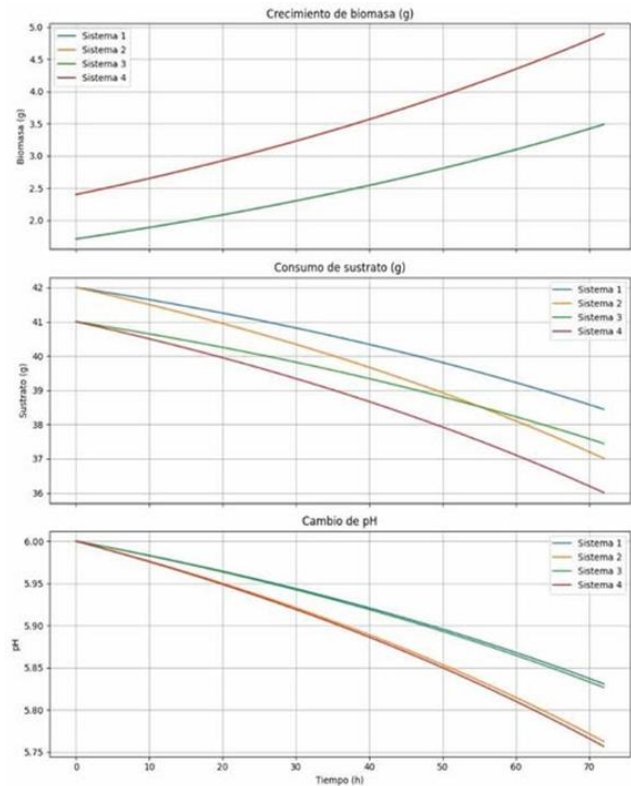


Figura 9. Gráficas de crecimiento de biomasa, consumo de sustrato y cambio de pH, fermentación a 72 h

3.3 Rendimiento biomasa/sustrato en los sistemas de fermentación y parámetros cinéticos

Calcular el rendimiento biomasa/sustrato es crucial en procesos biotecnológicos y de producción industrial, ya que permite entender la eficiencia con la que un microorganismo o un sistema biológico convierte un sustrato (como glucosa, almidón, o cualquier otra fuente de carbono) en biomasa (células o materia biológica) (Adiandri, 2021). Tomando en cuenta la cantidad de sustrato y el peso de la biomasa inicial y final se calcularon los rendimientos biomasa sustrato utilizando la ecuación 2, los resultados se muestran en la Tabla 2. El diferencial del contenido de azúcares (Δ_A) de los sistemas es muy similar, sin embargo, si se observan diferencias en la cantidad de biomasa (Δx) obtenida después de la fermentación. El rendimiento biomasa sustrato ($Y_{x/s}$) de los sistemas 3 y 4 fue mayor probablemente debido al tipo de sustrato utilizado, y al uso de una mayor cantidad de inóculo. Si el rendimiento biomasa/sustrato es mayor significa que se está produciendo más biomasa por unidad de

sustrato consumido. En otras palabras, el proceso es más eficiente en convertir el sustrato en biomasa. Esto suele ser deseable en procesos biotecnológicos o de fermentación, donde se busca maximizar la cantidad de biomasa producida a partir de una cantidad dada de sustrato, por otro lado, cuando el rendimiento es menor, significa que se está produciendo una menor cantidad de biomasa por unidad de sustrato, esto podría ser deseable cuando la fermentación se lleve a cabo con la finalidad de obtener subproductos.

Tabla 2. Rendimiento biomasa/sustrato de los sistemas de fermentación

Muestra	Biomasa (g)	$Y_{x/s}$	Δ_A	Δ_x
Sistema 1	2.36	1.57	2.46	0.03
Sistema 2	3.47	2.19	3.58	0.03
Sistema 3	2.52	5.17	2.62	0.02
Sistema 4	2.82	4.66	2.99	0.02

La biomasa de inóculo de GBP tras ocho días de fermentación fue cuantificada con 15.03 g y un porcentaje de humedad de 79.54. En peso húmedo, se mensuraron 15.74 g con una diferencia de 0.77 en charola, mientras que para el peso seco, el cual indica cantidades aún más precisas debido a la eliminación de posibles alteraciones que puedan surgir por el contenido de agua en el producto, 15.45 g resultaron en el peso del sistema, tomando en cuenta los 0.42 g de la charola de depósito en donde se realizaron las pruebas. Tomando en cuenta el dato anterior sobre el porcentaje de humedad (0.79 g) y las cantidades de inóculo pesadas al final de la fermentación, se obtienen los pesos secos finales de la biomasa, que se presentan en la tabla 3. Al realizar una comparación entre los valores de peso inicial y final, se observa que el peso seco final muestra un crecimiento de la biomasa en comparación con el peso inicial. Sin embargo, este crecimiento es menor que el peso húmedo final, debido a la presencia de agua contenida en el inóculo al final del proceso fermentativo. Este comportamiento es esperado, ya que el peso seco final refleja la cantidad real de biomasa microbiana generada, sin tener en cuenta el agua presente en las células. Así, el análisis del peso seco final permite evaluar de manera más precisa el crecimiento de la biomasa

microbiana durante la fermentación, mientras que el peso húmedo incluye tanto la biomasa como el agua adherida a la misma.

Tabla 3. Peso seco final de biomasa de los sistemas de fermentación

Sistema	Peso seco inicial (g)	Peso húmedo final (g)	Peso seco final (g)
1	1.71	16.09	3.36
2	2.4	20.45	3.59
3	1.71	19.42	3.53
4	2.4	20.49	3.59

Los parámetros cinéticos de la fermentación del inóculo en cada uno de los sistemas se muestran en la Tabla 4, con los resultados obtenidos empleando sus respectivas ecuaciones (6 - 9).

Tabla 4. Parámetros cinéticos de biomasa de GBP

Sistema	μ_t	td	X_t	X/S	qs
1	0.008	86.64	42.34	0.04	0.2
2	0.009	77.02	42.38	0.04	0.23
3	0.01	69.39	42.42	0.05	0.2
4	0.009	77.02	42.38	0.04	0.23

Como puede observarse, la biomasa del sistema 3 es la que alcanzó una velocidad específica de crecimiento (μ t) más rápida, al igual que un tiempo de duplicación (t_d) menor comparado a los de los otros tres sistemas. Además, se reportaron cantidades más equitativas en la relación biomasa-sustrato (X/S) en dicho sistema, y un consumo específico (q_s) idéntico al del sistema 1. Esto indica que la formulación empleada en el Sistema 3 tiene un desarrollo fermentativo ligeramente superior, tomando en cuenta que los parámetros cinéticos permiten evaluar los rendimientos de biomasa durante su proceso; y de acuerdo a una investigación realizada por Gonzalez del Rosario (2024), los microorganismos presentes en el inóculo se adaptan rápidamente a los residuos de las concentraciones utilizadas, en este caso siendo tanto de azúcar blanca como mascabado.

3.4 Análisis colorimétrico

Los resultados del análisis colorímetro de los sistemas de fermentación se muestran en la tabla 5. De acuerdo con los resultados, se observa que los parámetros L , a , b , varían dependiendo de la composición de los sistemas. En la escala Hunter Lab, la luminosidad (L) se mide en un rango de 0 a 100, donde 0 representa el negro absoluto y 100 el blanco perfecto. En general, el agua pura tiene un valor de L cercano a 100, ya que, al ser transparente, refleja casi toda la luz que llega, la adición de azúcar podría modificar el valor de L , dependiendo de la concentración y el tipo de azúcar, mientras más concentrada esté la solución, menor será el valor de L . Los sistemas 1 y 2 en los que se utilizó una proporción de azúcar refinada y azúcar mascabado de 1:1 tuvieron un valor de $L \sim 70$, mientras que los sistemas 3 y 4 en los que se utilizó una proporción azúcar refinada, azúcar mascabado de 1:3, la luminosidad disminuye.

Por otro lado, los sistemas tienen una ligera coloración verde-amarilla ya que los valores de a son negativos y los de b positivos. El uso de azúcar refinada podría reflejar valores de a y b cercanos a cero, que podrían variar si el azúcar tuviera ciertas impurezas, mientras que el azúcar mascabado, al ser un tipo de azúcar no refinado tiene un color marrón debido a su contenido de melaza, cuando se disuelve en agua esta melaza da lugar a un color característico que se refleja en el aumento en el valor de a y b (Larrauri-García & Saura-Calixto, 2000).

Tabla 5. Espectros colorimétricos de producto fermentado de GBP

Muestra	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	Chroma	Hue
Sistema 1	69.05±0.03 ^a	-6.13±0.03 ^a	42.25±0.82 ^b	605.11±0.16 ^b	63.68±0.59 ^b
Sistema 2	70.66±0.03 ^c	-6.27±0.04 ^a	44.43±0.27 ^b	600.14±0.10 ^b	64.50±0.40 ^b
Sistema 3	53.72±0.27 ^b	-1.02±0.29 ^b	35.28±0.06 ^a	641.90±2.24 ^a	100.08±0.05 ^a
Sistema 4	51.93±0.34 ^b	-1.02±0.23 ^b	33.89±0.03 ^a	640.55±2.01 ^a	99.71±0.04 ^a

Superíndices diferentes en cada columna indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

Para determinar Chroma, se utilizó la Ecuación 10, los valores de todos los sistemas están alrededor de 600, lo que señala una alta intensidad en la coloración. Por otro lado, debido a que $a < 0$ y $b > 0$, se empleó la ecuación 7 para calcular el valor de hue. De acuerdo con la Figura 10 en los sistemas 1 y 2 este ángulo recae en la tonalidad amarilla, mientras que en los sistemas 3 y 4 en la tonalidad verde (Dutta y Nath, 2024). De manera general se observa que los parámetros colorimétricos dependen del tipo y concentración de azúcar utilizados en los sistemas de fermentación. El uso de azúcar mascabado da como resultado una coloración verde, mientras que el uso de azúcar refinada da una coloración amarilla.

3.5 Caracterización de jugo natural de zarzaparrilla

3.5.1 Sólidos solubles totales y pH

El jugo natural de zarzaparrilla se mantuvo en refrigeración a 4°C durante diez días, tuvo una concentración de sólidos solubles de 8.95± 0.42 y un pH de 3.26±0.29. No existe una regulación que señale el nivel de pH y °Bx que debe tener esta bebida, sin embargo, el jugo de zarzaparrilla industrial, industrial A&W Sarsaparilla Root Beer, tiene un valor de pH de 3.46 (Nik Mohd Rosdy, Mohd Amin, y Roslan, 2023). Por otro lado, de acuerdo con reportes de diversos jugos naturales (Electronic Code of Federal Regulations, 2016), gran parte de dichas bebidas tienen entre 9 y 10 °Bx.

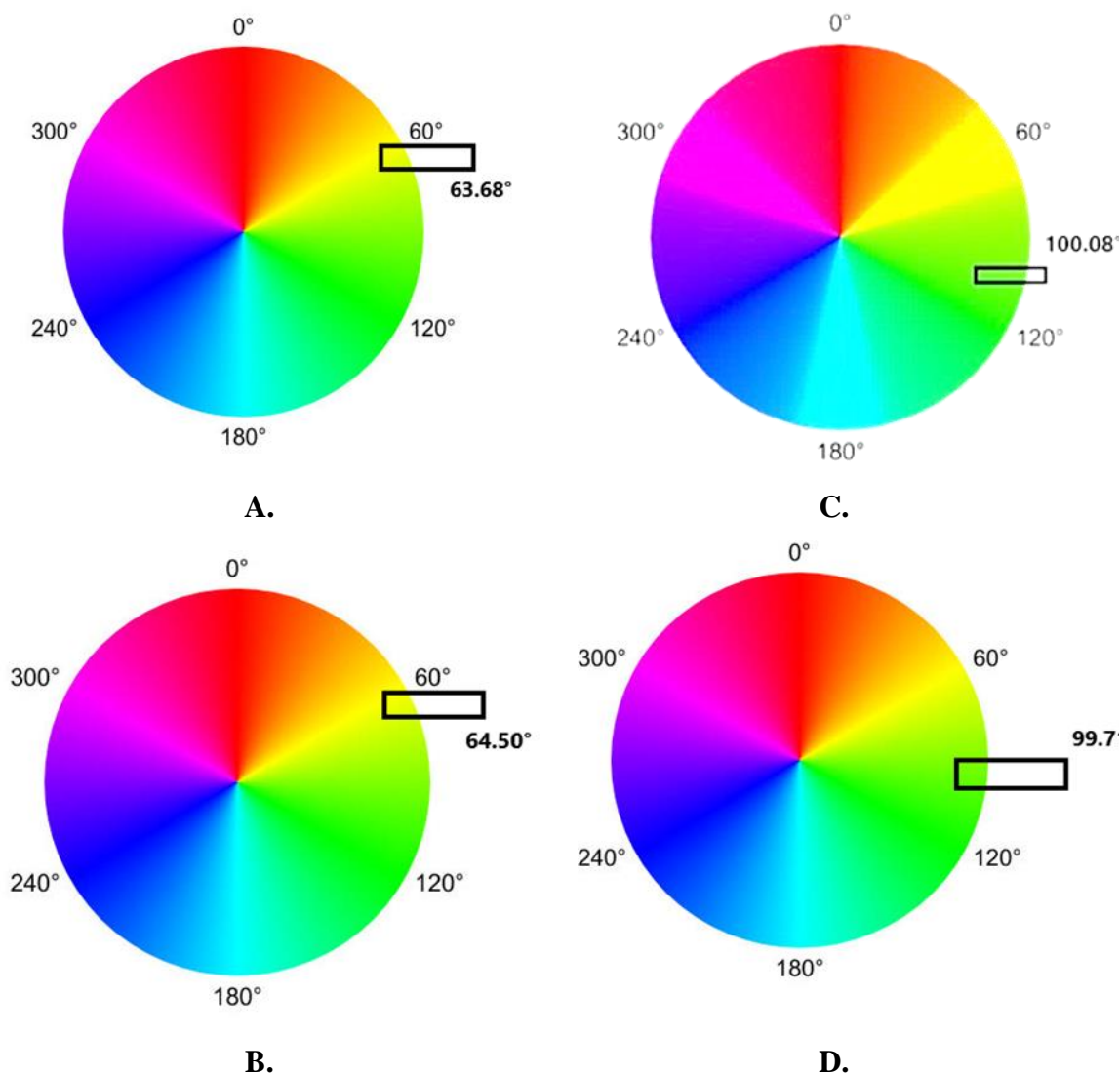


Figura 10. Representación ángulo-circular de valores de Hue para los sistemas de fermentación

A. Sistema 1; **B.** Sistema 2. **C.** Sistema 3. **D.** Sistema 4

Fuente: Imagen adaptada y modificada de Witt (2014).

3.5.2 Análisis colorimétrico

Los parámetros colorimétricos del jugo de zarzaparrilla fueron los siguientes: $L=11.13\pm 0.56$ $a=0.71\pm 0.81$, $b=-0.08\pm 0.24$ Esta bebida a simple vista tiene una coloración oscura, lo que concuerda con el bajo valor de luminosidad obtenido, por otra parte, el valor de a indica una ligera coloración roja, mientras que b al ser negativo, una coloración azul. El

resultado de Chroma (0.49 ± 0.77) corresponde a un grado de saturación obscuro, que coincide con la naturaleza intrínseca del jugo. Por otro lado, como se observa en la Figura 11, el ángulo Hue con valor $334.10^\circ \pm 2.80$ coincide con una tonalidad púrpura que representa la tonalidad principal del jugo.

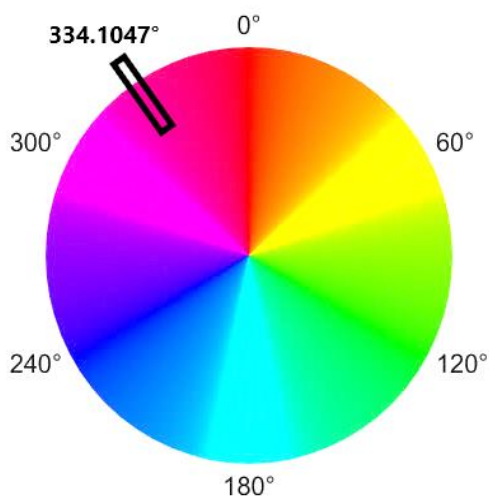


Figura 11. Representación ángulo-circular de valores de Hue para insumo de jugo natural de zarzaparrilla.

Fuente: Imagen adaptada y modificada de Witt (2014).

3.6 Caracterización de las bebidas pretotipo

3.6.1 Sólidos solubles totales y pH

Como se mencionó en la metodología, se tomó una alícuota de los cuatro sistemas de fermentación, posteriormente estas alícuotas fueron mezcladas con el jugo de zarzaparrilla, esta mezcla traería cambios en las propiedades fisicoquímicas de las bebidas, mismos que se describen a continuación. En la tabla 6, se presentan los resultados que corresponden a la medición de °Bx de las bebidas antes y después de su almacenamiento por 32 días a 4°C, no se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$), lo que indica que las bebidas se mantuvieron estables. Por otro lado, el nivel de pH se mantuvo alrededor de 4, si bien, las bebidas no se pasteurizaron, es probable que se mantuvieran estables debido a que la refrigeración puede reducir o inhibir la actividad fermentativa, los productos artesanales son usualmente refrigerados a 4 °C para mantener

sus propiedades biológicas y funcionales, con el fin de evitar cambios no deseables en el sistema, y prevenir la pérdida o multiplicación de comunidades microbianas en productos fermentados con relación al almacenamiento a largo plazo y temperatura (Grassi et al, 2022).

Tabla 6. °Bx de bebidas pretotipo previo a su envasado y tras almacenamiento en refrigeración

Pretotipo	Sistema de Fermentación	°Bx	°Bx
		t = 0 h a 27.5 °C	t = 32 días a 4 °C
Bebida 1	1	10.05±0.46 ^a	10.4±0.00 ^a
Bebida 2	2	10.05±0.46 ^a	10.4±0.00 ^a
Bebida 3	3	9.45±0.46 ^a	9.70±0.014 ^a
Bebida 4	4	10.25±0.07 ^a	10.3±0.00 ^a

Superíndices diferentes en cada fila indican diferencia significativa (p<0.05).

3.6.2 Análisis colorimétrico

Los resultados del análisis colorimétrico de las bebidas pretotipo se muestran en la tabla 7. Se observa que existen diferencias significativas en el nivel de luminosidad de las muestras, los sistemas 3 y 4 son menos luminosos que los sistemas 1 y 2, probablemente debido a la proporción de azúcares utilizada para la elaboración de los sistemas de fermentación. De acuerdo con los resultados de la tabla 5 y los valores de hue (Figura 10), los sistemas 1 y 2 en los que se utilizó una proporción igual de azúcares tienen mayor luminosidad (~70) y una tonalidad amarilla, mientras que los sistemas 3 y 4 en los que se utilizó una mayor cantidad de azúcar mascabado tienen una luminosidad menor (~52) y una tonalidad verde (Dutta y Nath, 2024). Por otro lado, el jugo de zarzaparrilla (tabla 9) al tener una luminosidad baja (~11) y una tonalidad púrpura influye disminuyendo la luminosidad de las bebidas pretotipo (tabla 8). Por lo tanto, la mezcla de los sistemas de fermentación con

la bebida de zarzaparrilla ocasionó que las bebidas pretotipo tuvieran propiedades colorimétricas diferentes a las de los sistemas de fermentación, los valores de *a* fueron positivos mientras que los valores de *b* negativos, lo que indica una coloración rojo-azul en los pretotipos (Dey y Nagabubu, 2022). En cuanto a la intensidad de color, los valores de Chroma en las bebidas ($C^* \sim 0.94$) indican una saturación oscura, mientras que el ángulo hue ($h^* \sim 297.19$) recae en una tonalidad generalmente púrpura (Figura 12).

Tabla 7. Análisis colorimétrico de las bebidas carbonatadas pretotipo a base de GBP y saborizadas con jugo de zarzaparrilla

Muestra	Sistema	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>B</i>	Chroma	Hue
Bebida 1	1	24.72±1.14 ^b	0.65±0.08 ^a	-1.15±0.17 ^a	0.86±0.28 ^a	302.02±1.15 ^a
Bebida 2	2	28.57±1.07 ^b	0.59±0.02 ^a	-1.15±0.01 ^a	0.84±0.03 ^a	302.69±2.13 ^a
Bebida 3	3	22.16±1.51 ^a	0.81±0.12 ^a	-1.25±0.08 ^a	1.12±2.01 ^a	297.19±0.81 ^a
Bebida 4	4	22.89±0.90 ^a	0.72±0.08 ^a	-1.15±0.08 ^a	0.93±0.16 ^a	297.32±2.93 ^a

Superíndices diferentes en cada columna indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

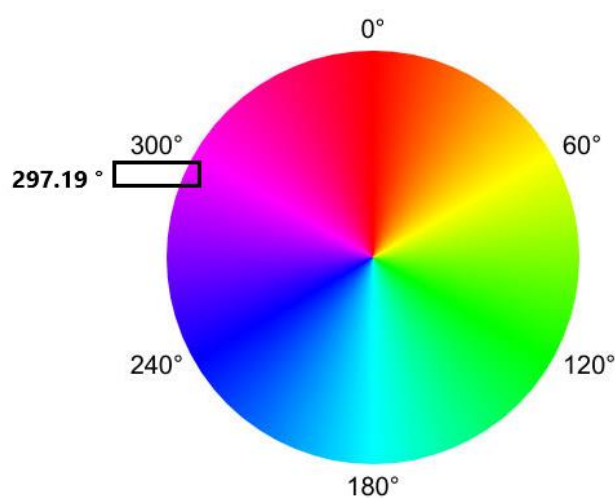


Figura 12. Representación ángulo-circular de valores de Hue para las bebidas pretotipo.

Fuente: Imagen adaptada y modificada de Witt (2014).

3.6.3 Evaluación Sensorial

En la Figura 13 se observan los resultados que corresponden a la evaluación sensorial de las bebidas pretotipo. De acuerdo con la percepción de los panelistas, los sistemas 2 y 3 tuvieron un mejor aroma. El sistema 3 destacó por tener un sabor más agradable que el resto de los pretotipos, mientras que, la sensación de burbujeo no fue relevante (Figura 13 c). Independientemente de la cantidad de inóculo utilizada en la fermentación, el sistema 3 en donde se utiliza una proporción de azúcares refinada y mascabado de 1:3 tuvo una mejor aceptación en sabor (Figura 10 b) que los demás sistemas en donde se utilizó una proporción de azúcares 1:1, por lo que se concluye que la proporción de azúcar utilizada influyó en la evaluación sensorial, más que el uso de una mayor cantidad de inóculo. Sin embargo, la cantidad de inóculo y azúcares si es relevante en el aroma, los sistemas 1 y 2 en los que se utilizó una proporción de azúcares de 1:1 tuvieron, según los panelistas, un aroma desagradable (Figura 10 a), esto podría estar relacionado con la formación de metabolitos secundarios relacionados con el aroma en la fermentación, que quizá esta formación se favorece al aumentar la cantidad de inóculo y variar el tipo de azúcar (Iara-Gomes de Oliveira, et al. 2024).

Para una apreciación alterna de los resultados y con apoyo visual mostrado en la figura 13, es notable como las muestra pretotipo obtuvieron la misma percepción sensorial de manera general por parte de los jueces mediante la escala hedónica, aunque las muestras 2 y 3 en comparación con las otras dos muestras sobresalen en las evaluaciones de aroma, y siendo calificadas en los mismos rangos en sabor y sensación de burbujeo.

3.7. Caracterización de la bebida prototipo

La bebida pretotipo con mayor aceptabilidad fue aquella elaborada a partir del sistema de fermentación 3, dicha muestra tuvo un contenido final de azúcares de 0.097 (~9.7) y un nivel de pH~4 después de 72 h de fermentación. Es importante mencionar que debido al uso de una mayor proporción de azúcar mascabado y agua mineral en los sistemas de fermentación 3 y 4 se haya reducido el tiempo de fermentación de 216 a 72 horas (Figura 7), lo que traería ventajas en la producción de la bebida. Por otra parte, el rendimiento biomasa/sustrato fue de 5.17 (Tabla 2), este rendimiento fue mayor que el de los otros pretotipos, lo que significa que se está produciendo más biomasa por unidad de sustrato

consumido. En otras palabras, el proceso es más eficiente en convertir el sustrato en biomasa. Con base en lo anterior, la bebida pretotipo elaborada a partir del sistema de fermentación 3 fue seleccionada para elaborar el prototipo final.

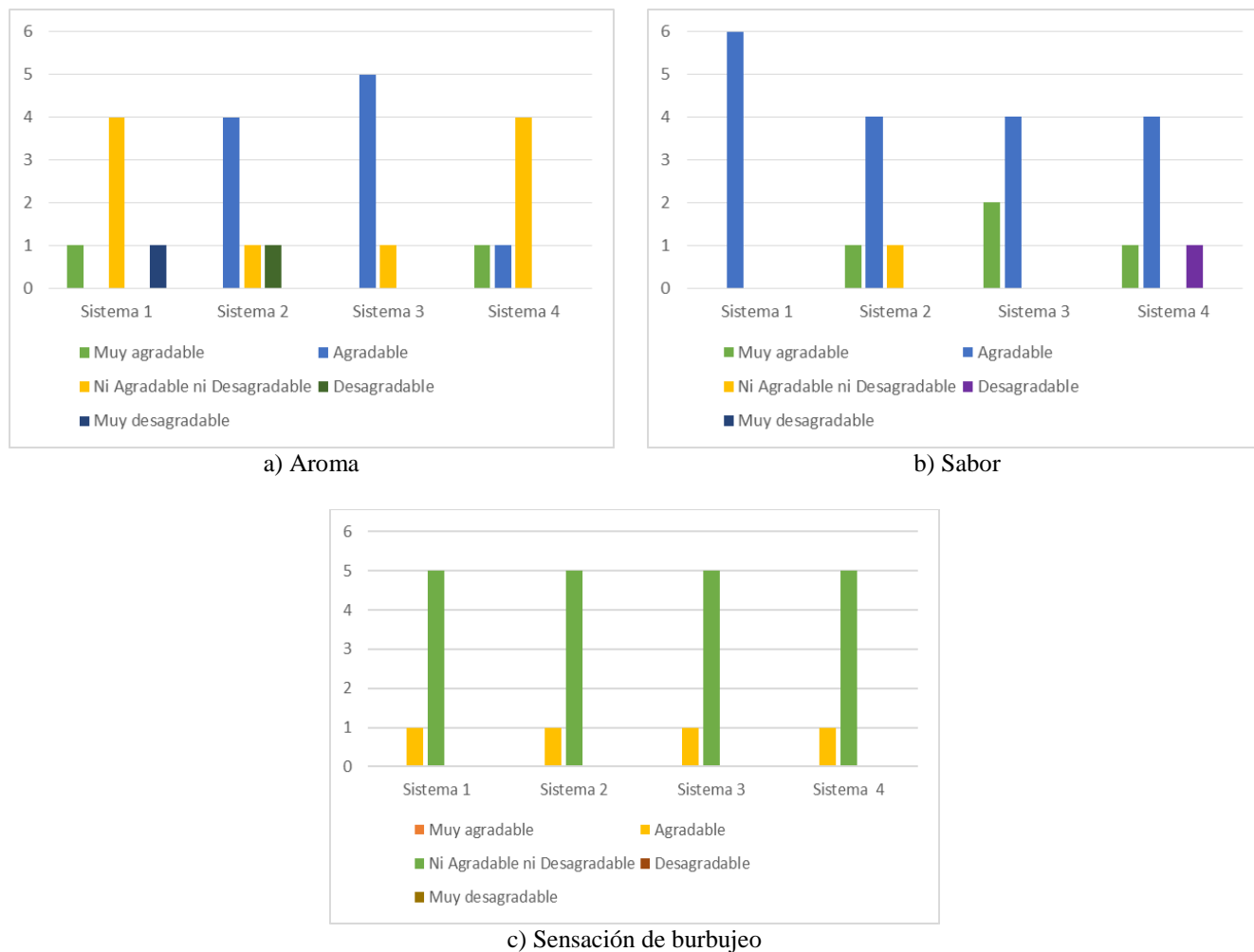


Figura 13. Evaluación sensorial de las bebidas pretotipo.

—●— Muestra 1 —●— Muestra 2 —●— Muestra 3 —●— Muestra 4



Figura 14. Diagrama de araña para análisis sensorial de muestras pretotipo.

3.7.1 Cinéticas de fermentación

Como se mencionó, el sistema de fermentación 3 fue utilizado como base para elaborar la bebida prototipo, los resultados del monitoreo de °Bx y pH se muestran en la Figura 15. El nivel de pH deseado (pH~4) se alcanzó a las ~76 h, tiempo en el que se detuvo la fermentación. La concentración final de sólidos solubles en el prototipo fue de 0.084 (°Bx~8.4).

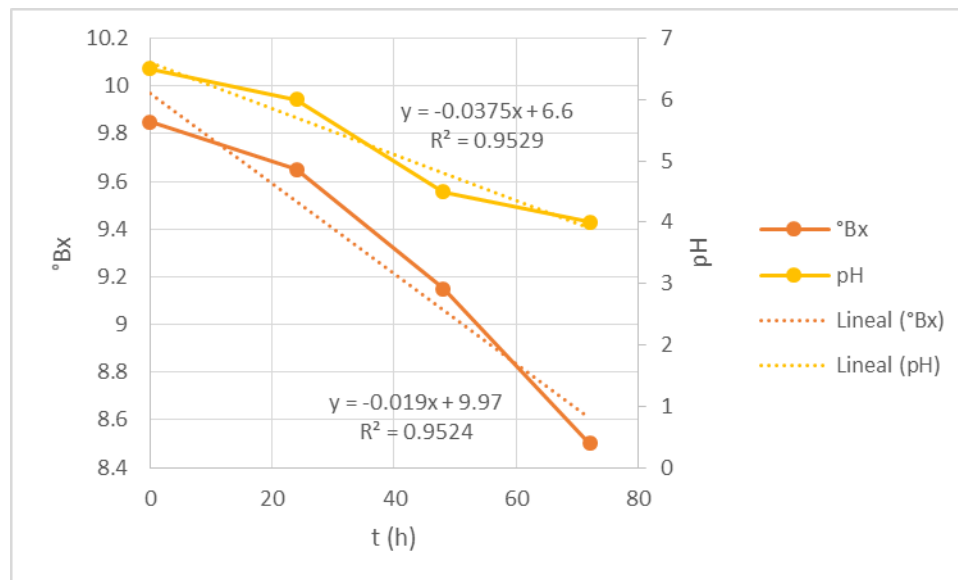


Figura 15. Cinética de fermentación °Bx y pH, Sistema 3.

3.7.2 Rendimiento biomasa/sustrato

En la tabla 8 se presentan los valores utilizados para calcular el rendimiento biomasa/sustrato del sistema de fermentación de la bebida prototipo. De acuerdo con los resultados, los valores de biomasa después de la fermentación fueron muy similares a los del sistema 3 reportados en la tabla 2, por lo que el rendimiento biomasa/sustrato también fue de 5.17.

Tabla 8. Rendimiento biomasa/sustrato

Muestra	Biomasa (g)	$Y_{x/s}$	Δ_A	Δ_X
Pretitopo	2.52	5.168	2.622	0.02
Prototipo	2.53	5.172	2.659	0.03

3.7.3 Sólidos solubles totales, pH y acidez titulable

Para elaborar la bebida prototipo, se tomó una alícuota del sistema de fermentación 3 y se mezcló con el jugo de zarzaparrilla, dando como resultado una bebida con $^{\circ}\text{Bx} = 7.8 \pm 0.1$ y un nivel de pH de ~ 4 , estos valores coinciden con los reportados por Grassi (2022). El porcentaje de acidez de la bebida fue de 0.28%, debido a la presencia de ácido carbónico (H_2CO_3) (Delgado-Pelayo y Hornero-Méndez, 2012), ya que el CO_2 disuelto en la bebida se encuentra como H_2CO_3 (García y Ramírez, 2017).

3.7.4 Análisis colorimétrico

Los parámetros colorimétricos del prototipo final fueron los siguientes: $L = 21.88 \pm 1.45$, $a = 0.61 \pm 0.02$ y $b = -1.13 \pm 0.01$. El bajo valor de luminosidad tiene que ver con la obscuridad de las bebidas (Figura 16), mientras que los valores de a y b indican una ligera coloración rojo y azul (Kim, 2019), estos resultados coinciden con el análisis colorimétrico de los pretotipos.



Figura 16. Prototipo estándar de bebida carbonatada a base de GBP y saborizada con jugo natural de zarzaparrilla

Fuente: Elaboración propia

Por otro lado, el valor de Chroma ($\text{Chroma}=0.81\pm 0.01$) indica un nivel bajo de saturación que se relaciona con la naturaleza oscura del producto mientras que el ángulo hue ($\text{hue}=296.62\pm 0.78$) recae en la tonalidad púrpura (Figura 17). Comparando estos valores con los obtenidos para las bebidas pretotipo se observa que son similares

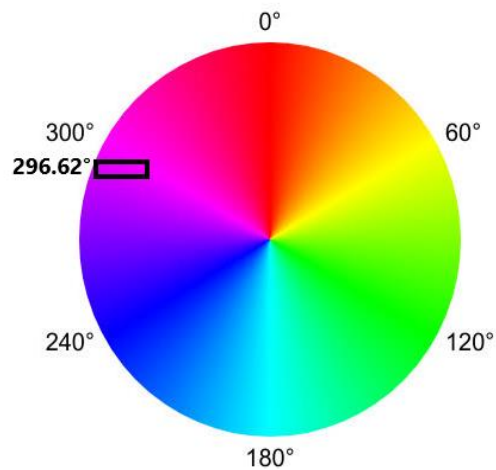


Figura 17. Representación ángulo-circular de valores de Hue para prototipo estándar de bebida carbonatada de zarzaparrilla a base de GBP

Fuente: Imagen adaptada y modificada de Witt (2014)

En la Tabla 9 se resume el análisis colorimétrico del jugo de zarzaparrilla comercial, el sistema de fermentación 3, y las bebidas pretotipo y prototipo. Existen diferencias significativas entre el jugo de zarzaparrilla, el sistema de fermentación y las bebidas, y que las bebidas pre y prototipo tienen características colorimétricas similares.

Tabla 9. Análisis colorimétrico de insumo (jugo natural de zarzaparrilla), producto fermentado de GBP y prototipo final de bebida carbonatada

Muestra	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	Chroma	Hue
Jugo natural de zarzaparrilla	11.13±0.56 ^a	0.71±0.81 ^a	-0.08±0.24 ^c	0.49±0.77 ^b	334.10±2.80 ^a
Sistema de fermentación 3	53.72±0.27 ^b	-1.02±0.29 ^b	35.28±0.06 ^a	641.90±2.24 ^a	100.08±0.05 ^b
Bebida pretotipo	22.16±1.51 ^c	0.59±0.02 ^a	-1.15±0.01 ^b	0.84±0.03 ^c	297.19±0.81 ^a
Bebida prototipo	21.88±1.45 ^c	0.61±0.02 ^a	-1.13±0.01 ^b	0.81±0.01 ^c	296.62±0.78 ^a

Superíndices diferentes en cada columna indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

Para evaluar la diferencia colorimétrica entre mediciones iniciales del jugo de zarzaparrilla con la bebida carbonatada, se empleó la ecuación número 13 con los datos promedio de *L*, *a*, *b*, resultando un valor de $\Delta E = 67.74 \pm 1.09$. En la escala de ΔE , valores cercanos a 0 indican una mayor similitud, mientras que valores próximos a 100 registran una diferencia considerable. Tomando en cuenta que se realizó una medición entre el jugo natural de zarzaparrilla y la bebida carbonatada con dicha matriz adicionada con GBP, existen obvias diferencias colorimétricas.

3.7.5 Evaluación sensorial

Los resultados de la evaluación sensorial del prototipo (Figura 18) indican que en general la bebida tuvo un aroma, sabor y sensación de burbujeo agradables, estos resultados son similares a los obtenidos por Gaonkar (2024), en donde la producción de bebidas fermentadas a base de Ginger Beer y jugo de frutas tuvo una aceptabilidad favorable. A pesar de que en ninguno de los tres atributos se obtuvo la calificación más alta, el hecho de que la

mayoría de los jueces hayan calificado como agradable a la bebida significa que su aceptabilidad es muy buena, tomando en cuenta que tanto la zarzaparrilla como el GBP son productos muy poco habituales, lo que puede dar lugar a sesgos sobre el producto evaluado (Cardello, 2017).

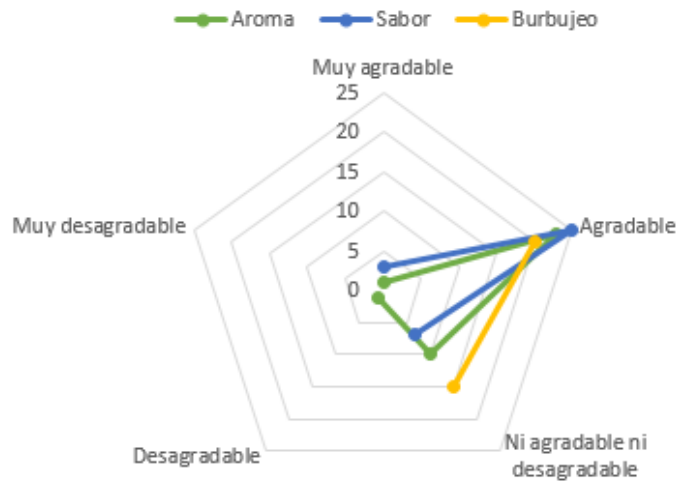


Figura 18. Evaluación sensorial de la bebida prototipo.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Durante el proceso fermentativo de todos los sistemas, se observó una disminución en el nivel de pH y °Bx que está relacionada con el metabolismo de los microorganismos, al usar el sustrato como fuente de energía para la producción de biomasa y metabolitos como el dióxido de carbono, etanol, ácidos acético y láctico. La producción de estos metabolitos modifica el nivel de pH y de acidez del medio. Por otro lado, el tipo de azúcar utilizado influye de forma significativa en la coloración del medio, las muestras donde sólo se utilizó azúcar refinada tienen una coloración verde-amarilla, mientras que las muestras en donde se empleó azúcar mascabado tienen una coloración amarillo-naranja.

La adición de jugo natural de zarzaparrilla a los sistemas de fermentación para la fabricación de las bebidas prototipo modificó de manera significativa el contenido de °Bx de los sistemas de fermentación, más no el pH, ya que ambos insumos tenían un pH~4. Hubo diferencias significativas en el color, debido a las marcadas diferencias en coloración que existen entre los sistemas de fermentación y el jugo de zarzaparrilla natural, dando lugar a la formación de un sistema con propiedades completamente diferentes. Después del almacenamiento por 32 días a 4°C, las bebidas prototipo se mantuvieron estables, ya que no se observaron variaciones ni en el nivel de pH ni en los °Bx, lo que indica que el crecimiento de los microorganismos se ralentizó como efecto de la temperatura al no haber cambios en el contenido de azúcares ni en el nivel de pH, además el bajo nivel de pH influyó positivamente evitando la generación y propagación de microorganismos patógenos en las bebidas.

De acuerdo con los resultados de evaluación sensorial, el producto obtuvo una aceptación satisfactoria tomando en cuenta factores que usualmente influyen en el consumo preferencial de refrescos o bebidas azucaradas, entre ellos el aroma, el sabor y la sensación de burbujeo. La adición del jugo natural de zarzaparrilla se desempeñó como buena matriz saborizante, que le confirió a las bebidas un sabor y olor agradable. Por otro lado, la sensación de burbujeo debido a la producción de CO₂ en los sistemas de fermentación no fue tan detectable por los panelistas, es probable que durante el proceso de elaboración de la bebida se pierda parte del gas durante el mezclado.

La bebida pretotipo con mayor aceptabilidad fue aquella elaborada a partir del sistema de fermentación 3, dicha muestra tuvo un contenido final de azúcares de 0.097 (~9.7), y un nivel de pH~4 después de 72 h de fermentación debido a que se utilizó una mayor proporción de inóculo, lo que redujo el tiempo de fermentación. Por otra parte, el rendimiento biomasa/sustrato fue de 5.17 (Tabla 3), este rendimiento fue mayor que el de los otros pretotipos, lo que significa que se está produciendo más biomasa por unidad de sustrato consumido. Las condiciones de elaboración de esta bebida fueron retomadas para la elaboración del prototipo.

Los resultados de la evaluación sensorial del prototipo indican que en general la bebida tuvo un aroma, sabor y sensación de burbujeo agradables, aunado a esto, tanto el GBP como el jugo de zarzaparrilla natural tienen propiedades benéficas para la salud de quien los consume, aunque se requiere más investigación científica para confirmar algunos de estos beneficios, su uso para la producción de esta bebida carbonatada representa una opción saludable alternativa al consumo de bebidas carbonatadas convencionales.

Durante este trabajo de investigación se logró determinar las condiciones óptimas de elaboración de la bebida fermentada. Sin embargo, hay muchas áreas que podrían tomarse en cuenta para una investigación más detallada sobre este tipo de productos, por ejemplo: realizar mediciones de turbidez; medir de manera más puntual los parámetros de fermentación, determinar la cantidad inicial y final de biomasa mediante peso seco, analizar los sistemas de fermentación con técnicas analíticas avanzadas a fin de determinar los metabolitos primarios y secundarios de forma precisa y que influyen en las propiedades fisicoquímicas, sensoriales y benéficas para la salud de los consumidores finales, así como también ahondar técnicamente sobre la naturaleza del inóculo, del cual se tiene muy poco respaldo científico.

REFERENCIAS

Aadil, R. M., Madni, G. M., Roobab, U., Rahman, U. ur, y Zeng, X.-A. (2019). Quality control in beverage production: An overview. En *Quality Control in the Beverage Industry* (pp. 1–38). Elsevier.

Abdulah, I. Q., Abdulazeez, F. S., Alheety, M. A., y Mahmood, A. R. (2020). Artificial sweetener (saccharine) as electrical properties promoter for graphene oxide and graphene. *Materials Today: Proceedings*, 20, 517–523.

Abdumalik Ali, M. G. (2019). *Presence and characterization of microplastics in drinking (tap/bottled) water and soft drinks*. University of North Dakota.

Abers, M., Schroeder, S., Goelz, L., Sulser, A., St. Rose, T., Puchalski, K., y Langland, J. (2021). Antimicrobial activity of the volatile substances from essential oils. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 21(1).

Accetta-Scott, A. (19 de noviembre de 2019). *Brew a Ginger Bug for a Bevy of Beverages*. Fermentation – Inspiration for Edible Alchemy; Fermentation.

Adiandri, R. S., Purwadi, R., Hoerudin, y Setiadi, T. (2021). Estimation of the biomass yield and stoichiometric coefficient during bioproduct formation through thermodynamic approach: a case study of biosurfactant production. *IOP Conference Series. Materials Science and Engineering*, 1143(1), 012016.

Al-Amri, I., Albounni, R., y Binalrimal, S. (2021). Evaluation of the effect of soft drinks on the surface roughness of dental enamel in natural human teeth. *F1000Research*, 10, 1138.

Alcaroz, U. (2019) 1 - A Wide Perspective on Nutrientes in Beverages. En Grumezescu, A. y Holban, A. M. (Eds). *Nutrients in Beverages* (pp. 1-31). Elsevier.

Amchova, P., Siska, F., y Ruda-Kucerova, J. (2024). Food safety and health concerns of synthetic food colors: An update. *Toxics*, 12(7), 466.

Angelin, M., Kumar, J., Vajravelu, L. K., Satheesan, A., Chaithanya, V., y Murugesan, R. (2024). Artificial sweeteners and their implications in diabetes: a review. *Frontiers in Nutrition*, 11.

Asaithambi, N., Singh, S. K., y Singha, P. (2021). Current status of non-thermal processing of probiotic foods: A review. *Journal of Food Engineering*, 303(110567), 110567.

Ascione, S., Barde, F., Artaud, F., Nguyen, Y., Macdonald, C., Mariette, X., Boutron-Ruault, M.-C., Salliot, C., y Seror, R. (2023). Association between beverage consumption and risk of rheumatoid arthritis: a prospective study from the French E3N Cohort. *Rheumatology (Oxford, England)*, 62(5), 1814–1823.

Azuma, S. L., Quartey, N. K.-A., y Ofosu, I. W. (2020). Sodium benzoate in non-alcoholic carbonated (soft) drinks: Exposure and health risks. *Scientific African*, 10(e00611), e00611.

Bani-Hani, A. y Tahmassebi, J. F. (2019) 2 - What Is the Cost of Soft Drinks to Our Health and Economy. En Grumezescu, A. y Holban, A. M. (Eds). *Sports and Energy Drinks Volume 10: The Science of Beverages* (pp. 39-42). Woodhead Publishing.

Bazán, D. L., del Río, P. G., Domínguez, J. M., Cortés-Diéguéz, S., Mejuto, J. C., y Pérez-Guerra, N. (2022). The chemical, microbiological and volatile composition of Kefir-like beverages produced from red table grape juice in repeated 24-h fed-batch subcultures. *Foods (Basel, Switzerland)*, 11 (19), 3117.

BeMiller, J. N. (2019). Carbohydrate and noncarbohydrate sweeteners. In *Carbohydrate Chemistry for Food Scientists* (pp. 371–399). Elsevier.

Bhattacharya, S. (2023). Sugars, sweeteners, chocolates, and sweet snacks. En *Snack Foods* (pp. 211–249). Elsevier.

Bleakley, A., Ellithorpe, M. E., Jordan, A. B., Hennessy, M., y Stevens, R. (2022). A content analysis of sports and energy drink advertising. *Appetite*, 174(106010), 106010.

Bouchard, J., Valookaran, A. F., Aloud, B. M., Raj, P., Malunga, L. N., Thandapilly, S. J., y Neticadan, T. (2022). Impact of oats in the prevention/management of hypertension. *Food Chemistry*, 381(132198), 132198.

Bruhn, C., y Feng, Y. (2021). Exploring Consumer Response to Labeling a Processing Aid That Enhances Food Safety. En *Food Protection Trends*. 41(3) 305-313. International Association for Food Protection

Bruner, J., y Fox, G. (2020). Novel non-cerevisiae *Saccharomyces* yeast species used in beer and alcoholic beverage fermentations. *Fermentation*, 6 (4), 116.

Butragueño Laiseca, L., Toledo del Castillo, B., y Miranda Herrero, M. C. (2019). Energy drinks as a trigger factor for seizures in paediatric patients: A case report. *Neurología (English Edition)*, 34(5), 343–345.

Cabrera, E. (24 de octubre de 2019). *El alto consumo de refrescos en México es resultado del entramado de procesos económicos, políticos y culturales*. UNAM.mx.

Cardello, A. V. (2017). Hedonic scaling: assumptions, contexts and frames of reference. *Current Opinion in Food Science*, 15, 14–21.

Carocho, M., Morales, P., y Ferreira, I. C. F. R. (2017). Sweeteners as food additives in the XXI century: A review of what is known, and what is to come. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 107, 302–317.

Castro-Muñoz, R., Correa-Delgado, M., Córdova-Almeida, R., Lara-Nava, D., Chávez-Muñoz, M., Velásquez-Chávez, V. F., Hernández-Torres, C. E., Gontarek-Castro, E., y Ahmad, M. Z. (2022). Natural sweeteners: Sources, extraction and current uses in foods and food industries. *Food Chemistry*, 370(130991), 130991.

Chakraborty, R., y Das, A. (2019). Artificial sweeteners. En *Encyclopedia of Food Chemistry* (pp. 30–34). Elsevier.

Chaudhary, A. (2019). Probiotic Fruit and Vegetable Juices: Approach Towards a Healthy Gut. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8 (06), 1265–1279.

Chen, E., Song, H., Zhao, S., Liu, C., Tang, L., y Zhang, Y. (2021). Comparison of odor compounds of brown sugar, muscovado sugar, and brown granulated sugar using GC-O-MS. *Lebensmittel-Wissenschaft Und Technologie [Food Science and Technology]*, 142 (111002), 111002.

Chen, Z. W., Shen, Z. W., Hua, Z. L., y Li, X. Q. (2023). Global development and future trends of artificial sweetener research based on bibliometrics. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 263(115221), 115221.

Chikumbirike, M., Kanyemba, G., Chirinda, G., y Matope, S. (2021). Design of an automated monitoring and control system for the soft drink capping machine and process mixer. *The South African Journal of Industrial Engineering*, 32(3), 225–237.

Crichton, G., Alkerwi, A., y Elias, M. (2015). Diet soft drink consumption is associated with the metabolic syndrome: A two sample comparison. *Nutrients*, 7(5), 3569–3586.

Dahiya, S., Rapoport, A., y Singh, B. (2024). Biotechnological potential of lignocellulosic biomass as substrates for fungal xylanases and its bioconversion into useful products: A review. *Fermentation*, 10(2), 82.

Das, A., y Chakraborty, R. (2016). Sweeteners: Classification, sensory and health effects. In *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 234–240). Elsevier.

Debras, C., Deschasaux-Tanguy, M., Chazelas, E., Sellem, L., Druesne-Pecollo, N., Esseddik, Y., Szabo de Edelenyi, F., Agaësse, C., De Sa, A., Lutchia, R., Julia, C., Kesse-Guyot, E., Allès, B., Galan, P., Hercberg, S., Huybrechts, I., Cosson, E., Tatulashvili, S., Srour, B., y Touvier, M. (2023). Artificial sweeteners and risk of type 2 diabetes in the prospective NutriNet-Santé cohort. *Diabetes Care*, 46(9), 1681–1690.

Delgado, S. (28 octubre de 2019). *México, primer consumidor de refrescos en el mundo*. Gaceta UNAM.

Delgado-Pelayo, R., y Hornero-Méndez, D. (2012). Identification and quantitative analysis of carotenoids and their esters from sarsaparilla (*Smilax aspera* L.) berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60 (33), 8225–8232.

Dey, S., y Nagababu, B. H. (2022). Applications of food color and bio-preservatives in the food and its effect on the human health. *Food Chemistry Advances*, 1(100019), 100019.

Dicklin, M. R., Barron, R., Goltz, S., Warren, J., Boileau, T., Pigat, S., y Maki, K. C. (2022). Fibre and micronutrient intakes among fruit juice consumers and non-consumers in the UK and France: Modelling the effects of consumption of an orange pomace juice product. *Journal of Human Nutrition and Dietetics: The Official Journal of the British Dietetic Association*, 35(6), 1230–1244.

Dong, H., Huang, L., Zhao, L., Zeng, Q., Liu, X., Sheng, Y., Shi, L., Wu, G., Jiang, H., Li, F., Zhang, L., Guo, D., Li, G., Hou, W., y Chen, H. (2022). A critical review of mineral-microbe interaction and co-evolution: mechanisms and applications. *National Science Review*, 9(10).

Dutta, K., y Nath, R. (2024). Application of colorimetry in food industries. In *Advances in Colorimetry*. IntechOpen.

Dwivedi, R.S. (2022). Search of Sweeteners, Their General Classification, Synthesis, and Saccharide Sweeteners Plant–Animal Interphases. En *Alternative Sweet and Supersweet Principles*. Springer, Singapore.

Eksi, G., Kurbanoglu, S., y Ozkan, S. A. (2019). Fortification of functional and medicinal beverages with botanical products and their analysis. En *Engineering Tools in the Beverage Industry* (pp. 351–404). Elsevier.

Electronic Code of Federal Regulations (eCFR). (2016). *19 CFR 151.91 -- Brix values of unconcentrated natural fruit juices*. Ecf.gov.

Escobar Gil, T., y Laverde Gil, J. (2023). Artificially sweetened beverages beyond the metabolic risks: A systematic review of the literature. *Cureus*.

Espinoza-Vergara, J., Molina, P., Walter, M., Gulppi, M., Vejar, N., Melo, F., Urzua, M., Muñoz, H., Zagal, J. H., Zhou, X., Azocar, M. I., y Paez, M. A. (2021). Effect of pH on the electrochemical behavior of hydrogen peroxide in the presence of *Pseudomonas aeruginosa*. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9.

Gao, Z., Jiang, S., Zhong, W., Liu, T., y Guo, J. (2023). Linalool controls the viability of *Escherichia coli* by regulating the synthesis and modification of lipopolysaccharide, the assembly of ribosome, and the expression of substrate transporting proteins. *Food Research International (Ottawa, Ont.)*, 164(112337), 112337.

Gaonkar, S. K., Nadaf, Z., Nayak, S., Desai Gaonkar, R., y Borkar, S. (2024). Bio-actives and COVID-19: a production of sustainable fermented ginger beer and probiotic fruit drinks as a plausible approach for boosting the immune system. *Discover Food*, 4 (1).

García, A. J., III, y Ramírez, J.-M. (2017). Keeping carbon dioxide in check. *eLife*, 6.

García, Guillermina (2 junio de 2020). *Aumentó 14% gasto en consumo de refrescos*. The Food Tech.

García, O., García, A. M., García, A., García, C. A., y Rucoba, A. (2023). *La Cadena Agroalimentaria del jengibre (Zingiber officinale): Aprovechamiento Potencial, Valor Agregado y oportunidades de negocio en México*.

Garza-Cadena, C., Ortega-Rivera, D. M., Machorro-García, G., Gonzalez-Zermeño, E. M., Homma-Deñas, D., Plata-Gryl, M., y Castro-Muñoz, R. (2023). A comprehensive review on Ginger (*Zingiber officinale*) as a potential source of nutraceuticals for food formulations: Towards the polishing of gingerol and other present biomolecules. *Food Chemistry*, 413(135629), 135629.

Ghosh, B., Bhattacharya, D., y Mukhopadhyay, M. (2018). Modeling and kinetics of fermentation technology. In *Principles and Applications of Fermentation Technology* (pp. 15–43). Wiley.

Gomes, R. J., Borges, M. de F., Rosa, M. de F., y Spinosa, W. A. (2018). Acetic acid bacteria in the food industry: Systematics, characteristics and applications. *Food Technology and Biotechnology*, 56(2).

Gonzalez del Rosario, I., Hernández-Martínez, J. M., Bolaños-Reynoso, E., Rosas-Mendoza, E. S., y Méndez-Contreras, J. M. (2024). Kinetic parameters of *Lactobacillus acidophilus* growth in the lactic fermentation of non-centrifugal cane sugar agroindustry wastes. *Renewable Energy, Biomass & Sustainability*, 6(1), 43–49.

Grassi, A., Cristani, C., Palla, M., Di Giorgi, R., Giovannetti, M., y Agnolucci, M. (2022). Storage time and temperature affect microbial dynamics of yeasts and acetic acid bacteria in a kombucha beverage. *International Journal of Food Microbiology*, 382 (109934), 109934.

Gray, J. P. (2024). Acceptable daily intake. En *Encyclopedia of Toxicology* (pp. 15–16). Elsevier.

Guarnotta, V., Riela, S., Massaro, M., Bonventre, S., Inviati, A., Ciresi, A., Pizzolanti, G., Benvenga, S., y Giordano, C. (2017). The daily consumption of cola can determine hypocalcemia: A case report of postsurgical hypoparathyroidism-related hypocalcemia refractory to supplemental therapy with high doses of oral calcium. *Frontiers in Endocrinology*, 8.

Gün, R., y Dursun, İ. (2023). Evaluation of sugar, HMF, pH, and acidity content in some popular soft drinks sold in Turkey. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 12(4), 11–18.

Hafaiedh, N., y Bellakhal, N. (2016). Electrochemical Oxidation of the Azo Dye Ponceau 4R by Electro-Fenton Process. *International Journal of Engineering Research and Technology*, 5.

Hajri, Z., Chigr, M., Oussama, A., Kzaiber, F., y Boutoial, K. (2023). Dietary exposure assessment to sulfites (SO₂) in the Moroccan adult population. *Food Research*, 7(6), 1–10.

Han, D., Yang, Y., Guo, Z., Dai, S., Jiang, M., Zhu, Y., Wang, Y., Yu, Z., Wang, K., Rong, C., y Yu, Y. (2024). A review on the interaction of acetic acid bacteria and microbes

in food fermentation: A microbial ecology perspective. *Foods (Basel, Switzerland)*, 13(16), 2534.

Hatch, E. E., Wesselink, A. K., Hahn, K. A., Michiel, J. J., Mikkelsen, E. M., Sorensen, H. T., Rothman, K. J., y Wise, L. A. (2018). Intake of sugar-sweetened beverages and fecundability in a north American preconception cohort. *Epidemiology (Cambridge, Mass.)*, 29(3), 369–378.

Hashim Al Sultani, K. K., Mohmmmed Al-Rashidy, A. A., y Al-Samrrai, S. Y. (2019). Determination of tartrazine and sodium benzoate as food additives in some local juices using continuous flow injection analysis. *Engineering in Agriculture Environment and Food*, 12(2), 217–221.

Hecht, M. (27 de enero de 2022). *6 most common types of probiotics*. Healthline.

Heo, G. Y., Koh, H. B., Park, J. T., Han, S. H., Yoo, T.-H., Kang, S.-W., y Kim, H. W. (2024). Sweetened beverage intake and incident chronic kidney disease in the UK Biobank study. *JAMA Network Open*, 7(2), e2356885.

Hernández-Anguiano, A., Landa-Salgado, P., Eslava-Campos, C., Vargas-Hernández, M., y Patel, J. (2016). Microbiological quality of fresh Nopal juice. *Microorganisms*, 4(4), 46.

Hernández, L. (19 de febrero de 2020). *¿Dulce, ácido, salado, amargo, umami: qué sabor preferimos los mexicanos?* Goula.

Hernandez, H., y Martinez, L. R. (2018). Relationship of environmental disturbances and the infectious potential of fungi. *Microbiology (Reading, England)*, 164(3), 233–241.

Hernández-López, R., Canto-Osorio, F., Vidaña-Pérez, D., Torres-Ibarra, L., Rivera-Paredes, B., Gallegos-Carrillo, K., Velazquez, R., Ramírez, P., Barrientos-Gutiérrez, T., Salmerón, J., y López-Olmedo, N. (2022). Soft drink and non-caloric soft drink intake and their association with blood pressure: the Health Workers Cohort Study. *Nutrition Journal*, 21(1).

Hu, J., Wang, J., Li, Y., Xue, K., y Kan, J. (2023). Use of dietary fibers in reducing the risk of several cancer types: An umbrella review. *Nutrients*, 15(11), 2545.

Iara Gomes de Oliveira, L., Karoline Almeida da Costa, W., de Candido de Oliveira, F., França Bezerril, F., Priscila Alves Maciel Eireli, L., dos Santos Lima, M., Fontes Noronha, M., Cabral, L., Wagner, R., Colombo Pimentel, T., y Magnani, M. (2024). Ginger

beer derived from back-slopping: Volatile compounds, microbial communities on activation and fermentation, metabolites and sensory characteristics. *Food Chemistry*, 435 (137640), 137640.

Ibrahim, S. A. (2016). Lactic Acid Bacteria: Lactobacillus spp.: Other Species. In *Reference Module in Food Science*. Elsevier.

INECOL. (2022). PLANTA DEL MES: JENGIBRE (*Zingiber officinale*), *INECOL*.

Irwin, S. V., Fisher, P., Graham, E., Malek, A., y Robidoux, A. (2017). Sulfites inhibit the growth of four species of beneficial gut bacteria at concentrations regarded as safe for food. *PloS One*, 12(10), e0186629.

Jackson, R. S. (2020). Postfermentation treatments and related topics. *Wine Science* (pp. 573–723). Elsevier.

Jafari, S., Pongsarn, K., Srestasupana, C., Wetchasart, N., y Assatarakul, K. (2021). Kinetic study of microbial inhibition by dimethyl dicarbonate and quality attributes of pomegranate juice during cold storage. *Lebensmittel-Wissenschaft Und Technologie [Food Science and Technology]*, 152(112309), 112309.

Kaczmarek, M., Avery, S. V., y Singleton, I. (2019). Microbes associated with fresh produce: Sources, types and methods to reduce spoilage and contamination. En *Advances in Applied Microbiology* (pp. 29–82). Elsevier.

Kadyan, S., Rashmi, H. M., Pradhan, D., Kumari, A., Chaudhari, A., y Deshwal, G. K. (2021). Effect of lactic acid bacteria and yeast fermentation on antimicrobial, antioxidative and metabolomic profile of naturally carbonated probiotic whey drink. *Lebensmittel-Wissenschaft Und Technologie [Food Science and Technology]*, 142(111059), 111059.

Kageyama, H., y Waditee-Sirisattha, R. (2023). Halotolerance mechanisms in salt-tolerant cyanobacteria. En *Advances in Applied Microbiology* (pp. 55–117). Elsevier.

Kalil, M. S., Jalil, R., y Ahmad Safri, N. (2017). Fermentable Sugars from Agrowastes Using Cellulase Enzymes from Local White Rot Fungi *Pycnoporus sanguineus*. *Jurnal Kejuruteraan*, 29 (2), 105–111.

Kalpana, V. N., y Rajeswari, V. D. (2019). Preservatives in beverages: Perception and needs. En *Preservatives and Preservation Approaches in Beverages* (pp. 1–30). Elsevier

Khan, A., Evangelista, A. U., y Varua, M. E. (2023). Evaluating the impact of marketing interventions on sugar-free and sugar-sweetened soft drink sales and sugar purchases in a fast-food restaurant setting. *BMC Public Health*, 23(1).

Kim, S., Lee, Y., Kim, J. Y., Yang, J. H., Kwon, H.-J., Hwang, J. Y., Moon, C., y Jang, J. E. (2019). Color-sensitive and spectrometer-free plasmonic sensor for biosensing applications. *Biosensors & Bioelectronics*, 126, 743–750.

Kirimura, K., y Yoshioka, I. (2019). Citric acid. En *Comprehensive Biotechnology* (pp. 158–165). Elsevier.

Kizil, N., y Soylak, M. (2024). Microextraction of food colorants in soft drinks, candies and pastilles. En *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*. Elsevier.

Kregiel, D. (2015). Health safety of soft drinks: Contents, containers, and microorganisms. *BioMed Research International*, 2015, 1–15.

Kuntzleman, T. S., y Sturgis, A. (2020). Effect of temperature in experiments involving carbonated beverages. *Journal of Chemical Education*, 97(11), 4033–4038.

Large, T., Williams, J., Jr, Asplin, J. R., y Krambeck, A. (2020). Using low-calorie orange juice as a dietary alternative to alkali therapy. *Journal of Endourology*, 34(10),

Larrauri-García, J. A., y Saura-Calixto, F. (2000). Evaluation of CIE-lab colour parameters during the clarification of a sugar syrup from Mesquite pods (*Prosopis Pallida* L.). *International Journal of Food Science and Technology*, 35, 385–389.

Le Bodo, Y., Etilé, F., Julia, C., Friant-Perrot, M., Breton, E., Lecocq, S., Boizot-Szantai, C., Bergeran, C., y Jabot, F. (2022). Public health lessons from the French 2012 soda tax and insights on the modifications enacted in 2018. *Health Policy (Amsterdam, Netherlands)*, 126(7), 585–591.

Lenaburg, L., Kimmons, M., Kafer, L., Holbrook, E., y Franks, D. (2016). Yeast Growth: The effect of tap water and distilled water on yeast fermentation with salt additives. *Journal of Introductory Biology Investigations*, 4 (3).

Lencioni, L., Romani, C., Gobbi, M., Comitini, F., Ciani, M., y Domizio, P. (2016). Controlled mixed fermentation at winery scale using *Zygorulasporea florentina* and *Saccharomyces cerevisiae*. *International Journal of Food Microbiology*, 234, 36–44.

Lewis, J. L., III. (2023). *Hyperphosphatemia (High Level of Phosphate in the Blood)*. MSD Manual Consumer Version.

Liu, S., Zhang, D., Wang, Y., Yang, F., Zhao, J., Du, Y., Tian, Z., y Long, C. (2022). Dimethyl dicarbonate as a food additive effectively inhibits *Geotrichum citri-aurantii* of citrus. *Foods (Basel, Switzerland)*, 11(15), 2328.

Liu, W., Zhang, Z., Li, Y., Zhu, L., y Jiang, L. (2023). Efficient production of d-tagatose via DNA scaffold mediated oxidoreductases assembly in vivo from whey powder. *Food Research International (Ottawa, Ont.)*, 166(112637), 112637.

Llaha, F., Gil-Lespinaud, M., Unal, P., de Villasante, I., Castañeda, J., y Zamora-Ros, R. (2021). Consumption of sweet beverages and cancer risk. A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Nutrients*, 13(2), 516.

Lo, W.C., Ou, S.-H., Chou, C.L., Chen, J.S., Wu, M.Y., y Wu, M.S. (2021). Sugar and artificially-sweetened beverages and the risks of chronic kidney disease: a systematic review and dose–response meta-analysis. *Journal of Nephrology*, 34(6), 1791–1804.

Lubbers, R. J. M., y de Vries, R. P. (2021). Degradation of homocyclic aromatic compounds by fungi. En *Encyclopedia of Mycology* (pp. 477–488). Elsevier.

Lund, P. A., De Biase, D., Liran, O., Scheler, O., Mira, N. P., Cetecioglu, Z., Fernández, E. N., Bover-Cid, S., Hall, R., Sauer, M., y O’Byrne, C. (2020). Understanding how microorganisms respond to acid pH is central to their control and successful exploitation. *Frontiers in Microbiology*, 11.

Ly, B. C. K., Dyer, E. B., Feig, J. L., Chien, A. L., y Del Bino, S. (2020). Research techniques made simple: Cutaneous colorimetry: A reliable technique for objective skin color measurement. *The Journal of Investigative Dermatology*, 140 (1), 3-12.e1.

Macdougall, D. B. (2010). Colour measurement of food: principles and practice. In *Colour Measurement* (pp. 312–342). Elsevier.

Maillard-Álvarez, N. (27 de abril de 2019). One man’s bookshop: Juan de Treviño y el comercio de libros global en el siglo XVI. Dossier.

Maler, V., Goetz, V., Tardieu, M., Khalil, A. E., Alili, J. M., Meunier, P., Maillot, F., y Labarthe, F. (2023). Aspartame and Phenylketonuria: an analysis of the daily phenylalanine intake of aspartame-containing drugs marketed in France. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 18(1).

Market Data México (2021). *Industria refresquera: Tendencias y retos*. Marketdatamexico.com.

Mavrogiannidou, Z., Boka, V., y Arhakis, A. (2023). An Overview of the Types of Soft Drinks and Their Impact on Oral Health: Review of Literature. *World Journal of Dentistry*, 14 (7), 648-654.

Mayerová, L., Kožíšek, F., Baudišová, D., Klánová, K., y Hlaváčková, B. (2022). The mechanism of spoilage of a bottled soft drink leading to health problem of consumer. *Central European Journal of Public Health*, 30(4), 261–264.

Meenu, M., Kaur, S., Kaur, M., Mradula, M., Khandare, K., Xu, B., y Pati, P. K. (2024). The golden era of fruit juices-based probiotic beverages: Recent advancements and future possibilities. *Process Biochemistry (Barking, London, England)*, 142, 113–135.

Miller, C., Dono, J., Scully, M., Morley, B., y Ettridge, K. (2022). Adolescents' knowledge and beliefs regarding health risks of soda and diet soda consumption. *Public Health Nutrition*, 25(11), 3044–3053.

Montanari, C., Tabanelli, G., Zamagna, I., Barbieri, F., Gardini, A., Ponzetto, M., Redaelli, E., y Gardini, F. (2019). Modeling of yeast thermal resistance and optimization of the pasteurization treatment applied to soft drinks. *International Journal of Food Microbiology*, 301, 1–8.

Mooradian, A. D., Smith, M., y Tokuda, M. (2017). The role of artificial and natural sweeteners in reducing the consumption of table sugar: A narrative review. *Clinical Nutrition ESPEN*, 18, 1–8.

Mora, M. (5 de julio de 2019). Sabores que son tendencia en México. *Rankia*.

More, T. A., Shaikh, Z., y Ali, A. (2021). Artificial Sweeteners and their Health Implications: A Review. *Biosciences, Biotechnology Research Asia*, 18(2), 227–237.

Muhammad, H. F. L., y Dickinson, K. M. (2019). Nutrients, energy values and health impact of conventional beverages. En *Nutrients in Beverages* (pp. 41–75). Elsevier.

Mustafa, H. K., Anwer, S. S., y Zrary, T. J. (2023). Influence of pH, agitation speed, and temperature on growth of fungi isolated from Koya, Iraq. *مجلة الكويت للعلوم*, 657, (4)50, 664.

Nassan, F. L., Priskorn, L., Salas-Huetos, A., Halldorsson, T. I., Jensen, T. K., Jørgensen, N., y Chavarro, J. E. (2021). Association between intake of soft drinks and

testicular function in young men. *Human Reproduction (Oxford, England)*, 36(12), 3036–3048.

Nielsen, S., (2008). Análisis de los alimentos. Manual de Laboratorio. Ed. Acribia.

Nik Mohd Rosdy, N. M. M., Mohd Amin, N. A. S., y Roslan, N. (2023). Erosive potential and sugar content of popular beverages: A double whammy for dentition. *International Journal of Dentistry*, 2023, 1–8.

Njus, D., Kelley, P. M., Tu, Y. J., y Schlegel, H. B. (2020). Ascorbic acid: The chemistry underlying its antioxidant properties. *Free Radical Biology & Medicine*, 159, 37–43.

NOM-051-SCFI/SSA1-2010: Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados-Información comercial y sanitaria. Secretaría de Economía (SE) (2020). Ciudad de México.

NOM-199-SCFI-2017: Bebidas alcohólicas-Denominación, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba. Diario Oficial de la Federación (DOF) (2017). Ciudad de México

Nunes Filho, R. C., Galvan, D., Effting, L., Terhaag, M. M., Yamashita, F., Benassi, M. de T., y Spinosa, W. A. (2021). Effects of adding spices with antioxidants compounds in red ale style craft beer: A simplex-centroid mixture design approach. *Food Chemistry*, 365 (130478), 130478.

Nutakor, C., Essiedu, J. A., Adadi, P., y Kanwugu, O. N. (2020). Ginger beer: An overview of health benefits and recent developments. *Fermentation*, 6 (4), 102.

Nwamba, M. C., Sun, F., Mukasekuru, M. R., Song, G., Harindintwali, J. D., Boyi, S. A., y Sun, H. (2021). Trends and hassles in the microbial production of lactic acid from lignocellulosic biomass. *Environmental Technology & Innovation*, 21(101337), 101337.

Okoro, F. O., y Markus, V. (2025). Artificial sweeteners and Type 2 Diabetes Mellitus: A review of current developments and future research directions. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 39(2), 108954.

Omotayo, O. P., Omotayo, A. O., Mwanza, M., y Babalola, O. O. (2019). Prevalence of mycotoxins and their consequences on human health. *Toxicological Research*, 35(1), 1–7.

Pandiselvam, R., Mitharwal, S., Rani, P., Shanker, M. A., Kumar, A., Aslam, R., Barut, Y. T., Kothakota, A., Rustagi, S., Bhati, D., Siddiqui, S. A., Siddiqui, M. W.,

Ramniwas, S., Aliyeva, A., y Mousavi Khaneghah, A. (2023). The influence of non-thermal technologies on color pigments of food materials: An updated review. *Current Research in Food Science*, 6 (100529), 100529.

Panase, M. L., y Phalke, S. D. (2019). Omega-3 beverages. En *Value-Added Ingredients and Enrichments of Beverages* (pp. 353–382). Elsevier.

Pazda, A. D., y Thorstenson, C. A. (2018). Extraversion predicts a preference for high-chroma colors. *Personality and Individual Differences*, 127, 133–138. <https://doi.org/10.1016/j.paid.2018.01.028>

Peña, A., Sánchez, N. S., Ramiro-Cortés, Y., y Calahorra, M. (2024). Effects of medium pH on the yeast plasma membrane potential. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 760(110131), 110131.

Pérez, J. M. R. (2017). Diagnóstico clínico en saliva. Revisión. *Odontología Vital*, 26, 67–78.

Pérez-Lozano, D.L., Camarillo-Nava, V.M., Juárez-Zepeda, T.E., Andrade-Pineda, J.E., Pérez-López, D., Reyes-Pacheco, J.A., Lucho-Gutiérrez, Z.M. y Carmona-Aparicio, L. (2023). Costo-efectividad del tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 en México. *Revista Médica del IMSS*, 61(2).

Pérez-Orozco, A. y Sosa, V. (2023). Zarparrilla: una bebida refrescante y medicinal. Portal Comunicación Veracruzana. INECOL.

Philip Ifesinachi, A. (2018). A comparative bacteriological study of bottled drinking water In Nigeria. *International Journal of Aquaculture and Fishery Sciences*, 045–050.

Picó-Guzmán, F. J., Martínez-Montañez, O. G., Ruelas-Barajas, E., & Hernández-Ávila, M. (2022). The estimated economic impact of cardiovascular and diabetes mellitus complications 2019-2028. *Revista médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 60(Suppl 2), S86–S95.

Procuraduría Federal del Consumidor. (11 de octubre de 2020). *Informa Profeco sobre colorantes artificiales en los alimentos*. Gob.Mx.

Raizel, R., Coqueiro, A. Y., Bonvini, A., y Tirapegui, J. (2019). Sports and energy drinks: Aspects to consider. En *Sports and Energy Drinks* (pp. 1–37). Elsevier.

Ramírez, S. (5 de noviembre de 2021). *La obesidad le cuesta a México el 2.1% del PIB, según estudio*. Expansión

Rebholz, C. M., Grams, M. E., Steffen, L. M., Crews, D. C., Anderson, C. A. M., Bazzano, L. A., Coresh, J., y Appel, L. J. (2017). Diet soda consumption and risk of incident end stage renal disease. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology: CJASN*, 12(1), 79–86.

Reddy, A., Norris, D. F., Momeni, S. S., Waldo, B., y Ruby, J. D. (2016). *The pH of beverages in the United States*. The Journal of the American Dental Association, 147(4), 255–263.

Rico-Munoz, E., y dos Santos, J. L. P. (2019). The fungal problem in thermal processed beverages. *Current Opinion in Food Science*, 29, 80–87.

Ringel, N. E., Hovey, K. M., Andrews, C. A., Mossavar-Rahmani, Y., Shadyab, A. H., Snetselaar, L. G., Howard, B. V., e Iglesia, C. B. (2023). Artificially sweetened beverages and urinary incontinence—a secondary analysis of the Women’s Health Initiative Observational Study. *Menopause (New York, N.Y.)*, 30(3), 283–288.

Rivas, E. M., Wrent, P., y de Silóniz, M. I. (2020). Rapid PCR method for the selection of 1,3-pentadiene non-producing *Debaryomyces hansenii* yeast strains. *Foods (Basel, Switzerland)*, 9(2), 162.

Rodríguez, A. (20 de agosto de 2019). *Consumo de refrescos ‘le da la vuelta’ a los impuestos y sube 3% en los últimos 5 años*. El Financiero.

Rodríguez, A. (4 de junio de 2021). *¿Y la diabetes y el COVID? Crece consumo de refrescos de cola en México*. El Financiero.

Romo-Pérez, A., Escandón-Rivera, S. M., y Andrade-Cetto, A. (2019). Chronic hypoglycemic effect and phytochemical composition of *Smilax moranensis* roots. *Revista Brasileira de Farmacognosia: Orgao Oficial Da Sociedade Brasileira de Farmacognosia*, 29 (2), 246–253.

Samman, M., Kaye, E., Cabral, H., Scott, T., y Sohn, W. (2022). Dental erosion: Effect of diet drink consumption on permanent dentition. *JDR Clinical and Translational Research*, 7(4), 425–434.

Sánchez, N. M., Cano Asseleih, L. M., y Rosas, N. V. (2019). Raíces en tu bebida: La Zarparrilla. Universidad Veracruzana.

Schiano, C., Grimaldi, V., Scognamiglio, M., Costa, D., Soricelli, A., Nicoletti, G. F., y Napoli, C. (2021). Soft drinks and sweeteners intake: Possible contribution to the

development of metabolic syndrome and cardiovascular diseases. Beneficial or detrimental action of alternative sweeteners? *Food Research International (Ottawa, Ont.)*, 142(110220), 110220.

Seer, Q. H., y Nandong, J. (2015). Experimental study of the impacts of pH and aeration on kinetics of ethanol fermentation using cassava and fruit waste. Asia Pacific Confederation of Chemical Engineering Congress 2015: APCChE 2015, incorporating CHEMECA 2015. Melbourne: Engineers Australia, 1905-1915.

Shahrajabian, M. H., Sun, W. y Cheng, Q. (2019). *Tremendous health benefits and clinical aspects of Smilax china*. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 13 (16), 253–25.

Shankar, V., Mahboob, S., Al-Ghanim, K. A., Ahmed, Z., Al-Mulhm, N., y Govindarajan, M. (2021). A review on microbial degradation of drinks and infectious diseases: A perspective of human well-being and capabilities. *Journal of King Saud University. Science*, 33(2), 101293.

Sharif, M. K., Ejaz, R., y Pasha, I. (2018). Nutritional and therapeutic potential of spices. En *Therapeutic, Probiotic, and Unconventional Foods* (pp. 181–199). Elsevier.

Sharma, A., Amarnath, S., Thulasimani, M., y Ramaswamy, S. (2016). Artificial sweeteners as a sugar substitute: Are they really safe? *Indian Journal of Pharmacology*, 48(3), 237.

Shi, Y., Pu, D., Zhou, X., y Zhang, Y. (2022). Recent progress in the study of taste characteristics and the nutrition and health properties of organic acids in foods. *Foods (Basel, Switzerland)*, 11(21), 3408.

Shim, J. S. y Song, A.H. (2012). *A pH measurement Study on Commercial Alcoholic Drinks*. *Journal of dental hygiene science (치위생과학회지)*, 12 (6), 696-701.

Siegner, C. (13 de julio de 2018). *Will consumers sour on “nature-identical” sweeteners from a lab?* Food Dive.

Silva, P. D., Cruz, R., y Casal, S. (2021). Sugars and artificial sweeteners in soft drinks: A decade of evolution in Portugal. *Food Control*, 120(107481), 107481.

Silva, S. de C. B., Grosso, C., Vieira, E. F., Martins, M. L., Silva, V. R. O., Tette, P. A. S., Delerue-Matos, C., Antunes, D. J. de P., y Martins, E. M. F. (2022). Mate tea with

Lactobacillus probiotics: viability, chemical characterization and in vitro resistance to the gastrointestinal tract. *Research, Society and Development*, 11(13), e446111335607.

Singh, R. S., Kaur, N., Singh, D., Purewal, S. S., y Kennedy, J. F. (2023). Pullulan in pharmaceutical and cosmeceutical formulations: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 231(123353), 123353.

Singh, T., Pandey, V. K., Dash, K. K., Zanwar, S., y Singh, R. (2023). Natural bio-colorant and pigments: Sources and applications in food processing. *Journal of Agriculture and Food Research*, 12(100628), 100628.

Sohlberg, E., Sarlin, T., y Juvonen, R. (2022). Fungal diversity on brewery filling hall surfaces and quality control samples. *Yeast (Chichester, England)*, 39(1–2), 141–155.

Sohn, I., Shin, C., y Baik, I. (2023). Associations of green tea, coffee, and soft drink consumption with longitudinal changes in leukocyte telomere length. *Scientific Reports*, 13(1), 1–7.

Torres, T., & Camacho Kurmen, J. E. (2022). Modelos matemáticos y parámetros cinéticos relacionados con la producción de astaxantina en *Haematococcus pluvialis*. *Revista Mutis*, 12(1).

Tozetto, L. M., Nascimento, R. F. do, Oliveira, M. H. de, Van Beik, J., y Canteri, M. H. G. (2019). Production and physicochemical characterization of craft beer with ginger (*Zingiber officinale*). *Food Science and Technology*, 39 (4), 962–970.

Suckling, J., Morse, S., Murphy, R., Raats, M., Astley, S., Halford, J. C. G., Harrold, J. A., Le-Bail, A., Koukouna, E., Musinovic, H., Raben, A., Roe, M., Scholten, J., Scott, C., y Westbroek, C. (2023). Environmental life cycle assessment of production of the non-nutritive sweeteners aspartame (E951) and neotame (E961) from chemical processes: The SWEET project. *Journal of Cleaner Production*, 424(138854), 138854.

Sun, Y., Yu, B., Wang, Y., Wang, B., Tan, X., Lu, Y., Zhang, K., y Wang, N. (2023). Associations of sugar-sweetened beverages, artificially sweetened beverages, and pure fruit juice with nonalcoholic fatty liver disease: Cross-sectional and longitudinal study. *Endocrine Practice: Official Journal of the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists*, 29(9), 735–742.

Susanti, A. D., Jalesaputri, D. D., Hasanah, F. R., Romadhoni, A. T., y Gultom, A. P. (2023). The study of selection bottle packaging for carbonated beverages. *Equilibrium*, 6(2), 127.

Tahmouzi, S., Meftahizadeh, H., Eyshi, S., Mahmoudzadeh, A., Alizadeh, B., Mollakhalili-Meybodi, N., y Hatami, M. (2023). Application of guar (*Cyamopsis tetragonoloba* L.) gum in food technologies: A review of properties and mechanisms of action. *Food Science & Nutrition*, 11(9), 4869–4897.

Teixeira, J. C., Ribeiro, C., Simões, R., Alegria, M. J., Mateus, N., de Freitas, V., Pérez-Gregorio, R., y Soares, S. (2023). Characterization of the effect of a novel production technique for ‘not from concentrate’ pear and apple juices on the composition of phenolic compounds. *Plants*, 12(19), 3397.

Teshome, E., Forsido, S. F., Rupasinghe, H. P. V., y Olika Keyata, E. (2022). Potentials of natural preservatives to enhance food safety and shelf life: A review. *TheScientificWorldJournal*, 2022, 1–11.

Théodore, F. L., Blanco García, I., y Juárez Ramírez, C. (2019). ¿Por qué tomamos tanto refresco en México? Una aproximación desde la interdisciplina. *Inter Disciplina*, 7(19), 19.

Tonsmeire, M. (12 de julio de 2008). *Ginger Beer Plant 101*. The Mad Fermentationist – Homebrewing.

Unuofin, J. O., Masuku, N. P., Paimo, O. K., y Lebelo, S. L. (2021). Ginger from farmyard to town: Nutritional and pharmacological applications. *Frontiers in pharmacology*, 12.

Vahid, F., Chiriboga, D., Bohn, T., y Hébert, J. R. (2022). Diet, inflammation, and cardiovascular disease. En *Diet, Inflammation, and Health* (pp. 367–472). Elsevier.

Villacis, A., Carpio, C. E., Boonsaeng, T., Cabrera, T., y Alvarado, R. (2023). Labels, taxes, and food reformulation: A tale of sugar in carbonated soft drinks in Ecuador. *International Food and Agribusiness Management Review*, 27(2), 201–216.

Vinci, G., D’Ascenzo, F., Esposito, A., y Musarra, M. (2019). Glass beverages packaging: Innovation by sustainable production. En *Trends in Beverage Packaging* (pp. 105–133). Elsevier.

Vion, C., Yeramian, N., Hranilovic, A., Masneuf-Pomarède, I., y Marullo, P. (2024). Influence of yeasts on wine acidity: new insights into *Saccharomyces cerevisiae*. *OENO One*, 58(4).

Waingankar, K., Lai, C., Punwani, V., Wong, J., Hutson, J. M., y Southwell, B. R. (2018). Dietary exclusion of fructose and lactose after positive breath tests improved rapid-transit constipation in children. *JGH Open : An Open Access Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2(6), 262–269.

Wang, H., Yu, H., He, D., Li, M., Si, B., McDonnell, J. J., y Nehemy, M. F. (2024). Cryogenic vacuum distillation vs Cavitron methods in ecohydrology: Extraction protocol effects on plant water isotopic values. *Journal of Hydrology*, 642(131853), 131853.

Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., Bai, X., Xie, J., Wang, Y., y Geng, W. (2021). Metabolism characteristics of lactic acid bacteria and the expanding applications in food industry. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9.

Wang, X.-L., Sun, Y.-Q., Pan, D.-T., y Xiu, Z.-L. (2024). Kinetics-based development of two-stage continuous fermentation of 1,3-propanediol from crude glycerol by *Clostridium butyricum*. *Biotechnology for Biofuels and Bioproducts*, 17(1), 38.

Warner, J. O. (2024). Artificial food additives: hazardous to long-term health? *Archives of Disease in Childhood*, 109(11), 882–885.

Witt, D. R., Chen, H., Mielens, J. D., McAvoy, K. E., Zhang, F., Hoffman, M. R., y Jiang, J. J. (2014). Detection of chronic laryngitis due to laryngopharyngeal reflux using color and texture analysis of laryngoscopic images. *Journal of Voice: Official Journal of the Voice Foundation*, 28 (1), 98–105.

Wijayasinghe, R., Bogahawaththa, D., Huppertz, T., Chandrapala, J., y Vasiljevic, T. (2019). Influence of lactic, citric and phosphoric acids on the properties of concentrated lactose solutions. *Food Chemistry*, 293, 247–253.

Wu, Y., Tan, Z., Zhen, J., Liu, C., Zhang, J., Liao, F., y Dong, W. (2023). Association between diet soft drink consumption and metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease: findings from the NHANES. *BMC Public Health*, 23(1).

Xu, Y., Zhao, Z., Tong, W., Ding, Y., Liu, B., Shi, Y., Wang, J., Sun, S., Liu, M., Wang, Y., Qi, Q., Xian, M., y Zhao, G. (2020). An acid-tolerance response system protecting exponentially growing *Escherichia coli*. *Nature Communications*, 11(1), 1–13.

Yassunaka Hata, N. N., Surek, M., Sartori, D., Serrato, R. V., y Spinosa, W. A. (2023). Role of acetic acid bacteria in food and beverages. *Food Technology and Biotechnology*, 61(1), 85–103.

Yemoos Nourishing Cultures. (2019). *Ginger Beer Plant*. Yemoos Nourishing Cultures.

Younes, M., Aquilina, G., Castle, L., Engel, K.-H., Fowler, P., Frutos Fernandez, M. J., Fürst, P., Gürtler, R., Gundert-Remy, U., Husøy, T., Mennes, W., Moldeus, P., Oskarsson, A., Shah, R., Wölfle, D., Lambré, C., Christodoulidou, A., Waalkens-Berendsen, I., y EFSA Panel on Food Additives and Flavourings (FAF) (2019). Opinion on the follow-up of the re-evaluation of sorbic acid (E200) and potassium sorbate (E202) as food additives. *EFSA Journal*, 17(3), e05625.

Zhang, J., Yu, X., Sun, Y., Guan, X., Qin, W., Zhang, X., Ding, Y., Yang, W., y Zhou, J. (2022). Effects of dimethyl dicarbonate on improving the aroma of melon spirits by inhibiting spoilage microorganisms. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(6).

ANEXOS

A continuación, se presenta el análisis estadístico aplicado a los datos presentados en las figuras 8 y 9 en el software Matplotlib.

Anexo 1. Crecimiento de biomasa, consumo de sustrato y cambio de pH

```
# Importar las bibliotecas necesarias

import numpy as np

import matplotlib.pyplot as plt

# Parámetros del modelo Monod

mu_max = 0.01 # Tasa máxima de crecimiento (1/h)

Ks = 0.5      # Constante de saturación (g/L)

Yxs = 0.5     # Rendimiento de biomasa sobre sustrato (g/g)

S_initial = [42, 42, 41, 41] # Concentración inicial de sustrato (g)

X_initial = [1.71, 2.4, 1.71, 2.4] # Biomasa inicial (g)

V = 0.5026 # Volumen en litros (502.6 mL)

# Parámetros del pH

pH_initial = 6.0

pH_final = 4.0

pH_opt = 5.0 # pH óptimo para el consorcio

pH_min = 3.5 # pH mínimo tolerado

# Función para ajustar la tasa de crecimiento en función del pH
```

```

def pH_effect(pH):

    if pH < pH_min:

        return 0 # No hay crecimiento por debajo del pH mínimo

    elif pH > pH_opt:

        return 1 # Máximo crecimiento por encima del pH óptimo

    else:

        return (pH - pH_min) / (pH_opt - pH_min) # Ajuste lineal entre pH_min y pH_opt

# Simulación temporal

time = np.linspace(0, 72, 100) # Tiempo en horas

results_with_pH = []

# Simular para cada sistema

for i in range(4): # Para cada sistema

    S = S_initial[i] / V # Concentración inicial de sustrato (g/L)

    X = X_initial[i] / V # Concentración inicial de biomasa (g/L)

    pH = pH_initial # Inicializar pH

    X_vals = [X]

    S_vals = [S]

    pH_vals = [pH]

    for t in time[1:]: # Iterar sobre el tiempo

        mu = mu_max * pH_effect(pH) * S / (Ks + S) # Ajustar mu por pH

```

```

dX = mu * X * (time[1] - time[0]) # Incremento de biomasa

dS = -dX / Yxs # Consumo de sustrato asociado

X += dX # Actualizar biomasa

S += dS # Actualizar sustrato

# Evitar valores negativos de sustrato o biomasa

X = max(X, 0)

S = max(S, 0)

# Actualizar el pH (descenso proporcional al consumo de sustrato)

if S_vals[-1] > 0: # Solo modificar pH si hay sustrato

delta_pH = (pH_final - pH_initial) / S_initial[i] * (-dS * V) # Cambio de pH

pH = max(pH + delta_pH, pH_final) # Evitar pH menor al mínimo

X_vals.append(X)

S_vals.append(S)

pH_vals.append(pH)

results_with_pH.append((X_vals, S_vals, pH_vals))

# Graficar resultados con pH

fig, axes = plt.subplots(3, 1, figsize=(10, 12), sharex=True)

labels = ["Sistema 1", "Sistema 2", "Sistema 3", "Sistema 4"]

```

```

for i in range(4):

    X_vals, S_vals, pH_vals = results_with_pH[i]

    axes[0].plot(time, np.array(X_vals) * V, label=f"{labels[i]}") # Biomasa

    axes[1].plot(time, np.array(S_vals) * V, label=f"{labels[i]}") # Sustrato

    axes[2].plot(time, pH_vals, label=f"{labels[i]}") # pH

# Configuración del gráfico

axes[0].set_title("Crecimiento de biomasa (g)")

axes[0].set_ylabel("Biomasa (g)")

axes[0].legend()

axes[0].grid()

axes[1].set_title("Consumo de sustrato (g)")

axes[1].set_ylabel("Sustrato (g)")

axes[1].legend()

axes[1].grid()

axes[2].set_title("Cambio de pH")

axes[2].set_xlabel("Tiempo (h)")

axes[2].set_ylabel("pH")

axes[2].legend()

```

```
axes[2].grid()
```

```
plt.tight_layout()
```

```
plt.show()
```

A continuación, se presenta el análisis estadístico aplicado en datos en el software Minitab 17.

Anexo 2. ANOVA Unidireccional: °Bx en muestras con sus respectivos tiempos óptimos de consumo de azúcares en relación a pH

Null hypothesis All means are equal
Alternative hypothesis At least one mean is different
Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor	Levels	Values
Factor	4	Sistema 1, Sistema 3, Sistema 2, Sistema 4

(°Bx) Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	3	2.090	0.6967	0.76	0.538
Error	12	11.005	0.9171		
Total	15	13.095			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
---	------	-----------	------------

0.957635 15.96% 0.00% 0.00%

Means

Factor	N	Mean	StDev	95% CI
BxSistema 1	4	9.055	1.000	(8.012, 10.098)
BxSistema 3	4	9.725	0.724	(8.682, 10.768)
BxSistema 2	4	8.938	0.910	(7.894, 9.981)
BxSistema 4	4	8.775	1.147	(7.732, 9.818)

Pooled StDev = 0.957635

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
BxSistema 3	4	9.725	A
BxSistema 1	4	9.055	A
BxSistema 2	4	8.938	A
BxSistema 4	4	8.775	A

Means that do not share a letter are significantly different.

(pH) Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	3	0.0006	0.000208	0.00	1.000
Error	12	10.7538	0.896146		
Total	15	10.7544			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.946650	0.01%	0.00%	0.00%

Means

Factor	N	Mean	StDev	95% CI
pHSistema 1	4	5.250	0.645	(4.219, 6.281)
pHSistema 3	4	5.250	0.645	(4.219, 6.281)

pHSistema 2 4 5.237 1.173 (4.206, 6.269)
 pHSistema 4 4 5.237 1.173 (4.206, 6.269)
 Pooled StDev = 0.946650

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
pHSistema 3	4	5.250	A
pHSistema 1	4	5.250	A
pHSistema 4	4	5.237	A
pHSistema 2	4	5.237	A

Means that do not share a letter are significantly different.

A continuación, se presenta el análisis estadístico aplicado a los datos presentados en la Tabla 6 en el software Minitab 17.

Anexo 3. ANOVA Unidireccional: °Bx previo vs almacenamiento en refrigeración

Method

Null hypothesis All means are equal
 Alternative hypothesis At least one mean is different
 Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor	Levels	Values
Factor	2	PA, DA

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	1	0.1225	0.1225	1.00	0.423
Error	2	0.2450	0.1225		

Total 3 0.3675

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.35	33.33%	0.00%	0.00%

Means

Factor	N	Mean	StDev	95% CI
PA	2	10.050	0.495	(8.985, 11.115)
DA	2	10.40	0.00	(9.34, 11.46)

Pooled StDev = 0.35

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
DA	2	10.40	A
PA	2	10.050	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	1	0.04000	0.04000	0.32	0.629
Error	2	0.25000	0.12500		
Total	3	0.29000			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
---	------	-----------	------------

0.353553 13.79% 0.00% 0.00%

Means

Factor	N	Mean	StDev	95% CI
PA	2	10.150	0.495	(9.074, 11.226)
DA	2	10.3500	0.0707	(9.2743, 11.4257)

Pooled StDev = 0.353553

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
DA	2	10.3500	A
PA	2	10.150	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	1	0.06250	0.06250	0.47	0.563
Error	2	0.26500	0.13250		
Total	3	0.32750			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.364005	19.08%	0.00%	0.00%

Means

Factor	N	Mean	StDev	95% CI
PA	2	9.450	0.495	(8.343, 10.557)
DA	2	9.700	0.141	(8.593, 10.807)

Pooled StDev = 0.364005

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
DA	2	9.700	A
PA	2	9.450	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	1	0.002500	0.002500	1.00	0.423
Error	2	0.005000	0.002500		
Total	3	0.007500			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.05	33.33%	0.00%	0.00%

Means

Factor	N	Mean	StDev	95% CI
PA	2	10.2500	0.0707	(10.0979, 10.4021)
DA	2	10.30	0.00	(10.15, 10.45)

Pooled StDev = 0.05

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
DA	2	10.30	A
PA	2	10.2500	A

Means that do not share a letter are significantly different.

A continuación, se presenta el análisis estadístico aplicado a los datos presentados en la Tabla 7 en el software Minitab 17.

Anexo 4. ANOVA Unidireccional: Análisis colorimétrico de las bebidas carbonatadas pretotipo a base de GBP y saborizadas con jugo de zarzaparrilla

Method

Null hypothesis All means are equal
 Alternative hypothesis At least one mean is different
 Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor	Levels	Values
Factor	4	1, 2, 3, 4

(L) Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	3	49.237	16.412	11.75	0.019
Error	4	5.589	1.397		
Total	7	54.826			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
1.18205	89.81%	82.16%	59.22%

Means

Factor	N	Mean	StDev	95% CI
L1	2	22.895	0.940	(20.574, 25.216)
L2	2	22.16	1.51	(19.83, 24.48)
L3	2	28.565	1.068	(26.244, 30.886)
L4	2	24.715	1.138	(22.394, 27.036)

Pooled StDev = 1.18205

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
L3	2	28.565	A
L4	2	24.715	A B
L1	2	22.895	B
L2	2	22.16	B

Means that do not share a letter are significantly different.

(a) Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
--------	----	--------	--------	---------	---------

Factor	3	0.04945	0.016483	2.25	0.225
Error	4	0.02930	0.007325		
Total	7	0.07875			

Model Summary

	S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.0855862	62.79%	34.89%	0.00%	

Means

Factor	N	Mean	StDev	95% CI
a1	2	0.6500	0.0849	(0.4820, 0.8180)
a2	2	0.5950	0.0212	(0.4270, 0.7630)
a3	2	0.8050	0.1202	(0.6370, 0.9730)
a4	2	0.7200	0.0849	(0.5520, 0.8880)

Pooled StDev = 0.0855862

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
a3	2	0.8050	A
a4	2	0.7200	A
a1	2	0.6500	A
a2	2	0.5950	A

Means that do not share a letter are significantly different.

(b) Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	3	0.01500	0.005000	0.52	0.694
Error	4	0.03880	0.009700		
Total	7	0.05380			

Model Summary

	S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.0984886	27.88%	0.00%	0.00%	

Means

Factor	N	Mean	StDev	95% CI
b1	2	-1.150	0.156	(-1.343, -0.957)
b2	2	-1.1500	0.0141	(-1.3434, -0.9566)
b3	2	-1.2500	0.0849	(-1.4434, -1.0566)
b4	2	-1.1500	0.0849	(-1.3434, -0.9566)

Pooled StDev = 0.0984886

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
b4	2	-1.1500	A
b2	2	-1.1500	A
b1	2	-1.150	A
b3	2	-1.2500	A

Means that do not share a letter are significantly different.

(**Chroma**) Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	3	0.09570	0.03190	0.89	0.518
Error	4	0.14310	0.03578		
Total	7	0.23880			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.189143	40.08%	0.00%	0.00%

Means

Factor	N	Mean	StDev	95% CI
Chroma1	2	0.855	0.276	(0.484, 1.226)
Chroma2	2	0.8400	0.0283	(0.4687, 1.2113)
Chroma3	2	1.115	0.205	(0.744, 1.486)
Chroma4	2	0.930	0.156	(0.559, 1.301)

Pooled StDev = 0.189143

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
Chroma3	2	1.115	A
Chroma4	2	0.930	A
Chroma1	2	0.855	A
Chroma2	2	0.8400	A

Means that do not share a letter are significantly different.

(**Hue**) Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	3	52.33	17.445	4.62	0.087
Error	4	15.12	3.780		
Total	7	67.45			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
1.94419	77.59%	60.77%	10.34%

Means

Factor	N	Mean	StDev	95% CI
Hue1	2	297.32	2.93	(293.51, 301.14)
Hue2	2	297.190	0.806	(293.373, 301.007)
Hue3	2	302.69	2.13	(298.87, 306.50)
Hue4	2	302.015	1.153	(298.198, 305.832)

Pooled StDev = 1.94419

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
Hue3	2	302.69	A
Hue4	2	302.015	A
Hue1	2	297.32	A
Hue2	2	297.190	A

Means that do not share a letter are significantly different.