



**Evaluación de la adición de germinados de alfalfa (*Medicago sativa*) al suero de leche
para obtener una bebida biofortificada con zinc**

Tipás Viteri, Rommel Sebastián

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera Agropecuaria

Trabajo de integración curricular, previo a la obtención del título de Ingeniero Agropecuario

Ing. Vargas Arboleda, Martha Cecilia, Mgtr.

09 de septiembre del 2023



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera Agropecuaria

Certificación:

Certifico que el trabajo de integración curricular: **Evaluación de la adición de germinados de alfalfa (*Medicago sativa*) al suero de leche para obtener una bebida biofortificada con zinc**, fue realizado por el/la señor/ita/a: **Tipás Viteri, Rommel Sebastián**; el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y analizado en su totalidad por la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Sangolquí, 09 de septiembre del 2023



MARtha CECILIA
VARGAS ARBOLEDA

Ing. Vargas Arboleda, Martha Cecilia, Mgtr.

C. C.: 1802119634

Resultados de la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos



Plagiarism and AI Content Detection Report

Documento final UIC - Tipas Rommel ...

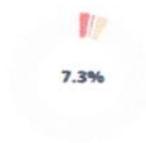
Scan details

Scan time:
September 9th, 2023 at 1:20 UTC

Total Pages:
36

Total Words:
8983

Plagiarism Detection



Types of plagiarism		Words
Identical	2.6%	232
Minor Changes	1.2%	105
Paraphrased	2.9%	258
Omitted Words	9.8%	882

AI Content Detection



Text coverage		Words
AI text	0%	0
Human text	100%	8101

[Learn more](#)



MARtha CECILIA
VARGAS ARBOLEDA

Ing. Vargas Arboleda, Martha Cecilia, Mgtr.

C. C.: 1802119634



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera Agropecuaria

Responsabilidad de Autoría:

Yo, **Tipás Viteri, Rommel Sebastián**, con cédula de ciudadanía No. 1719833376, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **Evaluación de la adición de germinados de alfalfa (*Medicago sativa*) al suero de leche para obtener una bebida biofortificada con zinc**, es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 09 de septiembre del 2023

Tipás Viteri, Rommel Sebastián

C.C.: 1719833376



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera Agropecuaria

Autorización de Publicación:

Yo, **Tipás Viteri. Rommel Sebastián**, con cédula de ciudadanía No. 1719833376, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **Evaluación de la adición de germinados de alfalfa (*Medicago sativa*) al suero de leche para obtener una bebida biofortificada con zinc** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios es de mi responsabilidad.

Sangolquí, 09 de septiembre del 2023

Tipás Viteri, Rommel Sebastián

C.C.: 1719833376

Dedicatoria

Con el corazón lleno de gratitud, dedico este trabajo a las personas que han sido mi constante apoyo a lo largo de esta travesía académica y personal.

A mis queridos padres, José y Janeth, cuyo amor incondicional, sacrificio y orientación han sido mi faro en el camino. Su aliento y confianza me impulsaron a superar desafíos y a alcanzar metas.

A mis valiosos hermanos Jemmy y Anthony; a mis abuelitas Dioselina y Rosa, fuentes inagotables de sabiduría y cariño. A mi abuelito Antonio, aunque ya no está físicamente entre nosotros, su legado de integridad, perseverancia y amor sigue inspirándome cada día.

Rommel Sebastián Tipás Viteri

Agradecimientos

Mis agradecimientos para la ingeniera Martha Vargas cuya guía, paciencia y apoyo fueron fundamentales para el éxito de este trabajo.

Agradezco a mis profesores, Ing Pablo Landázuri e Ing. Gabriel Larrea. cuyo compromiso con la enseñanza y disposición para resolver mis inquietudes enriquecieron mi formación académica.

Mi gratitud se extiende hacia mis padres, José y Janeth, cuyo amor incondicional y apoyo hicieron posible mi educación. Su sacrificio y confianza en mí son los pilares de este logro.

A mis amigos y compañeros de carrera, Sharlin, Juanita, Karen, Evelin, Joyce, Eri, Daniel, Estefani, Mela, les agradezco por compartir risas, desafíos y conocimientos a lo largo de esta travesía. Juntos, hemos superado obstáculos y celebrados triunfos que atesoraré de por vida.

A la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, por brindarme un entorno propicio y fomentar valores de excelencia.

Índice de contenidos

Carátula	1
Certificación	2
Resultados de la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos.....	3
Responsabilidad de Autoría.....	4
Autorización de Publicación	5
Dedicatoria	6
Agradecimientos	7
Índice de contenidos.....	8
Índice de tablas.....	8
Índice de figuras.....	13
Resumen.....	14
Abstract	15
CAPÍTULO I.....	16
INTRODUCCIÓN	16
Antecedentes	16
Justificación.....	16
Objetivos.....	17
Objetivo general	17
Objetivos específicos.....	17
Hipótesis.....	18
CAPITULO II.....	19
REVISIÓN DE LITERATURA.....	19
Biofortificación.....	19
Biofortificación agronómica	19
Zinc.....	19

Importancia del Zinc en las plantas.....	19
Requerimiento diario de zinc.....	20
Deficiencia de zinc.....	20
Biodisponibilidad del zinc en el organismo	21
Alfalfa (<i>Medicago sativa</i>).....	21
Descripción general.....	21
Germinados de Alfalfa	22
Niveles de absorción de zinc en la alfalfa.....	23
Acido fítico	23
Germinados.....	23
Fases de la Germinación	23
Propiedades nutricionales de los germinados de alfalfa	24
Liofilización	25
Liofilización en la industria de los alimentos.....	26
Suero de leche	26
Desaprovechamiento del suero de leche.....	26
Composición nutricional del suero de leche	27
Uso del suero en alimentos y bebidas	27
CAPÍTULO III.....	29
METODOLOGÍA.....	29
Ubicación geográfica.....	29
Primera fase	29
Segunda fase.....	30
Métodos.....	30
Preparación de las semillas	30
Impregnación de zinc	31

Obtención y almacenamiento de los germinados.....	31
Liofilización de germinados.....	31
Preparación de la bebida.....	32
Vida útil.....	32
Zinc residual.....	33
Ácido fítico.....	34
Relación molar AF:Zn.....	35
Diseño experimental.....	35
Tratamientos primera fase.....	35
Tipo de diseño primera fase.....	35
Croquis del diseño primera fase.....	36
Tratamientos segunda fase.....	37
Tipo de diseño segunda fase.....	37
Croquis del diseño segunda fase.....	38
CAPÍTULO IV.....	39
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	39
Resultados.....	39
Parámetros de germinación.....	39
Porcentaje de germinación.....	39
Longitud de la radícula.....	39
Cantidad y biodisponibilidad de zinc.....	40
Contenido de zinc en la bebida.....	40
Contenido de ácido fítico.....	40
Relación molar ácido fítico (AF:Zn).....	41
Pruebas de estantería.....	42
Sólidos solubles totales.....	42

pH de la bebida.....	42
Separación de los componentes.....	42
Vida útil en percha.....	44
Evolución organoléptica de la bebida.....	44
Apariencia.....	44
Aroma	45
Textura	46
Sabor	46
Discusión.....	48
CAPÍTULO V	51
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	51
Conclusiones.....	51
Recomendaciones	52
Bibliografía	53

Índice de tablas

Tabla 1	<i>Cantidad diaria de zinc por edad</i>	20
Tabla 2	<i>Relación molar ácido fítico AF:Zn y la biodisponibilidad de zinc</i>	21
Tabla 3	<i>Contenido nutricional por cada 100 g de germinados de alfalfa</i>	25
Tabla 4	<i>Composición del suero de quesería dulce y ácido</i>	27
Tabla 5	<i>Usos del lactosuero en alimentos u otras industrias</i>	28
Tabla 6	<i>Ingredientes para la elaboración de una bebida biofortificada con zinc</i>	32
Tabla 7	<i>Tratamientos a probar experimentalmente en la primera fase</i>	36
Tabla 8	<i>Tratamientos para probar experimentalmente en la segunda fase</i>	37
Tabla 9	<i>Promedios \pm DE del largo de radícula en germinados de alfalfa tratados con diferentes niveles de zinc</i>	39
Tabla 10	<i>Promedios \pm DE del contenido de zinc en bebidas con germinados liofilizados de alfalfa tratados con diferentes niveles de zinc</i>	40
Tabla 11	<i>Resultados del cálculo de fitatos presente en germinado liofilizados de alfalfa, tratados con diferentes niveles de zinc</i>	41
Tabla 12	<i>Resultados del cálculo de la relación molar AF:Zn en germinado liofilizados de alfalfa, tratados con diferentes niveles de zinc</i>	41
Tabla 13	<i>Medias \pm DE de los grados Brix y pH de bebidas con germinados liofilizados de alfalfa tratados con diferentes niveles de zinc</i>	42
Tabla 14	<i>Medias de separación de las bebidas con germinados de alfalfa tratados con diferentes niveles de zinc</i>	43

Índice de figuras

Figura 1 <i>Ilustración de Alfalfa (Medicago sativa)</i>	22
Figura 2 <i>Esquema de los eventos físicos y químicos que ocurren durante la germinación</i>	24
Figura 3 <i>Vista aérea del laboratorio de fisiología vegetal y principios activos</i>	29
Figura 4 <i>Vista aérea de la planta de procesamiento de alimentos</i>	30
Figura 5 <i>Cantidad de zinc vs absorbancia</i>	34
Figura 6 <i>Distribución aleatorizada del experimento durante la primera fase</i>	36
Figura 7 <i>Distribución aleatorizada del experimento durante la segunda fase</i>	38
Figura 8 <i>Separación de los componentes de la bebida vs cantidad de zinc</i>	43
Figura 9 <i>Sabor en general de las bebidas al día 2, 7 y 21</i>	44
Figura 10 <i>Apariencia promedio de las bebidas evaluadas a los 2, 7 y 21 días</i>	45
Figura 11 <i>Aroma promedio de la bebida, evaluada a los 2, 7 y 21 días</i>	45
Figura 12 <i>Textura promedio de la bebida, evaluada a los 2, 7 y 21 días</i>	46
Figura 13 <i>Sabor de los componentes promedio de la bebida, evaluada a los 2, 7 y 21 días</i> ...	47
Figura 14 <i>Sabor general de la bebida, evaluada a los 2, 7 y 21 días</i>	47

Resumen

La deficiencia de zinc en niños está asociada a graves consecuencias en la salud. Se hace imperativo el empleo de nuevas tecnologías para la elaboración de alimentos que ayuden a disminuir la deficiencia de micronutrientes como el zinc. La presente investigación evaluó el efecto de la adición de germinados de alfalfa (*Medicago sativa*) al suero de leche para obtener una bebida biofortificada con zinc. El trabajo se desarrolló en dos fases, en la primera fase se utilizó un diseño completamente al azar. Para obtener germinados de alfalfa biofortificados se utilizó semillas impregnadas con diferentes concentraciones de zinc, la biomasa obtenida fue liofilizada. En la segunda fase, se utilizó un diseño en bloques completamente al azar y se elaboró bebidas de piña en base a suero de leche y los germinados. Se evaluaron parámetros de germinación, cantidad y biodisponibilidad de zinc, pruebas de estantería y una evaluación de la evolución organoléptica de la bebida. Los germinados de alfalfa impregnados con 75 y 100 μM de Zn presentaron mayor desarrollo radicular y las bebidas elaboradas con estos tratamientos presentaron mayor contenido de zinc, con 2.45 y 2.50 mg/L, ambas con una biodisponibilidad de zinc mayor al 50%. Las bebidas con el tratamiento 75 μM Zn presentaron menor separación de los componentes. No hubo diferencias significativas entre las bebidas en la evaluación organoléptica. Al añadir germinados impregnados con zinc al suero de leche, se obtuvo una bebida biofortificada para niños entre 1 y 3 años con una aceptabilidad media.

Palabras clave: ZINC, GERMINADOS DE ALFALFA, SUERO DE LECHE, FORTIFICACIÓN

Abstract

Zinc deficiency in children is associated with serious health consequences. It is imperative to use new technologies for food production that help reduce the deficiency of micronutrients such as zinc. The present investigation evaluated the effect of adding alfalfa sprouts (*Medicago sativa*) to whey to obtain a biofortified drink with zinc. The work was developed in two phases, in the first phase a completely randomized design was used, to obtain biofortified alfalfa sprouts, seeds impregnated with different concentrations of zinc were used, the biomass obtained was freeze-dried. In the second phase, a completely randomized block design was used, and pineapple drinks were made based on whey and sprouts. Germination parameters, quantity and bioavailability of zinc, shelf tests and an evaluation of the organoleptic evolution of the drink were evaluated. The alfalfa sprouts impregnated with 75 and 100 μM of Zn presented greater root development, the drinks prepared with these treatments presented a higher zinc content with 2.45 and 2.50 mg/L, both with a zinc bioavailability greater than 50%. The drinks with the 75 μM Zn treatment showed less separation of the components. There were no significant differences between the drinks in the organoleptic evaluation. By adding sprouts impregnated with zinc to whey, a biofortified drink for children between 1 and 3 years old with medium acceptability was obtained.

Keywords: ZINC, ALFALFA SPROUTS, WHEY, FORTIFICATION

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Antecedentes

El zinc interviene en varios procesos biológicos del ser humano, como el crecimiento, el desarrollo de estructuras mentales y disminuye la presencia de infecciones, (Romero et al., 2020). Graves problemas de salud, especialmente en niños, están asociados a la deficiencia de zinc, pues interviene en su crecimiento y desarrollo, por lo que el plan intersectorial de alimentación y nutrición Ecuador 2018-2025, ha desarrollado programas específicos contra las insuficiencias de micronutrientes, como la suplementación con zinc en neonatos, niños e infantes, (Ministerio de Salud Pública del Ecuador [MSP], 2018).

Para disminuir la desnutrición y garantizar la seguridad alimentaria a través del aumento de los niveles de hierro, zinc y vitamina A. Perera y Noronha (2015) se plantearon como estrategia instalar áreas de producción de cultivos biofortificados. Una alternativa rápida para mejorar el contenido de zinc y su biodisponibilidad en los alimentos es la fortificación de germinados, como las semillas de alfalfa (*Medicago sativa*) remojadas en sulfato de zinc, cloruro de zinc, gluconato de zinc, óxido de zinc o estearato de zinc, (Salvatierra, 2022).

Por otra parte, Morales (2016) indica que el suero de leche se ha utilizado como alternativa para desarrollar bebidas fortificadas debido a su actividad antibacteriana e inhibición de la producción de toxinas por parte de microorganismos, sin mencionar sus efectos estimulantes en el sistema inmunológico y sistema de defensa. La cantidad agregada de suero de leche en dichas bebidas condiciona la aceptabilidad, por lo que es importante realizar acciones para poder retener una buena calidad nutricional, (Mónico et al., 2006).

Justificación

La deficiencia de micronutrientes afecta el crecimiento y desarrollo durante la infancia, Romero et al. (2020). Para prevenir la deficiencia de micronutrientes es necesario implementar estrategias centradas en la ingesta de alimentos variados y ricos en nutrientes, ya sean

alimentos enriquecidos o suplementos vitamínicos. Se ha demostrado que los principales problemas de salud pública en los menores de 5 años están establecidos por la desnutrición crónica, con una prevalencia de 23.9%, (MSP 2018). Además, según la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición, existe problemas de deficiencia de zinc, con una prevalencia de 27.5%, también indica una presencia de desnutrición crónica mayor en el área rural con un 31.9% frente a un 19.7% del área urbana.

Por otro lado, Chuchuca y Román (2022) ha demostrado un mal aprovechamiento del suero lácteo derivado de la elaboración de queso por parte de las plantas industriales, sin contar el daño ambiental que ocasiona el suero desechado. El suero posee un alto contenido nutricional, sin embargo, una pequeña parte es utilizada como alimento para animales, mientras que el mayor porcentaje es desechado, contaminando ríos y suelos (Brito et al., 2015).

Se hace imperativo el empleo de nuevas tecnologías para la elaboración de bebidas que ayuden a combatir la deficiencia de zinc. El presente trabajo busca utilizar los beneficios nutricionales del suero de leche y los germinados de alfalfa. Proporcionando valor agregado a la bebida debido a la adición de germinados, mejorando el aprovechamiento del suero de leche y su reducción de emisión al medio ambiente y entregar un producto a las comunidades con problemas de desnutrición infantil debido a deficiencias de micronutrientes.

Objetivos

Objetivo general

Evaluar el efecto de la adición de germinados de alfalfa (*Medicago sativa*) al suero de leche para obtener una bebida biofortificada con zinc

Objetivos específicos

Obtener el germinado de alfalfa biofortificado mediante impregnación de zinc (0 μM , 25 μM , 50 μM , 75 μM y 100 μM) en la semilla para su implementación biológica.

Liofilizar y pulverizar los germinados para elaborar la bebida biofortificada.

Determinar la vida útil del producto mediante pruebas de estantería y evolución organoléptica.

Determinar la cantidad de zinc residual en el producto terminado.

Hipótesis

H0: El suero de leche enriquecido con germinados biofortificados de alfalfa (*Medicago sativa*) con 0 μM , 25 μM , 50 μM , 75 μM y 100 μM de zinc, no aumenta la cantidad de zinc residual, tiempo de vida útil ni la aceptación del producto final.

H1: El suero de leche enriquecido con germinados biofortificados de alfalfa (*Medicago sativa*) con 0 μM , 25 μM , 50 μM , 75 μM y 100 μM de zinc, aumenta al menos una de las variables a evaluar en el producto final.

CAPITULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

Biofortificación

La biofortificación envuelve diferentes procesos convencionales, técnicas de ingeniería genética o prácticas agronómicas, para aumentar la cantidad de las vitaminas, minerales y reducir los antinutrientes, mejorando la calidad nutricional de los alimentos (Khaula, 2021).

Biofortificación agronómica

Jha y Warkentin (2020) indica que la biofortificación agronómica busca mejorar las características agronómicas y aumentar el contenido de elementos esenciales en las partes comestibles de las plantas, cumple este objetivo mediante la aplicación de elementos esenciales mediante vía edáfica, foliar o en solución nutritiva.

Zinc

El zinc es un mineral importante requerido por los humanos y está involucrado en varias funciones biológicas como la cicatrización, protección a las células del daño oxidativo y la reducción el riesgo de varios tipos de cáncer (Costello y Franklin, 2006).

Al estar presente en todas las células del cuerpo, el zinc ayuda al sistema inmune, además de ser utilizado para la síntesis de proteínas y ADN, (National Institute of Health [NIH], 2022).

Importancia del Zinc en las plantas

Castillo et al. (2018) establece que el zinc al ser un catión divalente es utilizado como cofactor por varias enzimas como el alcohol deshidrogenasa y la ARN polimerasa.

El zinc interviene en el desarrollo de las plantas a través de su acción indirecta en la síntesis de auxinas, debido a que las plantas utilizan al zinc para la síntesis del triptófano, un aminoácido esencial para la síntesis del ácido indolacético, una de las principales auxinas, (Castillo et al., 2018).

Requerimiento diario de zinc

La cantidad diaria de zinc que se necesita dependerá de la edad. La siguiente (Tabla 1) muestra las cantidades promedio diarias recomendadas según la edad.

Tabla 1

Cantidad diaria de zinc por edad

Etapa de vida	Cantidad recomendada
Del nacimiento hasta los 6 meses	2 mg
Bebés de 7 a 12 meses	3 mg
Niños de 1 a 3 años	3 mg
Niños de 4 a 8 años	5 mg
Niños de 9 a 13 años	8 mg
Adolescentes varones de 14 a 18 años	11 mg
Niñas adolescentes de 14 a 18 años	9 mg
Hombres adultos	11 mg
Mujeres adultas	8 mg
Adolescentes embarazadas	12 mg
Adultas embarazadas	11 mg
Adolescentes que amamantan	13 mg
Mujeres que amamantan	12 mg

Nota. Las cantidades recomendadas se encuentran en miligramos/día.

Recuperado de NIH (2022).

Deficiencia de zinc

Debido a la importancia del zinc en la división celular, la deficiencia de este puede ocasionar problemas en el sistema inmunitario, tales como infecciones recurrentes, enfermedades mentales, retraso en el crecimiento y problemas de fertilidad (Jha y Warkentin 2020).

La deficiencia tiene mayores consecuencias cuando en el caso de los niños, se ha demostrado que la deficiencia de zinc como la causante de diarreas, retraso en el crecimiento y falta de apetito, incluso se puede llegar a problemas reproductivos cuando sean adultos. También provoca la caída del cabello en niños más grandes, así como infecciones más frecuentes (NIH, 2022).

Biodisponibilidad del zinc en el organismo

En 2007, Borelli et al. Determinó que mientras mayor sea la relación ácido fítico: zinc presente en los alimentos, menor será la biodisponibilidad del zinc en el organismo, en la siguiente (Tabla 2) se presenta el valor de la biodisponibilidad de zinc en correspondencia con el valor obtenido de la relación molar ácido fítico: zinc.

Tabla 2

Relación molar ácido fítico AF:Zn y la biodisponibilidad de zinc

Relación molar AF:Zn	Biodisponibilidad de zinc
<5	>50%
5-15	30%
15-30	15%
>30	10%

Nota. Recuperado de Borelli et al. (2007).

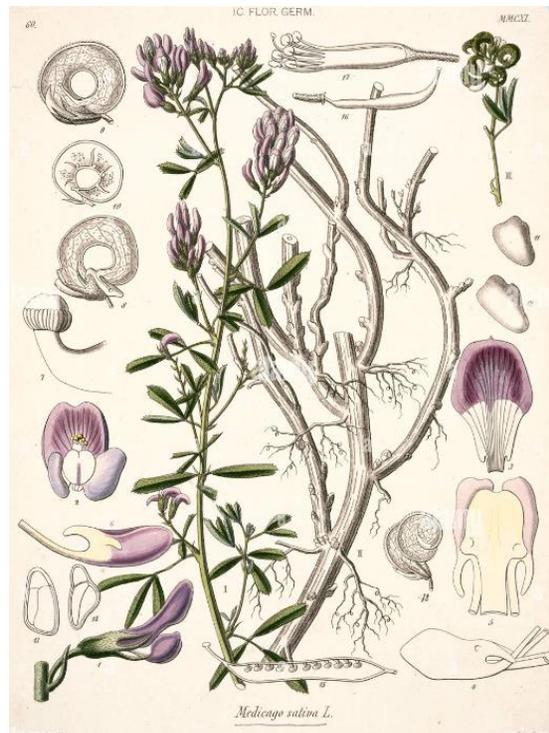
Alfalfa (Medicago sativa)

Descripción general

La alfalfa, es una leguminosa herbácea perenne muy extendida. Sus flores se forman en racimos abiertos. Las vainas son retorcidas y tienen de una a cinco espirales. Las hojas son pinadas y trifoliadas. Posee una raíz principal definida, que penetra el suelo hasta 9 m. Alcanzan una altura de 60 a 90 cm. Este forraje, uno de los más nutritivos, es rico en proteínas, minerales y vitaminas; pues es fuente de calcio, potasio, fósforo, hierro y vitaminas A, C, E y K, (Soriano, 2003).

Figura 1

Ilustración de Alfalfa (*Medicago sativa*)



Nota. Recuperado de National History Museum of London [NHM] (2011).

Germinados de Alfalfa

La germinación de semillas aumenta la concentración de nutrientes, proteínas, fibra y vitaminas, es una técnica eficaz, rápida y económica para mejorar la calidad nutricional de las harinas obtenidas a partir de los germinados, (Muñoz et al., 2021).

Flores (2013) indica que esta mejora en la calidad nutricional de las semillas de alfalfa se da principalmente a la descomposición de lípidos, hidratos de carbono y proteínas de almacenamiento en nutrientes más simples y por lo tanto más digeribles.

En la germinación disminuyen los compuestos anti nutricionales como ácido fítico, lectinas, saponinas y alcaloides. Además, debido a la generación de péptidos de bajo peso molecular, se ha evidenciado una mejora en la funcionalidad biológica, dando a los germinados

efectos antioxidantes, antiinflamatorios, antidiabéticos, antimicrobiano y anticancerígeno. (Muñoz et al., 2021).

Estas propiedades convierten a los germinados en ingredientes de interés para la industria alimentaria, potencializando su aplicación en el desarrollo de alimentos funcionales con beneficios a la salud humana.

Niveles de absorción de zinc en la alfalfa

En los suelos ácidos el rango de contenido de zinc se encuentra entre los 10 a 200 ppm, esta concentración de zinc no incide sobre su biodisponibilidad para las plantas. Son factores como el pH, la adsorción en la superficie de las arcillas, la materia orgánica, los carbonatos y óxidos minerales presentes, además de la interacción con otros nutrientes y las condiciones climáticas, los factores que inciden sobre la disponibilidad de zinc. La alfalfa es considerada de sensibilidad media a bajos niveles de zinc disponibles en el suelo, siendo su rango óptimo de absorción de 21 a 70 ppm de zinc (Betancor y Keel, 2003).

Acido fítico

El ácido fítico es una sustancia que se encuentra en alimentos de origen vegetal, en las semillas constituye la principal forma en la que el fósforo es almacenado (Romero et al., 2020). En las semillas el fósforo no está disponible para el hombre ni para animales monogástricos, esto se debe a que no están provistos de suficiente actividad de fitasas capaces de liberar el grupo fosfato de la estructura del fitato (Martínez et al., 2002).

Debido a su capacidad convertir en no asimilables a minerales y proteínas, ya que forma complejos insolubles, el ácido fítico es considerado un compuesto antinutricional (Martínez et al., 2002).

Germinados

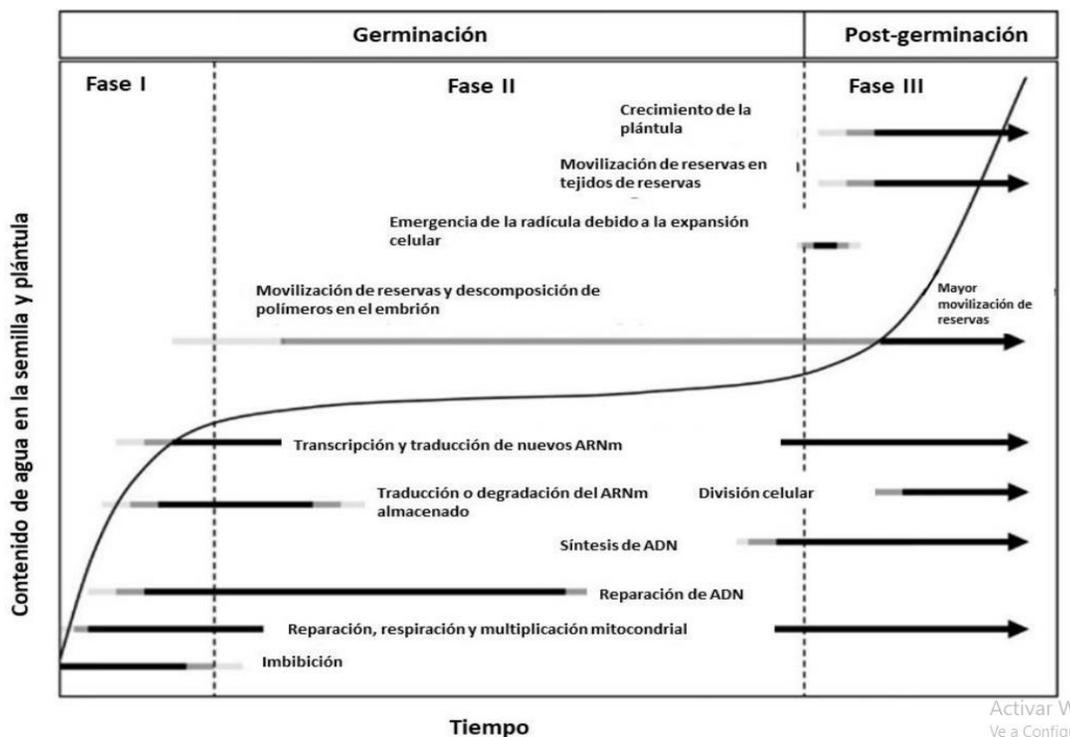
Fases de la Germinación

Según Salvatierra Valdez (2022) existen tres fases en la germinación.

1. Primera fase. Se da la imbibición de la semilla por diferencia de potencial hídrico y la solución del medio.
2. Segunda fase. Activación del metabolismo celular, se da paso a la respiración, reparación mitocondrial, reparación del ADN, transcripción y traslado de ARNm.
3. Tercera fase. Aumenta la movilización de reservas de nutrientes, división celular, síntesis de ADN.

Figura 2

Esquema de los eventos físicos y químicos que ocurren durante la germinación



Nota. La figura muestra las tres fases de la germinación de acuerdo con el contenido de agua a través del tiempo. Recuperado de Salvatierra (2022).

Propiedades nutricionales de los germinados de alfalfa

Los germinados contienen más proteínas, carbohidratos, vitaminas y minerales biodisponibles en comparación de las semillas sin germinar. Los almidones dentro de las semillas se vuelven de fácil digestión ya que se convierten en azúcares más simples (Levy,

2022). Se ha verificado una correlación entre el consumo de germinados de alfalfa y la disminución del colesterol. Se destaca la presencia de vitamina K, D, C, biotina y ácido fólico, además de un alto contenido de hierro y clorofila en los germinados (Rosique, 2015). Debido a la presencia de zinc podemos encontrar fitohormonas como la auxina ácido indolacético, de la cual el zinc es clave para su síntesis. También se encuentra la acción de las giberelinas, implicadas directamente en la germinación; el ácido giberélico (AG3) que rompe la latencia de las semillas y reemplaza la necesidad de estímulos ambientales, como luz y temperatura (Araya et al., 2000).

Tabla 3

Contenido nutricional por cada 100 g de germinados de alfalfa

Componente Nutricional	Contenido por cada 100 g
Calorías	23
Hidratos De Carbono	2.1 g
Gramos De Proteína	3.99 g
Gramos De Grasa	0.69 g
Gramos De Fibra	1.9 g
Vitamina K	30.5 µg (38% DV)
Vitamina C	8.2 mg (14% DV)
Folato	36 µg (9% DV)
Manganeso	0.2 mg (8% DV)
Cobre	0.2 mg (7% DV)
Fósforo	70 mg (7% DV)
Magnesio	27 mg (7% DV)
Riboflavina	0.1 mg (7% DV)
Zinc	0.9 mg (6% DV)
Hierro	1 mg (5% DV)
Tiamina	0.1 mg (5% DV)
Vitamina A	155 UI (3% DV)

Nota. Los DV son las cantidades recomendadas de nutrientes que se deben consumir o no exceder cada día. El porcentaje de DV es cuánto contribuye a su dieta diaria un nutriente en una sola porción. Recuperado de Levy (2022).

Liofilización

El proceso de liofilización hace que el estado del agua cambie de sólido a vapor sin pasar por la fase líquida. Esta tecnología fue desarrollada industrialmente y tiene dos métodos de conservación: congelación y secado (Parzanese, 2012).

El resultado de un producto liofilizado es un producto seco, que conserve todos los rasgos organolépticos iniciales, como el aroma y el sabor.

Liofilización en la industria de los alimentos

En la industria alimentaria se busca eliminar el agua de un alimento utilizando la congelación, se usa esta técnica en lugar de la aplicación de calor, ya que preserva sustancias como proteínas y enzimas, sensibles a altas temperaturas (Chavarrías, 2010).

Se ha comenzado a comercializar liofilizados como ingredientes industriales, para el consumidor, y para productos con un valor agregado (Parzanese, 2012).

Suero de leche

El suero es un producto lácteo que se obtiene separando el cuajo de la leche, al elaborar queso, el sistema coloidal de la leche se divide en dos fracciones (Poveda E, 2013).

Fracción sólida. Compuesta por proteínas insolubles y lípidos, las cuales atrapan los constituyentes hidrosolubles durante su precipitación

Fracción líquida. Correspondiente al lactosuero o suero de leche, se encuentran suspendidos los componentes nutricionales que no fueron integrados a la coagulación de la caseína

Desaprovechamiento del suero de leche

La eliminación inadecuada del lactosuero o suero de leche es un problema global, además, el desconocimiento de sus beneficios impide su revalorización en el desarrollo de nuevos alimentos (Cisneros, 2022).

Los residuos de las industrias del sector lácteo pueden ser aprovechados para el suministro de recursos en la obtención de suplementos alimenticios (Castaño, 2021).

Actualmente existen pocos procesos que se centren en el uso del suero en la producción de bebidas, alimentos y suplementos proteicos (Cisneros, 2022).

Composición nutricional del suero de leche

El suero de leche contiene el 90% del calcio, potasio, fósforo, sodio y magnesio presente en la leche. Estos minerales se transfieren al suero después de la coagulación de las proteínas durante la producción de cuajada (Poveda E, 2013).

Tabla 4

Composición del suero de quesería dulce y ácido

Ítem	Composición	
	Suero dulce	Suero ácido
pH	>6.7	<5.6
Sólidos totales	6.40	6.4
Agua	93.60	93.5
Grasa	0.05	0.04
Proteína	0.55	0.55
NNP	0.18	0.18
Lactosa	4.80	4.40
Cenizas (sales minarales)	0.50	0.80
Calcio	0.04	0.12
Sodio	0.05	0.05
Potasio	0.16	0.16
Ácido láctico	0.40	0.40

Nota. NNP: Nitrógeno no proteico. Recuperado de Reascos y Salazar (2021).

Uso del suero en alimentos y bebidas

Estudios nutricionales establecen que el lactosuero tiene una alta calidad nutricional y puede ser parte de la dieta diaria, ofreciendo beneficios como suplemento nutricional o en alimentos y bebidas realizadas a partir de este subproducto (Cisneros, 2022). En la siguiente (Tabla 5) se muestran diferentes usos del lactosuero que se han implementado en las diferentes industrias.

Tabla 5*Usos del lactosuero en alimentos u otras industrias*

Aplicaciones	Beneficios
Productos lácteos como bebidas fermentadas y quesos	Valor nutricional, como emulsificante, gelificante, mejorar propiedades organolépticas, mejorar consistencia, cohesividad
Bebidas como jugos de fruta, refrescos, bebidas achocolatadas, bebidas a base de leche	Valor nutricional, solubilidad, viscosidad, estabilidad coloidal
Alimentos nutricionales	Alimentos de mayor valor nutricional y bajo costo, alimentos para deportistas, adultos mayores, formulas nutricionales especiales para mantener pesos saludables o aumentar el consumo de proteína, formulas infantiles, formulas especiales para alimentación hospitalaria
Fuente de compuestos bioactivos	Péptidos y proteínas con potencial antihipertensivo, actividad antimicrobial, antioxidante, incremento de la saciedad
Fuente para extraer minerales	Principalmente calcio y fósforo

Nota. La tabla muestra algunas de los principales beneficios al agregar suero de leche en las diferentes industrias. Adaptado de Poveda (2013).

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

El presente trabajo se dividió en dos fases, la primera se centró en la obtención de germinados biofortificados de alfalfa (*Medicago sativa*) con diferentes concentraciones de zinc, la segunda fase, en la liofilización de los germinados y preparación de la bebida a base de suero de leche.

Ubicación geográfica

Primera fase

La primera fase del presente trabajo de investigación se la realizó en el laboratorio de fisiología vegetal y principios activos de la carrera de ingeniería agropecuaria IASA I, con coordenadas 0°23'04.4"S 78°24'52.3"W, altitud 2714 m.s.n.m. Ubicado en la Hacienda El Prado, Sangolquí.

Figura 3

Vista aérea del laboratorio de fisiología vegetal y principios activos



Nota. Recuperado de Google Maps (2023).

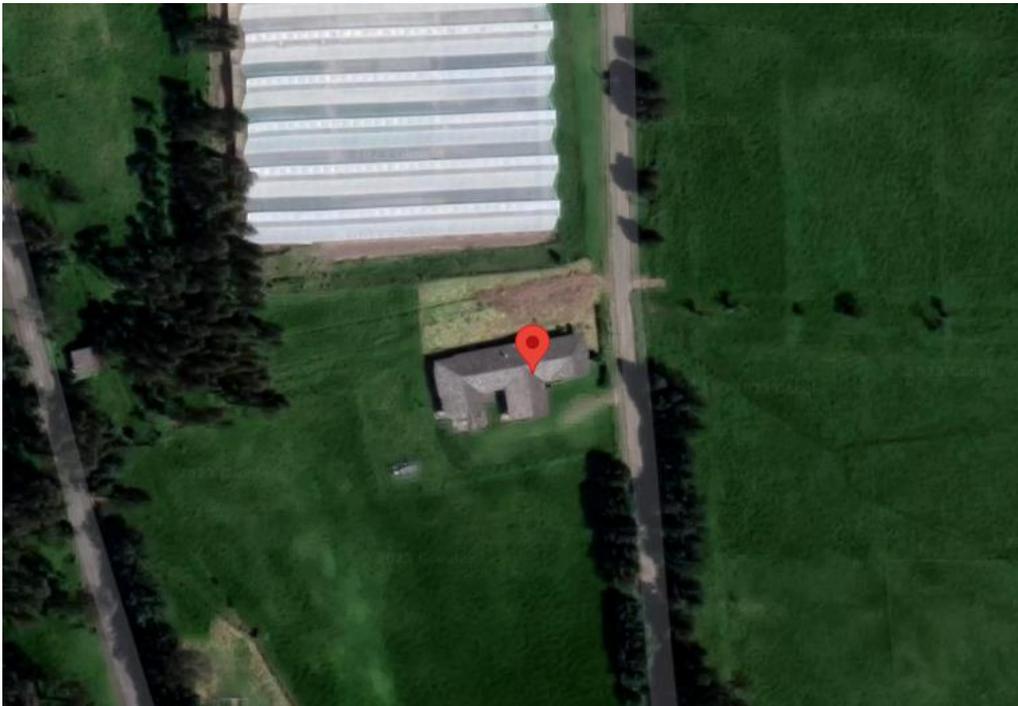
Segunda fase

La segunda fase del trabajo de investigación se la realizó en las instalaciones de la Planta de procesamiento de alimentos de la carrera de ingeniería agropecuaria IASA I, con coordenadas 0°23'27.8"S 78°24'49.1"W, altitud 2740 m.s.n.m. Ubicado en la Hacienda El Prado, Sangolquí.

La liofilización de los germinados se realizó en el laboratorio de poscosecha, mientras que la elaboración de la bebida se la realizó en la planta de procesamiento de alimentos.

Figura 4

Vista aérea de la planta de procesamiento de alimentos



Nota. Recuperado de Google Maps (2023).

Métodos

Preparación de las semillas

Se utilizó 500 gramos de semillas de alfalfa orgánica, es decir semillas sin agroquímicos que afecten la salud de los consumidores. Para cada tratamiento se utilizó 100 gramos de semillas, dando como resultado 25 gramos por repetición.

En la cámara de flujo laminar se realizó la desinfección de las semillas con una solución de hipoclorito de sodio al 0.5% durante 7 minutos, se procedió con tres lavados de las semillas con agua destilada estéril, el primer lavado con duración de un minuto, y los dos siguientes durante tres minutos.

Este procedimiento también ayudó a realizar un proceso de escarificación química a las semillas.

Impregnación de zinc

Una vez desinfectadas las semillas de alfalfa, se las sumergió durante 24 horas en 500 ml de agua destilada estéril con diferentes concentraciones de sulfato de zinc ($ZnSO_4$) correspondientes a los tratamientos (25, 50, 75 y 100 μM) para el tratamiento testigo (0 μM) se sumergieron las semillas durante 24 horas en 500 ml de agua destilada estéril.

Obtención y almacenamiento de los germinados

Una vez concluido el tiempo de hidratación, se colocaron 25 gramos de semillas en frascos de vidrio de 500 ml, previamente esterilizados en una autoclave durante 20 minutos a una temperatura de 121°C y presión de 120 bares.

La germinación de semillas se realizó en un ambiente controlado dentro de una incubadora BIOBASE a 20 °C durante 7 días en total oscuridad, se regó con agua destilada estéril al cuarto día.

Al séptimo día, con la aparición de la radícula, se almacenaron los germinados en fundas autosellantes para inmediatamente congelarse.

Se evaluó el porcentaje de germinación con germinados obtenidos al azar. También se evaluó el largo de la radícula, utilizando el programa ImageJ.

Liofilización de germinados

Una vez congelados y almacenados los germinados a -20 °C en una refrigeradora Indurama, los germinados fueron colocados sobre papel aluminio para ser llevado al equipo liofilizador fabricado en la ESPE, en el cual permaneció de 12 a 18 horas a -25 °C hasta que la

humedad sea del 1 al 3%, a una presión de vacío. Una vez obtenidos los liofilizados se trituraron en un procesador de alimentos Oster.

Finalmente fueron almacenados en fundas autosellantes herméticas para evitar que los liofilizados ganen nuevamente humedad.

Preparación de la bebida

Para obtener la bebida biofortificada con zinc, se utilizó suero de leche proveniente de la elaboración de queso mozzarella en la planta de procesamiento de alimentos del IASA I. Previo una prueba de sabor, se determinó una mejor aceptación para la mezcla entre suero de leche, pulpa de piña y vainilla, por lo que se procedió con la siguiente fórmula (Tabla 6). Se realizó 4 repeticiones de la bebida por cada tratamiento.

Tabla 6

Ingredientes para la elaboración de una bebida biofortificada con zinc

Componentes	Cantidad
Suero de leche	40 ml
Pulpa de piña	26.7 ml
Liofilizado de germinados de alfalfa	2 g
Azúcar	6 g
Vainilla	0.05 ml

Nota. La tabla muestra las cantidades para preparar 70 ml de la bebida.

Vida útil

Pruebas de estantería. Se realizó pruebas fisicoquímicas el primer, segundo, séptimo y vigesimoprimer día. Entre las que se encuentran:

- pH: se midió el potencial hidrogeno con la ayuda de un potenciómetro
- Sólidos solubles totales: se utilizó una gota de la bebida y se midieron los grados Brix con un refractómetro.
- Separación de los componentes: se midió la sinéresis o separación del lactosuero, se utilizó una regla y se realizaron 4 mediciones, una en cada lado de la bebida.

Evolución organoléptica. Se realizaron análisis sensoriales al segundo, séptimo y vigesimoprimer día, se contó con 5 jueces semi entrenados, de edades entre 22 y 26 años, todos miembros de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE. Se evaluó la apariencia del producto, su aroma, textura y sabor; donde los catadores evaluaron la bebida con puntos del 1 al 10. Las pruebas fueron realizadas codificando cada tratamiento y día con una numeración al azar.

Zinc residual

Se evaluó la cantidad de zinc en la bebida utilizando el HI 3854 Test Kit de Zinc, se utilizó 20 ml de muestra de la bebida.

Las muestras fueron previamente secadas en una estufa y calcinadas en una mufla a 600 °C durante 4 horas, se agregó 10 ml de ácido clorhídrico (HCl) y 3 ml de agua destilada, se llevó a la estufa hasta la ebullición.

Se filtró en matraces de 50 ml, se aforó con agua desionizada y se filtró por segunda vez con filtros de membrana de 0.22 µm.

Una vez obtenida los 20 ml de la muestra se añadió un paquete del reactivo HI 3854A-0, se obtuvo 10 ml de la mezcla y se agregó 0.5 ml de reactivo HI 93731B-0 y se cerró la cubeta con el tapón PAD. Se esperó 3 minutos y 30 segundos para que se desarrolle el color y se procedió a medir la absorbancia por medio de un espectrofotómetro.

Utilizando muestras con cantidades de zinc conocidas se estableció una curva para definir la ecuación de la cantidad de zinc en función de la absorbancia (Figura 5).

La ecuación obtenida fue la siguiente:

$$Y = 174.82X^{3.3075}$$

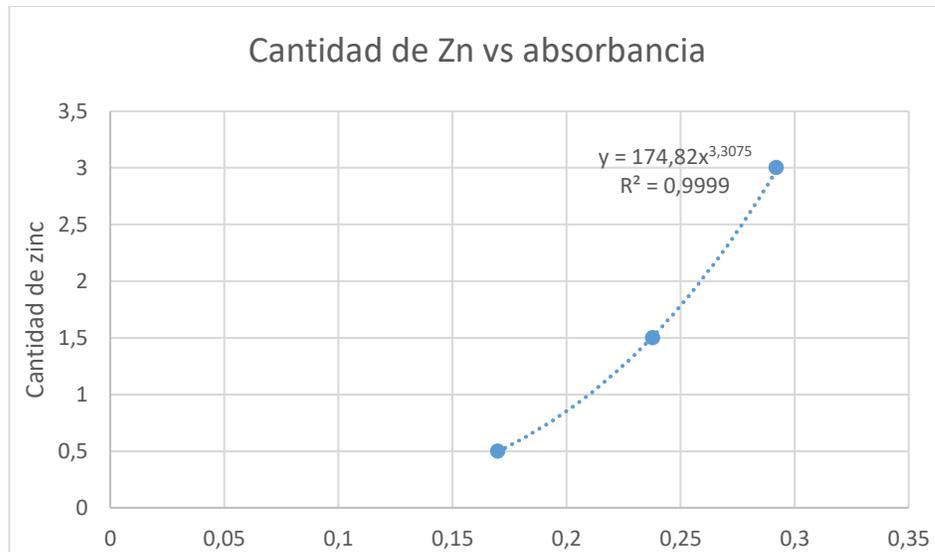
Donde:

X: absorbancia

Y: cantidad de zinc

Figura 5

Cantidad de zinc vs absorbancia



Nota. Las cantidades de zinc se encuentran en mg/L (ppm).

Ácido fítico

Para evaluar el contenido de ácido fítico de los germinados liofilizados se mezcló 2 gramos de las muestras con 50 ml de ácido clorhídrico (HCL) al 2% en matraces de 125 ml y se los llevó a un agitador incubador New Brunswick Scientific a 22 °C y 125 revoluciones por minuto, posteriormente se filtró con papel Whatman número 1 y el filtrado se mezcló con 2.5 ml de reactivo tiocianato de amonio al 3% y se completó la mezcla con 27 ml de agua destilada. Se realizó la titulación con cloruro férrico con una concentración de 1.95 mg/ml, se añadió y se agitó a la mezcla hasta obtener una coloración amarillenta parduzca, la concentración de ácido fítico se calculó considerando las ecuaciones presentadas por Abulude (2004).

$$\text{Fitato de fosforo} \left(\frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right) = \text{Valor de titulación} * 1.95$$

$$\text{Fitato} \left(\frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right) = \text{Fitato de fosforo} * 3.55$$

Relación molar AF:Zn

Se evaluó la biodisponibilidad del zinc considerando las ecuaciones presentadas por Wei et al. (2012), mediante la relación molar ácido fítico: zinc.

$$AF:Zn = \frac{mmol\ AF}{mmol\ Zn}$$

Los resultados de la relación molar se relacionaron con los porcentajes de biodisponibilidad (Tabla 2).

Diseño experimental

Tratamientos primera fase

Las unidades experimentales fueron cada frasco de germinación con 25 gramos de semillas de alfalfa tratadas con diferentes concentraciones de zinc (0, 25, 50, 75 y 100 μ M) que fue el factor de estudio, teniendo así 5 tratamientos, incluido el testigo, con 4 repeticiones cada uno, dando un total de 20 unidades experimentales (Tabla 7). La disposición de los tratamientos se muestra en la (Figura 6).

Diseño experimental primera fase

Estructura de parcelas. Fue dispuesta bajo un diseño completamente al azar (DCA).

Estructura de tratamientos. Es un modelo unifactorial de 4 tratamientos más un testigo, con 4 repeticiones.

Para las variables porcentaje de germinación, longitud de la radícula, contenido de zinc, contenido de ácido fítico, relación AF:Zn. El modelo matemático es el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + Z_i + E_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} : variable de respuesta

μ : media general de la variable de respuesta

Z_i : efecto de la i-ésima concentración de Zn

E_{ij} : error experimental

Tabla 7

Tratamientos por probar experimentalmente en la primera fase

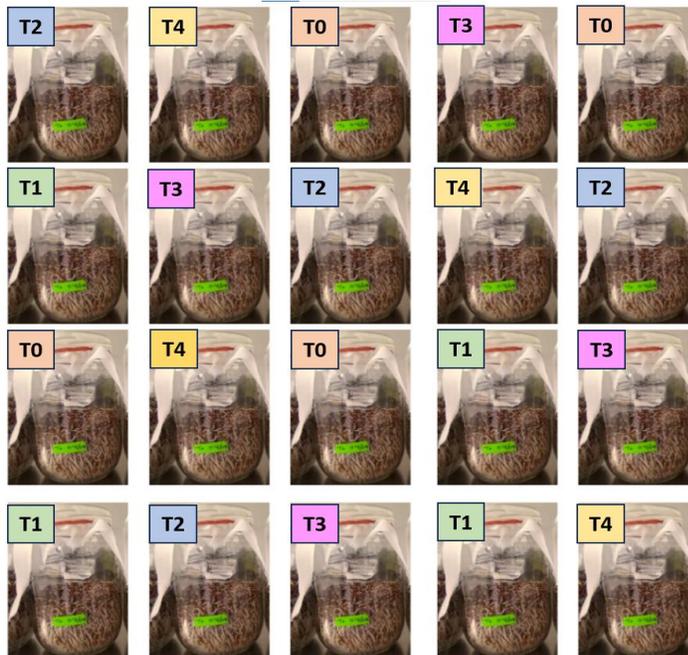
Factor	Simbología	Niveles	Tratamientos
Concentración de zinc del agua utilizada para la activación de semillas de alfalfa	C	C1 = 0 μM Zn	T0 = Semillas de alfalfa remojadas durante 24 horas a 0 μM de Zn
		C2 = 25 μM Zn	T1 = Semillas de alfalfa remojadas durante 24 horas a 25 μM de Zn
		C3 = 50 μM Zn	T2 = Semillas de alfalfa remojadas durante 24 horas a 50 μM de Zn
		C4 = 75 μM Zn	T3 = Semillas de alfalfa remojadas durante 24 horas a 75 μM de Zn
		C5 = 100 μM Zn	T4 = Semillas de alfalfa remojadas durante 24 horas a 100 μM de Zn

Nota. La tabla representa los tratamientos de acuerdo con los niveles de concentración de zinc

Croquis del diseño primera fase

Figura 6

Distribución aleatorizada del experimento durante la primera fase



Nota. La figura muestra la disposición de las unidades experimentales. T0: 0 μM Zn, T1: 25 μM Zn, T2: 50 μM Zn, T3: 75 μM Zn, T4: 100 μM Zn

Tratamientos segunda fase

Para la segunda fase las unidades experimentales fueron cada bebida de piña elaborada en base a suero de leche y germinados biofortificados con diferentes niveles de zinc (0, 25, 50, 75 y 100 μM) teniendo así 5 tratamientos, incluido el testigo. Se bloqueó considerando los días en que se tomaron datos de las bebidas, que fueron el día 0, día 2, día 7 y día 21. Con un total de 20 unidades experimentales (Tabla 8), la disposición de los tratamientos se muestra en la (Figura 7).

Tabla 8

Tratamientos para probar experimentalmente en la segunda fase

Factor	Simbología	Niveles	Tratamientos
Germinados liofilizados de alfalfa tratados con diferentes niveles de zinc, utilizados en la elaboración de la bebida	G	G1 = 0 μM Zn	T0 = Bebida con germinados tratados a 0 μM de Zn
		G2 = 25 μM Zn	T1 = Bebida con germinados tratados a 25 μM de Zn
		G3 = 50 μM Zn	T2 = Bebida con germinados tratados a 50 μM de Zn
		G4 = 75 μM Zn	T3 = Bebida con germinados tratados a 75 μM de Zn
		G5 = 100 μM Zn	T4 = Bebida con germinados tratados a 100 μM de Zn

Nota. La tabla representa los tratamientos de acuerdo con los niveles de concentración de zinc de los germinados de alfalfa que fueron utilizados para la elaboración de la bebida.

Diseño experimental segunda fase

Estructura de parcelas. Fue dispuesta bajo un diseño en bloques completamente al azar (DBCA).

Estructura de tratamientos. Es un modelo unifactorial de 4 tratamientos más un testigo, con 4 repeticiones.

Para las variables porcentaje de grados Brix, pH, separación de componentes y evolución organoléptica; el modelo matemático es el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + Z_i + D_j + E_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} : variable de respuesta

μ : media general de la variable de respuesta

Z_i : efecto de la i-ésima concentración de Zn

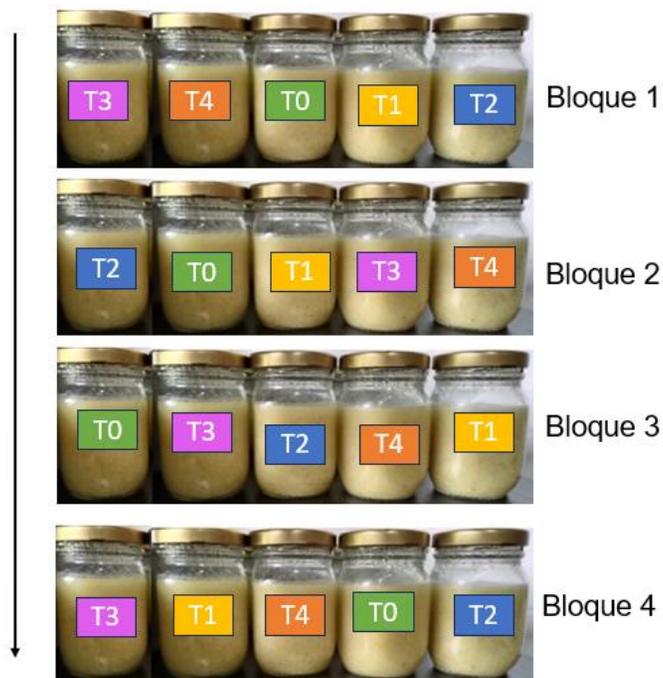
D_j : efecto del j-ésimo día

E_{ij} : error experimental

Croquis del diseño segunda fase

Figura 7

Distribución aleatorizada del experimento durante la segunda fase



Nota. La figura muestra la disposición de las bebidas elaboradas con germinados tratados con diferentes concentraciones de zinc.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados

Parámetros de germinación

Porcentaje de germinación

El porcentaje de germinación no presentó diferencias significativas entre los tratamientos ($F=3,91$; $p=0,0965$).

Longitud de la radícula

La longitud de la radícula presentó diferencias significativas entre los tratamientos ($F=11.82$; $p=0.0092$).

Las semillas de alfalfa impregnadas con dosis correspondientes a 75 μM de zinc y 100 μM de zinc presentaron mayor longitud de radícula que las semillas tratadas con 0 μM Zn y 25 μM Zn (Tabla 9).

Tabla 9

Promedios \pm DE del largo de radícula en germinados de alfalfa tratados con diferentes niveles de zinc

μM Zn	Medias \pm DE
0	3.49 \pm 1.07 a
25	4.63 \pm 0.17 a b
50	5.71 \pm 0.41 b c
75	6.98 \pm 0.09 c
100	7.34 \pm 0.91 c

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes (LSD Fisher; $\alpha=0.05$). Las medias de longitud de la radícula se encuentran en centímetros.

Cantidad y biodisponibilidad de zinc

Contenido de zinc en la bebida

El contenido de zinc en la bebida presentó diferencias significativas entre tratamientos ($F=34.24$; $p=0.0008$).

Las bebidas que contenían germinados liofilizados de alfalfa tratadas con 75 y 100 μM Zn presentaron mayor contenido de zinc que las bebidas que contenían germinados tratados con 0, 25 y 50 μM Zn (Tabla 10).

Tabla 10

Promedios \pm DE del contenido de zinc en bebidas con germinados liofilizados de alfalfa tratados con diferentes niveles de zinc

μM Zn	Medias \pm DE
0	0.56 ± 0.11 a
25	0.61 ± 0.07 a
50	0.95 ± 0.18 a
75	2.45 ± 0.47 b
100	2.52 ± 0.11 b

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes (LSD Fisher; $\alpha=0.05$). El contenido de zinc corresponde a mg/L (ppm).

Contenido de ácido fítico

El contenido de fitatos calculados presentes en los germinados liofilizados no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos 0, 25, 50, 75 y 100 μM Zn ($F=27.00$; $p=0.138$).

Los contenidos de fitatos para los germinados tratados con 0, 25, 50, 75 y 100 μM Zn corresponde a 2.77, 2.77, 2.08, 1.38 y 1.38 respectivamente.

Se puede observar que, a mayor cantidad de zinc, menor cantidad de fitatos (Tabla 11).

Tabla 11

Resultados del cálculo de fitatos presente en germinado liofilizados de alfalfa, tratados con diferentes niveles de zinc

Tratamiento ($\mu\text{M Zn}$)	Titulación (ml)	Fitato de fosforo (mg/100g)	Fitato (mg/100g)
0	0.4	0.78	2.77
25	0.3	0.585	2.08
50	0.3	0.59	2.08
75	0.4	0.78	2.77
100	0.2	0.39	1.38

Nota. La concentración de ácido fítico se calculó considerando las ecuaciones presentadas por Abulude (2004).

Relación molar ácido fítico (AF:Zn)

Al realizar la relación molar ácido fítico: zinc (Tabla 12) se determinó que la biodisponibilidad de zinc para los tratamientos con germinados tratados con 25, 50, 75 y 100 $\mu\text{M Zn}$ es mayor al 50%.

Para los tratamientos con germinados tratados con 0 $\mu\text{M Zn}$ la biodisponibilidad de zinc baja a un 30%.

Tabla 12

Resultados del cálculo de la relación molar AF:Zn en germinado liofilizados de alfalfa, tratados con diferentes niveles de zinc

Tratamiento ($\mu\text{M Zn}$)	Fitato (mg/100g)	Zinc (mg/L)	mM AF	mM Zn	Relación AF:Zn	Biodisponibilidad de Zn
0	2.769	0.560	0.055	0.009	6.331	30%
25	2.077	0.610	0.041	0.009	4.359	>50%
50	2.077	0.950	0.041	0.015	2.799	>50%
75	2.769	2.450	0.055	0.038	1.447	>50%
100	1.385	2.520	0.027	0.039	0.703	>50%

Nota. La biodisponibilidad se calculó de acuerdo con las ecuaciones de Borelli et al. (2007).

Pruebas de estantería

Sólidos solubles totales

Los grados Brix de la bebida a los 2, 7 y 21 días, no tuvieron diferencias significativas entre los tratamientos (F=0.75; p=0.5764).

pH de la bebida

El pH de la bebida a los 2, 7 y 21 días, no presentó diferencias significativas entre los tratamientos (F=2.38, p=0.1094).

Tabla 13

Medias ± DE de los grados Brix y pH de bebidas con germinados liofilizados de alfalfa tratados con diferentes niveles de zinc

Tratamiento	Grados Brix	pH
T0	19.53 ± 1.14 a	5.35 ± 0.35 a
T1	18.53 ± 1.01 a	5.26 ± 0.34 a
T2	19.25 ± 2.14 a	5.24 ± 0.34 a
T3	19.53 ± 0.71 a	5.30 ± 0.31 a
T4	18.68 ± 0.54 a	5.21 ± 0.31 a

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes (LSD Fisher; $\alpha=0.05$). T0: 0 μM Zn, T1: 25 μM Zn, T2: 50 μM Zn, T3: 75 μM Zn, T4: 100 μM Zn

Separación de los componentes

La separación de los componentes de la bebida tuvo diferencias significativas entre los tratamientos correspondientes a 25 μM Zn, 50 μM Zn, 75 μM Zn y 100 μM Zn (Friedman; p =0.0002).

Las bebidas con germinados liofilizados tratados con 75 μM tuvieron menor separación de sus componentes a comparación de las bebidas con germinados tratados con 25, 50, 75 y 100 μM (Tabla 14).

Tabla 14

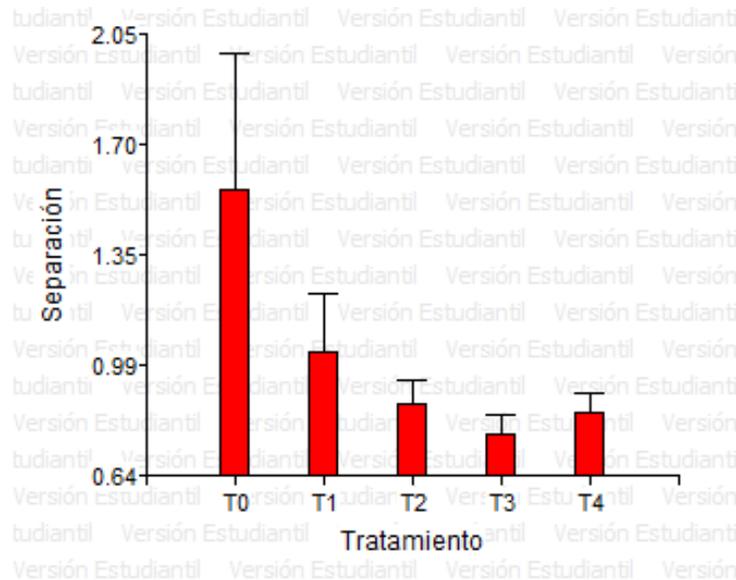
Medias de separación de las bebidas con germinados de alfalfa tratados con diferentes niveles de zinc

$\mu\text{M Zn}$	Suma (Ranks)	Media (Ranks)
75	3.00	1.00 a
100	7.50	2.50 b
50	8.00	2.67 b c
25	11.50	3.83 d
0	15.00	5.00 e

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes (Friedman; $p < 0.05$).

Figura 8

Separación de los componentes de la bebida vs cantidad de zinc



Nota. La figura muestra la separación promedio de los componentes, medidos a los 2, 7 y 21 días. T0: 0 $\mu\text{M Zn}$, T1: 25 $\mu\text{M Zn}$, T2: 50 $\mu\text{M Zn}$, T3: 75 $\mu\text{M Zn}$, T4: 100 $\mu\text{M Zn}$.

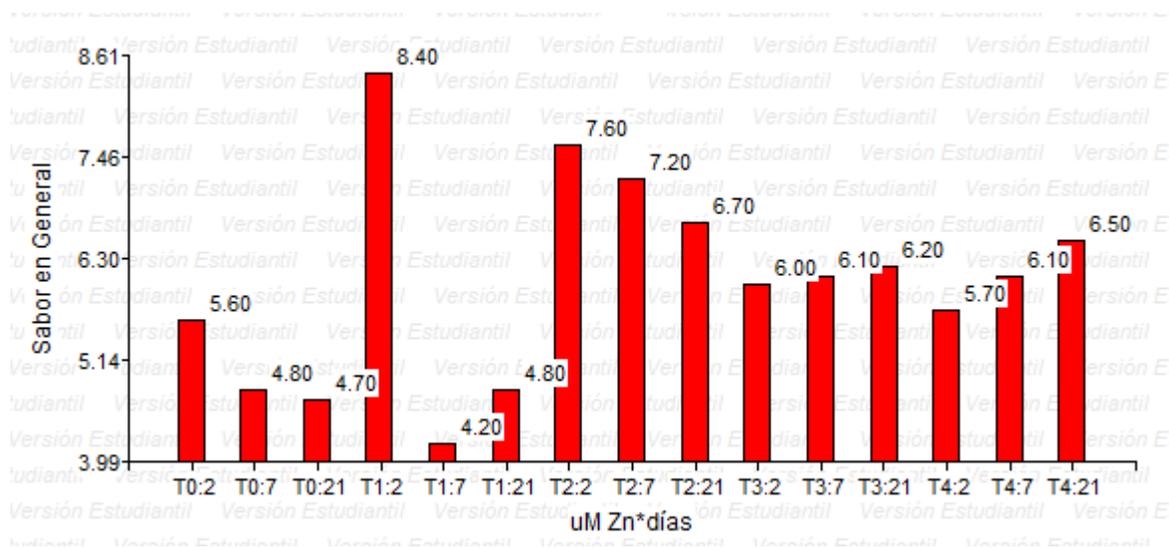
Vida útil en percha

Debido a que no hubo diferencias en el pH ni en los grados Brix de las bebidas, para determinar la vida útil en percha, se consideró que un promedio del sabor en general inferior a 5 (en una escala donde 1 es desagradable y 10 muy agradable) para que el producto ya no sea apetecible.

En la (Figura 9) se puede observar los tratamientos que obtuvieron una calificación menor a 5 en el sabor en general, estos fueron: T0 a partir del séptimo día y T1 a partir del séptimo día.

Figura 9

Sabor en general de las bebidas al día 2, 7 y 21



Nota. Se observa el sabor general de las bebidas hechas con germinados de alfalfa tratados con diferentes niveles de zinc, T0: 0 μM Zn; T1: 25 μM Zn; T2: 50 μM Zn; T3: 75 μM Zn; T4: 100 μM Zn.

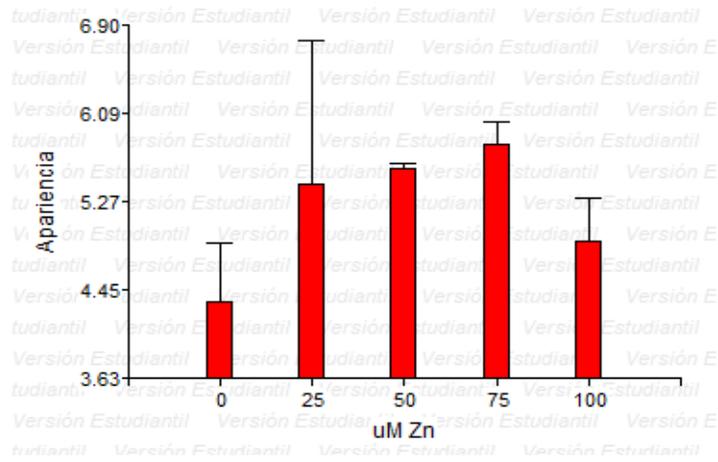
Evolución organoléptica de la bebida

Apariencia

Los resultados de las pruebas organolépticas a los 2, 7 y 21 días no indicaron diferencias significativas entre las bebidas por su apariencia ($F=2.20$, $p=0.1592$).

Figura 10

Apariencia promedio de las bebidas evaluadas a los 2, 7 y 21 días



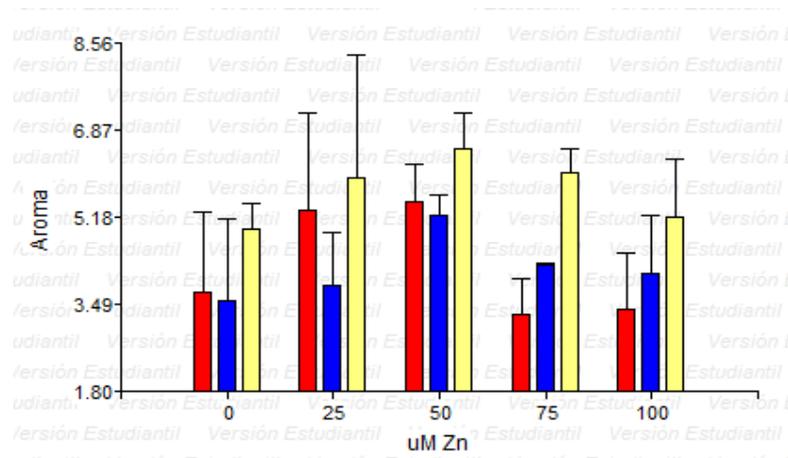
Nota. La figura muestra el promedio de la apariencia de la bebida, donde 1 es desagradable y 10 muy agradable.

Aroma

No hubo significativas entre los tratamientos para el aroma a piña ($F=1.70$; $p=0.2420$), aroma a vainilla ($F=1.42$; $p=0.3106$) ni en el aroma en general (Friedman, $p=0.4388$).

Figura 11

Aroma promedio de la bebida, evaluada a los 2, 7 y 21 días



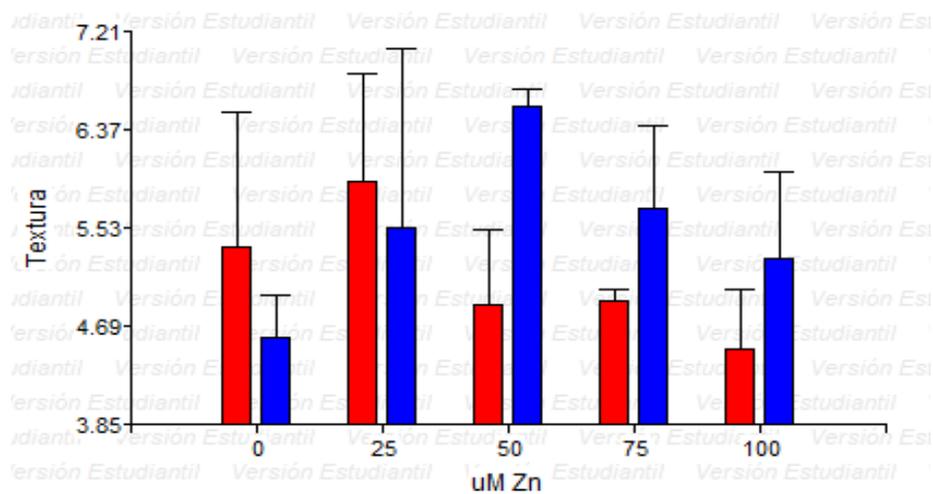
Nota. La figura muestra los promedios de los resultados de aroma a piña (rojo), vainilla (azul) y el aroma en general (amarillo).

Textura

Los resultados de las pruebas organolépticas a los 2, 7 y 21 días no indicaron diferencias significativas entre las bebidas por su grumosidad ($F=2.06$; $p=0.1791$), ni en su textura en general ($F=2.07$; $p=0.1767$).

Figura 12

Textura promedio de la bebida, evaluada a los 2, 7 y 21 días



Nota. Se puede observar los promedios de la grumosidad de la bebida (rojo) y la textura en general (azul). Donde 1 es desagradable y 10 muy agradable.

Sabor

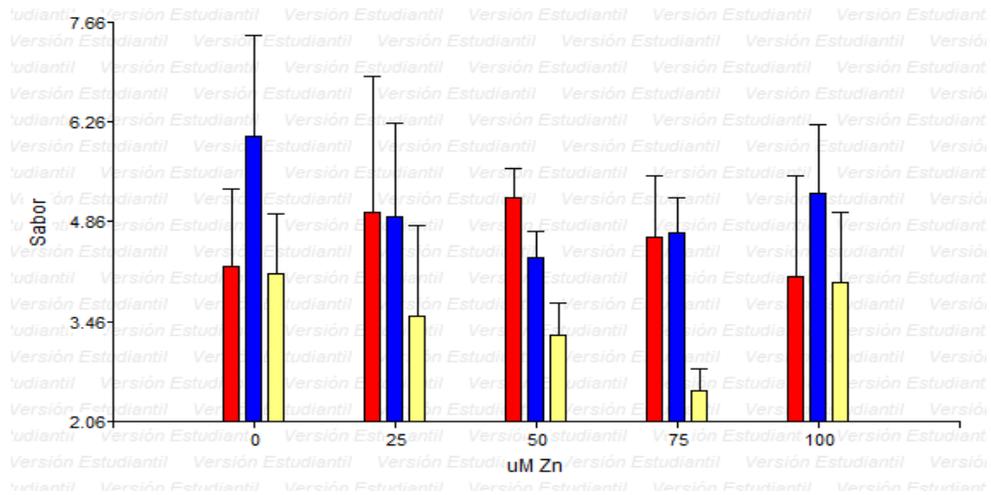
Los resultados de las pruebas organolépticas no indicaron diferencias significativas entre las bebidas para los siguientes criterios: sabor a piña ($F=0.37$; $p=0.8272$); sabor a germinados ($F=1.09$; $p=0.4223$); sabor a suero de leche ($F=1.43$; $p=0.3094$); nivel de azúcar ($F=0.30$; $p=0.8724$); amargor ($F=1.75$; $p=0.2310$); sabor en general (Friedman, $p=0.1017$).

En escalas donde 1 es imperceptible y 10 excesivo para los sabores a germinados, suero de leche, amargor y nivel de azúcar.

Para evaluar el sabor en general se utilizó una escala donde escala donde 1 es desagradable y 10 muy agradable.

Figura 13

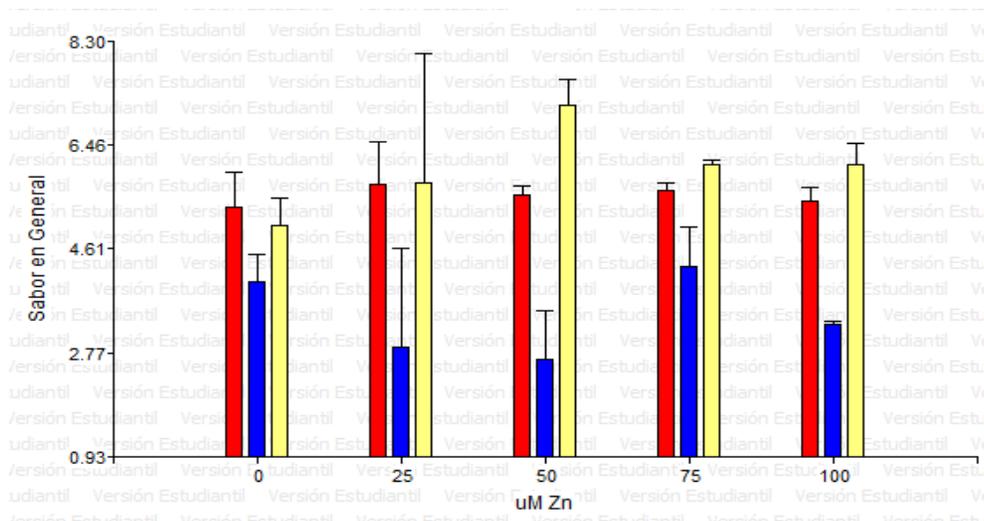
Sabor de los componentes promedio de la bebida, evaluada a los 2, 7 y 21 días



Nota. Se muestran los promedios del sabor a piña (rojo), sabor a germinados (azul) y sabor a suero de leche (amarillo). Donde 1 es imperceptible y 10 excesivo.

Figura 14

Sabor general de la bebida, evaluada a los 2, 7 y 21 días



Nota. Se muestran los promedios del nivel de azúcar (rojo) y amargor (azul), donde 1 es imperceptible y 10 excesivo. Se observa también el sabor en general (amarillo), donde 1 es desagradable y 10 muy agradable.

Discusión

Durante la fase de obtención de germinados biofortificados con zinc, se evaluó el porcentaje de germinación y el desarrollo radicular. Ochoa (2019) indica que los factores cruciales al momento de la germinación son principalmente la humedad y la temperatura. En este trabajo no se obtuvo diferencias significativas en el porcentaje de germinación de semillas de alfalfa, la media de las semillas que estuvieron en remojo durante 24 horas a diferentes concentraciones de zinc, y a una temperatura de germinación de 20 °C durante 7 días fue del 96%. Ochoa (2019) obtuvo un porcentaje de germinación del 83.50% de semillas de alfalfa a un tiempo de remojo de 30 minutos y con una temperatura de germinación de 20 °C durante 10 días. Por otra parte Gonzales et al. (2011) evaluó el porcentaje de germinación de semillas de alfalfa sin remojo previo, en cajas Petri con 5ml de agua a una temperatura de 19 ± 4 °C durante 15 días, dando como resultado una germinación del 100%. El porcentaje obtenido es óptimo en comparación con otras investigaciones, si bien el porcentaje de germinación puede variar dependiendo de las condiciones ambientales, también se debe considerar las condiciones internas como efectos mecánicos, inmadurez del embrión, baja concentración del etileno y presencia de inhibidores.

En cuanto al largo de la radícula se determinó que la mayor longitud de radícula fue de 6.98 a 7.34 cm con dosis de 75 a 100 μM Zn, evaluadas al día 7. Salvatierra (2022) evaluó el largo de la radícula en germinados de alfalfa con diferentes concentraciones de zinc, determinó que la mayor longitud fue $3.99 \pm 0,65$ con semillas tratadas con dosis de 40 μg . ml⁻¹ de zinc, medidos al quinto día. La longitud que corresponde a los resultados obtenidos por Salvatierra (2022) es de las semillas tratadas con 25 y 50 μM Zn con medias de 4.63 a 5.71 cm. Estos datos reafirman que la cantidad de zinc influye en el desarrollo de la radícula como se indica en la (Tabla 8). Es importante resaltar que la presencia de zinc aumenta la síntesis de triptófano, un aminoácido que estimula la síntesis de la hormona vegetal ácido indol-3-acético, que, según

Vega *et al.*, (2016) es la principal auxina encargada de la elongación, la división celular, la diferenciación de tejidos y las respuestas a la luz y gravedad.

La bebida obtenida con mayor cantidad de zinc fue aquella que se utilizó germinados tratados con 75 y 100 μM de zinc, teniendo una cantidad de 2.45 y 2.52 mg/L de zinc, respectivamente. La norma técnica INEN 1334-2-2:2011 para los requisitos del rotulado nutricional, indica que, para declarar un alimento fortificado, este debe contener al menos el 20% del valor diario recomendado. Suponiendo se realice una bebida de 240 ml, su contenido de zinc sería de 0.6 mg, correspondiente al 20% de 3 mg de zinc, que según NIH (2022) es el requerimiento para niños de 7 meses a 3 años.

La biodisponibilidad de zinc para los tratamientos con 25, 50, 75 y 100 μM Zn fue superior al 50%, mientras que para el tratamiento con 0 μM Zn fue del 30%, este último difiere con Salvatierra (2022) que al realizar la impregnación con zinc a 0, 10, 20, 30 y 40 ppm de Zn, todos sus tratamientos tuvieron una biodisponibilidad mayor al 50%, aunque solo evaluó la relación AF:Zn en germinados, mas no en una bebida, y de acuerdo a Ruel (2007) la absorción de los fortificantes de zinc varía cuando son añadidos a diferentes alimentos.

En cuanto a las pruebas de estantería. No se obtuvieron diferencias entre los tratamientos con respecto al pH y a los grados Brix, siendo estos con medias de 5.23- 5.38 de pH y 18.47-19.50 de grados Brix. Al no haber variaciones se determina que no hubo fermentación ni cambios acidificación en las bebidas. Morales (2016) realizó una bebida fortificada a base de suero de leche y mango, detalla que los grados Brix es inversamente proporcional a la acidez del producto y una bebida con 38 grados Brix y pH entre 4.5 y 4.7 genera mayor aceptación por parte del consumidor. Por otra parte, Quimbita y Rodríguez (2008) indican que conforme aumenta el dulzor y disminuye el pH, la aceptabilidad crece, además, la percepción de sabores extraños disminuye.

Se determinó que las bebidas con germinados liofilizados tratados con 75 μM tuvieron menor separación de sus componentes, esto tuvo un impacto por parte de los consumidores,

pues las bebidas que obtuvieron menor grumosis fueron las bebidas con mayores valoraciones en su sabor en general. La sinéresis o la separación de las fases en una suspensión es un fenómeno natural que ocurre en productos lácteos, Santillán y Vélez (2019) al fortificar yogures con micro minerales como el Zn50M, obtuvo menor sinéresis en comparación con el testigo, aunque obtuvo productos más estables fortificando con nanopartículas, esto debido a la presencia de inulina. Esto es un factor muy importante para tener en cuenta, ya que Acevedo et al. (2010) indica que los defectos de calidad presentes tales como: textura granulosa, sinéresis y consistencia variable, son las causas de un bajo consumo de bebidas con suero de leche.

En cuanto a la valoración organoléptica no se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos, debido a que se usó la misma cantidad de germinados en todos los tratamientos, cambiando únicamente la concentración de zinc con la que fueron tratados. Sin embargo, de forma descriptiva se observa una mejor aceptación en bebidas con poca grumosis y poca separación de los componentes. Esto concuerda con Morales (2016), que, al realizar una bebida fortificada a base de suero de leche, tuvo diferencias organolépticas solo al cambiar el porcentaje de goma xantana utilizada que permite texturizar y espesar los líquidos.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

- Al añadir germinados impregnados con 75 y 100 μM de zinc al suero de leche, se obtuvo una bebida biofortificada con una cantidad de 2.45 y 2.52 mg/L de zinc, respectivamente, se obtuvo una disponibilidad mayor al 50% en ambos tratamientos, menor sinéresis para el tratamiento con 75 μM Zn y una aceptabilidad media del producto final.
- Se obtuvo germinados de alfalfa biofortificados con zinc, estos no tuvieron porcentajes de germinación diferentes entre los tratamientos, sin embargo, las semillas tratadas con 75 y 100 μM de zinc obtuvieron mayor desarrollo de radícula debido a la síntesis de la auxina ácido indolacético, estimulada por la presencia del zinc.
- Los germinados biofortificados obtenidos se liofilizaron y trituraron, de esta manera estuvieron listos para ser agregarlos a la bebida a base de suero de leche, debido a que al liofilizar no se perderán los contenidos nutricionales ni organolépticos de los germinados.
- Las pruebas de esterilidad determinaron que los grados Brix y el pH de la bebida no cambia a los 2, 7 ni 21, indicando que la bebida no presentó fermentación, acidificación, gases, ni presencia de contaminantes. Se pudo notar una la separación del suero de leche o sinéresis, propio de una bebida a base de leche, se determinó que las bebidas realizadas con germinados tratados con 75 μM de zinc presentaron menor separación de los componentes, con respecto a los demás tratamientos. También se determinó descriptivamente que las bebidas con una valoración menor a 5 (en una escala donde 1 es desagradable y 10 muy agradable) fueran consideradas como no consumibles, estas bebidas fueron aquellas con el tratamiento 0 y 25 μM de zinc, a partir del día 7. En contra parte la bebida con mayor aceptación del sabor en general fue T2, es decir

aquella con germinados tratados con 50 μM de zinc, seguida por T3, elaborada con los germinados impregnados con 75 μM de zinc.

- La bebida que presentó mayor cantidad de zinc residual fueron las bebidas que utilizaron germinados tratados con 75 y 100 μM de zinc, teniendo una cantidad de 2.45 ± 0.47 y 2.52 ± 0.11 mg/L de zinc, respectivamente, seguidas por las bebidas con germinados tratados con 50, 25 y 0 μM de zinc, con 0.95 ± 0.18 ; 0.61 ± 0.07 y 0.56 ± 0.11 mg/L de zinc, respectivamente. Al realizar el contenido de ácido fítico en los germinados liofilizados se logró determinar la relación ácido fítico: zinc. Para los tratamientos con 0, 25, 50, 75 y 100 μM de zinc, el valor de la relación AF:Zn fue de 6.33; 4.36; 2.80; 1.44 y 0.70 respectivamente.

Recomendaciones

- Se recomienda promover el consumo de la bebida de piña a base de suero de leche y germinados liofilizados de alfalfa con una impregnación de zinc de 75 μM Zn, ya que fue la bebida que obtuvo mayor contenido de zinc residual, menor sinéresis, fue una bebida con evaluación organoléptica constante y una buena una biodisponibilidad de zinc.
- Para obtener un análisis de la biofortificación completa, se recomienda realizar estudios que complementen este, midiendo el grado de absorción de zinc en personas que consumen la bebida.
- Se recomienda continuar con las pruebas de estantería para poder determinar la vida útil real del producto
- Se recomienda utilizar productos que ayuden a la cohesividad de la bebida, con el fin de mejorar la consistencia y esta sea más apetecible.

Bibliografía

- Abulude, F. (2004). Effect of processing on nutritional composition, phytate and functional properties of rice (*Oryza sativa*) Flour. *Nigerian Food Journal*, 22(1), 97–104.
<https://doi.org/10.4314/nifoj.v22i1.33573>
- Acevedo, D., Rodríguez, A. y Fernández, A. (2010). Efecto de las Variables de Proceso sobre la Cinética de Acidificación, la Viabilidad y la Sinéresis del Suero Costeño Colombiano. *Información Tecnológica*, 21(2), 29–36. <https://www.scielo.cl/pdf/infotec/v21n2/art05.pdf>
- Araya, E., Gómez, L., Hidalgo, N. y Valverde, R. (2000). Efecto de la luz y del ácido giberelico sobre la germinación in vitro de jaul (*Alnus acuminatay*). *Agronomía Costarricense*, 24(1), 75–80. <https://www.redalyc.org/pdf/436/43624108.pdf>
- Betancor, M. y Keel, W. (2003). *Efecto de la refertilización P-S-K y micronutrientes en alfalfa* [Tesis, Universidad de la República].
<https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/25383/1/BetancorPeregalIIMateo.pdf>
- Borelli, F., Ramón, A. y de la Vega, S. (2007). Interacción calcio-fitato-cinc en yogures con cereales. *Revista Española de Nutrición Comunitaria*, 13(1), 26–29.
https://www.renc.es/imagenes/auxiliar/files/NUT_12007_Interaccion_calcio.pdf
- Brito, H., Santillán, A., Arteaga, M., Ramos, E., Villalón, P. y Rincón, A. (2015). Aprovechamiento del suero de leche como bebida energizante para minimizar el impacto ambiental. *European Scientific Journal*, 11(26), 257–268.
<https://core.ac.uk/download/pdf/236406128.pdf>
- Castaño, C. (2021). *Estudio de la viabilidad en la creación de una empresa productora y comercializadora de proteína de suero de leche para el aprovechamiento de los centros de acondicionamiento físico* [Trabajo de grado, Universidad Tecnológica de Pereira].

<https://repositorio.utp.edu.co/server/api/core/bitstreams/062564b6-99af-44fe-aae2-ac26ccf375dc/content>

Castillo, J., Ojeda, D. L., Hernández, A., González, A. C., Robles, L. y López, G. R. (2018).

Metaloenzimas de zinc en plantas. *Interciencia: Revista de Ciencia y Tecnología de América*, 43(4), 242–248. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6401071>

Chavarrías, M. (2010). *Liofilización para una mejor conservación* [Archivo PDF].

https://www.adiveter.com/ftp_public/A2190210.pdf

Chuchuca, K., y Román, J. (2022). *Aprovechamiento del suero salado lácteo proveniente de la elaboración de queso fresco artesanal* [Proyecto de titulación, Escuela Superior Politécnica del Litoral].

[https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/52455/1/T-](https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/52455/1/T-88956%20CHUCHUCA%20MENA%2c%20KATATHERINE%20-%20ROMAN%20PINO%2c%20JOSE.pdf)

[88956%20CHUCHUCA%20MENA%2c%20KATATHERINE%20-](https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/52455/1/T-88956%20CHUCHUCA%20MENA%2c%20KATATHERINE%20-%20ROMAN%20PINO%2c%20JOSE.pdf)

[%20ROMAN%20PINO%2c%20JOSE.pdf](https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/52455/1/T-88956%20CHUCHUCA%20MENA%2c%20KATATHERINE%20-%20ROMAN%20PINO%2c%20JOSE.pdf)

Cisneros, A. (2022). *Beneficios de la utilización del suero de leche en la elaboración de*

suplementos proteicos en la industria láctea [Trabajo de titulación, Universidad Central

del Ecuador]. [http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/28180/1/FCQ-CQA-](http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/28180/1/FCQ-CQA-CISNEROS%20ALISSON.pdf)

[CISNEROS%20ALISSON.pdf](http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/28180/1/FCQ-CQA-CISNEROS%20ALISSON.pdf)

Costello, L. y Franklin, B. (2006). La relevancia clínica del metabolismo del cáncer de próstata;

Zinc y supresión de tumores: conectando los puntos. *Molecular Cancer*, 5(17).

<https://doi.org/10.1186/1476-4598-5-17>

Flores, P. (2013). *Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la tasa respiratoria y*

calidad de germinados de alfalfa mínimamente procesados en fresco [Memoria de título,

Universidad de Chile]. [https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/147926/Flores-](https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/147926/Flores-%20Efecto%20de%20la%20temperatura%20%282013%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

[%20Efecto%20de%20la%20temperatura%20%282013%29.pdf?sequence=1&isAllowed](https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/147926/Flores-%20Efecto%20de%20la%20temperatura%20%282013%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

[=y](https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/147926/Flores-%20Efecto%20de%20la%20temperatura%20%282013%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

- Gonzales, L., Franco, O., Ramírez, C., Ortega, H., Quero, R. y Trejo, C. (2011). Germinación y crecimiento de alfalfa bajo condiciones salinas. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 2(1), 169–174.
https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2007-09342011000100014&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Jha, A. y Warkentin, T. (2020). Biofortificación de cultivos de leguminosas: estado y perspectivas futuras. *Plants*, 9(1), 1–29. <https://doi.org/10.3390/plants9010073>
- Khaula, J. (2021). *Recomendaciones operativas sobre biofortificación de acción contra el hambre* [Archivo PDF]. <https://www.actioncontrelafaim.org/wp-content/uploads/2022/01/Biofortification-Recommandations-operationelles-ES-VF.pdf>
- Levy, J. (2022). *Alfalfa Sprouts Benefits and How to Grow Them at Home*. Ancient Nutrition. Recuperado el 22 de agosto del 2023 de <https://draxe.com/nutrition/alfalfa-sprouts/>
- Martínez, B., Ibáñez, V. y Rincón, F. (2002). Acido fítico: aspectos nutricionales e implicaciones analíticas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 52(3), 219-231.
https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttextypid=S0004-06222002000300001
- Ministerio de Salud Pública del Ecuador. (2018). *Plan Intersectorial de Alimentación y Nutrición 2018-2025* [Archivo PDF]. <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2018/08/PIANE-2018-2025-final-compressed-.pdf>
- Mónico, A., Martín, O., de Portela, M. y Langini, S. (2006). Aceptabilidad y calidad nutricional de una bebida a base de zumo de naranja y suero de leche, conservado con calor o campos eléctricos pulsados de alta intensidad. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 56(4), 356–360. https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_abstractypid=S0004-06222006000400007&lng=pt&nrm=iso
- Morales, P. (2016). *Elaboración de una bebida fortificada sabor a mango a base de suero de leche como propuesta para niños en edad escolar* [Proyecto especial de graduación, Escuela Agrícola Panamericana Zamorano].

<https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/883e1857-0687-4506-9282-c38df71495cd/content>

Muñoz, C., Guzmán, F., González, L., Palma, H., Román, A. y Castro, J. (2021). Germinación: un método de bioproceso que incrementa la calidad nutricional, biológica y funcional de harinas de leguminosas. *Pädi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías Del ICBI*, 9(2), 119–122.

<https://repository.uaeh.edu.mx/revistas/index.php/icbi/article/view/7971/8687>

National History Museum London. (2011). *Botany Library Plate Collection*. Recuperado el 03 de septiembre del 2023 de <https://www.prints-online.com/medicago-sativa-alfalfa-8613789.html>

National Institute of Health. (2022). *Zinc, Hoja informativa para consumidores*. Instituto Nacional de Salud, Oficina de Suplementos Dietéticos. Recuperado el 21 de agosto del 2023 de <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Zinc-DatosEnEspanol/>

Ochoa, J. (2019). *Efecto de Escarificación Física en la Germinación de Semilla de Alfalfa (Medicago sativa) Variedad AGP 350* [Tesis, Escuela Profesional de Zootecnia].

<https://apirepositorio.unh.edu.pe/server/api/core/bitstreams/a7f998cd-d6fe-4761-ad39-f741e5181e52/content>

Parzanese, M. (2012). *Tecnologías para la Industria Alimentaria: Liofilización de alimentos* [Archivo PDF].

https://alimentosargentinos.magyp.gob.ar/contenido/sectores/tecnologia/Ficha_03_Liofilizados.pdf

Perera, A. y Noronha, A. (2015). *Mejora en la oferta de hierro y zinc en la alimentación de indígenas en el Sur de Brasil*. Programa Cooperativo Centroamericano para el Mejoramiento de Cultivos y Animales [Archivo PDF].

<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1027505/1/MemoriaResumenesPCCMCA2015p159.pdf>

- Poveda, E. (2013). Suero lácteo, generalidades y potencial uso como fuente de calcio de alta biodisponibilidad. *Revista Chilena de Nutrición*, 40(4), 397–403.
<https://doi.org/10.4067/S0717-75182013000400011>
- Quimbita, F. y Rodríguez, P. (2008). *Aprovechamiento del exudado y placenta del cacao (Theobroma cacao) para producción de una bebida alcohólica de baja concentración y elaboración de néctar* [Proyecto, Escuela Politécnica Nacional].
<https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/15164/1/CD-1739.pdf>
- Reascos, A. y Salazar, E. (2021). *Efecto de la adición de suero de leche e hidrolizado de pescado en la dieta de terneros hasta los 90 días* [Trabajo de titulación, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE].
<https://repositorio.espe.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/21000/24832/T-IASA%20I-005701.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Romero, L., Gonzáles, F., Abad, N., Ramírez, A. y Guamán, M. (2020). El zinc en el tratamiento de la talla baja. *Revista Universidad y Sociedad*, 12(2), 341–349.
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2218-36202020000200341
- Rosique, M. (2015). *Beneficio de los brotes de alfalfa*. Planeta En Verde. Recuperado el 30 de agosto del 2023 de <https://www.planteaenverde.es/blog/beneficios-de-los-brotes-de-alfalfa/>
- Ruel, M. (2007). *Fortificación de los alimentos con zinc* [Archivo PDF].
https://static1.squarespace.com/static/56424f6ce4b0552eb7fdc4e8/t/574940572fe1312abddd8702/1464418566905/Spanish_brief4.pdf
- Salvatierra, X. (2022). *Efecto de diferentes concentraciones de zinc sobre parámetros de crecimiento en germinados de alfalfa (Medicago sativa) y su potencial fortificación para consumo humano* [Trabajo de titulación, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE].
<https://repositorio.espe.edu.ec/jspui/bitstream/21000/35892/1/IASA%20I-TT-0023.pdf>

Soriano, S. (2003). *Importancia del Cultivo de Alfalfa (Medicago sativa L.) en el Estado de Baja California* [Monografía, Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”].

[http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/1257/IMPORTANCIA%20DEL%20CULTIVO%20DE%20LA%20ALFALFA%20\(Mdicago%20sativa%20L.\)%20EN%20EL%20ESTADO%20DE%20BAJA%20CALIFORNIA%20SUR.pdf?sequence=1#:~:text=Por%20su%20calidad%20forrajera%20la,alimentos%20balanceados%20para%20otros%20animales.](http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/1257/IMPORTANCIA%20DEL%20CULTIVO%20DE%20LA%20ALFALFA%20(Mdicago%20sativa%20L.)%20EN%20EL%20ESTADO%20DE%20BAJA%20CALIFORNIA%20SUR.pdf?sequence=1#:~:text=Por%20su%20calidad%20forrajera%20la,alimentos%20balanceados%20para%20otros%20animales.)

Wei, Y., Shohag, M., Wang, Y., Lu, L., Wu, C. y Yang, X. (2012). Effect of zinc sulfate fortification in germinated brown rice on seed zinc concentration, bioavailability, and seed germination. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(7), 1871–1879.
<https://doi.org/10.1021/jf205025b>