**SECCION A: DATOS GENERALES**

**Título o nombre del proyecto: Diseño de una bebida funcional simbiótica a base de leche de soya (*Glycine max*), leche de tarwi (*Lupinus mutabilis*) y harina de avena (*Avena sativa*)**

**Línea de investigación de la Facultad/Área: Tecnología de alimentos**

**Unidad académica: Escuela Profesional Ingeniería en Industrias Alimentarias**

**Institución y/o lugar donde se realizará el proyecto:**

**Equipo investigador:**

* **Investigador principal: Ing. Ms. Luis Francisco Márquez Villacorta**
* **Co – investigador: Ing. Ms. Carla Consuelo Pretell Vásquez**
* **Colaboradora: Ing. María Luisa Hayayumi Valdivia**

**Duración: Setiembre 2020 – setiembre 2021**

**SECCIÓN B: PLAN DE INVESTIGACIÓN**

1. **Planteamiento y formulación del problema**

En la actualidad, existe un creciente interés en el desarrollo de nuevos alimentos funcionales y su incorporación en una dieta saludable. Dichos productos y especialmente los probióticos, ejercen un efecto beneficioso sobre la microbiota intestinal del huésped después del consumo y pueden ser capaces de prevenir diferentes enfermedades. Las bebidas fermentadas son productos tradicionales, que actúan como vehículos de probióticos en la dieta humana. Muchos estudios de las últimas décadas han concluido que los mejores sustratos para el consumo de probióticos son los productos lácteos. Sin embargo, la intolerancia a la lactosa, el alto contenido de grasa y colesterol, alergias a los lácteos y también la creciente tendencia del vegetarianismo ha promovido la investigación en el campo de los productos probióticos no lácteos (Kandylis y otros, 2016).

Los profesionales de la salud y la industria alimentaria promueven cada vez más los efectos beneficiosos de los alimentos con adición de microorganismos vivos (probióticos) en la salud humana. Los productos probióticos disponibles en los mercados hoy en día, generalmente están en forma de leches fermentadas y yogures. Debido a consideraciones de salud, desde la perspectiva del colesterol en los productos lácteos para los países desarrollados y las razones económicas para los países en vías de desarrollo, es necesario buscar materias primas alternativas para los probióticos. Teniendo en cuenta los hechos mencionados anteriormente, los cereales, las leguminosas, las frutas y las hortalizas pueden ser sustratos potenciales para la elaboración de bebidas funcionales o saludables donde las bacterias probióticas dejarán su huella, tanto en los países en desarrollo como en los desarrollados (Vasudha y Mishra, 2013).

La aplicación de cultivos probióticos en diferentes matrices de alimentos (bebidas lácteas y no lácteas) podría representar un gran desafío para la viabilidad de los probióticos. El éxito de las nuevas bebidas probióticas depende de la capacidad de los probióticos para proporcionar un número suficiente de células viables que modifiquen beneficiosamente la microbiota intestinal del huésped (Bakr, 2016).

El problema planteado es:

¿Cuál será el efecto de la concentración de leche de soya, leche de tarwi y harina de avena sobre la viabilidad de *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium animalis* spp. *Lactis*, acidez titulable, viscosidad, fibra dietética total, contenido de proteína y aceptabilidad general en una bebida funcional simbiótica?

1. **Antecedentes**

Dos Santos y otros (2019) desarrollaron una bebida de soya fermentada con granos de kéfir y suplementada con inulina. Las condiciones de fermentación se optimizaron de la siguiente manera: una proporción de 4 g:100 mL de granos de kéfir:leche de soja, una concentración de leche de soya de 9 °Brix y un tiempo de fermentación de 12 h. Esta formulación se complementó con inulina al 3.5% y se evaluó a 7 °C durante 28 días. La bebida tuvo un color ligeramente amarillo, con valores positivos de cromaticidad b\*. La firmeza y sinéresis de las bebidas fueron mayores cuando se usó inulina. El uso de inulina también disminuyó la sedimentación en las bebidas. A los 28 días de almacenamiento, el recuento celular (Lactococcus, Lactobacillus y levaduras) fue superior a 107ufc/Ml, para ambos tratamientos.

Aguilar y Rivera (2019) evaluaron el uso de la fracción líquida obtenida de la hidrólisis enzimática del grano de kiwicha, incluyendo las características microbiológicas, químicas y sensoriales en las bebidas probióticas del jugo de tarwi obtenidas por fermentación a 37 °C hasta pH 5.0, con *Lactobacillus paracasei, Bifidobacterium longum* y un cultivo de ambos microorganismos; luego almacenadas a 5 °C durante 30 días. La viabilidad de los probióticos en las bebidas mejoró con el aumento de kiwicha hidrolizada en la composición de la bebida durante y después de la fermentación desde 106 ufc/mL hasta 109 ufc/mL, y mostró una buena tolerancia al pH. La viabilidad de la bacteria *Bifidobacterium longum* se redujo con la disminución del pH, pero mejoró en el co-cultivo con Lactobacillus paracasei. Las características sensoriales de las bebidas obtenidas fueron favorables.

Battistini y otros (2018) desarrollaron y caracterizaron una innovadora bebida fermentada simbiótica a base de soya. La leche de soya pasteurizada se fermentó con probióticos (*Lactobacillus acidophilus* La-5, *Bifidobacterium animalis* Bb-12) en cocultivo con *Streptococcus thermophilus*, durante 3.2 horas a 37 °C hasta llegar a un pH 4.8. Se evaluó el efecto de los fructooligosacáridos y la inulina (0.04%) sobre el tiempo de fermentación y la viabilidad de los microorganismos probióticos durante los 28 días de almacenamiento a 5 °C. La fermentación redujo el contenido de estaquiosa y rafinosa en la leche de soya. Los prebióticos afectaron la velocidad de acidificación y la viabilidad de los probióticos en la bebida fermentada. Los recuentos viables de *B. animalis* Bb-12 permanecieron por encima de 108 ufc/mL en la leche de soya fermentada durante el almacenamiento, mientras que *L. acidophilus* en 107 ufc/mL. La leche vegetal de soya fermentada demostró ser una buena matriz alimenticia para liberar bacterias probióticas, así como, un producto con un menor contenido de oligosacáridos no digeribles.

Da Silva y otros (2018) desarrollaron y caracterizaron una bebida funcional a base de kéfir de leche de soya. Esta investigación evaluó las características fisicoquímicas y la aceptabilidad de las formulaciones de bebida funcional tipo kéfir de leche de soya combinadas con leche esterilizada de vaca y azúcar en diferentes porcentajes; las cuales fueron inoculadas con las cepas de *Lactobacillus* *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* e incubadas durante 16 horas a 37 °C. El recuento de lactobacilos varió entre 107 y 108 ufc/mL y los valores de pH entre 4.5 a 4.6. Las muestras con un mayor porcentaje de kéfir de leche de soya presentaron un mayor recuento de células de lactobacilos y un menor valor de lípidos, cenizas, sólidos totales, carbohidratos y calorías. La bebida funcional con sabor a durazno presentó un valor de pH apropiado (4.3) y un alto recuento de células viables 107 ufc/mL hasta el día 28 de almacenamiento en frío, mostró una alta aceptabilidad (94.5%) y una intención de compra positiva (83.4%) entre los consumidores.

Salmerón y otros (2015) evaluaron las características fisicoquímicas y la aceptación de las bebidas de cereales (extractos de harina sin almidón, fueron preparadas a partir de suspensiones acuosas de avena, cebada y malta) fermentadas con *Lactobacillus acidophilus* NCIMB 8821, *Lactobacillus plantarum* NCIMB 8826 y *Lactobacillus reuteri* NCIMB 11951, después de incubar durante 10 horas a 37 °C. Los valores de viabilidad celular, pH, acidez titulable, sólidos solubles, contenido de nitrógeno amino libre y color se correlacionaron con la aceptación mediante la correlación de Person, utilizando un análisis de componentes principales (PCA). La viabilidad celular fue alrededor de 108 ufc/mL con valores de pH que oscilaron entre 3.3 y 3.7. La bebida formulada con *L. plantarum* y sustrato de malta exhibió una mayor aceptación después de 5 días de almacenamiento a 7 °C.

Gupta y otros (2010) emplearon el diseño Box-Behnken se usó para optimizar tres niveles diferentes de concentración de avena, sacarosa y cultivo iniciador en el recuento celular viable final de *Lactobacillus plantarum* para el desarrollo de una bebida fermentada incubada a 37 °C hasta pH 4.5. Los mapas de contorno generados usando la ecuación de superficie de respuesta mostraron que las variables experimentales afectaron significativamente el crecimiento de *L. plantarum*. Los factores optimizados (5.5% de avena, 1.25% de azúcar y 5.0% de inóculo) se aplicaron luego para preparar una bebida fermentada para obtener un crecimiento de 2 x 109 ufc/mL. La vida útil de la bebida fermentada se controló durante un período de 21 días a 4 °C. Las características físicas de color y la viscosidad también se midieron junto con el recuento microbiológico, el pH y la acidez titulable. El nivel de β-glucanos permaneció sin cambios durante la fermentación y también durante todo el período de almacenamiento.

1. **Justificación**

Las sociedades de todo el mundo descubrieron de forma independiente el valor de fermentar los alimentos como un medio barato de conservación, mejorando la calidad nutricional y mejorando las características sensoriales. La fermentación de leche, cereales y otros sustratos para producir bebidas probióticas con propiedades promotoras de la salud es autóctona de muchas regiones de Asia, África, Europa, Oriente Medio y América del Sur. Las bebidas lácteas fermentadas representan la mayoría del mercado de bebidas funcionales. Con este fin, las bebidas a base de cereales, leguminosas y nueces; podrían comercializarse en respuesta a la conciencia de los consumidores sobre los beneficios de las dietas altas en fibra. Contienen rasgos prebióticos naturales debido a la presencia de fibras no digeribles y la presencia de compuestos aromáticos de ácido diacetil acético los hace sabrosos y, además, podría ser más barato de producir (Marsh y otros, 2014).

El mercado de alimentos refleja un incremento en el consumo de productos alimenticios saludables. Un claro ejemplo de esta tendencia se puede ver en las llamadas leches vegetales, que están hechas principalmente de cereales, leguminosas y nueces. La leche vegetal más conocida y popular deriva de la soya, aunque la demanda de leches de almendras, arroz, avena y coco está en aumento. En la actualidad, estos productos están disponibles en una amplia gama de formulaciones: saborizada, endulzada/sin endulzar, baja en grasa y/o fortificada. Además, los expertos están comenzando a considerar posibles relaciones entre los productos vegetales y la prevención del cáncer, la aterosclerosis o las enfermedades inflamatorias, ya que los radicales libres juegan un papel clave en esas patologías y estos tipos de alimentos son una excelente fuente de antioxidantes (Bernat y otros, 2014).

Las bebidas fermentadas pueden contener microorganismos probióticos, que son microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas en matrices comestibles, confieren beneficios para la salud de los consumidores. Muchos de estos microorganismos han sido identificados como bacterias de ácido láctico (BAL) y generalmente se consumen en forma de leches fermentadas (Lopusiewicz y otros, 2019). Los probióticos son suplementos alimenticios, que afectan beneficiosamente al huésped al mejorar el balance microbiano intestinal. Dentro de los probióticos se encuentran las BAL del género *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus* y *Leuconostoc* (Mduduzi y otros, 2016).

El número mínimo de células bacterianas probióticas viables hasta la fecha de caducidad o máxima de consumo generalmente debe ser de alrededor de 107 - 109 ufc/mL para obtener los máximos beneficios para la salud. Los *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* son los probióticos más utilizados. Estas cepas de microorganismos ya han demostrado una serie de beneficios para la salud, como la curación y la prevención de la diarrea antibiótica, y también tienen la capacidad de obstruir la diabetes. Síntesis de vitaminas B y ácido fólico, bajando el pH intestinal. Actividad anticancerígena y antimutagénica. El metabolismo de la lactosa también mejora y ayuda con la absorción de fósforo, cobre, hierro, manganeso, calcio y zinc. Los productos probióticos a base de lácteos, cereales, leguminosas y otras fuentes no lácteas, se encuentran más disponibles en la actualidad (Kathoon y Gupta, 2015).

El tarwi o chocho, es una leguminosa originaria de los andes de Bolivia, Ecuador y Perú, tiene relevancia en la gastronomía de esos países desde la época prehispánica. Su alto contenido de proteínas, mayor que el de la soya, lo hace una planta de interés para la nutrición humana y animal. Según los especialistas, su consumo en sus diversas presentaciones, ayuda a los niños en su desarrollo cerebral y crecimiento, pues contiene calcio y aminoácidos esenciales. Los granos enteros de tarwi son consumidos como snack o como ingrediente en ensaladas frescas o sopas. La harina de tarwi puede ser usada como insumo para alimentos procesados como galletas, comidas para bebés, hamburguesas, panes y fideos (Gutiérrez y otros, 2016). La leche también se produce a partir de tarwi (jugo de tarwi) y se consume en el desayuno La leche de origen vegetal es un extracto acuoso de leguminosas, cereales o semillas. Una tendencia de estos nuevos productos es la aplicación del proceso de fermentación (Wang y otros, 2018; Flores-Aguilar y Flores-Rivera, 2019).

1. **Objetivos**

Evaluar el efecto de la concentración de leche de soya, leche de tarwi y harina de avena sobre la viabilidad de *Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium animalis* spp. *Lactis*, acidez titulable, viscosidad, fibra dietética total, contenido de proteína y aceptabilidad general en una bebida funcional simbiótica.

Determinar la concentración de leche de soya, leche de tarwi y harina de avena que nos permita obtener la mayor viabilidad de *Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium animalis* spp. *Lactis*, la mejor acidez titulable, viscosidad, mayor contenido de fibra dietética total, contenido de proteína y aceptabilidad general en una bebida funcional simbiótica.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Objetivo General  (Propósito del proyecto ) | Resultados Finales | Medios de Verificación |
| Demostrar la factibilidad de utilizar leches vegetales como la de soya y la de tarwi que es una leguminosa andina de alto potencial en la región La Libertad junto a la harina de avena como una matriz que permita obtener una bebida funcional con elevado recuento de bacterias probióticas | R1 Diseño optimizado de una bebida simbiótica con adecuadas características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales, con posibilidad de producción industrial y comercialización en el mercado nacional | Artículo científico donde se evidencia la aceptabilidad por parte de futuros consumidores |
| Objetivos Específicos  (Componentes) | Resultados Intermedios: | Medios de Verificación |
| Evaluar el efecto de la concentración de leche de soya, leche de tarwi y harina de avena sobre la viabilidad de Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium animalis spp. Lactis, acidez titulable, viscosidad, fibra dietética total, contenido de proteína y aceptabilidad general en una bebida funcional simbiótica. | R1 Análisis de regresión lineal, cuadratico, cubico, especial cubico que mejor correlacione las variables dependientes | MV1 análisis estadístico a través del coeficiente de determinación r2, falta de ajuste y valor p, que permite determinar el efecto que tuvieron las leches de soya, leche de tarwi y harina de avena en la bebida funcional simbiótica |
| Determinar la concentración de leche de soya, leche de tarwi y harina de avena que nos permita obtener la mayor viabilidad de Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium animalis spp. Lactis, la mejor acidez titulable, viscosidad, mayor contenido de fibra dietética total, contenido de proteína y aceptabilidad general en una bebida funcional simbiótica. | R1 Análisis de optimización mediante la superposición de superficies de contorno de las variables respuesta de mayor relevancia | MV1 Formulación óptima de % de leche de soya, % de leche de tarwi y % de harina de avena para una bebida funcional simbiótica |

1. **Marco teórico**

**5.1 Bebidas funcionales**

El sabor por sí solo no es suficiente para satisfacer a los consumidores, que buscan bebidas de alta calidad con alto contenido de nutrientes. Las bebidas funcionales son un segmento importante, ya que permiten incluir nutrientes deseables y compuestos bioactivos para conservar la hidratación humana y tener efectos antienvejecimiento (Grumezescu y Holban, 2019).

Las bebidas funcionales son aquellas que no contienen alcohol, sino, que en su formulación presentan uno o más ingredientes funcionales que demuestran mejorar el estado de salud y reducir el riesgo de enfermedades. Se clasifican como alimentos enteros, enriquecidos o mejorados que ejercen beneficios positivos para la salud. Este mercado está dominado por productos que contienen carotenoides, fibra dietética, ácidos grasos, minerales, prebióticos/probióticos/simbióticos, vitaminas y minerales (Kausar y otros, 2012).

**5.2 Bebidas funcionales lácteas y no lácteas**

**5.2.1 Bebidas funcionales lácteas**

Dentro de las bebidas lácteas, la leche fresca, la leche fermentada y las bebidas de yogur son los productos más comunes, ya que se consideran excelentes vehículos para los probióticos (Corbo y otros, 2014). Las bebidas lácteas se pueden agrupar en tres segmentos distintos: bebidas tradicionales (yogur, kefir), bebidas de valor agregado (altos en proteínas, carbonatadas/efervescentes) y bebidas funcionales (enriquecidas con vitaminas/minerales y probióticos/prebióticos). Los productos lácteos funcionales ocupan un lugar destacado dentro del segmento de alimentos funcionales, y representan más del 40% de este mercado. La gran mayoría de estos son productos fermentados. El mercado mundial de bebidas lácteas funcionales es un segmento muy dinámico de la industria láctea y se prevé que el mercado mundial de bebidas lácteas aumente hasta el 2021 (Turkmen y otros, 2018).

**Kumis**

Es una bebida popular nacional de criadores de ganado nómada en Asia y algunas regiones de Rusia y se produce a partir de leche de yegua. La leche se fermenta por decantación o permitiendo que la leche fermente naturalmente. Se recomienda para el tratamiento de tuberculosis, asma, neumonía, enfermedades cardiovasculares y enfermedades ginecológicas. También es adecuado para aumentar de peso, robustez y energía (Marsh y otros, 2014).

**Kéfir**

Es un producto lácteo fermentado naturalmente y se produce utilizando granos de kéfir o cultivos madre preparados a partir de granos de kéfir. Se produce no solo con la forma tradicional sino también con procesos industriales y se pueden utilizar varios tipos de leches. Los granos de kéfir contienen BAL y varias levaduras combinadas con caseína y azúcares complejos en una matriz de polisacárido (Nielsen y otros, 2014).

**Bebidas de yogurt**

Es esencialmente yogurt agitado que se ha sometido a homogeneización para reducir aún más la viscosidad; se añaden invariablemente aromatizantes y colorantes. Además de los productos tradicionales, el desarrollo de bebidas lácteas probióticas está en progreso debido a la creciente demanda de dichos productos de valor agregado (Grumezescu y Holban, 2019).

**Leche ácida**

Es un tipo de producto lácteo fermentado y el *L. acidophilus* se usa como cultivo. La leche se procesa con calor a 95 °C y se somete a homogeneización. Más tarde, se enfría a 37 °C y se inocula con 2-5% de cultivo puro comercial de *L. acidophilus* y se deja incubar durante 12 a 24 horas. Después de la incubación, la leche se enfría a 5 °C y se mantiene en condiciones de frío (kandylis y otros, 2016).

**5.2.2 Bebidas funcionales no lácteas**

El consumo de productos lácteos se ha correlacionado con algunos riesgos para la salud, como la intolerancia a la lactosa, el alto contenido de grasas y colesterol y las alergias a las proteínas de la leche. Estos problemas de salud en combinación con la tendencia creciente del vegetarianismo y el uso limitado de productos lácteos en la dieta de varios países, especialmente en Asia y África, hacen que el desarrollo de sustratos no lácteos para el suministro de probióticos sea una necesidad (kandylis y otros, 2016).

**Bebidas a base de cereales, leguminosas y nueces**

Los cereales también son un sustrato que se ha utilizado para la producción de productos probióticos, ya que contienen sustancias que actúan como prebióticos y protegen a las células probióticas de las condiciones adversas del tracto gastrointestinal. Además, el consumo de cereales se ha asociado con la reducción del riesgo de varias enfermedades crónicas. La leche de soya es la alternativa más utilizada a la leche, como sustrato barato para la producción de productos probióticos. Se ha usado sola o en combinación con cereales, hierbas y otros sustratos para el desarrollo de bebidas probióticas (Kandylis y otros, 2016).

**Bebidas de frutas y verduras**

La leche ha sido considerada durante mucho tiempo como el único alimento que contiene todas las diferentes sustancias esenciales para la nutrición humana. Sin embargo, algunos investigadores se han centrado recientemente en algunos componentes, como la vitamina D, proteínas, calcio, butirato, ácidos grasos saturados y contaminantes como pesticidas, estrógenos y factor de crecimiento similar a la insulina I (IGF-I), que podrían ser responsable de una asociación prospectiva o perjudicial entre los productos lácteos y el cáncer (Grumezescu y Holban, 2019). Los jugos de frutas se han sugerido como un sustrato ideal para el desarrollo de bebidas probióticas no lácteas. Además de los ingredientes saludables de los jugos de frutas, como vitaminas, antioxidantes y polifenoles, también ofrecen varias ventajas para el crecimiento y la supervivencia de los microorganismos probióticos (Kandylis y otros, 2016). Los problemas asociados con la adición de cultivos probióticos a algunos jugos de frutas pueden superarse agregando pequeñas cantidades de otros jugos (Corbo y otros, 2014).

* 1. **Procesamiento de leches vegetales**

El procesamiento industrial general para el procesamiento de leches o bebidas fermentadas vegetales se basa en cuatro pasos principales: obtención de líquido, el acondicionamiento hasta alcanzar la temperatura óptima de crecimiento de los cultivos, la incubación normalmente a 37 °C (fermentación) y enfriamiento a 4 °C. Sin embargo, dependiendo de la materia prima, el tipo de cultivo utilizado y las características finales del producto, todo el proceso puede diferir. Con frecuencia se introducen algunos aditivos en la matriz vegetal, principalmente azúcares y prebióticos (como potenciadores del crecimiento), para promover la viabilidad de las bacterias y reducir la duración del proceso de fermentación. Los principales desafíos que afectan a estos productos fermentados están relacionados con la calidad sensorial (apariencia y textura) y la resistencia de los microorganismos probióticos. La apariencia de estos productos es frecuentemente muy similar a las que se observa en los yogures batidos bajos en grasa (Bernat y otros, 2014).

* 1. **Probióticos**

Un gran número de bacterias viables son requeridos para lograr un efecto probiótico en los alimentos.Los comúnmente usados son cepas de los Lactobacillus y Bifidobacterium. Entre las especies de Lactobacillus las cepas más usadas son *L. acidophilus, L. crispatus, L. amylovarus, L. gallinarum, L. gasseri, L. johnsonii, L. helveticus, L. delbrueckii subsp. bulgaricus, L. salivarius subsp. salivarius, L. casei, L. paracasei subsp. paracasei, L. paracasei subsp. tolerans, L. plantarum, L. rhamnosus, L. fermentum, L. reuteri* y de las Bifidobacterium son *spp. B. bifidum, B. longum, B. infanti, B. breve, B. adolescentis, B. animalis. También se tiene otros microorganismos con acción probiótica como los Streptocccus thermophilus, Enterococcus faecium, Pediococcus acidilactici, Saccharomyces boulardii, Leuconostoc* (Kandylis y otros, 2016).

* + 1. **Funcionalidad de los probióticos**

Los probióticos se definen actualmente como "microorganismos vivos que cuando se administran en cantidades adecuadas confieren un beneficio para la salud del huésped". Los efectos sobre la salud atribuidos a los probióticos son diversos. Estos incluyen: alivio de los síntomas de intolerancia a la lactosa, tratamiento de la diarrea viral y asociada a antibióticos, reducción de los síntomas del tratamiento con antibióticos de Helicobacter pylori, alivio de los síntomas de dermatitis atópica en niños y prevención del riesgo de alergia en la infancia, alivio de los síntomas de la enfermedad inflamable del intestino (EII) y el síndrome del intestino irritable (SII), y mejorando la respuesta inmune. Las industrias alimentarias, especialmente las compañías lácteas, se han dado cuenta del enorme potencial de mercado creado por los numerosos beneficios positivos para la salud de las bacterias probióticas. Por lo tanto, un número creciente de fabricantes de lácteos agregan *Lactobacillus* spp. y *Bifidobacterium* spp., pero no exclusivamente, a algunos de sus productos. Las bacterias probióticas más comúnmente incorporadas incluyen *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* y *L. casei* entre los lactobacilos y *Bifidobacterium* entre las bifidobacterias (Corbo y otros, 2014).

* 1. **Prebióticos**

Los prebióticos son cualquier componente de origen vegetal que los microorganismos probióticos utilizan selectivamente como sustrato para su metabolismo y que otorguen un beneficio para la salud (Guimarãe y otros, 2019). Los prebióticos tienen la capacidad de mejorar el crecimiento y supervivencia de los probióticos en el sistema digestivo. Los cereales, legumbres, frutas y verduras, como trigo, avena, cebada, frijoles, lentejas, garbanzos, tomates, cebollas, ajo, achicoria, verduras, poro, espárragos, espinacas, alcachofas, bananas y bayas son ricas en fibras prebióticas (Mohanti y otros, 2018). Los prebióticos, principalmente oligosacáridos, se usan actualmente en bebidas (bebidas de frutas, café, cacao, té, refrescos, leche de soja, bebidas en polvo y bebidas alcohólicas) y productos lácteos (leche fermentada, polvos instantáneos, leche en polvo, yogur y helado). Los prebióticos en general tienen una buena resistencia térmica y pueden soportar procesos térmicos sin degradación (Ospina-Corral).

La avena, principalmente como hojuelas, se incluye en la dieta humana por sus beneficios en la salud (Luana y otros, 2014). Es rica en β-glucanos, proteínas, almidón y compuestos fenólicos, además, se sabe que tiene propiedades anticancerígenas e hipocolesterolémicos. La disponibilidad de fibras solubles, tanto de oligosacáridos como de polisacáridos tiene un efecto prebiótico, y a pesar de esto, hay poca información disponible sobre el uso de avena como posible portador de probióticos (Gupta y Bajaj, 2017).

El tarwi (*Lupinus mutabilis*) es una leguminosa que se encuentra en varias regiones del Perú; y no es muy usado. Es un grano rico en proteínas y grasas, razón por la cual debería formar parte de nuestra dieta. Su contenido proteico es incluso superior al de la soya y su contenido en grasa es similar, siendo las semillas excepcionalmente nutritivas. En base al análisis químico, posee en promedio 35.5% de proteína, 16.9% de aceites, 7.65% de fibra cruda, 4.15% de cenizas y 35.7% de carbohidratos (Castañeda y otros, 2008). Después de los procesos de desamargado o deshidratación, se usa en diferentes platos culinarios (mote, ensaladas, sopas, guisos, postres y ceviche) o para obtener harina de lupino, que es usada en panificación (Flores-Aguilar y Flores-Rivera, 2019).

* 1. **Simbióticos**

La combinación sinérgica o simbiótica de prebióticos y probióticos que se encuentran en productos como alimentos, medicamentos y suplementos se definen como una combinación que afecta beneficiosamente al huésped al mejorar la supervivencia y la implementación de suplementos dietéticos microbianos vivos en el tracto gastrointestinal. Los simbióticos tienen una mayor eficacia, en comparación, con los probióticos o prebióticos utilizados de forma aislada (Mohanty y otros, 2018).

Los productos "simbióticos" son el nuevo desafío para las bebidas funcionales. Son una "combinación de prebióticos y probióticos". Los prebióticos se usan para mejorar y / o mejorar la viabilidad de las bacterias probióticas y para estimular la microbiota beneficiosa en el intestino sin cambios indeseables en sus características fisicoquímicas. Los probióticos pueden tolerar el oxígeno, el pH bajo y la temperatura desfavorable y sobrevivir en el sistema digestivo, cuando los prebióticos están presentes (Grumezescu y Holban, 2019).

1. **Hipótesis**

La concentración de leche de soya (56.50%), leche de tarwi (30%) y harina de avena (1.5%) nos permitirá obtener las mejores características fisicoquímicas microbiológicas y sensoriales en la bebida funcional simbiótica.

1. **Metodología**

**7.1 Lugar de ejecución**

Las pruebas experimentales y los análisis fisicoquímicos, microbiológicos y sensoriales se realizarán en los Laboratorios de Ciencia de Alimentos y Tecnología de Alimentos del Programa de Estudios de Ingeniería en Industrias Alimentarias de la Universidad Privada Antenor Orrego.

**7.2 Materia prima**

Granos de soya prcedente de Paraguay o Bolivia serán adquiridos de la empresa Molinorte SAC.

Granos de tarwi procedente de Santiago de Chuco, La Libertad, serán adquiridos del Mercado zonal Palermo

La hojuela de avena marca Quaker, serán adquiridos de Mercado local de Trujillo

**7.3 Insumos**

Azúcar blanco. Marca Laredo SA

Los cultivos liofilizados de *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium animalis spp. Lactis*, *Streptococcus Thermophilus* marca Sacco Italia, serán adquiridos de la empresa Rosa Cavero (Centro Sperimentale del Latte) SRL.

Agua de mesa marca San Luis, serán adquiridos de un Supermercado local de Trujillo

Envases plásticos de polietileno de alta densidad, de capacidad 500 mL, serán adquiridos en Linros Interinsumos S.R.L.

**7.4 Equipos e instrumentos de laboratorio**

Refrigeradora. Marca Bosch. Modelo Frost 44. Rango 0 a 8 ºC. Precisión + 2 ºC.

pH-metro. Marca Oakon. Modelo PHTESTR30. Precisión 0.01. Rango 0-15.

Balanza semianalítica. Marca OHAUS. Modelo spj6001. Capacidad 0 – 600 g, sensibilidad aprox. 0.1 mg.

Bureta digital. Marca Brand, modelo Tittrete, capacidad 20 mL, precisión 0.001 mL, procedencia Alemania

Termómetro digital. Marca Multidigital. Rango de 0 a 200 °C. Precisión + 0.01 ºC.

Reómetro rotacional. Marca Brookfield, modelo Rv-DVIII, más criostato de recirculación marca Selecta, rango de -15 a 50 °C, precisión 0.1 °C.

Estufa marca Selecta modelo Venticell capacidad 110 L, rango de 30 a 210 °C.

Molino de martillos. Marca S&S MEgatek SAC

Equipo para determinar proteínas macro kjeldahl. Marca Boeco-Germany.

Kit enzimático para determinar fibra dietética total. Marca Sigma-Aldricht

**7.5 Método experimental**

**Elaboración leche de soya**

Los granos de soya limpiados y seleccionados serán lavados y remojados en agua a temperatura ambiente, en proporción 1:5 durante 12 horas. Luego serán retirados y enjuagados con agua potable para ser escaldados en agua hirviendo durante 3 minutos, seguidamente serán separados para enfriar hasta temperatura ambiente. La leche de soya se elaborará en una proporción de grano y agua de 40:60, posteriormente se licuará por 5 minutos. Luego la mezcla se pasteurizará a 85 °C por 10 minutos, para finalmente filtrarla en una malla de 0.5 mm para obtener el producto final.

**Elaboración leche de tarwi**

El desamargado del grano de tarwi consistirá en el remojo de este, con una proporción de materia prima: agua de 1:6 (p/v). El tiempo de remojo será de 12 h a temperatura ambiente. Posteriormente, se eliminará el agua del remojo que tiene una apariencia viscosa, y color amarillento, con fuerte olor a chocho. La muestra remojada y escurrida se llevará a 90 °C durante 30 min con una proporción de materia prima: agua 1:5 (p/v). Luego los granos serán lixiviados o lavados durante 1, el número de lavados (de 1 a 2 veces) y la relación materia prima:agua (1:3) durante esta operación unitaria (Gutiérrez y otros, 2016)

Los granos desamargados se combinarán con agua de mesa en una proporción 40:60, los cuales serán licuados en una licuadora industrial marca Metalmecánica Agroindustrias de 16 L de capacidad, a 3600 rpm durante 5 min, luego se filtrará con la ayuda de un colador de acero inoxidable (0.173 mm de abertura) y tela de gasa, separando los sólidos retenidos del sobrenadante; esta operación se realizará por duplicado hasta obtener una solución homogénea. Finalmente, esta bebida vegetal se pasteurizará a 85 °C por 15 min, se enfriará y almacenará en refrigeración a 5 °C (Flores-Aguilar y Flores-Rivera, 2019), con modificaciones de los autores.

**Elaboración de harina de avena**

Las hojuelas de avena serán sometidas a un molino de martillos con una malla Tyler 100 (150 m) obteniendo el producto en polvo con tamaño de partícula reducido

**Elaboración de bebida funcional**

La leche de soya y leche de tarwi se mezclaran en una marmita de acero inoxidable junto a la harina de avena en las cantidades indicadas en el diseño experimental (Tabla 1), calentándose hasta 70 °C, para adicionar el azúcar (6%) y lograr su total disolución, luego se pasteurizará a 85 °C por 15 min, se enfriará hasta 37 °C para inocular la combinación equitativa de cultivos probióticos de *Lactobacillus acidophillu*s y *bifidobacterium animalis* en co-cultivo con *Streptococcus Thermophilus* (2% en volumen). Después, se incubará en una estufa (MMM group, modelo Venticell, España) a 37 °C hasta llegar a pH 4.8 (Batistini y otros, 2018, Gupta y otros, 2010) con modificaciones del autor, y finalmente se almacenará en refrigeración a 5 °C por 21 días para las evaluaciones analíticas.

**7.6 Métodos de análisis**

**Análisis fisicoquímicos**

Los análisis de las características fisicoquímicas para los diferentes tratamientos de la formulación de bebidas funcionales se realizarán los días 0, 4, 7, 14 y 21 de almacenamiento a 5 °C.

Las técnicas analíticas a utilizar son:

* Acidez titulable y proteínas, según el método AOAC (2005)

- Fibra dietética según AOAC (1998), utilizando el kit enzimático Sigma TDF-100.

- Viscosidad aparente. La viscosidad será medida en reómetro Brookfield colocando 11 mL en el dispositivo de poca muestra, usando el husillo N° 27 a 80 rpm. Se reportará en cp o mPa.s. (Gupta y otros, 2010) con modificaciones de los autores.

**Análisis microbiológicos**

Para determinar la supervivencia de los microorganismos en la bebida funcional durante el período de almacenamiento (0, 4, 7, 14 y 21 días), se mezclaron 10 g de cada muestra con 90 g de solución salina estéril 8.5 g/L durante 1 minuto a 260 rpm en un Stomacher y sometido a diluciones decimales en serie con el mismo diluyente. En cada día de muestreo, se usó una nueva botella de cada tratamiento que contenía la bebida fermentada del mismo lote para el análisis. Se determinarán el recuento de células viables de *S. thermophilus* colocando en la superficie 20 µL de cada dilución en agar M17 suplementado con 5 g/L de lactosa. Las placas se incubarán a 37 ° C durante 48 horas en condiciones aeróbicas. La viabilidad de *B. animalis* se controlará mediante recubrimiento de 20 µL de cada dilución en agar De Man Rogosa Sharpe (MRS) que contendrá 0.2 g/L de sales biliares, 0.3 g/L de propionato de sodio, 0.5 g/L de cisteína-HCl y 0.2 g/L de cloruro de litio. Las placas se incubarán a 37 ° C durante 48 horas en condiciones anaeróbicas. La viabilidad de *L. acidophilus* se determinará mediante el recubrimiento de 20 µL de cada dilución en agar M-MRS (formulado conteniendo 20 g/L de maltosa en lugar de glucosa). Las placas se incubarán a 37 °C durante 48 horas en condiciones aeróbicas.

**Análisis sensorial**

Aceptabilidad general. Se evaluará utilizando una escala hedónica de 9 puntos, anclada entre 1 que equivale a una percepción de “me desagrada muchísimo” y 9 que equivale a “me agrada muchísimo”, como punto intermedio 5 equivale a “ni me gusta ni me disgusta”. La prueba se realizará en dos sesiones con 30 panelistas no entrenados, en la primera sesión se entregarán 5 muestras y en la segunda, 4. La muestra consistirá en 20 mL de bebida a temperatura ambiente en envases numerados con tres dígitos aleatoriamente (Haddad, 2017).

**Diseño estadístico**

El diseño se fundamentará en una formulación base de bebida funcional simbiótica. A partir de ello se empleará un diseño compuesto central rotable (DCCR) de la metodología de superficie de respuesta (MSR), para evaluar el efecto de la combinación de leche de soya, leche de tarwi (como fuente de leche vegetal rica en proteína de alto valor biológico) y harina de avena (como prebiótico que ayude a mantener la viabilidad de los probióticos en una bebida acidificada) sobre la viabilidad de *Lactobacillus acidophilus* bifidobacterium animallis, acidez titulable, viscosidad, contenido de fibra dietética total, contenido de proteína y aceptabilidad general; con un total de 09 tratamientos y 04 repeticiones del punto central como se observa en la Tabla 1. El análisis de varianza, se aplicará con un nivel de confianza del 95%, para validar los modelos de regresión que se obtendrán se considerará R2>0.80, valor p<0.05 y la falta de ajuste mayor a 0.05. Se utilizará el programa Minitab Statistical Software, versión 19,0 (Minitab Inc., 2019) para obtener las ecuaciones, generar las figuras de superficie de respuesta y optimizar las variables independientes a través de la técnica de sobreposición de superficies de contorno.

En la Tabla 1 se presentan las formulaciones para la obtención de una bebida funcional con leche soya, leche de tarwi y harina de avena.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Formulación | Harina avena (%) | Leche  tarwi (%) | Leche soya (%) |
| F9 | 1.50 | 30.00 | 56.50 |
| F3 | 3.00 | 30.00 | 55.00 |
| F6 | 1.50 | 40.00 | 46.50 |
| F2 | 3.00 | 40.00 | 45.00 |
| F8 | 1.19 | 35.00 | 51.81 |
| F5 | 3.31 | 35.00 | 49.69 |
| F4 | 2.25 | 27.93 | 57.82 |
| F7 | 2.25 | 42.07 | 43.68 |
| F1\* | 2.25 | 35.00 | 50.75 |

\*F1, punto central que se trabajó con cuatro repeticiones.

1. **Bibliografía**

Aguilar, E., y Rivera, E. 2019. Assessment of the use of the hydrolyzed liquid fraction of the kiwicha grain in the fermentation process of probiotic drinks from tarwi juice: microbiological, chemical and sensorial analysis. Food Sci. Technol, Campinas, 39(3): 592-598.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). AOAC 920.43 Titrable Acidity Method, USA: 2005.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). AOAC 985.29 Total Dietary Fiber in Foods Enzymatic-Gravimetric Method, USA: 1998.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). AOAC 2001.11 Protein Method, USA: 2005.

Bakr, A. 2016. Influence of food matrix on the viability of probiotic bacteria: A review based on dairy and non-dairy beverages. Food Bioscience, 13:1–8

Battistini, C., Gullón, B., Ichimuraa, E., Pereira, A., Ribeiroa, E., Kunigka, L., Vieira, J., y Jurkiewicza, C. 2018. Development and characterization of an innovative synbiotic fermented beverage based on vegetable soybean. Brazilian journal of microbiology, 49: 303–309.

Bernat, N., Chafer, M., Chiralt, A., y Gonzales-Martínez, C. 2014. Vegetable milks and their fermented derivative products. International Journal of Food Studies, 3: 93-124.

Castañeda B, Manrique R, Gamarra F, Muñoz A, Ramos F, Lizaraso F, Martínez J. 2008. Probiótico elaborado en base a las semillas de *Lupinus mutabilis* Sweet (chocho o tarwi). Acta Médica Peruana, 25(4):210-215.

Corbo, M., Bevilacqua, A., Petruzzi, L., Casanova, F. y Sinigaglia, M. 2014. Functional Beverages: The emerging side of functional foods commercial trends, research, and health implications. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 13:1192-1212.

Da Silva, C., Santos, F., De Santana, L., Silva, M., y Conceição T. 2018. Development and characterization of a soymilk Kefir-based functional beverage. Food Sci. Technol, Campinas, 38(3): 543-550.

Dos Santos, D., Filho, J., Santana, A., De Freitas, B., Silva, F., Takeuchia, K., y Egea, M. 2019. Optimization of soymilk fermentation with kefir and the addition of inulin: Physicochemical, sensory and technological characteristics. LWT - Food Science and Technology, 104: 30–37.

Flores-Aguilar E, Flores-Rivera E. 2019. Assessment of the use of the hydrolyzed liquid fraction of the kiwicha grain in the fermentation process of probiotic drinks from tarwi juice: microbiological, chemical and sensorial analysis. J. Food Science and Technology

Grumezescu, A. y Holban, A. 2019. Functional and medicinal beverages, Volume 11: The Science of Beverages. Editorial Elsevier, pp 26

Guimarães JT, Keven Silva E, Senaka Ranadheera C, Moraes J, Raices RSL, Silva MC, Ferreira MS, Freitas MQ, Meireles MAA, Cruz AG. 2019. Effect of high-intensity ultrasound on the nutritional profile and volatile compounds of a prebiotic soursop whey beverage. Ultrasonics Sonochemistry, 55:157-164.

Gupta, S., Cox, S., y Abu-Ghannam, N. 2010. Process optimization for the development of a functional beverage based on lactic acid fermentation of oats. Biochem. Eng. J.

Gupta M, Bajaj BK. 2017. Development of fermented oat ﬂour beverage as a potential probiotic vehicle. Food Bioscience, 20:104-109.

Gutiérrez, A., Infantes, M., Pascual, G., y Zamora, J.2016.Evaluación de los factores en el desamargado de tarwi (Lupinus mutabilis Sweet). Agroindustrial Science, 6: 145-149.

Haddad M. 2017. Viability of probiotic bacteria during refrigerated storage of commercial probiotic fermented dairy products marketed in Jordan. Journal of Food Research, 6(2):75-81.

Kandylis P, Pissaridi K, Bekatorou A, Kanellaki M, Koutinas AA. 2016. Dairy and non-dairy probiotic beverages. J. Food Science, 7:58-63.

Kausar, H., Saeed, S., Ahmad, M. y Salam, A. 2012. Studies on the development and storage stability of cucumber-melon functional drink. Journal of Agriculture Research, 50:238-248.

Khatoon, N. y Gupta, R. K. 2015. Probiotics Beverages of Sweet Lime and Sugarcane juices and its physiochemical, microbiological & shelflife studies. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 4(3): 25-34

Lopusiewicz, L., Drozłowska, E., Siedlecka, P., Mezynska, M., Bartkowiak, A., Sienkiewicz, M., Zielinska-Blizniewska, H y Kwiatkowski, P. 2019. Development, Characterization, and Bioactivity of Non-Dairy Kefir-Like Fermented Beverage Based on Flaxseed Oil Cake. Journal Foods, 8: 544-559.

Luana N, Rossana C, Curiel José Antonio, Poutanen Kaisa, Gobbetti Marco, Rizzello Carlo Giuseppe. 2014. Manufacture and characterization of a yogurt-like beverage made with oat ﬂakes fermented by selected lactic acid bacteria, International Journal of Food Microbiology, 185:17-26

Marsh, A. Hill, C., Ross, R. y Cotter, P. 2014. Fermented beverages with health-promoting potential: Past and future perspectives. Trends in Food Science & Technology, 38: 113-124.

Mduduzi, P, Mutanda, T. y Olaniran, A. 2016. Perspectives on the probiotic potential of lactic acid bacteria from African traditional fermented foods and beverages, Food & Nutrition Research, 60: 1-12.

Mohanty D, Misra S, Mohapatra S, Soumyaranjan S. 2018. Prebiotics and synbiotics: Recent concepts in nutrition. Food Bioscience, 26:152-160.

Nielsen, B., Gurakan, G.C., Unlu, G. 2014. Kefir: A multifaceted fermented dairy product. Probiotics Antimicrob Proteins, 6:123-135.

Ospina-Corral S, Cardona CA, Orrego CE. Prebiotics in beverages: from health impact to preservation. Institute of Biotechnology and Agribusiness, National University of Colombia, Manizales, Colombia. Capítulo 11, 339-373. Editorial Elsevier.

Salmerón, I., Thomas, K., y Pandiella, S. 2015. Effect of potentially probiotic lactic acid bacteria on the physicochemical composition and acceptance of fermented cereal beverages. Journal of functional foods, 15:106–115.

Turkmen, N., Akal, C. y Özer, B. 2018. Probiotic dairy-based beverages: A review. Journal of Functional Foods,53: 62-75.

Vasudha, M. y Mishra, H. N. 2013. No dairy probiotics beverages. International Food Research Journal, 20(1): 7-15

Wang S, Chelikani V, Serventi L. 2018. Evaluation of chickpea as alternative to soy in plant-based beverages, fresh and fermented. LWT - Food Science and Technology, 97:570-572.

**SECCIÓN C: CRONOGRAMA DE INVESTIGACIÓN**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| N° | Actividad | Meses | | | | | | | | | | | |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| 1 | Adquisición de reactivos y materiales. Pruebas preliminares de la bebida funcional |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 2 | Estandarización de metodología para elaboración de bebida simbiótica y análisis microbiológicos |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 3 | Experimentación formal para obtención de los resultados finales paramétricos y no paramétricos datos |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 4 | Análisis estadísticos de los datos obtenidos |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 5 | Redacción de artículo científico |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 6 | Presentación de trabajo final |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

**SECCIÓN D: PRESUPUESTO DEL PROYECTO**

|  |  |
| --- | --- |
| **Partida Presupuestaria** | **Total (S/.)** |
| Materiales e Insumos | 9947 |
| Pasajes y viáticos | 500 |
| Equipos y bienes duraderos | 7550 |
| Recursos humanos | 1000 |
| TOTAL S/. | 18997 |

**Cuadro 1. Material e Insumos**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Descripción** | **Cantidad** | **Precio por unidad (S/.)** | **Total (S/.)** |
| Granos de soya | 100 kg | 3.00 | 300 |
| Granos de tarwi | 100 kg | 5.00 | 500 |
| Hojuelas de avena | 10 kg | 15.00 | 150 |
| Cultivos liofilizados L acidophillus | 2 sobres | 150.00 | 300 |
| Cultivo liofilizado B. animallis | 2 sobres | 150.00 | 300 |
| Cultivo liofilizado S. Thermophilus | 2 sobres | 100.00 | 200 |
| Agua de mesa | 100 kg | 1.50 | 150 |
| Azúcar blanco | 25 kg | 3.60 | 90 |
| Envases plásticos | 300 unid | 1.00 | 300 |
| Alcohol | 10 kg | 10 | 100 |
| Agar MRS | 1 fco =0.5 kg | 350 | 350 |
| Sales biliares | 250 g | 850 | 850 |
| Propionato de sodio | 100 g | 85 | 85 |
| Cisteína | 100 g | 226 | 226 |
| Cloruro de litio | 100 g | 442 | 442 |
| Solución salina estéril | 30 L | 10 | 300 |
| Lactosa para análisis | 250 g | 180 | 180 |
| Kit enzimatico fibra | 1 kit=100 pruebas | 3200 | 3200 |
| Ac. Sulfurico p.a | 2 L | 100 | 200 |
| Hidróxido de sodio p.a | 2 kg | 90 | 180 |
| Eter de petróleo p.a | 2 L | 160 | 320 |
| Alcohol etílico p.a | 2 L | 120 | 240 |
| Acetona p.a | 2 L | 90 | 180 |
| Fosfato sodico dibásico anhidro p.a | 500 g | 238 | 238 |
| Fosfato sódico monobásico anhidro p.a | 500 g | 178 | 178 |
| Acido clorhídrico p.a | 2 L | 119 | 238 |
| Agua destilada | 100 L | 1.50 | 150 |

**Cuadro 2. Pasajes y viáticos**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Descripción** | **Cantidad** | **Precio por viaje (S/.)** | **Total (S/.)** |
| Traslado de compra de materiales | 50 viajes | 10 | 500 |

**Cuadro 3. Equipos y bienes duraderos**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Descripción** | **Cantidad** | **Precio unitario (S/.)** | **Total (S/.)** |
| Crisoles perforados de porsodidad #2 (secundarios de 40 a 60 ) | 50 unid | 21 | 1050 |
| Bomba de vacío | 01 unid | 6500 | 6500 |

**Cuadro 4. Recursos humanos**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Nombre** | **Escuela o unidad que pertenece** | **% dedicación** | **Honorario mensual (S/)** | **N° meses** | **Total (S/.)** |
| Estadístico | Externo | 15 | 1000 | 01 | 1000 |