



***DESARROLLO DE BEBIDA VEGETAL FERMENTADA (YOGUR) CON
MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS NATURALES AISLADOS DE GERMINADO DE
LENTEJAS (REJUVELAC)***

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN
BOGOTA D.C.
2024



***DESARROLLO DE BEBIDA VEGETAL FERMENTADA (YOGUR) CON
MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS NATURALES AISLADOS DE GERMINADO DE
LENTEJAS (REJUVELAC)***

ALISON ARIANA MARÍN RODRÍGUEZ

APROBADA _____

JURADOS _____

ASESORES _____

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN
BOGOTÁ D.C.
2025.

Dedicatoria

Antes que nada, a Dios, quien me da la fortaleza todos los días y me acompaña en cada paso de este proceso al que llamamos vida, a mi Madre, mi ejemplo a seguir, mi motor principal y a quien debo gran parte de lo que soy, y a Brayan mi compañero de vida y aventuras.

Este trabajo ha sido un reto para mí en muchos sentidos, pero ustedes han estado conmigo en medio de todo el proceso, se los dedico con mucho amor.

Agradecimientos

Agradezco profundamente a mi profesora Lady Casallas, quien desde el principio me apoyó y me brindó su confianza para la realización de este proyecto, a pesar de que no fue sencillo, siempre tuvo disposición, tiempo y cariño para mí, su guía fue fundamental para que este proyecto se pudiera plasmar.

También quiero agradecer a mi Madre y mi novio por estar junto a mí apoyándome y dándome fortaleza cuando los días fueron difíciles y no podía yo sola, infinitas gracias.

Tabla de contenido

Lista de Figuras.....	6
Lista de Tablas	7
Resumen.....	8
Abstract	9
Introducción.....	10
Objetivos.....	11
Objetivo general.....	11
Objetivos específicos.....	11
1. Antecedentes.....	12
2. Marco teórico y generalidades	15
2.1 Historia.....	15
2.2 Germinados.....	17
2.2.1 Proceso de germinación.....	18
2.2.2 Germinados de lentejas.....	20
2.3 Probióticos.....	21
2.4 Rejuvelac.....	22
2.5 Fermentación láctica.....	23
2.6 Leche.....	24
2.7 Bebidas vegetales.....	25
2.7.1 Aportes nutricionales de las bebidas vegetales.....	25
2.7.2 Bebida vegetal de almendras y avena.....	26
2.8 Normativa y criterios microbiológicos para bebidas vegetales en Colombia.....	28
2.9 Economía circular y desarrollo sostenible.....	29
3. Diseño metodológico.....	31
3.1 Universo, población y muestra.....	31
3.2 Hipótesis, variables e indicadores.....	31
3.3 Técnicas y procedimientos.....	32

Fase 1.....	34
3.4 Obtención de germinados de lentejas.....	34
3.5 Producción de bebida probiótica “rejuvelac”.....	33
Fase 2.....	34
3.6 Preparación debida vegetal.....	34
3.7 Preparación bebida vegetal fermentada (yogur).....	35
Fase 3.....	35
3.8 Aislamiento y evaluación microbiológica.....	35
4. Resultados.....	37
4.1 Obtención de bebida probiótica (rejuvelac) y bebida vegetal fermentada (yogur).....	37
4.2 Control microbiológico.....	38
4.2.1 Siembra inicial (técnica de referencia)	38
4.2.2 Siembra intermedia, optimización 1 de la técnica de producción de bebida vegetal fermentada (yogur) a partir de la bebida probiótica de germinado de lentejas “rejuvelac”	40
4.2.3 Siembra final, optimización 2 de la técnica de producción de bebida vegetal fermentada (yogur) a partir de la bebida probiótica de germinado de lentejas “rejuvelac”	41
4.3 Conglomerado de modificaciones técnicas en la elaboración de la bebida vegetal fermentada (yogur).....	44
5. Discusión.....	46
6. Conclusiones.....	48
Anexo A.....	49
Referencias.....	50

Lista de figuras

Figura 1. Etapas del ciclo de germinación.....	19
Figura 2. Mecanismo de acción de los probióticos.....	22
Figura 3. Metodología general del proyecto.....	32
Figura 4. Obtención del germinado de lentejas.....	33
Figura 5. Preparación de la bebida probiótica “rejuvelac”.....	34
Figura 6. Preparación bebida vegetal de almendras.....	34
Figura 7. Preparación bebida vegetal fermentada “yogur”	35
Figura 8. Productos finales y materiales para siembra.....	36
Figura 9. Siembras microbiológicas.....	37
Figura 10. Resultados siembra rejuvelac 1 (07-11-2024)	39
Figura 11. Resultados siembra rejuvelac 2 (07-11-2024)	39
Figura 12. Resultados siembra bebida vegetal de avena (07-11-2024)	39
Figura 13. Resultados siembra bebida vegetal de almendras (07-11-2024)	39
Figura 14. Resultados segunda siembra rejuvelac y bebida vegetal (21-02-2025)	40
Figura 15. Resultados tercera siembra rejuvelac y bebida vegetal (01-03-2025)	42
Figura 16. Comparación de crecimiento de unidades formadoras de colonia (UFC) en Agar MacConkey para rejuvelac y bebida vegetal fermentada.....	43

Lista de tablas

Tabla 1 Comparación del valor nutricional y funcional de las bebidas vegetales de almendra y avena.....27

Tabla 2 Criterios microbiológicos establecidos para bebidas a base o con inclusión de soya, legumbres o cereales según la Resolución 1407 de 2022.
.....29

Tabla 3 Aspectos importantes en la elaboración de la bebida vegetal.....43

Tabla 4 Aspectos modificados en la elaboración de la bebida vegetal fermentada.....44

Resumen

En el presente trabajo se desarrolla una bebida vegetal fermentada de almendras utilizando como fuente probiótica natural el rejuvelac, el cual a su vez se obtiene a partir del germinado de lentejas, este proyecto surge como respuesta a la creciente demanda de alternativas veganas y funcionales para personas vegetarianas, veganas intolerantes a la lactosa o que simplemente buscan mejorar su salud por medio de los alimentos; a diferencia de investigaciones previas similares, en este estudio no se utilizaron cepas probióticas comerciales, sino que se utilizó el rejuvelac como fuente probiótica exclusiva. La metodología se desarrolló en 3 fases comenzando con la germinación de lentejas, seguida de la obtención de rejuvelac y finalmente con la elaboración de la bebida vegetal fermentada, se implementó un control microbiológico por medio de cultivos en agar MacConkey y agar MRS para poder determinar la presencia de cepas probióticas y a su vez detectar posibles microorganismos patógenos; en los resultados de las siembras en agar MacConkey se observó que las unidades formadoras de colonia (UFC) disminuyeron progresivamente a lo largo de los proceso de optimización; para la bebida probiótica rejuvelac, las UFC obtenidas fueron 142 en la técnica de referencia, 76 en la primera optimización y 0 en la segunda optimización, en el caso de la bebida vegetal fermentada, se registraron 230 UFC en la técnica de referencia, 48 en la primera optimización y 0 en la segunda optimización, evidenciando una reducción significativa de microorganismos potencialmente patógenos durante las etapas de optimización, garantizando la calidad e inocuidad del producto final; además el proyecto se destaca por la relación que tiene con los principios de la economía circular y los objetivos de desarrollo sostenible de la ONU, ya que la producción casera de germinados y la utilización de insumos vegetales promueve practicas sostenibles y accesibles reduciendo el impacto ambiental y fomentando el consumo responsable.

Palabras claves: Rejuvelac, germinados, probióticos, fermentación, lentejas.

Abstract

In the present work, a fermented vegetable drink of almonds is developed using rejuvelac as a natural probiotic source, which in turn is obtained from lentil germination, this project arises in response to the growing demand for vegan and functional alternatives for people vegetarians, lactose intolerant vegan or simply seeking to improve their health through food; Unlike similar previous research, commercial probiotic strains were not used in this study, but rejuvelac was used as an exclusive probiotic source. The methodology was developed in 3 phases beginning with the germination of lentils, followed by obtaining rejuvelac and finally with the elaboration of the fermented vegetable drink, a microbiological control was implemented through crops in MacConkey agar and MRS agar in order to determine the presence of probiotic strains and in turn detect possible pathogenic microorganisms; MacConkey agar seeding results observed that colony forming units (UFCs) decreased progressively throughout the optimization process; for the rejuvelac probiotic drink, the CFUs obtained were 142 in the reference technique, 76 in the first optimization and 0 in the second optimization, in the case of the fermented vegetable drink, 230 CFUs were registered in the reference technique, 48 in the first optimization and 0 in the second optimization, evidencing a significant reduction of potentially pathogenic microorganisms during the optimization stages, guaranteeing the quality and safety of the final product; Furthermore, the project stands out for its relationship with the principles of the circular economy and the objectives of sustainable development of the UN, since the homemade production of germinates and the use of plant inputs promotes sustainable and accessible practices reducing the environmental impact and promoting responsible consumption.

Keywords: Rejuvelac, sprouts, probiotics, fermentation, lentils.

Introducción

La creciente demanda de alternativas alimentarias saludables y sostenibles ha generado el desarrollo de productos fermentados capaces de proporcionar beneficios probiótico sin recurrir a las opciones lácteas, por lo anterior la presente investigación se enfoca en la elaboración de una bebida vegetal fermentada utilizando como fuente probiótica natural el rejuvelac, obtenido a partir de germinados de lentejas, respondiendo no solo a las necesidades de las personas con intolerancia a la lactosa o que siguen dietas veganas o vegetarianas, sino también a aquellas personas que quieren cuidar su salud por medio de los alimentos. A lo largo de la investigación se implementan métodos de control microbiológico para poder determinar la presencia de probióticos en el producto y permitiendo la detección de posibles contaminantes; implementando ajustes en las fases de producción para disminuir significativamente los niveles de contaminación y garantizando la calidad e inocuidad del producto.

El uso de germinados de lentejas es bueno debido a su alto contenido de nutrientes, antioxidantes y su capacidad de favorecer el desarrollo y crecimiento de bacterias ácido lácticas durante la fermentación, asimismo la elaboración del rejuvelac y la bebida fermentada resulta accesible y económica, alineándose con los principios de la economía circular y los objetivos de desarrollo sostenible de la ONU promoviendo la seguridad alimentaria y el aprovechamiento de recursos locales, reduciendo la huella ambiental.

Objetivos.

Objetivo general.

Desarrollar una bebida vegetal fermentada (yogur) cuya fuente probiótica se obtenga a partir del aislamiento de germinado de lentejas “rejuvelac”.

Objetivos específicos.

- Elaborar la bebida probiótica rejuvelac y la bebida vegetal fermentada (yogur) a partir de los procesos de germinación de lentejas e inoculación de probióticos respectivamente.
- Aislar los microorganismos probióticos presentes en la bebida probiótica (“rejuvelac”) y en la bebida vegetal fermentada el (yogur).
- Evaluar la inocuidad microbiológica de la bebida probiótica (rejuvelac) y de la bebida vegetal fermentada (yogur).

1. Antecedentes

Las bebidas vegetales, como las de soja, almendra, avena y arroz, han sido utilizadas ampliamente en todo el mundo como alternativas a la leche de origen animal, existen registros históricos de su consumo que se remontan a siglos atrás, incluyendo referencias del imperio romano y la antigua Grecia, así como en recetarios de cocinas árabes y europeas; en países como la India y China, la elección del grano o cereal para preparar estas bebidas dependía, en gran medida, de la temporada de cosecha y de la disponibilidad local de ciertas semillas o granos; por ejemplo, en China era común encontrar “leche de arroz” o de “soja”, productos adaptados a los recursos y preferencias regionales.(1)

Las bebidas vegetales se eligen mucho porque tienen un bajo contenido de grasas saturadas y, en muchos casos, se les añaden vitaminas y minerales, como calcio y vitamina D, para asemejarse al perfil nutricional de la leche, también son muy populares porque, según estudios recientes, alrededor del 80% de la población mundial tiene algún grado de intolerancia a la lactosa; esto se da en un 15-75% de los adultos, y hay estudios que muestran que hasta el 80% de las personas de origen africano y el 100% de las de origen asiático y nativo americano también son intolerantes a la lactosa; (2) ; otro grupo que opta por estas bebidas son las personas que deciden adquirir como estilo de vida las dietas veganas o vegetarianas; sin embargo, es importante tener en cuenta que el valor nutricional puede variar bastante según el cereal, semilla o fruto que se use para prepararlas. (3)

El Rejuvelac es una bebida fermentada que se hace, principalmente, a partir de granos germinados como trigo, centeno o quinoa, esta bebida se originó como un tónico y fue popularizada en los años 60 por la nutricionista Ann Wigmore en Lituania, quien recomendaba su consumo como parte de un enfoque natural y depurativo para la salud. El nombre “rejuvelac” viene del francés y hace referencia a sus propiedades rejuvenecedoras, que no solo pueden notarse en la piel, sino que también benefician la salud interna, este fermento es apreciado por su contenido de probióticos y enzimas, que tienen efectos positivos en el sistema digestivo y otros aspectos de la salud. (4)

En la actualidad, la fermentación controlada de bebidas vegetales utilizando cepas probióticas comerciales constituye una estrategia prometedora para mejorar las propiedades microbiológicas, nutricionales y sensoriales de los productos finales; Yang et al. (2022) demostraron, por ejemplo, el desarrollo de una bebida probiótica a partir de un hidrolizado enzimático de cereales utilizando la cepa comercial *Limosilactobacillus reuteri*, su investigación evaluó parámetros fisicoquímicos como el pH y la acidez titulable, así como la presencia de metabolitos como ácidos orgánicos y compuestos volátiles durante la fermentación, sentando un marco sólido para la producción de bebidas funcionales y seguras.(5)

Asimismo, el estudio realizado por Chen et al. (2020) exploró el uso de un cultivo de rejuvelac elaborado a partir de quinoa germinada como iniciador en la fermentación de un producto tipo “queso” de anacardo, aunque no empleó cepas probióticas comerciales, su trabajo evidenció una disminución significativa de la alergenicidad y una alta concentración de bacterias viables pertenecientes a los géneros *Pediococcus* y *Weissella*, este hallazgo resalta el potencial de los cultivos iniciadores como el rejuvelac para llevar a cabo procesos fermentativos con propiedades funcionales.(4)

Por otra parte, la revisión realizada por Peñaranda et al. (2021) abordó diversos aspectos tecnológicos, sensoriales y de sostenibilidad de las bebidas vegetales derivadas del trigo, incluyendo el rejuvelac, este análisis subraya la importancia de la germinación y la fermentación controlada para optimizar las características de las bebidas vegetales y consolidarlas como alimentos funcionales con gran potencial comercial.(6)

La germinación de granos y cereales es un proceso que activa las enzimas presentes en los mismos, lo que aumenta la disponibilidad de nutrientes y facilita su digestión, por lo mismo este método se utiliza en la producción de alimentos fermentados y bebidas como el Rejuvelac. Desde hace siglos, germinar y fermentar granos antes de usarlos en alimentos y bebidas ha sido beneficioso para la humanidad, en tiempos antiguos, cuando el acceso a agua potable era limitado, la germinación seguida de fermentación, como en la elaboración de cerveza, permitía obtener bebidas seguras para el consumo; con el tiempo, también se descubrió que la fermentación de alimentos como el arroz, el trigo o la soja para producir miso no solo hacía los alimentos seguros,

sino también más sabrosos; para quienes incluían estos productos fermentados en su dieta diaria, los beneficios nutricionales y de salud se convertían en algo habitual ypreciado.(7)

En cuanto al uso de germinados de lentejas en la elaboración de bebidas vegetales, estudios han demostrado que la germinación y fermentación de lentejas pueden mejorar significativamente su perfil nutricional; un estudio evaluó los efectos de tratamientos de remojo, germinación y fermentación en lentejas, encontrando incrementos en el contenido de proteínas y carbohidratos, así como una disminución de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante, lo que sugiere una mejora en la digestibilidad y biodisponibilidad de nutrientes.(8)

2. Marco teórico y generalidades

2.1 Historia

Desde hace siglos, germinar y fermentar granos antes de usarlos en alimentos y bebidas ha sido beneficioso para la humanidad, en tiempos antiguos, cuando el acceso a agua potable era limitado, la germinación seguida de fermentación, como en la elaboración de cerveza, permitía obtener bebidas seguras para el consumo; con el tiempo, también se descubrió que la fermentación de alimentos como el arroz, el trigo o la soja para producir miso no solo hacía los alimentos seguros, sino también más gustosos; para quienes incluían estos productos fermentados en su dieta diaria, los beneficios nutricionales y de salud se convertían en algo habitual ypreciado.(7)

Los germinados son uno de los alimentos vivos más antiguos conocidos, su consumo se registra de épocas muy antiguas; antes de cristo, la civilización Esenia que habitaba en Jerusalén y Egipto comprendía el valor nutritivo y el poder sanador de la alimentación viva, esta comunidad realizaba técnicas de germinación para aprovechar al máximo sus beneficios a nivel físico y espiritual. En la región de Asia, los Hunzas, los cuales son conocidos como “el pueblo más sano de la tierra” también consideraban los germinados como una fuente de energía, enzimas y vitaminas, según John Tobe, autor del libro *Hunzas Sanos*, esta comunidad vivió muchos años en parte por su dieta a base de trigo, cebada, hortalizas de hoja verde y legumbres como garbanzos y lentejas.(9)

La Doctora Ann Wigmore fue una de las primeras en popularizar los beneficios de los germinados, esto debido a que en la década de los 50 sufrió un accidente grave, lo cual conllevó al dictamen médico de amputar su pierna a causa de una infección pero ella rechazó la intervención, y decidió iniciar una dieta basada en germinados y vegetales ricos en clorofila, además de aplicarse emplastos de germinados en las heridas; su recuperación fue exitosa y esto la llevó a compartir su experiencia en varios libros y en 1958 fundó el Instituto Hipocrático de la salud en Estados Unidos, donde impulsó un programa de alimentación viva a base de germinados; los resultados fueron notables con muchos testimonios de personas que afirmaban se habían curado de enfermedades como la arteriosclerosis, anemia, obesidad, problemas cardíacos, cáncer, diabetes, trastornos de la tiroides, entre otros.(9)

La germinación de granos y cereales es un proceso que activa las enzimas presentes en los mismos, lo que aumenta la disponibilidad de nutrientes y facilita su digestión, por lo mismo este método se utiliza en la producción de alimentos fermentados y bebidas como el Rejuvelac, también conocido como "agua enzimática", esta es una bebida probiótica que se elabora a base de la fermentación de granos o semillas. Se prepara germinando granos de quinua, trigo o casi cualquier tipo de cereal o semilla, y son fermentados con bacterias ácido lácticas (BAL); esta bebida se originó como un tónico y fue popularizada por la nutricionista Ann Wigmore en Lituania durante la década de 1960, quien promovió su consumo como parte de un enfoque integral de salud natural y de depuración; el nombre "rejuvelac" proviene del francés y hace alusión a sus múltiples propiedades rejuvenecedoras que, además de notarse en la piel, también se sienten en la salud interna. (10)

Las bebidas vegetales, como las de soja, almendra, avena y arroz, han sido consumidas ampliamente en todo el mundo como alternativas a la leche de origen animal, existen registros históricos de su consumo que se remontan a siglos atrás, incluyendo referencias del imperio romano y la antigua Grecia, así como en recetarios de cocinas árabes y europeas; en países como la India y China, la elección del grano o cereal para preparar estas bebidas dependía, en gran medida, de la temporada de cosecha y de la disponibilidad de cada región de ciertas semillas o granos; por ejemplo, en China era común encontrar "leche de arroz" o de "soja", productos adaptados a los recursos y preferencias regionales.(1)

Las bebidas vegetales se eligen mucho porque tienen un bajo contenido de grasas saturadas y, en muchos casos, se les añaden vitaminas y minerales, como calcio y vitamina D, para asemejarse al perfil nutricional de la leche, también son muy populares porque, según estudios recientes, alrededor del 80% de la población mundial tiene algún grado de intolerancia a la lactosa; esto se da en un 15-75% de los adultos, y estudios demuestran que hasta el 80% de las personas de origen africano y el 100% de las de origen asiático y nativo americano también son intolerantes a la lactosa; (2) ; otro grupo que opta por estas bebidas son las personas que deciden adquirir como estilo de vida las dietas veganas o vegetarianas; sin embargo, es importante tener en cuenta que el

valor nutricional puede variar bastante según la semilla o fruto que se use para prepararlas. (3)

2.2 Germinados

Los germinados son “el producto obtenido de la germinación de semillas y su desarrollo en agua u otro medio, cosechado antes del desarrollo de hojas verdaderas y que está destinado a ser comido entero, incluyendo la semilla”. “Los granos germinados” son definidos por la Asociación Americana de Químicos de Cereales (AACC) con el respaldo del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) de la siguiente manera: “los granos malteados o germinados que contienen todo el salvado, germen y endospermo originales se considerarán granos integrales siempre que el crecimiento del brote no exceda la longitud del grano y los valores de nutrientes no hayan disminuido. Estos granos deben etiquetarse como granos enteros malteados o germinados”(11)

La germinación de granos y cereales es una técnica muy utilizada en la industria alimentaria ya que mejora las propiedades nutricionales de cereales, semillas oleaginosas y semillas de hortalizas; durante este proceso, se activan las enzimas presentes en los granos, lo que aumenta la disponibilidad de nutrientes y facilita su digestión, además, aumentan las concentraciones de aminoácidos, azúcares simples y otros nutrientes esenciales, mientras que se reducen los compuestos anti nutricionales; este método se usa en la producción de alimentos fermentados y bebidas como el Rejuvelac, y ha sido muy investigado por los beneficios que aporta, la utilización de los germinados se ha ido afianzando y ha impulsado el desarrollo de industrias dedicadas a su producción, viéndose también un aumento en su elaboración de forma casera.(12)

Por lo anterior es importante tener en cuenta que los germinados al igual que otros alimentos pueden tener microorganismos patógenos, esto se debe a una contaminación durante cualquier etapa, como la elección de materia prima, producción, almacenamiento, o distribución; a diferencia de otros alimentos los germinados o semillas necesitan de un ambiente húmedo y cierta temperatura para favorecer la germinación, pero dichas condiciones también son ideales para el crecimiento de microorganismos patógenos. El consumo de brotes crudos o ligeramente cocinados puede tener riesgos microbiológicos y según el *Codex Alimentarius* y su código de prácticas de higiene para

las frutas y hortalizas frescas, anexo II, se plantean las recomendaciones para la producción de semillas germinadas destinadas al consumo humano, donde se determinan los microorganismos patógenos que pueden contaminar dichos germinados, siendo la *Salmonella spp.*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* y *Shigella spp.* Los contaminantes más comunes; los cuales pueden estar presentes en las semillas, germinados y/o en el agua utilizada para la germinación.(13)

Por esta razón, se deben poner en práctica algunas estrategias para controlar la contaminación microbiana, por ejemplo, el uso de productos químicos como cloro, ácido acético e hipoclorito de calcio se ha empleado para la descontaminación de semillas, aunque tienen como desventaja la presencia de residuos químicos y la ineficacia en algunos casos; un método alternativo y más efectivo es el uso de agua caliente, que elimina o inactiva los patógenos bacterianos al dañar las membranas celulares, enzimas y proteínas de las bacterias.(14)

2.2.1 *Proceso de germinación.*

El proceso de germinación varía según el tipo de semilla o grano que se utilice, pero en general se divide en tres etapas principales, como se puede observar en la **figura 1**.

Etapa I: Imbibición

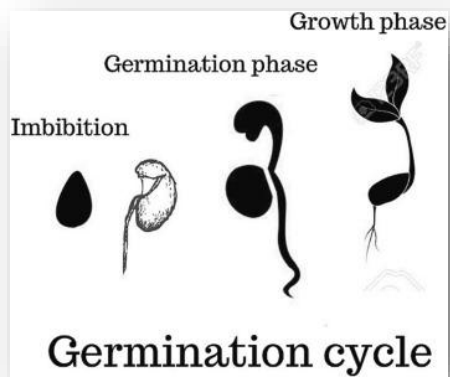
Esta fase se caracteriza por la rápida absorción de agua por parte de la semilla, lo que provoca que aumente su tamaño y cambie de forma, la rehidratación afecta la membrana de la semilla, cambiando la cantidad de metabolitos y solutos presentes en la célula, en este momento, comienzan varios procesos fisiológicos importantes, como la síntesis de proteínas, además, se lleva a cabo la reparación mitocondrial, la cual es fundamental para aumentar la producción de ATP (trifosfato de adenosina), necesaria para la germinación.(15)

Etapa II: Estabilización

Esta etapa corresponde al proceso de germinación, donde por medio de las transformaciones metabólicas se prepara el camino para la fase de crecimiento y es donde se desarrolla la plántula,

la absorción de agua disminuye por la semilla y se estabiliza el consumo de oxígeno, continúan la síntesis mitocondrial y proteica, mientras que el embrión empieza a expandirse y las cubiertas de la semilla se debilitan. (9)

Etapa III: Crecimiento



Esta etapa se marca cuando la radícula emerge de la semilla, aquí, las reservas de almacenamiento de la semilla se movilizan, lo que provoca un mayor consumo de agua y el crecimiento de las plántulas.(16)

Figura 1. Etapas del ciclo de germinación. Incluyen la imbibición, la fase de germinación y la fase de crecimiento. Imagen adaptada de la fuente (15)

Las bebidas funcionales y nutritivas que se obtienen a través de la fermentación láctica de granos germinados podrían ser una gran opción para el futuro; en algunos estudios que han explorado bebidas probióticas hechas con granos germinados, una de las que más resalta es el Rejuvelac, una bebida fermentada que normalmente se prepara con granos germinados de quinua o trigo, para prepararla, los granos se sumergen en agua y se fermentan en un ambiente sin oxígeno a temperatura ambiente. Esta bebida además se usa como iniciador para la producción de quesos y otros productos veganos ya que contiene las bacterias ácido-lácticas necesarias para la fermentación en estos productos.(17) por esta razón, se deben poner en práctica algunas estrategias para controlar la contaminación microbiana, por ejemplo, el uso de productos químicos como cloro, ácido acético e hipoclorito de calcio se ha empleado para la descontaminación de semillas, aunque tienen como desventaja la presencia de residuos químicos y la ineficacia en algunos casos; un método alternativo y más efectivo es el uso de agua caliente, que elimina o inactiva los patógenos bacterianos al dañar las membranas celulares, enzimas y proteínas de las bacterias.(14)

2.2.2 *Germinados de lentejas*

Las leguminosas son alimentos determinantes debido a su bajo costo y alto valor nutricional, especialmente en países en desarrollo o con menos recursos, estas proporcionan una fuente significativa de proteína; por ejemplo, en América del Sur, el consumo promedio de leguminosas es de unos 25 gramos por persona, lo que representa entre un 10% y un 15% de la proteína en la dieta; además, las leguminosas son ricas en carbohidratos, fibra, vitaminas y minerales, destacando el hierro y el calcio, también contienen fitoesteroles, compuestos que ayudan a reducir el riesgo de ciertos tipos de cáncer, como el cáncer pancreático, de mama y de colon, lo que las convierte en alimentos funcionales muy beneficiosos.(18)

Los germinados de legumbres resaltan por tener un alto contenido de calcio, hierro y proteínas, dentro de este grupo se encuentra las lentejas, soya, frijoles, arveja, maní y el garbanzo, durante el proceso de germinación incrementan los componentes antioxidantes de los granos, potenciando sus propiedades beneficiosas. (13) Las lentejas (*Lens culinaris*) destacan especialmente en el contexto de la germinación debido a su alto contenido proteico, bajo valor calórico y ricos niveles de nutrientes esenciales como el folato, la vitamina C y la fibra, tienen además una baja concentración de ácido fítico y son una excelente fuente de compuestos fenólicos, lo que las convierte en un alimento con proteínas, aminoácidos y otros nutrientes de alta calidad; varios estudios sugieren que el consumo de lentejas puede ser beneficioso para la reducción del peso corporal y puede tener efectos antihipertensivos, ayudando así a mejorar la salud cardiovascular. (19)

El proceso de germinación en lentejas no solo mejora su perfil nutricional, sino que también ayuda la digestión y absorción de nutrientes mediante el de enzimas activas, esto hace que los brotes de lentejas sean una fuente importante de nutrientes esenciales para la salud humana; las lentejas germinadas son especialmente apreciadas por su alta concentración de metabolitos secundarios, como los fenoles, los cuales poseen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antitumorales.(20)

2.3 Probióticos

El microbioma o ecosistema intestinal tiene un papel fundamental en la salud humana, este influye en muchos sistemas fisiológicos como el sistema inmune y el estado mental; se cree que el uso de bacterias probióticas en la nutrición puede resultar beneficioso para la composición de la flora bacteriana intestinal. Según la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) y la (Organización mundial de la salud) OMS los probióticos son microorganismos vivos que cuando se administran en cantidades adecuadas confieren un beneficio para la salud del huésped, los microorganismos que reciben el nombre de probióticos deben cumplir con 3 requisitos, deben estar viables al momento de la administración, deben administrarse en una dosis adecuada para tener efectos sobre la salud y deben tener un efecto beneficioso en el huésped. (21)

Estas bacterias se derivan principalmente del tracto gastrointestinal humano, en su mayoría bacilos anaerobios grampositivos que pertenecen principalmente a las bacterias ácido lácticas como los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*; algunas de las especies con las mejores propiedades probióticas son *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Bifidobacterium lactis*, entre otras; estas bacterias pueden utilizarse en forma de fármacos o como iniciadores en la producción de alimentos probióticos. (22)

Los probióticos tienen un efecto de exclusión competitiva ya que compiten con los patógenos por nutrientes y sitios de unión a receptores, lo que dificulta la supervivencia de los microorganismos patógenos en el organismo, como se observa en la **figura 2**, los probióticos no solo regulan la respuesta inmune en el intestino, sino también la respuesta inmune innata y adquirida al modular las células dendríticas, linfocitos B y linfocitos T; también tienen un efecto modulador en los niveles de serotonina y dopamina afectando el estado de ánimo, la motilidad del intestino y las vías relacionadas con el estrés.(23)

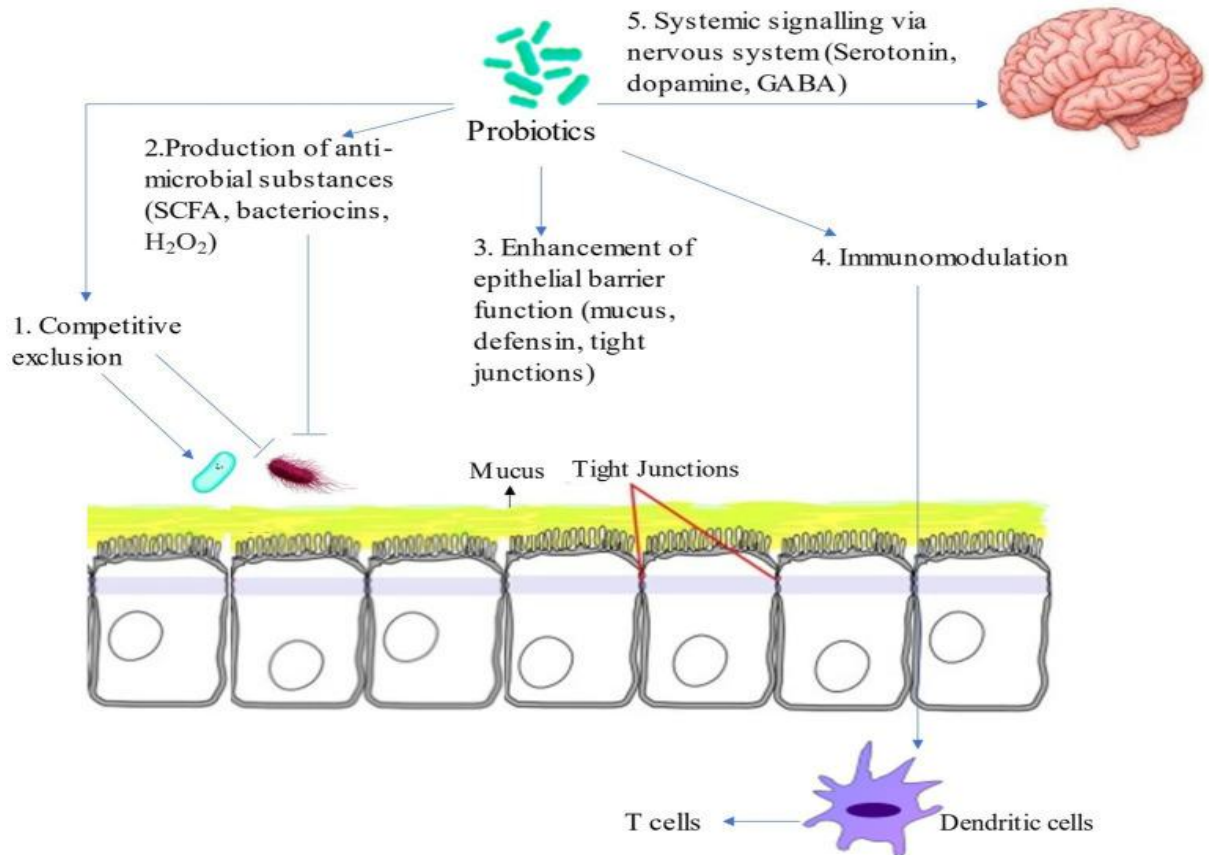


Figura 2. Mecanismo de acción de los probióticos. 1. Exclusión competitiva. 2. Producción de sustancias antimicrobianas que inhiben el crecimiento de patógenos. 3. Promoción de la barrera intestinal. 4. Regulación de la inmunidad en el huésped. 5. producción de neurotransmisores como la serotonina, la dopamina y el ácido gamma aminobutírico (GABA). (23)

2.4 Rejuvelac

El rejuvelac también conocido como "agua enzimática", es una bebida probiótica elaborada a base de la fermentación de granos o semillas, esta bebida se prepara germinando granos de quinua o trigo según la literatura, pero se ha evidenciado que se puede usar casi cualquier tipo de cereal o semilla, esta bebida se originó como un tónico y fue popularizado por la nutricionista Ann Wigmore en Lituania durante la década de 1960, quien promovió su consumo como parte de un enfoque integral de salud natural y de depuración; el nombre "rejuvelac" proviene del francés y hace alusión a sus múltiples propiedades rejuvenecedoras en la piel y en la salud digestiva. (10)

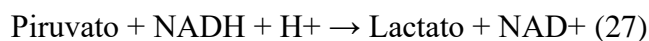
La germinación juega un papel fundamental en la elaboración del rejuvelac, aunque se pueden utilizar cepas de bacterias ácido lácticas (BAL) para controlar mejor el proceso de fermentación, estos probióticos también se desarrollan de manera espontánea durante la fermentación de los granos germinados; gracias a la combinación de las bacterias naturales presentes en los granos y el ambiente adecuado, es posible obtener una bebida probiótica sin la necesidad de añadir cultivos o cepas comerciales. A diferencia de muchas otras bebidas fermentadas, el rejuvelac no requiere un iniciador, ya que se considera un fermento libre, con los microorganismos esenciales presentes de forma natural en los granos o semillas germinadas.(24) Al ser un alimento fermentado, es fácilmente digerible, sus proteínas se descomponen en aminoácidos y sus carbohidratos en azúcares simples, además, tiene un alto contenido de vitaminas y minerales, lo que lo convierte en un excelente apoyo para la salud gastrointestinal, refuerza el sistema inmunológico y favorece la absorción de nutrientes. (17) Aunque no es muy conocida por todos, esta bebida se utiliza frecuentemente en la cocina vegana para fermentar quesos y yogures veganos, en la preparación de limonadas o batidos, e incluso es utilizado para fermentar panes sin gluten. (25)

2.5 Fermentación láctica

Una de las técnicas de conservación más antiguas empleadas por el ser humano es la fermentación; a lo largo del tiempo, ha cambiado según las costumbres de las sociedades, haciendo posible no solo la producción de nuevos productos, sino también la preservación de alimentos perecederos como la leche, la carne y los granos; este proceso sucede cuando los microorganismos modifican los elementos (carbohidratos, proteínas, lípidos) de los alimentos de forma controlada.(26)

La fermentación láctica es un proceso celular en el que se genera energía a partir de la glucosa, y cuyo producto de desecho es el ácido láctico, este proceso es realizado por diversas bacterias, hongos, algunos protozoos e incluso en los tejidos de animales y humanos; En condiciones anaerobias, la fermentación permite a la célula regenerar la molécula de NAD⁺, que se consumió durante la glucólisis, un proceso en el que la glucosa se descompone y se oxida para producir ácido pirúvico (un compuesto de tres carbonos) y dos moléculas de ATP. En este proceso de transformación, se utilizan dos moléculas de NAD⁺ que capturan electrones, transformándose en

NADH. Para que se siga generando energía en la glucólisis, es esencial regenerar el NADH en su forma oxidada (NAD⁺), lo cual ocurre al transferir los electrones del NADH al ácido pirúvico, convirtiéndolo en ácido láctico.(26)



Las bacterias ácido lácticas (BAL) son fundamentales en los procesos de fermentación alimentaria, por lo que son muy utilizadas en la industria no solo por su capacidad para acidificar y conservar alimentos, sino también por su contribución a la textura, sabor, aroma y valor nutricional de los productos fermentados; estas, además de producir ácido láctico, también modifican las proteínas, azúcares y lípidos, facilitando la digestión de los alimentos fermentados; las BAL incluyen géneros como *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus* y otros géneros como *Bacillus*, *Sporolactobacillus*, *Aeriscardovia*, *Alloiscardovia*, *Bifidobacterium*, *Gardnerella*, *Metiscardovia*, *Pariscardovia* y *Scardovia*, todos estos pueden producir ácido láctico a partir de azúcares fermentables. (26)

2.6 Leche

Según el decreto 616 de 2006 la leche se define como “el producto de la secreción mamaria normal de los animales bovinos, bufalinos y caprinos lecheros sanos, obtenida durante uno o más ordeños diarios, higiénicos, completos e ininterrumpidos sin ningún tipo de adición, destinada al consumo en forma de leche líquida o a elaboración posterior. (28)

La leche y los productos lácteos son buena fuente de proteína de alta calidad, sin embargo, aproximadamente un 47 % de la leche corresponde a la lactosa, esta es el azúcar predominante de la leche y se estima que el 80% de la población mundial sufren intolerancia a la lactosa, se observa ampliamente en el 15-75% de los adultos e incluso algunos estudios mostraron que el 80% de las personas de origen africano y el 100% de las personas de origen asiático e indio americano son intolerantes a la lactosa(2)

2.7 *Bebidas vegetales*

Las bebidas vegetales son productos no lácteos que se han consumido desde hace mucho tiempo, están hechos a base de agua e ingredientes de origen vegetal, sin proteínas animales; existen diferentes tipos de estas bebidas, como lo son las bebidas de almendras, coco, arroz, avena, linaza, alpiste, quinoa, sésamo, soya, avellanas, nuez, girasol, trigo, entre otras.(29) En los últimos años, el consumo de bebidas vegetales ha crecido exponencialmente, por ejemplo en Estados Unidos, el mercado de leches vegetales ha aumentado alrededor de un 61% en los últimos cinco años, y en 2017, Colombia se posicionó como el tercer país de América Latina con mayor consumo de estas bebidas. Uno de los motivos principales por los que los consumidores prefieren las leches vegetales es el interés en cuidar su salud, ya que algunos productos de origen animal pueden provocar intolerancia a la lactosa, alergias a las proteínas animales u otros problemas, por lo que las leches vegetales, elaboradas principalmente a partir de cereales y nueces, se presentan como una buena alternativa a las bebidas lácteas tradicionales.(30)

Con el creciente interés en dietas saludables para prevenir enfermedades, ha surgido una tendencia hacia el desarrollo de alimentos funcionales, como los prebióticos y probióticos, que comúnmente se encuentran en productos lácteos como el yogurt, sin embargo, con el aumento en el consumo de sustitutos vegetales de los lácteos, la industria está buscando formas de crear bebidas vegetales con cultivos bacterianos para brindar beneficios probióticos a quienes prefieren evitar los lácteos, ya sea por elección o por motivos de salud.(31)

2.7.1 *Aportes nutricionales de las bebidas vegetales.*

Las bebidas vegetales se destacan porque no contienen algunos compuestos presentes en la leche de mamíferos, como colesterol, grasas saturadas, antígenos y lactosa, en cambio, son una buena fuente de minerales, proteínas no alergénicas y ácidos grasos esenciales, lo que las convierte en una gran alternativa frente a los lácteos, además, presentan una proporción significativamente mayor de ácidos grasos mono y poliinsaturados en comparación con las bebidas lácteas, lo que las establece como una opción nutricionalmente más viable(32); estas opciones vegetales se consideran alimentos funcionales y nutraceuticos, gracias a su riqueza en compuestos bioactivos

que aportan beneficios para la salud, como minerales, vitaminas, fibra dietética y antioxidantes, siendo las legumbres y frutos secos especialmente adecuados para crear alimentos nutritivos, saludables y también económicos. (31) Una de las innovaciones más interesantes en las bebidas vegetales es la actividad de las bacterias, estos microorganismos son capaces de sintetizar vitaminas como ácido fólico, cobalamina, riboflavina y tiamina, al incorporar estos cultivos en la fermentación de alimentos, no solo se enriquece su perfil nutricional, sino que también se facilita la llegada de los microorganismos al intestino, donde pueden sintetizar estas vitaminas directamente en el cuerpo.(33)

2.7.2 *Bebida vegetal de Almendras y Avena*

La 'leche' de almendras es una de las bebidas vegetales preferida por su sabor y aroma, en los últimos años ha ganado gran popularidad como una de las alternativas vegetales más solicitadas en el mercado, esto se debe, en parte, a que se presenta como una opción ideal para personas con alergia a la leche de vaca o intolerancia a la lactosa (2)

La preferencia por la leche de almendras también está impulsada por los beneficios para la salud que brindan las almendras, las cuales son ricas en ácidos grasos monoinsaturados, los cuales ayudan en la pérdida de peso y la reducción del colesterol malo, además, las almendras proporcionan nutrientes muy importantes como proteínas, fibra, vitamina E y manganeso; esta bebida vegetal es una de las más nutritiva, es rica en vitaminas, ácidos grasos esenciales, minerales como el calcio, magnesio y fósforo, además de tener una mayor concentración de calcio que la leche de vaca, aportando aproximadamente por cada 100 grs de almendras, 250 mg de calcio. (29)

La “leche” o bebida vegetal de avena se caracteriza por la presencia de fibras, fitoquímicos y un alto aporte nutritivo, esta bebida posee propiedades hipocolesterolemias ya que reduce el colesterol total y el LDL, tiene propiedades anticancerígenas; además, cuenta con la presencia de B-glucano que posee propiedades nutraceúticas, este es una fibra soluble capaz de aumentar la viscosidad de la bebida, y aumenta el tiempo de tránsito intestinal, reduciendo así la glucosa en sangre; a pesar de sus beneficios para la salud, esta bebida carece de calcio, el cual es muy

importante para el crecimiento y el desarrollo, por lo tanto, la “leche” de avena tendría que ser fortificada con este mineral. (34)

Comparación entre la bebida vegetal de Almendras y Avena		
Características	Bebida de almendras	Bebida de avena
Popularidad	Muy demandada por su sabor, aroma y como alternativa a la leche de vaca.	Popular por su sabor neutro y textura cremosa.
Tolerancia digestiva	Ideal para personas con intolerancia a la lactosa o personas con dietas vegetales.	También apta para intolerantes a la lactosa y personas con dietas vegetales.
Grasas	Rica en ácidos grasos monoinsaturados, que ayudan a reducir el colesterol LDL.	Contiene grasas insaturadas en menor cantidad; beneficiosas para la salud cardiovascular.
Proteínas	Aporta proteínas de origen vegetal.	Bajo contenido proteico en comparación con otras bebidas vegetales.
Fibra	Buena fuente de fibra.	Rica en β -glucanos, una fibra soluble con propiedades nutracéuticas.
Vitaminas	Contiene vitamina E en alta cantidad, además de otras vitaminas como B y minerales esenciales.	Fuente de algunas vitaminas del complejo B, especialmente si es fortificada.
Minerales	Alta en calcio (aprox. 250 mg/100 g de almendra),	Bajo contenido de calcio, requiere fortificación para

	magnesio, fósforo, y manganeso.	cubrir requerimientos nutricionales.
Propiedades funcionales	Ayuda a la reducción del colesterol malo, contribuye a la pérdida de peso.	Propiedades hipocolesterolémicas y anticancerígenas por su contenido de β -glucano.

Tabla 1. Comparación del valor nutricional y funcional de bebidas vegetales de almendras y avena. Elaboración propia. Comparación de los principales componentes nutricionales y propiedades funcionales de las bebidas vegetales de almendras y avena.(35)

2.8 Normativa y Criterios Microbiológicos para Bebidas Vegetales en Colombia

Las bebidas probióticas vegetales han ganado un lugar destacado en la dieta de los consumidores, especialmente por su aporte nutricional y su potencial funcional como alimentos fermentados o probióticos, sin embargo, dada su naturaleza y el riesgo microbiológico inherente a estos productos, la normativa colombiana establece lineamientos precisos para garantizar la inocuidad y calidad sanitaria de las bebidas elaboradas a partir de estos ingredientes; la Resolución 1407 de 2022, emitida por el Ministerio de Salud y Protección Social, es la principal norma que regula los criterios microbiológicos de estos alimentos y bebidas, esta resolución fija parámetros específicos para diversos indicadores microbiológicos, tales como aerobios mesófilos, mohos y levaduras, coliformes, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* y *Salmonella spp.*, como se observa en la (tabla 2) .

7. CEREALES, PRODUCTOS A BASE DE CEREALES (DERIVADOS DE GRANOS DE CEREALES, RAÍCES, TUBERCULOS Y LEGUMBRES O LEGUMINOSAS)						
PARAMETRO	Caso	Muestreo Clase	n	c	m	M
7.2 Bebidas a base o con inclusión de soya, otras legumbres o leguminosas y/o cereales						
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	5x10 ³ ufc/ml	10 ⁴ ufc/ml
Mohos y levaduras	2	3	5	2	10 ² ufc/ml	3x10 ² ufc/ml
Coliformes	5	3	5	2	<10 ufc/ml	10 ufc/ml
<i>Escherichia coli</i> ufc/g ⁽¹⁾⁽²¹⁾	NA	3	5	0	<10 ufc/ml	---
<i>Bacillus cereus</i>	7	3	5	2	10 ² ufc/ml	2x10 ² ufc/ml
<i>Salmonella</i> spp.	10	2	5	0	Ausencia/25ml	---

Tabla 2. Criterios microbiológicos establecidos para bebidas a base o con inclusión de soya, legumbres o cereales según la Resolución 1407 de 2022. En esta tabla se muestran los parámetros microbiológicos para las bebidas a base o con inclusión de soya, otras legumbres o leguminosas y/o cereales correspondientes al ítem 7.2 de la Resolución 1407 de 2022. (36)

2.9 Economía circular y desarrollo sostenible.

La economía circular es un modelo económico que busca maximizar el uso de recursos y minimizar el desperdicio, promoviendo un ciclo continuo de producción y consumo, a diferencia del modelo lineal tradicional, que sigue el patrón de "extraer, producir, usar y desechar", la economía circular se centra en tres principios fundamentales: Reducción de residuos, Reutilización y reciclaje y Recuperación de recursos, la economía circular promueve el uso eficiente de los recursos, reduciendo la presión sobre los ecosistemas, incentivando a las empresas a desarrollar nuevos productos y servicios que sean más sostenibles e impulsando la innovación y la competitividad.(37)

Integrando los principios de la economía circular, el desarrollo de una bebida vegetal fermentada a base de almendras y rejuvelac, es una opción innovadora y sostenible que contribuye significativamente a los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de la ONU, más específicamente los objetivos 2 (hambre cero) y 12 (producción y consumo responsable); esto debido a que el germinado de lentejas es un proceso que puede realizarse fácilmente a nivel

doméstico ya que los recursos necesarios son mínimos y se genera un alto aporte o valor nutricional, esta práctica se alinea directamente con el ODS 2 que busca erradicar el hambre y mejorar la salud alimentaria al tener acceso a alimentos nutritivos, representando una fuente alimentaria sustentable y accesible para comunidades con acceso o recursos limitados. Así mismo la producción casera de germinados y la elaboración de bebidas fermentadas promueven el ODS 12, enfocado en la producción y consumo responsables, reduciendo la dependencia del consumo de productos ultra procesados y empaquetados, disminuye el desperdicio de envases y fomenta el uso de recursos locales. (38)

3 *Diseño metodológico.*

3.1 *Universo, población y muestra.*

Esta tesis experimental estudió la producción de una bebida vegetal fermentada (yogur) cuya fuente probiótica natural es obtenida de la bebida probiótica “rejuvelac” producto del germinado de lentejas, perteneciente al universo de bebidas vegetales fermentadas a partir de materias primas naturales y métodos tradicionales de fermentación. La población abarcó lentejas y almendras comerciales, de esta población se seleccionó un aproximado de 30 gramos de lentejas utilizadas para la obtención del germinado de lentejas y posteriormente la obtención de la bebida probiótica "rejuvelac"; y una taza de almendras utilizada para la elaboración de la bebida vegetal de almendras como base para la elaboración de la bebida vegetal fermentada (yogur).

3.2 *Hipótesis, variables e indicadores.*

La hipótesis central de esta investigación se dirige hacia la elaboración de una bebida vegetal fermentada tipo "yogur" utilizando la bebida probiótica "rejuvelac" obtenida del germinado de lentejas, como fuente probiótica natural, con el fin de comprobar la hipótesis se realizó paso a paso el producto desde la obtención del germinado de lentejas, la elaboración de la bebida probiótica “rejuvelac” y la elaboración de la bebida vegetal fermentada (yogur) , todo de manera detallada y registrada; se evaluaron las variables independientes (probióticos naturales de la bebida probiótica “rejuvelac”) para observar su efecto sobre la variable dependiente (desarrollo de la fermentación en la bebida vegetal, con microorganismos viables)

Para evaluar los resultados se establecieron indicadores cuantitativos como la presencia y viabilidad de microorganismos probióticos mediante el cultivo en medio selectivo (Agar MRS) y el control microbiológico de calidad mediante el cultivo de los productos en agar MacConkey, adicionalmente se consideran indicadores secundarios el aspecto, olor y sabor de los productos; estos indicadores permitirán determinar si la bebida probiótica "rejuvelac" tiene el efecto deseado (fermentación) sobre la bebida vegetal de almendras y así producir una bebida vegetal fermentada (yogur).

3.3. Técnicas y procedimientos.

El proyecto experimental se estructuró en 3 etapas diferentes representadas en la **figura 3**, donde se evidencia la **fase 1** (obtención de germinados de lentejas y producción de bebida probiótica "rejuvelac"), la **fase 2** (preparación bebida vegetal y producción bebida vegetal fermentada (yogur)) y la **fase 3** (aislamiento y evaluación microbiológica).

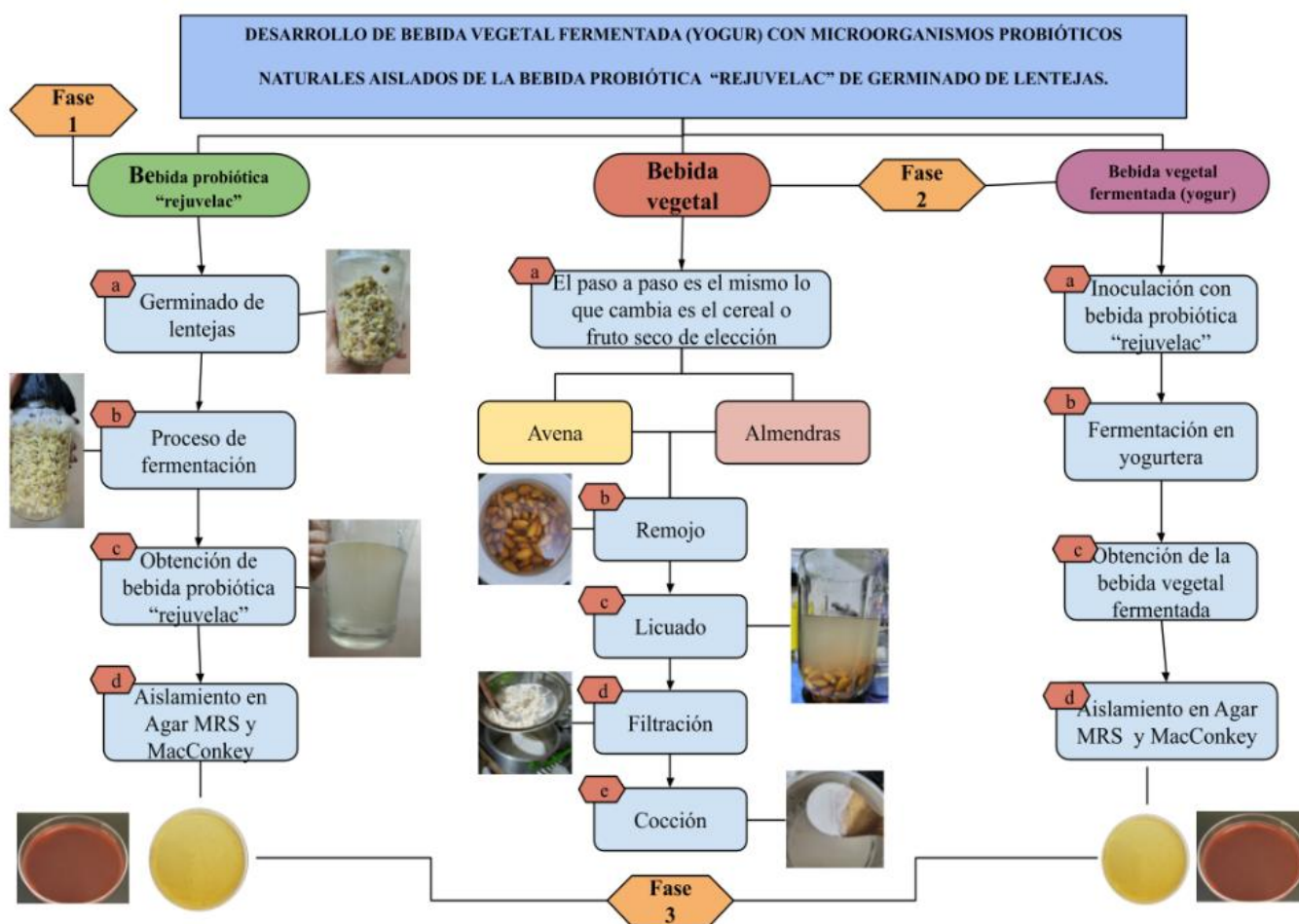


Figura 3. Metodología general del proyecto. Elaboración propia. Diagrama donde se representa las fases para el desarrollo de la bebida vegetal fermentada (yogur). Fase 1: obtención de la bebida probiótica "rejuvelac" a partir del germinado de lentejas; fase 2: elaboración bebida vegetal de almendras; y finalmente la fase 3: correspondiente a la inoculación de la bebida probiótica "rejuvelac" que va a permitir la fermentación y obtención del de la bebida vegetal fermentada "yogur".

Fase 1

3.4 Obtención de germinados de lentejas

Se inició con la elección de un puñado de lentejas las cuales se lavaron con agua embotellada o filtrada para evitar cualquier tipo de contaminación que pudiera afectar el proceso de germinación, estas se dejaron en remojo durante 8 horas, pasado este tiempo fueron puestas en dos frascos de vidrio previamente esterilizados con agua hirviendo y se taparon con tela o gasa la cual permite el paso de aire y la liberación del exceso de humedad, los frascos se dejaron en un lugar oscuro en posición inclinada durante 4 días; en los ítems “**d**, **e** y **f**” de la **figura 4**, se puede observar el avance del proceso de germinación.



Figura 4. Obtención de germinados de lentejas. *a:* Elección de lentejas; *b:* inicio proceso de germinación; *c:* Posición de almacenaje; *d:* 1er día de germinación; *e:* 2do día de germinación; *f:* 4to día de germinación.

3.5. Producción de bebida probiótica (rejuvelac)

Una vez el proceso de germinación avanzó, se añadió agua embotellada a los frascos de vidrio y se dejó en un lugar oscuro durante 24 horas, en el ítem “**a**” de la **figura 5** se puede observar la formación de burbujas características del proceso de fermentación; el agua fermentada obtenida “rejuvelac” se separó de los germinados de lentejas y como se aprecia en el ítem “**d**” de la **figura 5**, el “rejuvelac” tomó un aspecto ligeramente turbio con burbujas, cualidades características de un producto fermentado.



Figura 5. Preparación de la bebida probiótica “rejuvelac”. Elaboración propia. a: Proceso de fermentación; **b y c:** Separación del agua fermentada (rejuvelac) y los germinados; **d:** Obtención bebida probiótica de germinados de lentejas “Rejuvelac”.

Fase 2

3.6 Preparación bebida vegetal.

En cuanto a la preparación de la bebida vegetal fermentada cabe aclarar que el proyecto se llevó a cabo con dos materias primas diferentes, estas son la avena y las almendras, sin embargo, el paso a paso a seguir con cualquiera de las dos es el mismo, lo único que cambia es la consistencia del producto final; en la **figura 6** se puede observar el proceso de elaboración de la bebida utilizando las almendras como materia prima. Se dejó en remojo media taza de almendras durante 8 horas, pasado este tiempo se licuó en 1 litro de agua, la mezcla obtenida se filtró con ayuda de un colador de malla fina; en el ítem “**d**” de la **figura 6** se aprecia el residuo producto del proceso de filtración, este se puede utilizar en la preparación de pancakes, arepas, tortas, entre otros; la mezcla final se llevó a fuego medio mezclando constantemente hasta obtener una consistencia ligeramente espesa como se observa en el ítem “**f**” de la **figura 6**.



Figura 6. Preparación bebida vegetal de almendras. Elaboración propia. *a:* Almendras en remojo; *b:* almendras para procesar; *c:* filtración bebida vegetal; *d:* residuo de filtración; *e:* cocción; *f:* textura esperada.

3.7 Producción bebida vegetal fermentada (yogur)

La bebida vegetal se inoculó con los microorganismos probióticos presentes en el “rejuvelac” previamente obtenido en la fase 1, se añadió 2 cucharadas de “rejuvelac” y se mezcló en la licuadora, además, se agregó azúcar como endulzante; la mezcla se dispuso en frascos de vidrio pertenecientes a la yogurtera Holstein; los cuales fueron previamente esterilizados con agua hirviendo para evitar cualquier tipo de contaminación con microorganismos no deseados; finalmente fueron puestos en la yogurtera, donde se dejaron durante 8 horas, tiempo en el que la yogurtera brinda la temperatura ideal para el proceso de fermentación, la cual oscila entre los 30° C y 40°C . En los ítems “f y h” de la **figura 7** se puede observar la textura obtenida en el (yogur) al final del proceso.

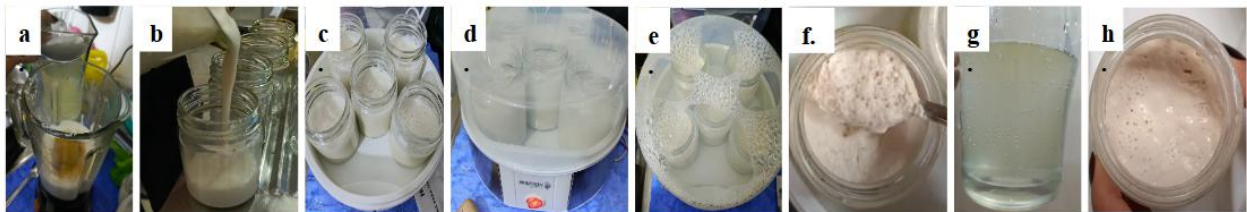


Figura 7. Preparación bebida vegetal fermentada “yogur”. Elaboración propia. *a:* Inoculación con rejuvelac y adición de endulzante; *b* y *c:* envasado previo a proceso de fermentación; *d:* inicio proceso de fermentación en yogurtera; *e:* Finalización proceso de fermentación; *f:* Textura característica del yogurt.

Fase 3

3.8. Aislamiento y evaluación microbiológica.

Una vez finalizados los procesos de obtención tanto de la bebida probiótica (Rejuvelac) como de la bebida vegetal fermentada (yogur), se procedió a realizar la siembra en Agar MRS y en Agar MacConkey como parte del control microbiológico, complementándose con caldo nutritivo como se observa en la **figura 8**, en el presente estudio, se decidió enfocar el análisis microbiológico exclusivamente en el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) en agar MRS y agar

MacConkey, sin incluir la medición de parámetros fisicoquímicos como el pH, la acidez titulable u otros indicadores relacionados, esta decisión metodológica se basó en varias consideraciones de relevancia técnica y de viabilidad; en primer lugar, el principal objetivo del estudio fue confirmar la presencia de población microbiana presente en el rejuvelac obtenido a partir de germinados de lentejas y en la bebida vegetal fermentada (yogur) por lo que la utilización de agar MRS y agar MacConkey permitió discriminar entre bacterias ácido lácticas y microorganismos indicadores de contaminación potencial, respectivamente. Por otro lado, se consideró que la medición de parámetros como el pH o la acidez, si bien son indicadores relevantes en procesos fermentativos, no constituía un objetivo prioritario en este trabajo de investigación, ya que están más relacionados con la evaluación sensorial y funcional del producto final, aspectos que quedaron fuera del alcance de este estudio, cuyo enfoque principal radicó en la viabilidad y cuantificación de los microorganismos beneficiosos en los productos obtenidos.

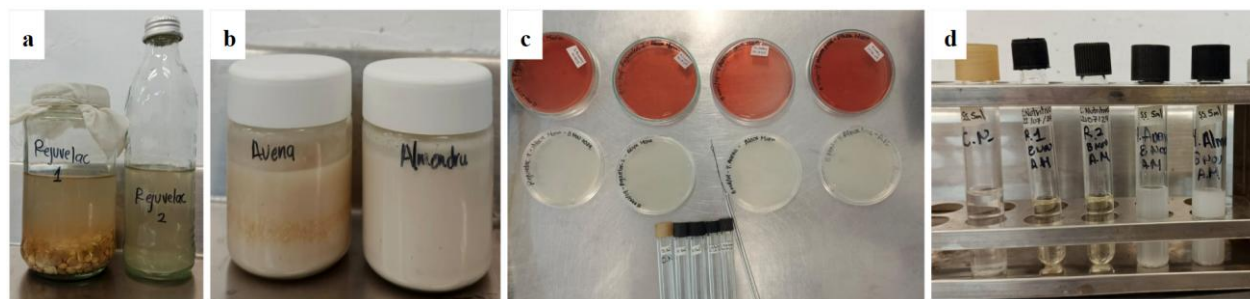


Figura 8. Productos finales y materiales para siembra. Elaboración propia. *a:* Rejuvelac identificado como 1 y 2; *b:* bebida vegetal de avena y almendras; *c:* Agares TSA y MacConkey debidamente identificados para siembra; *d:* Caldos nutritivos y solución salina al 5% para control normal.

Todas las siembras se realizaron por método de agotamiento por duplicado como se observa en la **figura 9**, y se incubaron durante 24 h a una temperatura de 30°C a 35°C.

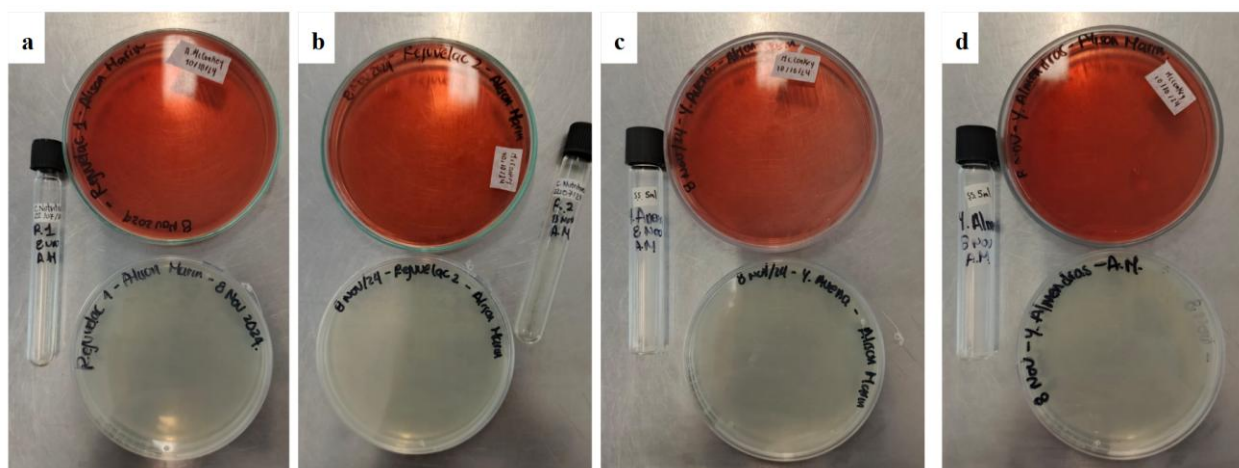


Figura 9. Siembras microbiológicas. Elaboración propia. a: Siembra Rejuvelac 1; **b:** siembra rejuvelac 2; **c:** siembra bebida vegetal de avena; **d:** siembra bebida vegetal de almendras.

4 Resultados.

4.1 Obtención de bebida probiótica (rejuvelac) y bebida vegetal fermentada (yogur)

Tras realizar el procedimiento descrito en el ítem 3.4, se obtiene una bebida probiótica obtenida por germinados de lenteja “rejuvelac”, la cual tiene un aspecto turbio, con presencia de burbujas, como se observa en la (**figura 5, ítem d**), y un aroma distintivo a fermentación, atributos propios del proceso fermentativo natural llevado a cabo por los microorganismos probióticos. Posteriormente, de acuerdo con lo detallado en el ítem 3.7, se logra la elaboración de una bebida vegetal fermentada “yogur”, mediante la inoculación de la bebida vegetal de almendras con los microorganismos probióticos naturales presentes en la bebida probiótica de germinados de lentejas “rejuvelac”, después del periodo de incubación en la yogurtera, se obtiene un producto de consistencia espesa como se observa en la (**figura 7, ítem f y h**), con un aroma predominante a almendras y un ligero olor a fermento, características indicativas de un proceso de fermentación exitosa.

Una vez obtenidos los productos anteriormente mencionados, se lleva a cabo una siembra microbiológica con el objetivo de evaluar la presencia y viabilidad de microorganismos probióticos, así como de realizar un control microbiológico para detectar la posible presencia de microorganismos contaminantes no deseados, los resultados obtenidos a partir de este análisis se presentan a continuación.

4.2 Control microbiológico

4.2.1 Siembra inicial (técnica de referencia)

Los resultados obtenidos a partir de las siembras microbiológicas realizadas tanto en la bebida fermentada como a la bebida vegetal fermentada (yogur) evidencian la presencia de diferentes grupos microbianos; en los cultivos desarrollados en agar MRS se observaron colonias con un crecimiento uniforme y rasgos compatibles con bacilos Gram positivos, habitualmente asociados a condiciones favorables de crecimiento en medios nutritivos generales como el MRS, también, se identificaron colonias que mostraron un fenómeno de dispersión superficial conocido como swarming como se puede observar en las **figuras (10,11,12 y 13 ítem “a”)**.

En el medio selectivo agar MacConkey, se observan colonias redondas, planas e incoloras, no fermentadoras de lactosa dado que no producen los ácidos necesarios para cambiar el pH del medio y, por ende, no generan el viraje de color, sin embargo se pueden observar pequeñas formaciones de microorganismos que si logran fermentar la lactosa lo que permite evidenciar la coexistencia de microorganismos con capacidades fermentativas y patogénicas potenciales como se observa en las **figuras (10,11,12 y 13 ítem “b”)**.

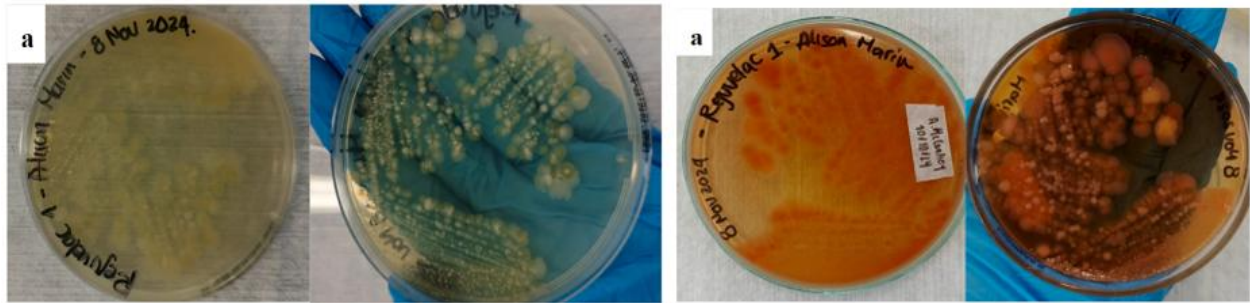


Figura 10. Resultados siembra Rejuvelac 1 (07-11-2024). Elaboración propia

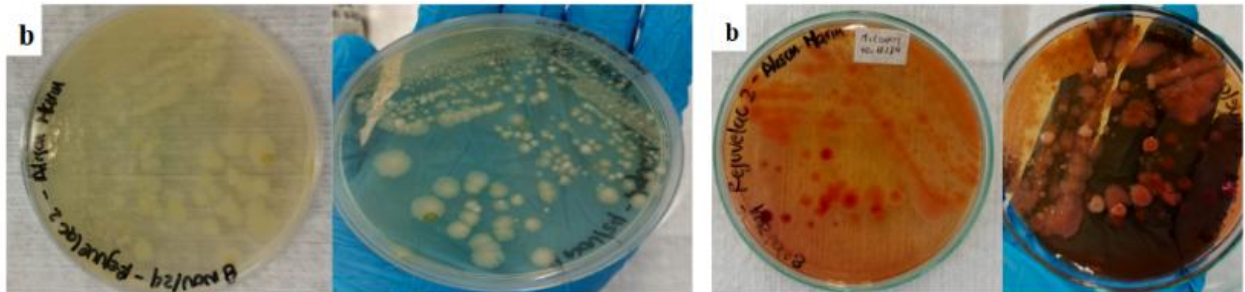


Figura 11. Resultados siembra Rejuvelac 2 (07-11-2024). Elaboración propia.

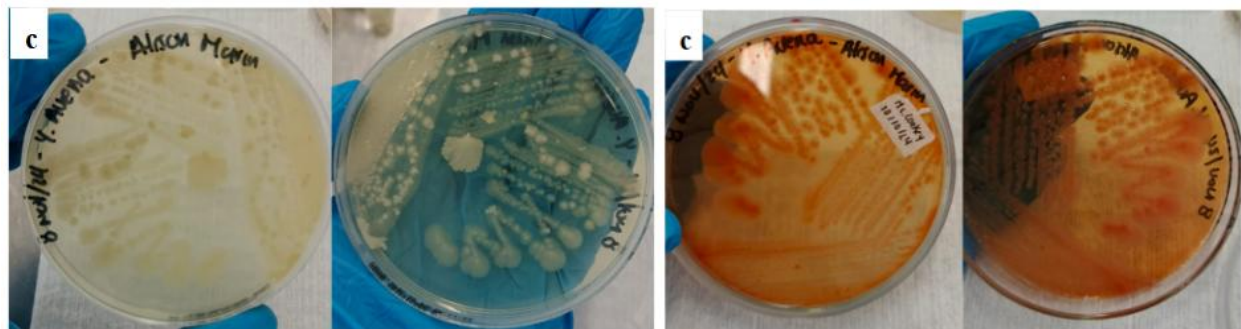


Figura 12. Resultados siembra bebida vegetal de avena (07-11-2024). Elaboración propia

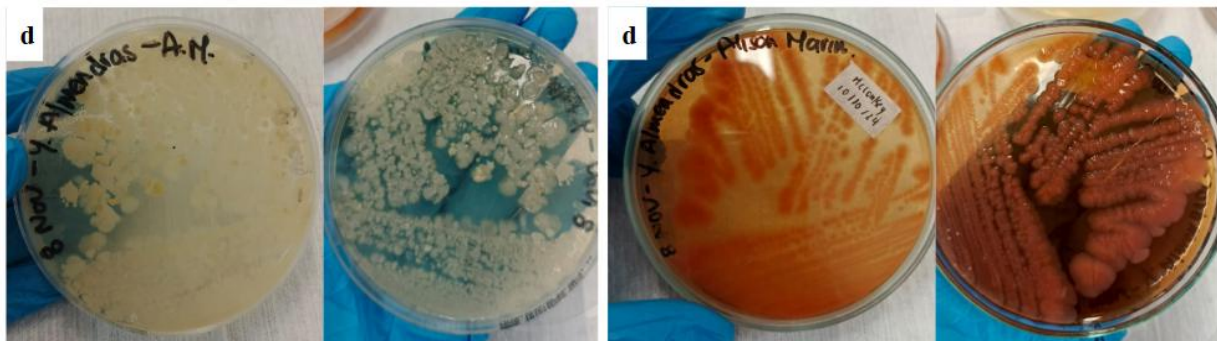


Figura 13. Resultados siembra bebida vegetal de almendras (07-11-2024). Elaboración propia.

4.2.2 Siembra intermedia, optimización 1 de la técnica de producción de bebida vegetal fermentada (yogur) a partir de la bebida probiótica de germinado de lentejas “rejuvelac”.

Debido a la alta contaminación obtenida en esta primera siembra se decide volver a realizar los productos realizando cambios en los factores se creía podían ser la fuente de contaminación, al momento de la elección de las lentejas estas se dejaron en agua hirviendo alrededor de 8 minutos para eliminar cualquier microorganismo que pudiera afectar el posterior proceso de germinación, todos los utensilios utilizados en la preparación tanto de los germinados, rejuvelac y bebida vegetal fueron esterilizados dejándolos en agua hirviendo durante 10 min, todos los envases utilizados fueron de vidrio y en cada fase de los procesos que requieran de manipulación se utilizaron guantes esteriles y tapabocas para evitar al mínimo cualquier foco de contaminación; la siembra se realizó en agar MRS, Agar PDA, y Agar MacConkey, se dividió el agar en dos, en la mitad se marcó con “R” y aquí se sembró el “rejuvelac” y en la otra mitad “Y” donde se sembró la bebida vegetal fermentada, también se utilizó caldo nutritivo; los resultados de esta segunda siembra se pueden observar en la **figura 14**.

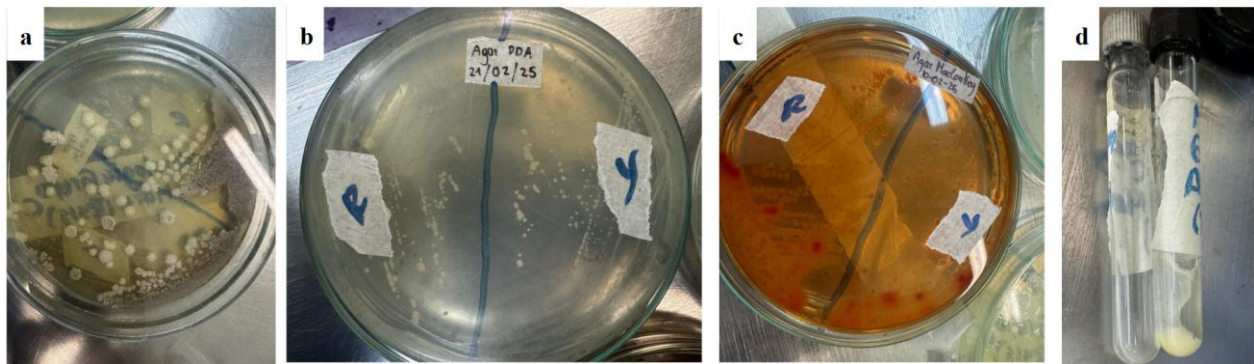


Figura 14. Resultados segunda siembra rejuvelac y bebida vegetal (21-02-2025). Elaboración propia. a: Siembra en agar MRS; **b:** siembra en agar PDA; **c:** siembra en agar MacConkey; **d:** siembra en caldo nutritivo.

En esta segunda siembra como se puede observar ya se logró aislar cepas morfológicamente compatibles con microorganismos probióticos, además, la contaminación se redujo notoriamente en comparación con la primera, iniciando con el ítem “a” de la **figura 14**, correspondiente al agar MRS donde se observa el crecimiento de un solo tipo de colonia, son colonias pequeñas

puntiformes que son concordantes con lactos, planas, blanquecinas, de forma irregular, bordes lobulados, dan la apariencia de estar secas, también se observa una protuberancia en el centro de las colonias lo cual les da una apariencia de huevo estrellado; en Agar PDA se observa el crecimiento de un solo tipo de colonia en este caso pequeñas; en Agar MacConkey sigue habiendo crecimiento alusivo a microorganismos patógenos, aunque disminuyo a comparación de la primera siembra se sigue observando la presencia de dos tipos de colonias, una en mayor medida no fermentadora de lactosa y algunas que si la fermentan.

4.2.3 Siembra final, optimización 2 de la técnica de producción de bebida vegetal fermentada (yogur) a partir de la bebida probiótica de germinado de lentejas “rejuvelac”.

Debido a la persistencia de fuentes de contaminación en el proceso, se evaluaron los factores que podrían estar contribuyendo a dicha contaminación, a pesar que ya se habían implementado medidas de control respecto a la desinfección de utensilios y a las prácticas de manipulación, se sospechó que el origen de la contaminación podría ser de tipo ambiental, ante esta hipótesis, se decidió realizar una tercera siembra con modificaciones significativas, orientadas a minimizar la exposición a posibles contaminantes.

En esta fase, el recipiente utilizado para almacenar el proceso de germinación de las lentejas y la elaboración del “Rejuvelac” no fue almacenado en los gabinetes de la cocina como en ocasiones anteriores, en su lugar, se decidió guardarlo en una caja transparente previamente desinfectada con hipoclorito a 500ppm, asegurando la desinfección antes y durante cada fase que requiriera manipulación, tratando de prevenir la contaminación por agentes ambientales presentes en el entorno; adicionalmente, se decidió eliminar el uso de gasas estériles para cubrir el recipiente con las lentejas, esto con el fin de evitar que la humedad retenida en estas favoreciera el crecimiento de microorganismos patógenos, reduciendo así las condiciones propicias para el desarrollo microbiano no deseado.

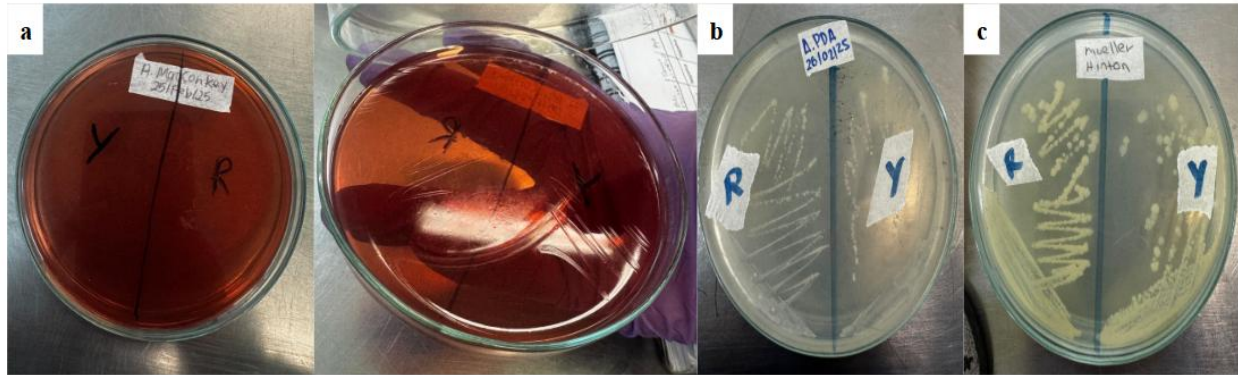


Figura 15. Resultados tercera siembra rejuvelac y bebida vegetal (01-03-2025). Elaboración propia. a: Siembra en agar MacConkey; **b:** siembra en agar PDA; **c:** siembra en agar MRS

En la tercera siembra se puede observar que no hubo crecimiento de algún microorganismo tanto en la sección “R” como en la sección “Y” (**Figura 15, ítem “a”**) lo que permite deducir que las medidas implementadas fueron efectivas. En cuanto a las siembras realizadas en agar PDA (**Figura 15, ítem “b”**), se observó el crecimiento de UFC pequeñas y uniformes que por sus características morfológicas podrían corresponder a levaduras siendo el conteo de UFC de 192 UFC en la sección “R” y 84 UFC en la sección “Y”, al observarse una misma característica en las colonias se puede deducir la ausencia de contaminación significativa por otros microorganismos; finalmente, en el agar MRS (**Figura 15, ítem “c”**), se obtuvieron 204 UFC en la sección “R” y 152 UFC en la sección “Y”, en este medio selectivo para bacterias ácido lácticas, las colonias mostraron morfología convexa y superficie lisa o ligeramente rugosa, con bordes enteros y consistencia húmeda a cremosa, el color de las colonias fue predominantemente blanco a beige, con un aspecto translúcido en algunos casos, característico de bacterias ácido lácticas como *Lactobacillus* spp., logrando así el aislamiento de los microorganismos probióticos deseados.

Con base en los resultados obtenidos se decidió hacer un análisis y comparación de las unidades formadoras de colonia obtenidas en Agar MacConkey a partir de la siembra de rejuvelac y la bebida vegetal elaborada, con el fin evaluar el comportamiento microbiológico a lo largo de la elaboración del producto e identificar la eficacia de las medidas implementadas para reducir el crecimiento de microorganismos no deseados, el número de unidades formadoras de colonia UFC se puede observar

en la (Tabla N°3 y en la figura 16) ,para facilitar la comparación, se sacó un promedio entre las UFC del rejuvelac 1 y 2, de la bebida vegetal fermentada de almendras y avena.

Comparación crecimiento de UFC en Agar MacConkey			
Producto	Técnica de referencia	Optimización técnica 1	Optimización técnica 2
Bebida probiótica "Rejuvelac"	142	76	0
Bebida vegetal fermentada (yogur)	230	48	0

Tabla 3. Comparación crecimiento de Unidades formadoras de colonia (UFC) en Agar MacConkey. Elaboración propia. En la tabla se muestra la cantidad de UFC obtenidas en Agar MacConkey en las tres etapas de siembras realizadas a lo largo del proyecto, evidenciándose una disminución progresiva en las muestras, con la ausencia de colonias en la última siembra.

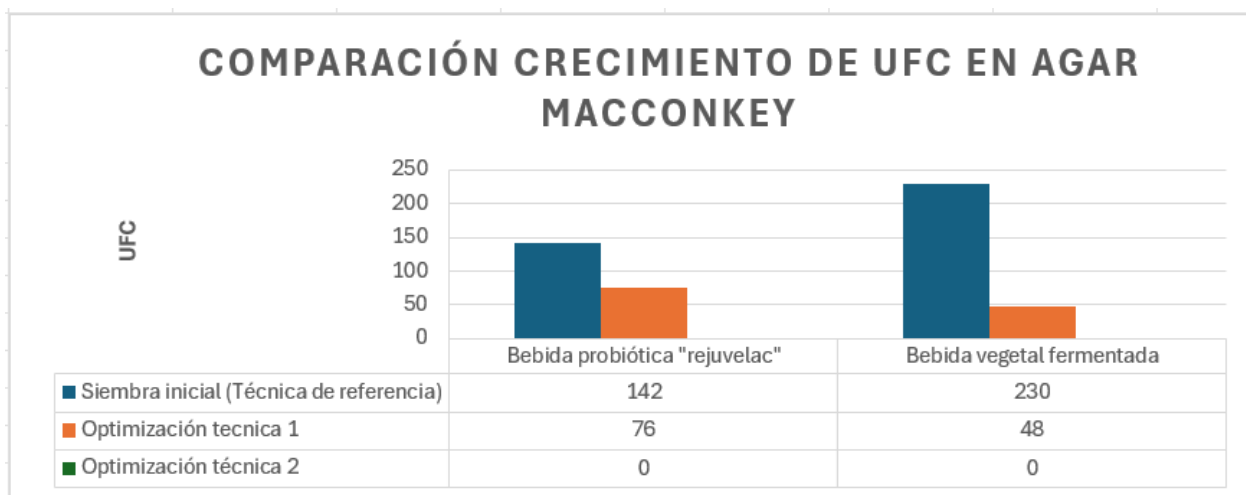


Figura 16. Comparación del crecimiento de unidades formadoras de colonia (UFC) en Agar MacConkey para la bebida probiótica "rejuvelac" y bebida vegetal fermentada. Elaboración propia. La grafica ilustra la cantidad de UFC obtenidas en Agar MacConkey a lo largo de las diferentes etapas de siembras realizadas a partir de la bebida probiótica "Rejuvelac" y la bebida vegetal fermentada, se observa una disminución progresiva en el crecimiento bacteriano, con la ausencia de colonias en la última siembra.

4.3 Conglomerado de modificaciones técnicas en la elaboración de la bebida vegetal fermentada (yogur)

Como resultado de los hallazgos obtenidos a lo largo del proceso experimental, fue necesario implementar una serie de ajustes y mejoras en las prácticas utilizadas para la elaboración de la bebida vegetal fermentada, estos cambios no solo estuvieron orientados a optimizar las condiciones microbiológicas del producto final, sino también a fortalecer la inocuidad y la reproducibilidad del procedimiento en contextos domésticos, la (tabla 4) que se presenta a continuación expone un conglomerado de modificaciones técnicas que fueron aplicadas de manera progresiva en cada una de las fases del proceso de elaboración de la bebida vegetal fermentada, permitiendo identificar cuáles factores influyen de forma directa en el producto.

ASPECTOS MODIFICADOS EN LA ELABORACIÓN DE LA BEBIDA VEGETALFERMENTADA			
ASPECTOS	Técnica de referencia	Optimización técnica 1	Optimización técnica 2
Elección y desinfección de lentejas	Elección de los granos sin ningún parámetro en particular, solo se les da un lavado común con agua filtrada.	Se seleccionan con mayor cuidado y se dejan en agua hirviendo durante 8 minutos para eliminar cualquier microorganismo indeseado que altere el producto.	Al igual que en la segunda siembra, se seleccionan con mayor cuidado y se dejan en agua hirviendo durante 8 minutos para eliminar cualquier microorganismo indeseado que altere el producto.
Limpieza y desinfección de utensilios	Frascos de vidrio esterilizados previamente con agua hirviendo antes de su uso	Aumento del tiempo de esterilización en agua hirviendo (10 min), al igual que se esterilizaron todos los utensilios involucrados en el proceso de elaboración del producto.	Aumento del tiempo de esterilización en agua hirviendo (10 min), al igual que se esterilizaron todos los utensilios involucrados en el proceso de elaboración del producto.

Uso de elementos de protección personal	Lavado de manos antes y después de cada etapa que requiera manipulación.	Además del lavado de manos convencional, se utiliza mascarilla y guantes estériles en cada etapa del proceso que requiere manipulación	Además del lavado de manos convencional, se utiliza mascarilla y guantes estériles en cada etapa del proceso que requiere manipulación
Humedad	Uso de gasas para cubrir los frascos de vidrio donde se realiza el proceso de germinación.	Uso de gasas para cubrir los frascos de vidrio donde se realiza el proceso de germinación.	Se reemplaza el uso de gasas para cubrir los frascos por tapa de acero inoxidable con agujeros para permitir el paso de aire, esto con el fin de evitar que la humedad acumulada en las gasas propicie el crecimiento de microorganismos no deseados.
Condiciones de almacenamiento	El frasco donde se llevaba a cabo el proceso de germinación se almacena en los gabinetes de la cocina.	El frasco donde se llevaba a cabo el proceso de germinación se almacena en los gabinetes de la cocina.	Para evitar contaminaciones provenientes del ambiente el frasco se almacena en una caja plástica la cual puede ser desinfectada antes y después de cada proceso de manipulación.

Tabla 4. Aspectos modificados en la elaboración de la bebida vegetal fermentada. Elaboración propia. En la tabla se describen los aspectos más relevantes a lo largo de la elaboración de la bebida vegetal fermentada y los cambios que estos tuvieron a partir de los resultados obtenidos en las diferentes siembras microbiológicas.

5 Discusión

El desarrollo de nuevos productos alimenticios surge con el fin de satisfacer las demandas actuales de los consumidores que desean alimentos saludables, por ejemplo se busca que las bebidas no solo refresquen, sino que a su vez tengan una funcionalidad o beneficio; la funcionalidad puede abordar varios aspectos como el aumentar la energía, combatir el envejecimiento o atacar alguna enfermedad específica(39); un requisito funcional importante es ofrecer alternativas a la leche de vaca para quienes presentan intolerancia a la lactosa o simplemente buscan una alimentación basada en plantas.(40)

Las alternativas a la leche a base de plantas son bebidas que resultan de la reducción del material vegetal (cereales, semillas, legumbres, nueces.) extraído en agua, una mayor homogenización de dichos fluidos da como resultado un fluido que imita la leche de vaca en apariencia y consistencia(39). Al mismo tiempo en las últimas décadas los esfuerzos para erradicar el hambre en el mundo han llevado a la generación de objetivos de desarrollo sostenible para reducir la pobreza y desigualdad.(41); es así como la elaboración de una bebida vegetal fermentada (yogur) rica en microorganismos probióticos naturales aislados de germinados de lentejas contribuye a todas las necesidades anteriormente mencionadas.

En este contexto, la elaboración de una bebida vegetal fermentada de almendras rica en microorganismos probióticos naturales aislados de germinados de lentejas, como el rejuvelac, contribuye a las demandas mencionadas, a diferencia de investigaciones previas que utilizan cultivos comerciales, este trabajo empleó exclusivamente el rejuvelac como fuente probiótica natural; es así como en estudios recientes se ha demostrado la viabilidad de diferentes cepas probióticas en bebidas vegetales fermentadas, por ejemplo, *Lacticaseibacillus rhamnosus* GR-1 ha mostrado conteos superiores a 10^7 UFC/mL durante 30 días en bebidas probióticas a base de almendras suplementadas con inulina(42)Otros autores, como Grasso et al. (2014) y Zhu et al. (2022), documentaron la capacidad de *Lactobacillus reuteri* y *Streptococcus thermophilus* para crecer y producir ácido láctico en bebidas vegetales fermentadas, garantizando la funcionalidad probiótica. (43,44)

Aunque se puede encontrar mucha información respecto a la elaboración tanto del rejuvelac como de bebidas y/o productos similares en internet, los resultados obtenidos a lo largo de esta tesis demuestran que, aunque es muy sencilla la elaboración del producto, hay muchos aspectos que pueden afectarlo generando efectos negativos sobre la salud en vez de los beneficios esperados. Desde la primera siembra microbiológica de evaluación de la inocuidad se observó que el producto es vulnerable a múltiples factores de contaminación y que se deben tomar medidas fundamentales para evitarlos. Los germinados se pueden preparar de forma sencilla a nivel doméstico, sin embargo, es muy importante tener un control microbiológico de los mismos, algunos de los microorganismos que los pueden afectar son *Salmonella spp*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* y *Shigella spp*. los cuales se pueden encontrar en los germinados o en el agua utilizada para elaborar los mismos; generando así daños significativos en la salud humana(13).

La presencia de microorganismos patógenos como *Salmonella*, *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes* en productos probióticos afecta el desarrollo y crecimiento de los probióticos al competir por nutrientes y sitios de adhesión en el producto, afectando su viabilidad y eficacia; según el artículo titulado "Interactions between probiotics and pathogenic microorganisms in hosts and foods: A review" publicado en *Trends in Food Science & Technology* en enero de 2020, estas interacciones son complejas y dependen de factores como la cepas específicas de los probióticos y patógenos involucrados, así como del entorno del producto, por lo que es muy importante comprender estas dinámicas para poder desarrollar productos probióticos efectivos y sobre todo seguros(45); además una revisión en Food Research international destaco que la *Listeria monocytogenes* puede contaminar los alimentos durante la producción o almacenamiento, representado un riesgo para la salud alimentaria.(46)

El desarrollo de esta tesis permitió identificar los factores críticos que representan un foco de contaminación en la producción de la bebida vegetal fermentada, tanto en la elección de la materia prima como en todas las etapas de su elaboración, esta información es de gran relevancia ya que proporciona una base sólida y confiable para cualquier persona que desee elaborar este producto en casa, garantizando así obtener los beneficios en la salud deseados sin comprometer la seguridad alimentaria.

6 Conclusiones

La elaboración de una bebida vegetal fermentada utilizando una bebida probiótica “rejuvelac” como fuente probiótica natural puso en evidencia la importancia de establecer un control riguroso sobre los factores críticos que pueden comprometer la seguridad alimentaria y la viabilidad microbiana del producto final. A lo largo de la realización de esta tesis, se identificaron factores determinantes como la selección de lentejas empleadas, la humedad que puede propiciar el crecimiento de microorganismos no deseados, el tiempo y la técnica de esterilización de los implementos, así como el uso constante de barreras físicas como guantes estériles y mascarillas; todos estos elementos resultaron fundamentales para minimizar los riesgos de contaminación cruzada y asegurar un entorno propicio para el desarrollo de microorganismos beneficiosos.

Dentro de este proceso, el uso del agar MRS como medio de cultivo selectivo fue crucial en el aislamiento de cepas compatibles con las características morfológicas típicas de microorganismos probióticos en el rejuvelac, este medio, favorece el crecimiento de bacterias ácido-lácticas ya que contiene una combinación de nutrientes y agentes selectivos como peptona, extracto de levadura, y acetato de sodio, que inhiben el crecimiento de microorganismos contaminantes, pero que promueven el desarrollo de géneros como *Lactobacillus*; el uso de este agar permitió aislar cepas morfológicamente compatibles con estos géneros tanto en etapas intermedias como en la siembra final, lo que indica la viabilidad de los probióticos en la bebida probiótica “rejuvelac” y en la bebida vegetal fermentada (yogur).

Los datos microbiológicos obtenidos a lo largo de esta tesis, como la disminución progresiva de las unidades formadoras de colonias (UFC) en Agar MacConkey (142 a 0 para rejuvelac y 230 a 0 para el yogur vegetal), evidencian la eficacia de los cambios metodológicos implementados, dejando ver la necesidad de aplicar protocolos que garanticen la calidad microbiológica del producto, para así lograrla elaboración del producto de forma segura y eficaz, promoviendo el desarrollo de alternativas alimentarias saludables, sostenibles y con alto valor funcional.

Anexo A

BEBIDA VEGETAL FERMENTADA (YOGUR) CON MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS NATURALES AISLADOS DE GERMINADO DE LENTEJAS (REJUELAC)

1. Germinado de lentejas

1.1 Seleccionar un puñado de lentejas, verificando que su apariencia sea sana sin tonalidades oscuras o con signos de algún daño o contaminación.



1.2

Las lentejas se deben lavar con agua filtrada o embotellada y se deben desinfectar con agua hirviendo durante 8 minutos, esto con la finalidad de eliminar cualquier microorganismo no deseado. Después del proceso de limpieza y desinfección, dejar en remojo con agua filtrada durante 8 horas.



Se coloca una o dos cucharadas de lentejas en un frasco de vidrio, el cual debe ser previamente lavado y desinfectado dejándolo en agua hirviendo durante 10 min, en cuanto a la tapa, debe ser de acero inoxidable para poder desinfectar con mayor facilidad a lo largo del proceso, a esta se le harán algunos agujeros para permitir el paso de oxígeno y para que pueda salir el exceso de humedad durante el proceso de terminación.



1.4



Se dejan los frascos en una caja plástica para evitar contaminantes procedentes del ambiente, esta se debe desinfectar antes y después de cada etapa que requiera manipulación con hipoclorito de sodio, los frascos se dejan ligeramente inclinados con la tapa hacia abajo para eliminar el exceso de humedad, este proceso dura 4 días, cada 8 horas agregar agua filtrada a los germinados para humectarlos, retirar el agua y dejar inclinados nuevamente.



2. Preparación Rejuvelac

2.1 Una vez el proceso de germinación a avanzado, se añade agua embotellada a los frascos de vidrio y se deja en un lugar oscuro de 24 a 48 horas, para que comience el proceso de fermentación.



2.1



2.2



Probiotics Pasado este tiempo se podrá el agua se va a tornar turbia y se podrán observar burbujas, características típicas del proceso de fermentación realizado por las bacterias ácido lácticos



2.3

El "rejuvelac obtenido se separa de los germinados de lentejas en un envase de vidrio, preferiblemente con tapa, y se conserva en la nevera para utilizarlo en etapas posteriores,



Los germinados restantes pueden consumirse de muchas maneras, por ejemplo en ensaladas o arroces: de igual manera el rejuvelac puede consumirse en batidos o soda.



3. Preparación bebida vegetal



3.1 Se deja en remojo media taza de almendras durante 8 horas



3.2



pasado este tiempo se licua en 1 litro de agua, la mezcla obtenida se debe filtrar con ayuda de un colador de malla fina



El residuo producto del proceso de filtración, se puede utilizar en la preparación de pancakes, arepas, tortas, entre otros

3.3

La mezcla final se lleva a fuego medio mezclando constantemente hasta obtener una consistencia ligeramente espesa



4. Preparación bebida vegetal final "yogur"

4.1

La bebida vegetal se inocula con los microorganismos probióticos presentes en el "rejuvelac" previamente obtenido, se añaden 2 cucharadas de "rejuvelac" y se mezcla en la licuadora, se puede agregar azúcar o cualquier otro endulzante al gusto



4.2



La mezcla se dispone en frascos de vidrio pertenecientes a una yogurtera, los cuales deben ser previamente esterilizados con agua hirviendo para evitar cualquier tipo de contaminación con microorganismos no deseados

4.3

Se ponen los frascos en la yogurtera, donde se dejan durante 8 horas, tiempo en el que la yogurtera brinda la temperatura ideal para el proceso de fermentación, la cual oscila entre los 30°C y 40°C



Al finalizar el proceso se puede observar una textura mas espesa característica del "yogur"

ALISON ARIANA MARIN RODRIGUEZ

Referencias

1. Angelino D, Rosi A, Vici G, Russo M Dello, Pellegrini N, Martini D. Nutritional Quality of Plant-Based Drinks Sold in Italy: The Food Labelling of Italian Products (FLIP) Study. *Foods* 2020, Vol 9, Page 682 [Internet]. 2020 May 25 [cited 2024 Oct 12];9(5):682. Available from: <https://www.mdpi.com/2304-8158/9/5/682/htm>
2. Vanga SK, Raghavan V. How well do plant based alternatives fare nutritionally compared to cow's milk? *J Food Sci Technol* [Internet]. 2018 Jan 1 [cited 2024 Apr 9];55(1):10. Available from: [/pmc/articles/PMC5756203/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3156203/)
3. Jonas da Rocha Esperança V, Corrêa de Souza Coelho C, Tonon R, Torrezan R, Freitas-Silva O. A review on plant-based tree nuts beverages: technological, sensory, nutritional, health and microbiological aspects. *Int J Food Prop* [Internet]. 2022 Dec 31 [cited 2024 Oct 12];25(1):2396–408. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10942912.2022.2134417>
4. Chen JM, Al KF, Craven LJ, Seney S, Coons M, McCormick H, et al. Nutritional, Microbial, and Allergenic Changes during the Fermentation of Cashew 'Cheese' Product Using a Quinoa-Based Rejuvelac Starter Culture. *Nutrients* [Internet]. 2020 Mar 1 [cited 2024 Apr 9];12(3). Available from: [/pmc/articles/PMC7146175/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3156203/)
5. Yang Z, Zhu X, Wen A, Qin L. Development of probiotics beverage using cereal enzymatic hydrolysate fermented with *Limosilactobacillus reuteri*. *Food Sci Nutr*. 2022 Sep 3;10(9):3143–53.
6. Radenkova V, Juhneva-Radenkova K, Kviesis J, Lazdina D, Valdovska A, Vallejo F, et al. Lignocellulose-Degrading Enzymes: A Biotechnology Platform for Ferulic Acid Production from Agro-Industrial Side Streams. *Foods*. 2021 Dec 8;10(12):3056.
7. Gan RY, Chan CL, Yang QQ. Bioactive compounds and beneficial functions of sprouted grains. [cited 2024 Sep 26]; Available from: <https://www.researchgate.net/publication/328450776>
8. Romo Islas EC. Evaluación de tratamientos (remojo, germinación y fermentación) sobre la biodisponibilidad de nutrientes de lenteja (*Lens culinaris* L.). 2023 Dec;
9. Aylen AM. GERMINADOS PARA EL CONSUMO HUMANO 1 Importancia de los Germinados Para el Consumo Humano.
10. Criste AD, Urcan AC, Coroian CO, Copolovici L, Copolovici DM, Burtescu RF, et al. Plant-Based Beverages from Germinated and Ungerminated Seeds, as a Source of Probiotics, and Bioactive Compounds with Health Benefits—Part 1: Legumes. *Agriculture* 2023, Vol 13, Page 1185 [Internet]. 2023 Jun 2 [cited 2024 Apr 9];13(6):1185. Available from: <https://www.mdpi.com/2077-0472/13/6/1185/htm>

11. Benincasa P, Falcinelli B, Lutts S, Stagnari F, Galieni A. Sprouted Grains: A Comprehensive Review. *Nutrients*. 2019 Feb 17;11(2):421.
12. Mir SA, Farooq S, Shah MA, Sofi SA, Dar BN, Hamdani AM, et al. An overview of sprouts nutritional properties, pathogens and decontamination technologies. *LWT*. 2021 Apr 1;141:110900.
13. de León De Lama P, Isasa T, González M, García P. Interest of sprouts and their Food Security. *Nutricion Clinica y Dietetica Hospitalaria*. 2020 Apr 6;40(1):62–73.
14. Santos CS, Silva B, Valente LMP, Gruber S, Vasconcelos MW. The Effect of Sprouting in Lentil (*Lens culinaris*) Nutritional and Microbiological Profile. *Foods* [Internet]. 2020 [cited 2024 Oct 7];9(4). Available from: /pmc/articles/PMC7230579/
15. Chávez García SN, Rodríguez-Herrera R, Nery Flores S, Silva-Belmares SY, Esparza-González SC, Ascacio-Valdés JA, et al. Sprouts as probiotic carriers: A new trend to improve consumer nutrition. *Food Chemistry: Molecular Sciences*. 2023 Dec 30;7:100185.
16. Influencia del proceso de germinación en el contenido y biodisponibilidad de melatonina en semillas de legumbres | DIGITAL.CSIC [Internet]. [cited 2024 Oct 8]. Available from: <https://digital.csic.es/handle/10261/152189>
17. Peñaranda JD, Bueno M, Álvarez F, Pérez PD, Perezábad L. Sprouted grains in product development. Case studies of sprouted wheat for baking flours and fermented beverages. *Int J Gastron Food Sci*. 2021 Oct 1;25:100375.
18. Leguminosas germinadas o fermentadas: alimentos o ingredientes de alimentos funcionales [Internet]. [cited 2024 Nov 3]. Available from: https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222003000400003
19. Chatzimitakos T, Athanasiadis V, Makrygiannis I, Kotsou K, Palaiogiannis D, Bozinou E, et al. Nutritional Quality and Antioxidant Properties of Brown and Black Lentil Sprouts. *Horticulturae* 2023, Vol 9, Page 668 [Internet]. 2023 Jun 5 [cited 2024 Oct 7];9(6):668. Available from: <https://www.mdpi.com/2311-7524/9/6/668/htm>
20. Hernandez-Aguilar C, Dominguez-Pacheco A, Palma Tenango M, Valderrama-Bravo C, Soto Hernández M, Cruz-Orea A, et al. Lentil sprouts: a nutraceutical alternative for the elaboration of bread. *J Food Sci Technol* [Internet]. 2020 May 1 [cited 2024 Oct 7];57(5):1817. Available from: /pmc/articles/PMC7171009/
21. Zielińska D, Kolożyn-Krajewska D. Food-Origin Lactic Acid Bacteria May Exhibit Probiotic Properties: Review. *Biomed Res Int*. 2018 Oct 1;2018:1–15.
22. Żukiewicz-Sobczak W, Wróblewska P, Adamczuk P, Silny W. Probiotic lactic acid bacteria and their potential in the prevention and treatment of allergic diseases. *Central European Journal of Immunology*. 2014;1:104–8.

23. Latif A, Shehzad A, Niazi S, Zahid A, Ashraf W, Iqbal MW, et al. Probiotics: mechanism of action, health benefits and their application in food industries. *Front Microbiol.* 2023 Aug 17;14.
24. Sharma M, Mridula D, Gupta RK. Development of sprouted wheat based probiotic beverage. *J Food Sci Technol* [Internet]. 2014 Dec 3 [cited 2024 Apr 9];51(12):3926. Available from: [/pmc/articles/PMC4252468/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24252468/)
25. Mani-López E, Palou E, López-Malo A. Probiotic viability and storage stability of yogurts and fermented milks prepared with several mixtures of lactic acid bacteria. *J Dairy Sci* [Internet]. 2014 [cited 2024 Apr 9];97:2578–90. Available from: <http://dx.doi.org/>
26. Andreu M, Saavedra-Coutado C, Andreu M, Saavedra-Coutado C. El rol de los fermentos en la sostenibilidad alimentaria. *Nutr Hosp* [Internet]. 2022 [cited 2024 Sep 8];39(SPE3):56–9. Available from: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112022000700013&lng=es&nrm=iso&tlng=es
27. Abedi E, Hashemi SMB. Lactic acid production – producing microorganisms and substrates sources-state of art. *Heliyon* [Internet]. 2020 Oct 1 [cited 2024 Sep 8];6(10). Available from: [/pmc/articles/PMC7566098/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37566098/)
28. Decreto 616 de 2006 Nivel Nacional [Internet]. [cited 2024 Sep 8]. Available from: <https://www.alcaldiabogota.gov.co/sisjur/normas/Norma1.jsp?i=21980>
29. Isabel L, Garcés D. Desarrollo de un producto fermentado probiótico no lácteo a base de leche de almendras.
30. Salehi G, Díaz E, Redondo R. Forty-five years of research on vegetarianism and veganism: A systematic and comprehensive literature review of quantitative studies. *Heliyon.* 2023 May 1;9(5):e16091.
31. Fuentes Cuiñas AA, Vailati PA, Lazzatti GL, Fuentes Cuiñas AA, Vailati PA, Lazzatti GL. Vegetarianismo y veganismo: percepciones en el consumo de bebidas de origen vegetal en el Área Metropolitana de Buenos Aires. *RIVAR (Santiago)* [Internet]. 2020 Sep 1 [cited 2024 Sep 15];7(21):124–35. Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0719-49942020000300124&lng=es&nrm=iso&tlng=es
32. García-Hernández A, Rodríguez-Hernández G. BEBIDAS VEGETALES Y SUS APORTES FUNCIONALES. *Revista Ciencia e Innovación Agroalimentaria de la Universidad de Guanajuato.* 2023 Oct 30;3(1):31–48.
33. PARRA HUERTAS RA. REVIEW. BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS: PAPEL FUNCIONAL EN LOS ALIMENTOS. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* [Internet]. 2010 [cited 2024 Sep 8];8(1):93–105. Available from:

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612010000100012&lng=en&nrm=iso&tlng=es

34. Clemens R, Van Klinken BJW. Oats, more than just a whole grain: An introduction. *British Journal of Nutrition*. 2014 Sep 30;112:S1–3.
35. Vashisht P, Sharma A, Awasti N, Wason S, Singh L, Sharma S, et al. Comparative review of nutri-functional and sensorial properties, health benefits and environmental impact of dairy (bovine milk) and plant-based milk (soy, almond, and oat milk). *Food and Humanity*. 2024 May;2:100301.
36. RESOLUCIÓN Numero 1407 DE 2022.
37. Hamam M, Chinnici G, Di Vita G, Pappalardo G, Pecorino B, Maesano G, et al. Circular Economy Models in Agro-Food Systems: A Review. *Sustainability* 2021, Vol 13, Page 3453 [Internet]. 2021 Mar 20 [cited 2024 Oct 12];13(6):3453. Available from: <https://www.mdpi.com/2071-1050/13/6/3453/htm>
38. Andrés F, Perdomo R, David J, Umaña C. Impacto de la economía circular en los objetivos de desarrollo sostenible: análisis de organizaciones adheridas a Pacto Global Red Colombia de las Naciones Unidas.
39. Sethi S, Tyagi SK, Anurag RK. Plant-based milk alternatives an emerging segment of functional beverages: a review. *J Food Sci Technol* [Internet]. 2016 Sep 1 [cited 2024 Nov 4];53(9):3408. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5069255/>
40. Fioravante MB, Hiane PA, Braga Neto JA. Elaboration, sensorial acceptance and characterization of fermented flavored drink based on water-soluble extract of baru almond. *Ciência Rural*. 2017;47(9).
41. Chávez García SN, Rodríguez-Herrera R, Nery Flores S, Silva-Belmares SY, Esparza-González SC, Ascacio-Valdés JA, et al. Sprouts as probiotic carriers: A new trend to improve consumer nutrition. *Food Chemistry: Molecular Sciences* [Internet]. 2023 Dec 12 [cited 2024 May 20];7:100185. Available from: [/pmc/articles/PMC10753383/](https://pmc/articles/PMC10753383/)
42. Muncey L, Hekmat S. Development of Probiotic Almond Beverage Using *Lacticaseibacillus rhamnosus* GR-1 Fortified with Short-Chain and Long-Chain Inulin Fibre. *Fermentation*. 2021 Jun 3;7(2):90.
43. Harper AR, Dobson RCJ, Morris VK, Moggré G. Fermentation of plant-based dairy alternatives by lactic acid bacteria. *Microb Biotechnol*. 2022 May 8;15(5):1404–21.
44. Bernat N, Cháfer M, Chiralt A, González-Martínez C. Development of a non-dairy probiotic fermented product based on almond *milk* and inulin. *Food Science and Technology International*. 2015 Sep 15;21(6):440–53.

45. Mousavi Khaneghah A, Abhari K, Eş I, Soares MB, Oliveira RBA, Hosseini H, et al. Interactions between probiotics and pathogenic microorganisms in hosts and foods: A review. *Trends Food Sci Technol.* 2020 Jan;95:205–18.
46. Wu M, Dong Q, Ma Y, Yang S, Zohaib Aslam M, Liu Y, et al. Potential antimicrobial activities of probiotics and their derivatives against *Listeria monocytogenes* in food field: A review. *Food Research International.* 2022 Oct;160:111733.