

PROYECTO · GRUPO OPERATIVO DA AEI

HOP & BOT

Memoria final.

Bebidas refrescantes vegetales a base de lúpulo y especies aromáticas

GRUPO OPERATIVO: lutega · ORBALLO · GLE CEX · UNIVERSIDADE DA CORUÑA · gs fundación galicia sustentable

FINANCIAMENTO: Unión Europea · Fondo Europeo Agrícola de Desarrollo Rural · Europa invierte en las zonas rurales · AXENCIA GALEGA DA CALIDADE ALIMENTARIA · GOBIERNO DE ESPAÑA · MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACIÓN

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....1

2. METODOLOGÍA 3

2.1. Selección y caracterización de las materias primas vegetales..... 3

2.2. Obtención y optimización de extractos vegetales 3

2.3. Desarrollo de los procesos fermentativos 4

2.4. Desarrollo de las formulaciones vitamínicas..... 6

2.5. Evaluación de la estabilidad y control de las formulaciones 7

2.6. Evaluación de la vida útil y viabilidad de las formulaciones finales... 8

2.7. Divulgación y comunicación de resultados 9

3. RESULTADOS.....10

3.1. Selección y caracterización de las materias primas vegetales..... 10

3.2. Obtención y optimización de extractos vegetales 11

3.3. Desarrollo de los procesos fermentativos 13

3.4. Desarrollo de las formulaciones vitamínicas..... 21

3.5. Evaluación de la estabilidad y control de las formulaciones 23

3.6. Evaluación de la vida útil y viabilidad de las formulaciones finales. 25

3.7. Divulgación y comunicación de resultados 32

4. CONCLUSIONES 33

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....35

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Evolución del mercado de kombucha en España entre 2020 y 2022. Fuente: Elaboración propia a partir de los datos de Nielsen recogidos en Europa Press (2023). 1
Figura 2. Materias primas vegetales: conos de lúpulo (izquierda), plantas aromáticas (centro) y cultivo de té (derecha). Fuente: Lutega y Orballo..... 3
Figura 3. Muestras empleadas durante los ensayos de obtención y optimización de extractos vegetales. Fuente: Glecex. 4
Figura 4. Esquema general del procedimiento de preparación y fermentación de las bebidas vegetales. Fuente: UDC. 6
Figura 5. Mezcla de especies aromáticas y minicomprimidos vitamínicos. Fuente: Glecex. 7
Figura 6. Minicomprimidos vitamínicos. Fuente: Glecex. 7
Figura 7. Muestras de las diferentes formulaciones de bebidas empleadas en el estudio de vida útil y estabilidad. Fuente: Glecex. 8
Figura 8.Comparación del contenido polifenólico de los extractos de lúpulo nº3, lúpulo nº12 y hojas de té antes y después de la esterilización, determinado mediante Folin-Ciocalteu. Fuente: Glecex. 12
Figura 9. Comparación de la capacidad antioxidante de los extractos de lúpulo nº3, lúpulo nº12 y hojas de té antes y después de la esterilización, determinada mediante ORAC. Fuente: Glecex. 12
Figura 10. Datos de la evolución del pH (A), consumo de azúcares y producción de etanol (B), concentración de ácidos orgánicos (C) y capacidad antioxidante total (TAC), durante los ensayos preliminares de fermentación. Fuente: UDC, resultados expresados como media de tres fermentaciones independientes. 14
Figura 11. Evolución del pH en las bebidas durante la fermentación, con y sin incorporación de xilooligosacáridos. Fuente: UDC, los resultados son la media de tres experimentos. 16
Figura 12. Evolución de las absorbancias (OD600nm) durante la fermentación en las tres bebidas. Fuente: UDC, los resultados son la media de tres experimentos. 17
Figura 13. Concentraciones de glucosa, fructosa y sacarosa durante la fermentación de las tres bebidas. Fuente: UDC, los resultados son la media de tres experimentos. 18
Figura 14. Concentraciones de ácido láctico, acético, ascórbico, glucurónico y glucónico durante la fermentación. Fuente: UDC, los resultados son la media de tres experimentos. 19
Figura 15. Concentraciones de etanol durante la fermentación. Fuente: UDC, los resultados son la media de tres experimentos. 19
Figura 16. Recuento microbiano en placa (UFC/mL, Unidades Formadoras de Colonia/mL) al cabo de los tres días de fermentación, expresado como log10 UFC/mL. Fuente: UDC, los resultados son la media de tres experimentos. 20
Figura 17. Evaluación de la capacidad antioxidante (DPPH) al cabo de los tres días de fermentación. Fuente: UDC, los resultados son la media de tres experimentos. 21
Figura 18. Evaluación del pH durante el almacenamiento a 4 °C en las tres bebidas con las cuatro combinaciones experimentales. Fuente: UDC, los resultados son la media de tres experimentos. 26
Figura 19. Evaluación del etanol durante el almacenamiento a 4 °C en las tres bebidas con las cuatro combinaciones experimentales. Fuente: UDC, los resultados son la media de tres experimentos. 26

Figura 20. Evaluación de la viabilidad microbiana durante el almacenamiento a 4 °C en las tres bebidas con las cuatro combinaciones experimentales. Fuente: UDC, los resultados son la media de tres experimentos. 27
Figura 21. Evaluación de los ácidos láctico, acético, ascórbico, glucurónico y glucónico durante el almacenamiento a 4 °C en las tres bebidas con las cuatro combinaciones experimentales. Fuente: UDC, los resultados son la media de tres experimentos. 28
Figura 22. Evaluación de la capacidad antioxidante, determinada mediante DPPH, durante el almacenamiento a 4 °C en las tres bebidas con las cuatro combinaciones experimentales. Fuente: UDC, los resultados son la media de tres experimentos. 28
Figura 23. Evolución del contenido fenólico/capacidad reductora de las formulaciones GLOW, RELAX y DEFENSE durante el almacenamiento, determinada mediante Folin-Ciocalteu. Fuente: Glecex. 30
Figura 24. Evolución de la capacidad antioxidante de las formulaciones GLOW, RELAX y DEFENSE durante el almacenamiento, determinada mediante H-ORAC. Fuente: Glecex. 31
Figura 25. Vídeo resumen del Grupo Operativo Hop&Bot. Fuente: FGS. 32
Figura 26. Página web del Grupo Operativo Hop&Bot. Fuente: FGS. 33

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición vegetal y microorganismos bacterianos empleados en las formulaciones de bebidas GLOW, RELAX y DEFENSE. 14
Tabla 2. Especies vegetales seleccionadas para el desarrollo de las formulaciones GLOW, RELAX y DEFENSE. Fuente: Glecex. 15
Tabla 3. Composición vitamínica de referencia para un aporte del 50% de los VRN. Fuente: Glecex. 22
Tabla 4. Concentraciones de vitaminas detectadas en las muestras a temperatura ambiente y tras infusionado a 90 °C. Fuente: Glecex. 23
Tabla 5. Comparación de las concentraciones de vitaminas al inicio y tras tres meses de almacenamiento. Fuente: Glecex. 24
Tabla 6. Variantes de bebida fermentada según la incorporación de XOS y complejo vitamínico. 25

1. INTRODUCCIÓN

El proyecto **Hop&Bot** nace de la búsqueda de nuevas oportunidades de valorización para dos producciones vegetales con presencia e interés en el sector agroalimentario: el lúpulo y las plantas aromáticas. Aunque ambas materias primas cuentan con usos comerciales habituales, estos se concentran tradicionalmente en ámbitos muy concretos. El lúpulo se encuentra estrechamente vinculado a la elaboración de la cerveza, mientras que buena parte de las plantas aromáticas se comercializan para la preparación de infusiones, un consumo especialmente condicionado por la época del año. El desarrollo de nuevos productos alimentarios a partir de estas materias primas suponía, por tanto, una oportunidad para ampliar sus aplicaciones y generar nuevas vías de valorización para los productores.

Al mismo tiempo, cuando se puso en marcha el proyecto se observaba una evolución del mercado de las bebidas hacia productos diferentes de los refrescos convencionales. El interés por formulaciones con menor contenido en azúcar, ingredientes de origen vegetal y nuevas características funcionales había favorecido la aparición y consolidación de productos como la kombucha y otras bebidas fermentadas. Esta tendencia resultaba especialmente visible en España, donde el valor del mercado de kombucha pasó de 3,1 millones de euros en 2020 a 21,1 millones de euros en 2022, mostrando el rápido crecimiento que estaba experimentando esta categoría en los años inmediatamente anteriores al inicio de Hop&Bot. Estos cambios ofrecían un escenario favorable para investigar nuevas combinaciones de ingredientes vegetales capaces de proporcionar perfiles sensoriales diferenciados y ampliar la oferta de bebidas alternativas **[3]**.

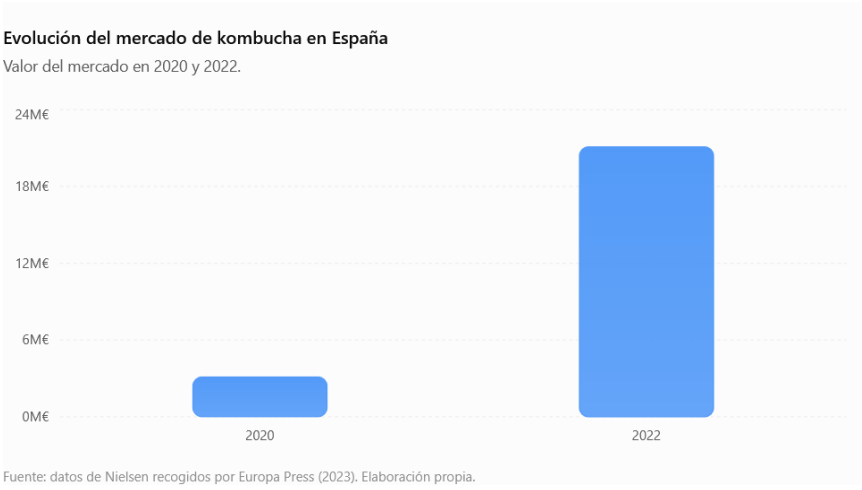


Figura 1. Evolución del mercado de kombucha en España entre 2020 y 2022.
Fuente: Elaboración propia a partir de los datos de Nielsen recogidos en Europa Press (2023).

Dentro de este contexto, el lúpulo presentaba un especial interés como ingrediente para el desarrollo de bebidas no alcohólicas. Su perfil amargo podía constituir la base de formulaciones dirigidas a un público adulto y, combinado con diferentes plantas aromáticas, permitía explorar un amplio abanico de sabores. Hop&Bot se planteó así estudiar conjuntamente estas materias primas y determinar hasta qué punto podían utilizarse para desarrollar una nueva gama de bebidas refrescantes vegetales.

La iniciativa incorporó también una dimensión de aprovechamiento de recursos. Una parte de las materias primas generadas durante la producción de lúpulo y plantas aromáticas puede quedar fuera de los canales habituales de comercialización por presentar características físicas inadecuadas, como hojas fragmentadas o determinadas flores de lúpulo. Su posible utilización como materia prima para la obtención de extractos ofrecía una alternativa para aprovechar estos materiales y aumentar el valor obtenido de las producciones agrícolas.

Desde el punto de vista científico, el proyecto partía del conocimiento generado en torno a las bebidas fermentadas. La investigación desarrollada durante los años anteriores había permitido avanzar en la comprensión de los procesos de fermentación asociados a bebidas como la kombucha y había comenzado a extender su aplicación más allá de las tradicionales infusiones de té. Existía, por tanto, una base de conocimiento que permitía plantear el estudio de nuevas matrices vegetales y evaluar cómo el proceso fermentativo podía modificar sus características. La propia memoria científico-técnica de Hop&Bot recogía como referencias dos trabajos científicos publicados en 2023 sobre las dinámicas de fermentación de la kombucha y sobre fermentaciones convencionales y alternativas para el desarrollo de nuevas bebidas **[1,2]**.

Otro ámbito de interés era el desarrollo de alimentos y bebidas enriquecidos con nutrientes que permitieran incorporar propiedades adicionales al producto. En este sentido, las vitaminas constituían una opción de interés, tanto por su utilización en la formulación de alimentos como por la existencia de un marco normativo europeo que regula las condiciones bajo las cuales pueden realizarse declaraciones de propiedades saludables **[4]**. La combinación de esta estrategia con los procesos fermentativos abría una línea de investigación adicional para estudiar su compatibilidad y su aplicación en las formulaciones desarrolladas.

A partir de estas oportunidades, Hop&Bot abordó el desarrollo de las nuevas bebidas desde una perspectiva integral: seleccionar combinaciones adecuadas de lúpulo y especies aromáticas, estudiar diferentes alternativas para incrementar su valor añadido y comprobar posteriormente su viabilidad como productos susceptibles de avanzar hacia una futura comercialización.

El **objetivo general** del proyecto fue desarrollar bebidas refrescantes vegetales a base de lúpulo y con la incorporación de diferentes especies aromáticas. A partir de este objetivo general se establecieron los siguientes objetivos específicos:

- Preparar mezclas de lúpulo con otras especies aromáticas para evaluar sus posibilidades organolépticas.
- Evaluar la incorporación de vitaminas a las formulaciones con el fin de desarrollar bebidas funcionales que pudieran cumplir los requisitos establecidos por la normativa europea.
- Desarrollar fermentados a partir de las mezclas seleccionadas y estudiar el posible efecto derivado de la combinación del proceso fermentativo y los componentes presentes en las bebidas.
- Analizar la viabilidad de los productos desarrollados, incluyendo su vida útil y las posibilidades de preparación de concentrados o extractos orientados a su futura comercialización.
- Divulgar los resultados obtenidos durante el proyecto.

2. METODOLOGÍA

El desarrollo experimental de **Hop&Bot** se abordó de forma progresiva, comenzando con la selección y caracterización de las materias primas vegetales y continuando con la obtención y optimización de extractos destinados al posterior desarrollo de bebidas. Para ello se combinaron técnicas de caracterización química y antioxidante, herramientas de diseño experimental y procedimientos de preparación y control de los extractos vegetales.

2.1. Selección y caracterización de las materias primas vegetales

Las materias primas utilizadas en el proyecto procedieron principalmente de los cultivos y materiales vegetales aportados por Lutega y Orballo. Además de las materias primas destinadas habitualmente a comercialización, se contempló el aprovechamiento de determinadas fracciones vegetales que, debido a roturas, trituración u otras características físicas, presentaban menor aptitud para su comercialización directa, pero podían resultar adecuadas para la obtención de extractos.

En el caso del lúpulo, Lutega llevó a cabo trabajos de selección y cultivo de diferentes variedades de *Humulus lupulus*, incluyendo ensayos en una finca de cultivo convencional situada en Abegondo y otra de cultivo ecológico en Paderne. Las materias primas seleccionadas fueron posteriormente suministradas para su caracterización y utilización en las siguientes etapas experimentales del proyecto.



Figura 2. Materias primas vegetales: conos de lúpulo (izquierda), plantas aromáticas (centro) y cultivo de té (derecha).
Fuente: Lutega y Orballo

Como etapa inicial de caracterización, Glecex determinó el **contenido total de polifenoles mediante el ensayo de Folin-Ciocalteu**. Asimismo, se evaluó la capacidad antioxidante de las fracciones hidrofílica y lipofílica mediante el **método ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)**, basado en la determinación de la capacidad de captación de radicales peroxilo. Los resultados de estas determinaciones se utilizaron como criterio para seleccionar las materias primas que continuarían en las posteriores etapas de extracción y fermentación.

2.2. Obtención y optimización de extractos vegetales

Para la obtención de los extractos se trabajó en la optimización de procesos extractivos a partir de las materias primas vegetales previamente seleccionadas, incluyendo el aprovechamiento de fracciones procedentes de restos de producción.

La optimización del proceso se realizó mediante un **diseño experimental factorial 3^2**, en el que se estudiaron dos variables independientes de operación a tres niveles cada una. Este diseño permitió analizar la influencia de las condiciones de extracción sobre dos parámetros de

interés: el contenido total de compuestos polifenólicos y la capacidad antioxidante de los extractos.

Los datos experimentales obtenidos fueron tratados mediante **metodología de superficie de respuesta**, utilizando el software **Statgraphics Centurion**, con el objetivo de determinar las condiciones de operación más adecuadas para el proceso extractivo. Entre los parámetros considerados para establecer las condiciones de extracción se incluyeron la **temperatura, el tiempo y la relación sólido:líquido**.



Figura 3. Muestras empleadas durante los ensayos de obtención y optimización de extractos vegetales.
Fuente: Glecex.

Una vez establecidas las condiciones de trabajo, se prepararon lotes de los extractos vegetales y se sometieron a un **proceso de esterilización** previo a su utilización en los posteriores ensayos de fermentación. Adicionalmente, y con el apoyo del Servicio de Apoyo a la Investigación (SAI) de la Universidade da Coruña, se analizó el **contenido de metales pesados** de las muestras vegetales destinadas a la preparación de los extractos, como medida de control para comprobar su adecuación a los límites establecidos por la legislación aplicable.

2.3. Desarrollo de los procesos fermentativos

A partir de las materias primas y extractos seleccionados en las etapas anteriores, la Universidade da Coruña (UDC) llevó a cabo los **estudios de fermentación** orientados al desarrollo de las bebidas vegetales de Hop&Bot. Para ello, se trabajó con combinaciones de levaduras y bacterias, seleccionadas en función de sus características metabólicas y de su adecuación a las diferentes matrices vegetales.

Durante la primera anualidad, la UDC realizó ensayos preliminares utilizando la bacteria *Lactiplantibacillus plantarum* y la levadura *Saccharomyces boulardii*, microorganismos con los que el equipo investigador contaba con experiencia previa. Las fermentaciones se efectuaron en presencia de lúpulo, empleando matraces Erlenmeyer de 200 mL, a una temperatura de 30 °C durante un periodo de 7 días, con recogida periódica de muestras para estudiar la evolución del proceso.

El seguimiento de estos primeros ensayos incluyó la **determinación del pH, consumo de azúcares, producción de etanol, concentración de ácidos orgánicos y capacidad antioxidante total (TAC)**. Los azúcares y el etanol se analizaron mediante cromatografía liquida de alta eficacia (HPLC), utilizando una columna Sugar-Pak de Waters y un detector de índice de refracción. El pH se midió mediante un pH-metro Crison, mientras que los principales ácidos grasos orgánicos se determinaron utilizando kits comerciales de Megazyme.

Posteriormente, durante la segunda anualidad, se desarrollaron los procesos fermentativos de las tres formulaciones vegetales seleccionadas. Para todas ellas se estableció una matriz común compuesta por 0,3 % (p/v) de mezcla de plantas aromáticas, 0,05 % (p/v) de lúpulo, 0,2 % (p/v) de sacarosa y 0,5 % (p/v) de glucosa.

Las mezclas vegetales se prepararon mediante infusión en agua a una temperatura de 80-90 °C, seguida de filtración y adición de los azúcares. Posteriormente, las preparaciones se distribuyeron entre los diferentes tratamientos experimentales antes de proceder a su inoculación y fermentación.

Para cada una de las tres bebidas se utilizó la levadura *Saccharomyces boulardii* combinada con una especie bacteriana diferente:

- **GLOW**: *Lactobacillus rhamnosus,* con una mezcla vegetal de cola de caballo, hierbabuena y naranja.
- **RELAX**: *Lactobacillus helveticus,* con hibisco, lavanda, malva e hinojo.
- **DEFENSE**: *Gluconobacter oxydans,* con eucalipto, tomillo, menta y malva.

La selección de estas combinaciones respondió a las características de las materias primas y a los objetivos de desarrollo establecidos para cada formulación.

Los microorganismos se prepararon previamente en medios de cultivo específicos. *Saccharomyces boulardii* se cultivó en medio YPD; los lactobacilos se cultivaron inicialmente en LB y, en determinados ensayos posteriores, se emplearon medios MRS/LB; mientras que *Gluconobacter oxydans* se cultivó en medio 4009. El volumen de inóculo se calculó para alcanzar una densidad óptica teórica a 600 nm (OD600) de 0,5 por microorganismo. La utilización de cultivos mixtos de bacterias lácticas y levaduras en bebidas fermentadas ha sido estudiada previamente, observándose que las interacciones entre microorganismos pueden influir en su viabilidad y en la producción de metabolitos durante la fermentación **[5,6]**.

Adicionalmente, se estudió la incorporación de **xilooligosacáridos (XOS)** como ingredientes prebióticos, a una concentración de 20 g/L, con el objetivo de evaluar su influencia sobre las características de las bebidas fermentadas. Para ello se prepararon dos tipos de formulaciones por cada bebida: una sin incorporación de XOS, identificada como **P**, y otra suplementada con XOS, identificada como **PP**. Esta distribución permitió comparar el comportamiento de seis formulaciones fermentadas. El interés por la incorporación de XOS se fundamentó en estudios previos sobre su potencial prebiótico y su capacidad para favorecer el crecimiento de determinados grupos bacterianos en condiciones específicas **[7,8]**.

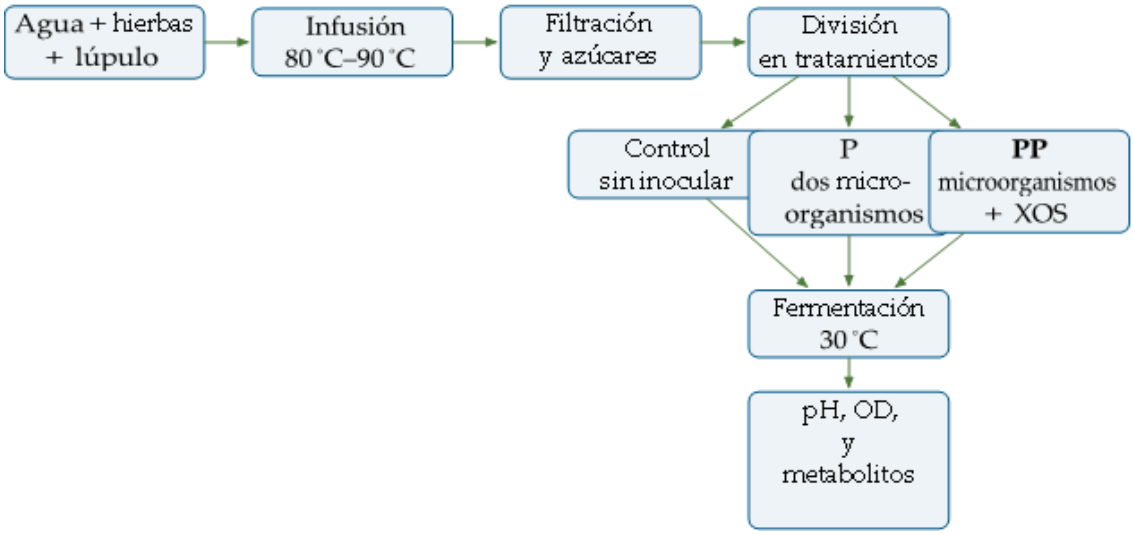


Figura 4. Esquema general del procedimiento de preparación y fermentación de las bebidas vegetales.
Fuente: UDC.

Las fermentaciones se realizaron generalmente a 30 °C, con agitación entre 150 y 200 rpm, durante periodos de hasta 7 días, efectuando muestreos periódicos para controlar la evolución de los distintos tratamientos.

Durante el seguimiento se analizaron el **crecimiento bacteriano, pH, capacidad antioxidante mediante el método DPPH adaptado a microplaca, contenido de etanol y concentración de azúcares (glucosa, fructosa y sacarosa).** Asimismo, se determinaron compuestos presentes en las bebidas, incluyendo los ácidos glucurónico, glucónico, láctico, acético y ascórbico. La determinación de la capacidad captadora de radicales libres mediante DPPH se apoyó en procedimientos analíticos descritos en la bibliografía **[9]**.

2.4. Desarrollo de las formulaciones vitamínicas

De forma paralela al desarrollo de los procesos fermentativos, Glecex trabajó en el **diseño de formulaciones vitamínicas** destinadas a su posterior incorporación a las bebidas desarrolladas en el proyecto. Como fase previa, se realizó una búsqueda y revisión de información científico-técnica en bases de datos y en monografías de la Agencia Europea de Medicamentos (EMA), que sirvió de apoyo para la selección y evaluación de los ingredientes considerados durante el desarrollo de las formulaciones.

Para la incorporación de las vitaminas se optó por desarrollar **minicomprimidos solubles en agua**, en lugar de añadir directamente las vitaminas en polvo o mediante una premezcla líquida. Las formulaciones se prepararon utilizando **vitamina C y vitaminas del grupo B**, y los minicomprimidos se elaboraron mediante compresión directa. Durante su desarrollo se evaluaron diferentes excipientes destinados a facilitar la compresión, disgregación, estabilidad y solubilidad de las formulaciones.



Figura 5. Mezcla de especies aromáticas y minicomprimidos vitamínicos.
Fuente: Glecex.

Glecex llevó a cabo **ensayos de formulación, solubilidad y compatibilidad** entre los diferentes componentes, modificando las proporciones y los excipientes empleados para favorecer una correcta compresión y disgregación y conseguir la adecuada solubilización de los componentes en agua. Durante estos ensayos también se tuvo en cuenta la posible influencia de los ingredientes incorporados sobre las características sensoriales de las bebidas, evaluando especialmente la aparición de color, sabor o residuos tras la disolución.

Las concentraciones de vitaminas se ajustaron teniendo en cuenta los Valores de Referencia de Nutrientes (VRN) establecidos en el Reglamento (UE) nº 1169/2011 y considerando como condición de uso la incorporación de dos minicomprimidos por cada 250 mL de bebida.

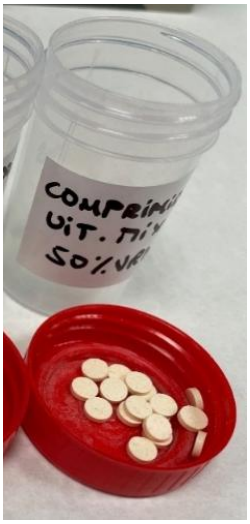


Figura 6. Minicomprimidos vitamínicos.
Fuente: Glecex.

2.5. Evaluación de la estabilidad y control de las formulaciones

Una vez desarrolladas las formulaciones vitamínicas, Glecex llevó a cabo su estudio de estabilidad mediante el seguimiento de los minicomprimidos durante el periodo establecido para los ensayos. Para ello se realizaron **controles en los tiempos 0 y 3 meses**, combinando diferentes técnicas analíticas y de evaluación de las muestras.

El contenido de vitaminas se controló mediante **cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC)**. Este análisis se complementó con **controles organolépticos, fisicoquímicos y microbiológicos**, destinados a evaluar la evolución de las formulaciones durante su almacenamiento y su adecuación para la posterior incorporación a las bebidas. Para determinadas actuaciones relacionadas con la determinación de la estabilidad de las vitaminas y el análisis microbiológico se recurrió a servicios técnicos externos.

Asimismo, se realizaron **pruebas de disolución en condiciones simuladas de uso**, considerando la incorporación de los minicomprimidos a la matriz liquida y evaluando su comportamiento durante la disolución. Estas pruebas se complementaron con una evaluación sensorial de las muestras reconstituidas, en la que participaron Lutega y Orballo, atendiendo a parámetros como el aspecto visual, la posible aparición de turbidez o precipitados y la influencia de la formulación vitamínica sobre las características organolépticas de la bebida.

2.6. Evaluación de la vida útil y viabilidad de las formulaciones finales

En la fase final del proyecto se llevó a cabo **el estudio de la vida útil y estabilidad de las bebidas desarrolladas**, con el objetivo de evaluar la evolución de sus propiedades durante el almacenamiento. Para ello, la Universidade da Coruña (UDC) preparó las bebidas fermentadas y remitió a Glecex alícuotas de las diferentes formulaciones para complementar su seguimiento analítico.

El estudio incluyó las tres bebidas desarrolladas en el proyecto, identificadas como **DEFENSE (A), GLOW (C) y RELAX (K)**. Para cada una de ellas se analizaron formulaciones con los microorganismos incorporados durante el proceso fermentativo (**P**) y formulaciones que incorporaban adicionalmente xilooligosacáridos (**PP**), utilizados como ingredientes prebióticos a una concentración de 20 g/L. A su vez, se estudiaron variantes con (**+**) y sin (**-**) la incorporación del complejo vitamínico desarrollado por Glecex, obteniéndose cuatro variantes para cada bebida: **P+, P-, PP+ y PP-**. En conjunto, se evaluaron **12 formulaciones experimentales**.

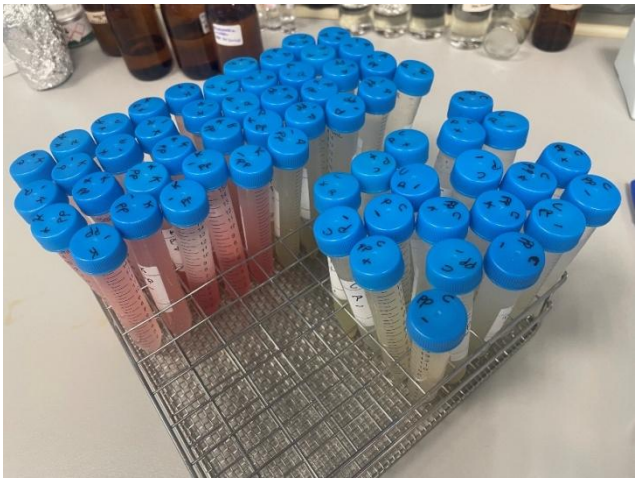


Figura 7. Muestras de las diferentes formulaciones de bebidas empleadas en el estudio de vida útil y estabilidad.
Fuente: Glecex.

<u>Seguimiento analítico realizado por Glecex.</u>

Glecex realizó el seguimiento de las diferentes formulaciones durante un periodo de 139 días, estableciendo controles a los 0, 41, 70, 104 y 139 días. En cada uno de estos puntos se

determinó el **contenido fenólico y la capacidad reductora mediante el método de Folin-Ciocalteu**, así como la **capacidad antioxidante mediante el método H-ORAC**, con el fin de estudiar la evolución de estas propiedades a lo largo del periodo de almacenamiento.

Estudio de estabilidad realizado por la Universidade da Coruña.

De forma complementaria, la UDC llevó a cabo un estudio de estabilidad de las 12 formulaciones durante seis meses de almacenamiento en refrigeración a 4 °C, tras una fermentación inicial de tres días.

Para evaluar la evolución de las bebidas, se establecieron controles al finalizar la fermentación (tiempo 0) y posteriormente a los 15 y 30 días, 2 meses, 4 meses y 6 meses de conservación. Este seguimiento permitió analizar el comportamiento de las formulaciones en condiciones de almacenamiento refrigerado.

Durante el estudio se realizaron las siguientes determinaciones:

- **pH y contenido en etanol**, para controlar la evolución de la acidez y la posible actividad fermentativa durante el almacenamiento.
- **Viabilidad microbiana**, mediante el seguimiento de los microorganismos presentes en las formulaciones a lo largo del periodo de conservación.
- **Concentración de ácidos orgánicos**, incluyendo los ácidos láctico, acético, ascórbico, glucurónico y glucónico, para evaluar la estabilidad de los compuestos presentes en las bebidas.
- **Capacidad antioxidante mediante el método DPPH**, para estudiar la evolución de la actividad captadora de radicales libres durante el almacenamiento.

Estas determinaciones se efectuaron sobre las diferentes combinaciones experimentales, permitiendo comparar el comportamiento de las bebidas en función de su composición vegetal y de la presencia o ausencia de xilooligosacáridos y vitaminas.

2.7. Divulgación y comunicación de resultados

La Fundación Galicia Sustentable (FGS) fue la entidad responsable de coordinar y desarrollar las actividades de divulgación y comunicación del proyecto Hop&Bot, con el objetivo de dar visibilidad a las actuaciones realizadas, facilitar la comprensión de los avances técnicos y favorecer la transferencia de los conocimientos generados al sector agroalimentario y a la sociedad.

La metodología de trabajo se estructuró de forma progresiva a lo largo de las tres anualidades, adaptándose al calendario de ejecución del proyecto y a los ciclos productivos del lúpulo y de las especies aromáticas. Esta planificación resultó especialmente relevante debido al carácter estacional de los cultivos, que condicionaba los momentos adecuados para documentar las actividades de campo y obtener material gráfico y audiovisual representativo.

Durante la primera anualidad (2024), las actuaciones se centraron en el seguimiento de los trabajos desarrollados por las entidades participantes y en la identificación de los procesos con mayor interés divulgativo. Para ello, se realizaron visitas a las plantaciones y a las instalaciones de los socios, documentando fotográficamente las actividades y analizando las condiciones de los diferentes espacios para la realización de futuras grabaciones. Paralelamente, se mantuvo

una coordinación con los equipos técnicos para identificar los contenidos más relevantes y garantizar que su posterior comunicación mantuviese el rigor científico y técnico del proyecto.

En la segunda anualidad (2025), el trabajo se orientó hacia la planificación de la estrategia de comunicación y la producción de contenidos divulgativos. Se analizaron diferentes formatos, soportes y canales de difusión, considerando tanto medios digitales como materiales físicos, con el propósito de adaptar los mensajes a los distintos públicos destinatarios. Asimismo, se desarrollaron guiones para entrevistas y contenidos audiovisuales, se realizaron jornadas de filmación y se llevaron a cabo pruebas de diseño, impresión y montaje para validar los recursos gráficos y narrativos. Estas actuaciones permitieron establecer una línea de comunicación coherente, basada en imágenes reales de los trabajos de campo y laboratorio y en un lenguaje accesible para públicos no especializados.

Finalmente, durante la tercera anualidad (2026), las actividades se centraron en completar la documentación audiovisual y elaborar los materiales definidos de divulgación. A partir de los registros obtenidos durante el proyecto, se desarrollaron tareas de selección y edición de imágenes, montaje audiovisual, tratamiento de sonido, rotulación, subtitulado y adaptación de los contenidos a los diferentes canales de comunicación. De forma complementaria, se elaboraron materiales gráficos y publicaciones divulgativas destinados a explicar los objetivos, las actividades y los principales resultados del grupo operativo.

Todas estas actuaciones se desarrollaron mediante la colaboración entre FGS y las restantes entidades participantes, procurando que los contenidos reflejasen adecuadamente las distintas fases del proyecto, desde la producción de materias primas vegetales hasta los trabajos de investigación y desarrollo de productos. De este modo, se estableció una metodología de comunicación orientada a transformar la información técnica generada durante la ejecución en contenidos divulgativos comprensibles y accesibles.

3. RESULTADOS

Los resultados obtenidos durante el desarrollo del proyecto Hop&Bot reflejan el trabajo conjunto de las entidades participantes a lo largo de las tres anualidades del proyecto. A través de las diferentes actividades experimentales se avanzó desde la selección y caracterización de las materias primas vegetales hasta el desarrollo de las formulaciones de bebidas, la incorporación de componentes vitamínicos y la evaluación de su estabilidad y vida útil.

A continuación, se presentan los principales resultados obtenidos en cada una de las fases del proyecto, siguiendo el mismo orden establecido en el apartado de “Metodología” e incorporando los datos experimentales, tablas, gráficas y fotografías que permiten documentar e interpretar el trabajo realizado.

3.1. Selección y caracterización de las materias primas vegetales

Durante la primera fase del proyecto se seleccionaron y caracterizaron materias primas vegetales aportadas por Lutega y Orballo para identificar las más adecuadas para el desarrollo de bebidas y la obtención de extractos.

En el caso del lúpulo, Lutega trabajó con variedades de diferentes perfiles aromáticos y niveles de amargor, prestando especial atención a aquellas de bajo contenido en compuestos amargos

y a las variedades **Teamarker y Hersbrucker**, por su interés para el desarrollo de bebidas alternativas. Paralelamente, se estudiaron distintas fracciones de lúpulo y mezclas de especies aromáticas aportadas por los productores.

La caracterización realizada por Glecex mostró diferencias relevantes en el contenido de compuestos polifenólicos de las materias primas analizadas. Las hojas de té presentaron un contenido polifenólico del 25,4 %, mientras que en las muestras de lúpulo se observaron valores variables según la fracción vegetal: aproximadamente un 0,3 % en hojas, un 1,2 % en semillas, un 1,3 % en muestras de trepa y entre un 4,2 % y un 7,5 % en las flores. Asimismo, se observaron diferencias asociadas al formato de presentación de las muestras, con valores inferiores en las muestras de flor respecto a las de pellet.

El análisis de la capacidad antioxidante mediante ORAC permitió identificar diferencias tanto entre las muestras analizadas como entre sus fracciones hidrofílica y lipofílica. De las 14 muestras de lúpulo en formato pellet, la nº12 presentó la mayor capacidad antioxidante total, con un 52 % correspondiente a la fracción hidrofílica y un 48 % a la lipofílica. La muestra nº3 destacó por presentar la mayor capacidad antioxidante de la fracción hidrofílica, que representó aproximadamente el 70 % del total, mientras que en la muestra nº1 predominó la fracción lipofílica, responsable del 61 % de la capacidad antioxidante total.

En conjunto, **estos resultados permitieron identificar las materias primas y fracciones vegetales con mayor interés para los ensayos de extracción y fermentación**, considerando su contenido polifenólico y capacidad antioxidante.

3.2. Obtención y optimización de extractos vegetales

Los trabajos desarrollados por Glecex permitieron establecer condiciones de extracción para las materias primas seleccionadas, incluyendo fracciones procedentes de restos de producción de Lutega y Orballo. Mediante metodología de superficie de respuesta se identificaron las condiciones más favorables para maximizar el contenido polifenólico y la capacidad antioxidante.

Los extractos obtenidos se sometieron a esterilización antes de su utilización en los ensayos de fermentación, evaluando su estabilidad frente al tratamiento térmico.

Los resultados mostraron que el **contenido polifenólico se mantuvo en buena medida tras la esterilización**, con reducciones inferiores al 10 % en las muestras estudiadas, según las determinaciones mediante Folin-Ciocalteu.

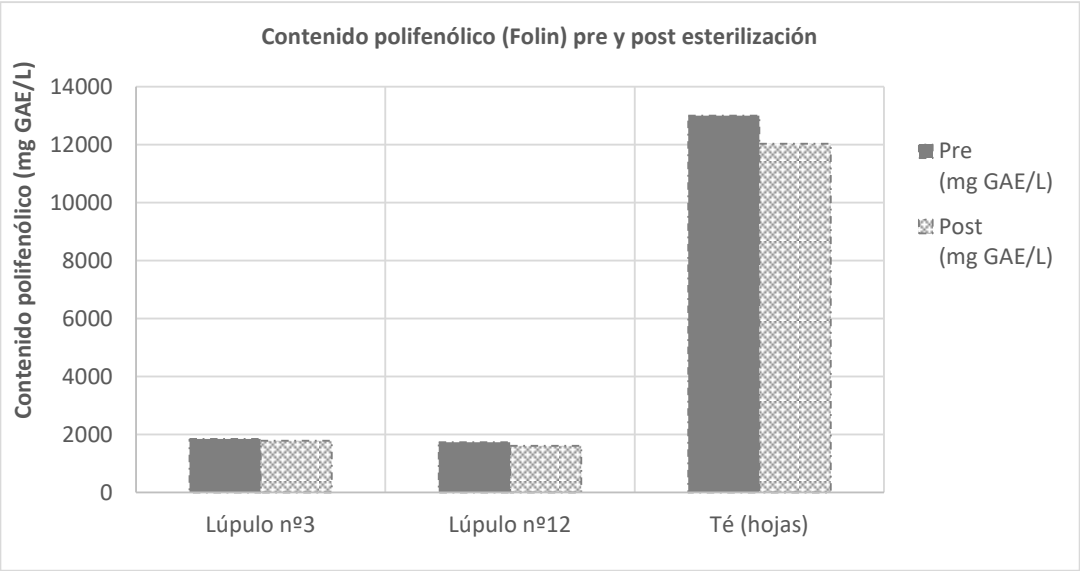


Figura 8.Comparación del contenido polifenólico de los extractos de lúpulo nº3, lúpulo nº12 y hojas de té antes y después de la esterilización, determinado mediante Folin-Ciocalteu.
Fuente: Glecex.

En cuanto a la capacidad antioxidante, los **resultados obtenidos mediante ORAC mostraron diferencias entre las materias primas**. El extracto de té mantuvo valores prácticamente estables, mientras que uno de los extractos de lúpulo presentó un ligero incremento y el otro una disminución moderada tras la esterilización.

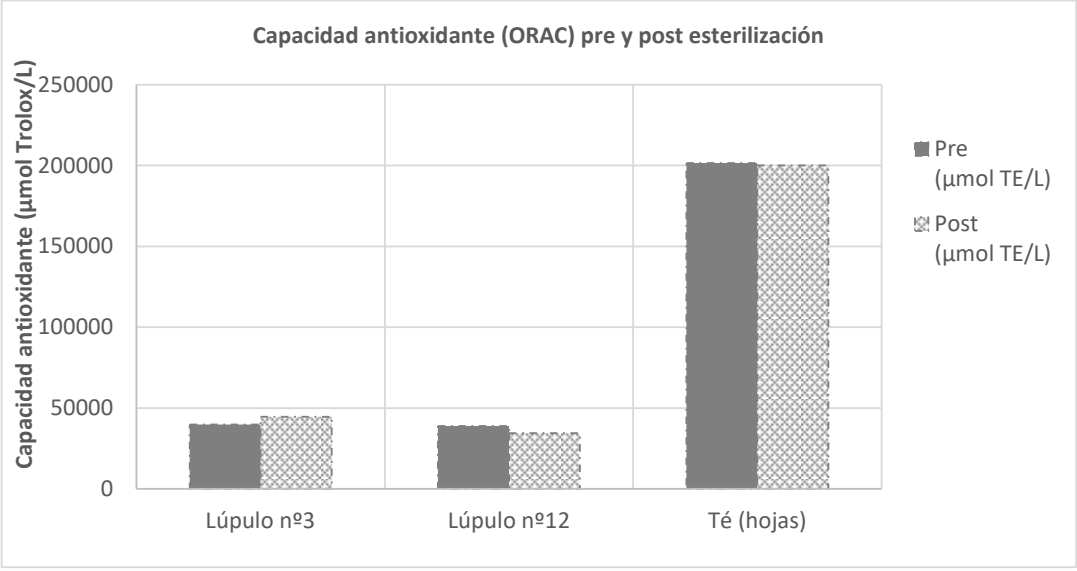


Figura 9. Comparación de la capacidad antioxidante de los extractos de lúpulo nº3, lúpulo nº12 y hojas de té antes y después de la esterilización, determinada mediante ORAC.
Fuente: Glecex.

En conjunto, estos resultados mostraron una **adecuada estabilidad de los extractos frente al tratamiento térmico**, permitiendo su utilización en el desarrollo posterior de las bebidas fermentadas.

También se realizaron controles del contenido en metales pesados de las materias primas vegetales, con el apoyo del Servicio de Apoyo a la Investigación (SAI) de la Universidade da Coruña.

Finalmente, la evaluación organoléptica realizada por las entidades participantes permitió seleccionar **tres formulaciones de mezclas vegetales de lúpulo y especies aromáticas** para continuar con el desarrollo de las bebidas.

3.3. Desarrollo de los procesos fermentativos

Los estudios de fermentación realizados por la Universidade da Coruña (UDC) permitieron caracterizar el comportamiento de diferentes combinaciones de microorganismos y establecer las bases para el desarrollo de tres bebidas fermentadas a partir de lúpulo y especies aromáticas. Los trabajos desarrollados durante 2024 y 2025 proporcionaron información sobre la evolución del proceso fermentativo, el consumo de azúcares, la formación de metabolitos, el crecimiento microbiano y la capacidad antioxidante de las formulaciones.

Ensayos preliminares de fermentación (2024)

Durante la primera anualidad se evaluó la fermentación conjunta de *Lactiplantibacillus plantarum* y *Saccharomyces boulardii* en presencia de lúpulo. Los resultados mostraron una actividad fermentativa especialmente intensa durante las primeras 48 horas, con un d**escenso del pH de 7,71 a 3,58** y un consumo prácticamente completo de sacarosa y glucosa. Paralelamente, se observó la **formación de ácidos orgánicos**, alcanzándose concentraciones de **0,177 g/L de ácido glucónico y 0,254 g/L de ácido acético**.

Al finalizar el ensayo, el **pH se situó en 3,65**, un valor próximo al descrito en otros estudios de bebidas vegetales fermentadas. La producción de etanol fue reducida, con un máximo del 0,30 % (v/v) durante el primer día y concentraciones prácticamente nulas posteriormente.

La **capacidad antioxidante total** también experimentó modificaciones durante la fermentación, **aumentando de 2.104 a 3.652 µM durante el primer día**. Este comportamiento sugiere que la actividad metabólica de los microorganismos pudo modificar la disponibilidad o composición de los compuestos responsables de la actividad antioxidante, aunque los ensayos realizados no permiten identificar individualmente los mecanismos implicados.

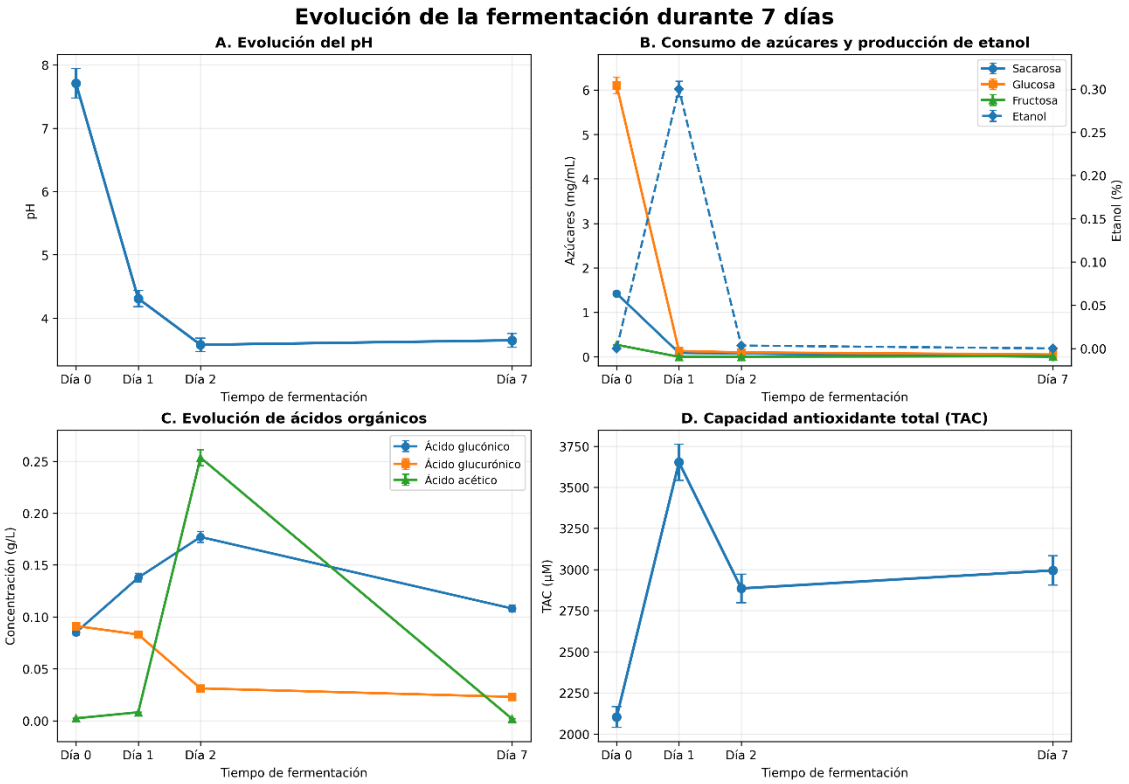


Figura 10. Datos de la evolución del pH (A), consumo de azúcares y producción de etanol (B), concentración de ácidos orgánicos (C) y capacidad antioxidante total (TAC), durante los ensayos preliminares de fermentación.
Fuente: UDC, resultados expresados como media de tres fermentaciones independientes.

A partir de los resultados preliminares y de la evaluación de las materias primas realizada por las entidades participantes, se avanzó en el desarrollo de **tres formulaciones diferenciadas,** denominadas **GLOW, RELAX y DEFENSE**. Cada una incorporó una combinación específica de plantas aromáticas y una asociación de levadura y bacteria seleccionada para su fermentación.

Tabla 1. Composición vegetal y microorganismos bacterianos empleados en las formulaciones de bebidas GLOW, RELAX y DEFENSE.

Bebida	Composición vegetal	Microorganismo bacteriano
GLOW	Cola de caballo, hierbabuena y naranja	*Lactobacillus rhamnosus*
RELAX	Hibisco, lavanda, malva e hinojo	*Lactobacillus helveticus*
DEFENSE	Eucalipto, tomillo, menta y malva	*Gluconobacter oxydans*

En las tres formulaciones se utilizó también la levadura *Saccharomyces boulardii.* Estas combinaciones permitieron obtener tres matrices vegetales fermentadas con características diferenciadas. Además, se compararon formulaciones sin xilooligosacáridos (P) y formulaciones enriquecidas con estos ingredientes (PP), para estudiar su posible influencia sobre el comportamiento de las bebidas.

Tabla 2. Especies vegetales seleccionadas para el desarrollo de las formulaciones GLOW, RELAX y DEFENSE.
Fuente: Glecex.

"RELAX"



Plantas con uso medicinal tradicional (HMPC/EMA).

- **Lavanda** (*Lavandula angustifolia*)
  Alivio de la ansiedad leve y para favorecer el sueño.

Plantas con funcionalidad (evidencia en literatura científica).

- No aplica

Plantas de apoyo sensorial.

- **Hibisco, hinojo, malva.**

"DEFENSE"



Plantas con uso medicinal tradicional (HMPC/EMA).

- **Eucalipto** (*Eucalyptus globulus*)
  Alivio de los síntomas de infecciones respiratorias leves, como congestión nasal y tos. Posee propiedades expectorantes y antisépticas.
- **Tomillo** (*Thymus vulgaris*)
  Alivio sintomático de la tos y la bronquitis. Posee propiedades antisépticas y expectorantes.
- **Malva** (*Malva sylvestris*)
  Alivio de irritaciones leves de la mucosa oral y de la garganta, con propiedades emolientes y demulcentes, calmantes para las mucosas.

Plantas con funcionalidad (evidencia en literatura científica).

- No aplica

Plantas de apoyo sensorial.

- **Menta**

"GLOW"



Plantas con uso medicinal tradicional (HMPC-EMA).

- No aplica

Plantas con funcionalidad (literatura científica).

- **Cola de caballo** (*Equisetum arvense*)
  Con respaldo científico que avala sus propiedades remineralizantes y la mejora de la elasticidad y fortalecimiento de tejidos queratínicos.

Plantas de apoyo sensorial.

- **Naranja, hierbabuena.**

Evolución del pH durante la fermentación.

Los resultados mostraron diferencias en la acidificación de las tres bebidas, asociadas tanto a la composición inicial de las matrices vegetales como a los microorganismos utilizados.

La formulación **GLOW (Bebida 1)** presentó una acidificación intensa durante el primer día, compatible con la actividad de las bacterias lácticas. En **RELAX (Bebida 2)**, el pH inicial fue próximo a 3, debido a la presencia de hibisco, una materia prima que aporta ácidos orgánicos de forma natural. Durante la fermentación, el pH descendió hasta valores comprendidos entre 2,57 y 2,65, dando lugar a la formulación de mayor acidez entre las estudiadas.

Por su parte, **DEFENSE (Bebida 3)** alcanzó valores finales de pH situados entre 3,09 y 3,31, compatibles con la actividad oxidativa de *Gluconobacter oxydans* y la formación de ácidos orgánicos. En las tres bebidas, las diferencias observadas entre las formulaciones P y PP fueron reducidas, por lo que no pudo establecerse un efecto claro de los XOS sobre la evolución del pH.

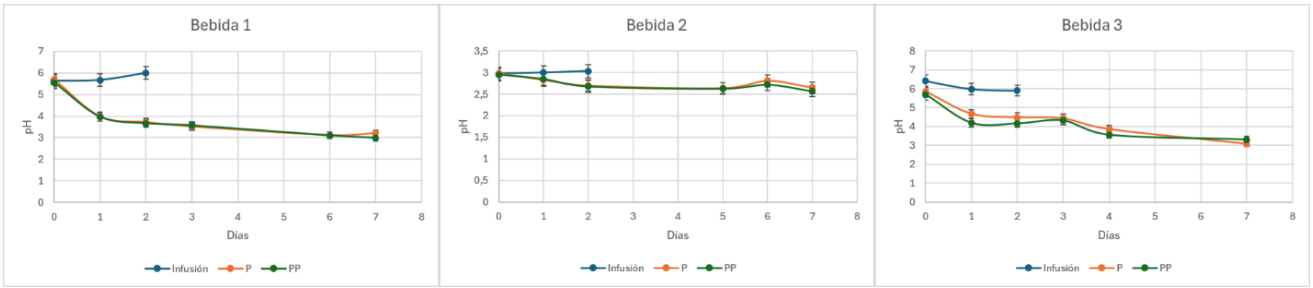


Figura 11. Evolución del pH en las bebidas durante la fermentación, con y sin incorporación de xilooligosacáridos.
Fuente: UDC, los resultados son la media de tres experimentos.

Crecimiento microbiano durante la fermentación.

El seguimiento de la biomasa mediante absorbancia a 600 nm (OD600) mostró un **crecimiento rápido de los microorganismos** en todas las formulaciones, seguido de una fase

aproximadamente estacionaria. Este comportamiento confirmó la actividad de los cultivos seleccionados en las diferentes matrices vegetales.

La comparación entre las formulaciones P y PP no mostró un incremento claro de la biomasa asociado a la incorporación de XOS. Por tanto, en las condiciones ensayadas, la presencia de este ingrediente no produjo diferencias relevantes en el crecimiento global estimado mediante absorbancia.

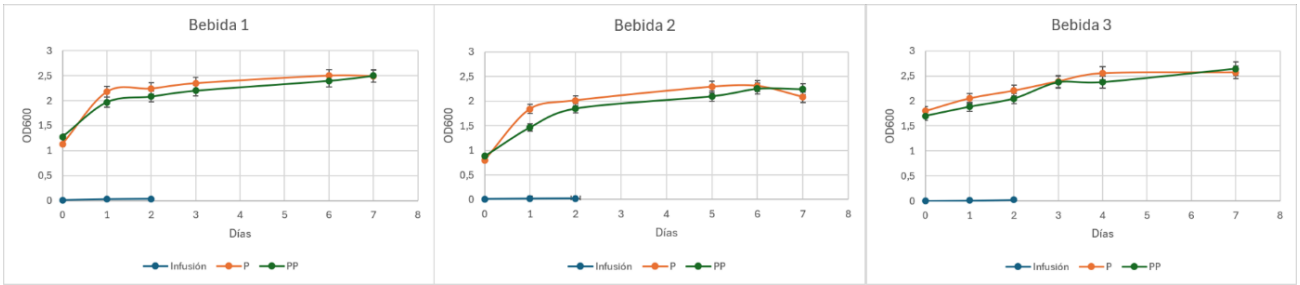


Figura 12. Evolución de las absorbancias (OD600nm) durante la fermentación en las tres bebidas.
Fuente: UDC, los resultados son la media de tres experimentos.

Consumo de azúcares fermentables.

El análisis de glucosa, fructosa y sacarosa permitió observar diferentes patrones de consumo de carbohidratos según la formulación.

En **GLOW**, se registró un aumento transitorio de glucosa y fructosa durante los dos primeros días, compatible con la hidrólisis de sacarosa y la liberación de azúcares presentes en la matriz vegetal. Posteriormente, sus concentraciones disminuyeron durante el tercer día.

En **RELAX**, el descenso de glucosa y fructosa fue especialmente marcado a partir del segundo día, alcanzándose valores próximos al límite de cuantificación entre los días 5 y 7. Este comportamiento fue coherente con la actividad fermentativa de *Lactobacillus helveticus* y *Saccharomyces boulardii*.

Por su parte, **DEFENSE** presentó una disminución rápida de los azúcares desde el primer día, relacionada con la elevada capacidad oxidativa de *Gluconobacter oxydans*, que utiliza la glucosa como sustrato para la formación de ácidos orgánicos.

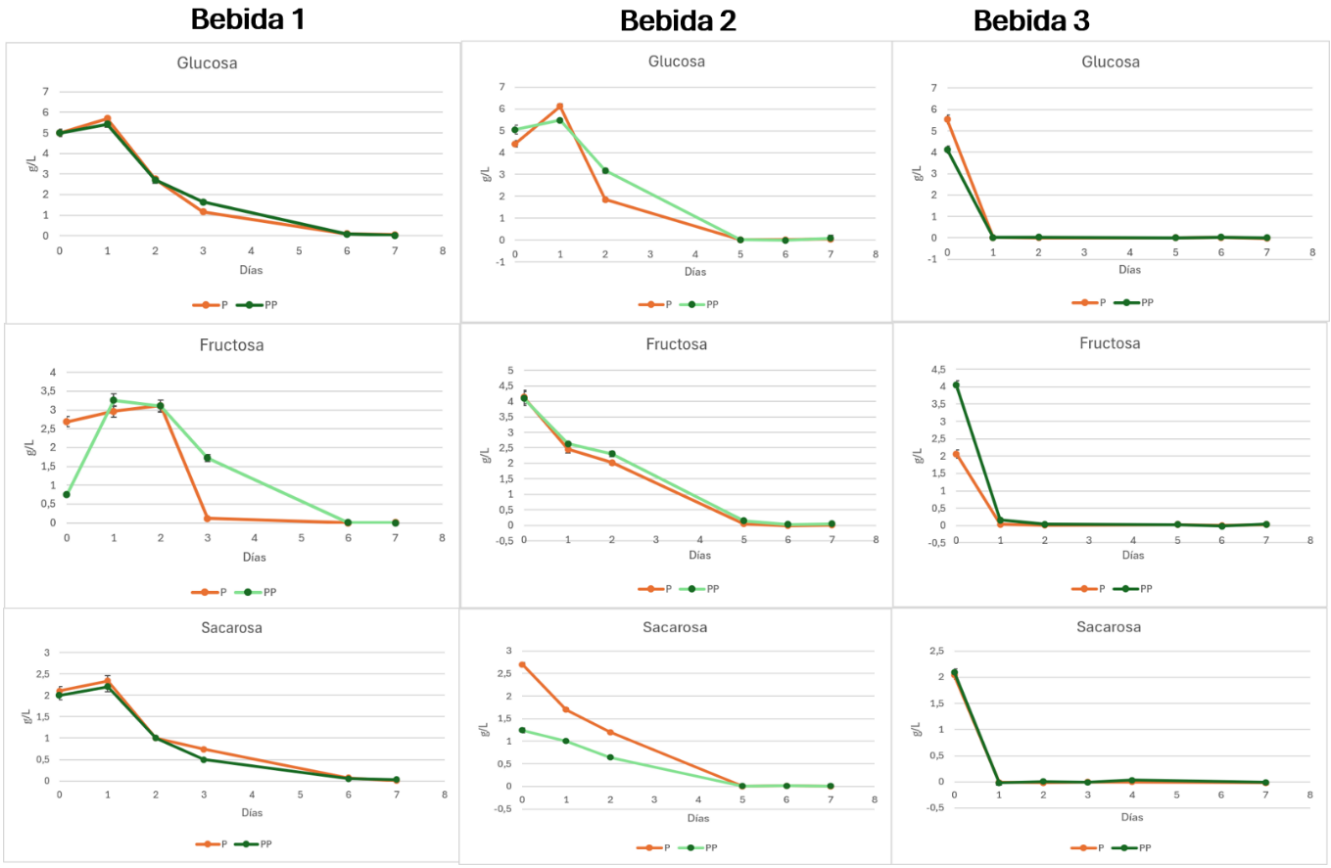


Figura 13. Concentraciones de glucosa, fructosa y sacarosa durante la fermentación de las tres bebidas.
Fuente: UDC, los resultados son la media de tres experimentos.

Formación y evolución de ácidos orgánicos.

El análisis de los ácidos orgánicos permitió identificar diferencias importantes entre las tres formulaciones, relacionadas con el metabolismo de los microorganismos seleccionados y la composición vegetal de cada bebida.

En **GLOW**, se observó la formación de ácido láctico y pequeñas cantidades de ácido acético, compatibles con la actividad de *Lactobacillus rhamnosus* y *Saccharomyces boulardii*. El ácido ascórbico presente inicialmente en la matriz experimentó una disminución progresiva, pasando aproximadamente de 0,10 a 0,02 g/L durante la fermentación. La incorporación de XOS mostró una ligera tendencia a incrementar la producción de ácidos láctico y acético y a atenuar la disminución de ácido ascórbico, aunque estas diferencias no se consideraron significativas.

En **RELAX**, la presencia de hibisco contribuyó a una concentración inicial de ácido ascórbico próxima a 0,18 g/L. La actividad de *Lactobacillus helveticus* favoreció principalmente la formación de ácido láctico, mientras que el ácido acético se mantuvo en concentraciones reducidas, próximas a 0,28 g/L. La matriz vegetal mostró un comportamiento relativamente favorable para la conservación del ácido ascórbico, con una ligera diferencia entre las formulaciones con y sin XOS.

En **DEFENSE**, el comportamiento fue distinto debido a la presencia de *Gluconobacter oxydans*, cuya actividad metabólica favoreció la transformación de glucosa en ácido glucónico, que constituyó uno de los principales productos de la fermentación. La concentración de este compuesto alcanzó aproximadamente 3,0 g/L sin XOS y 3,4 g/L con XOS. Asimismo, el ácido acético llegó a valores próximos a 0,48 g/L, mientras que el ácido láctico permaneció en

concentraciones muy reducidas, debido a la ausencia de bacterias lácticas en esta formulación. Este comportamiento resulta coherente con la capacidad metabólica descrita para *Gluconobacter oxydans,* cuya actividad oxidativa puede dar lugar a la formación de ácido glucónico a partir de glucosa **[10,11]**.

Estos resultados pusieron de manifiesto que la selección de microorganismos permitió obtener perfiles diferenciados de ácidos orgánicos, especialmente entre las bebidas fermentadas con lactobacilos y la formulación que incorporaba *Gluconobacter oxydans*.



Figura 14. Concentraciones de ácido láctico, acético, ascórbico, glucurónico y glucónico durante la fermentación.
Fuente: UDC, los resultados son la media de tres experimentos.

Producción de etanol.

Las tres bebidas presentaron concentraciones reducidas de etanol durante los ensayos de fermentación. Los valores máximos registrados fueron de 0,0771 g/L en **GLOW** con XOS, 0,1375 g/L en **RELAX** y 0,0409 g/L en **DEFENSE** con XOS, equivalentes aproximadamente al 0,0090 %, 0,0174 % y 0,0052 % (v/v), respectivamente.

La menor concentración registrada en **DEFENSE** fue compatible con la actividad de *Gluconobacter oxydans*, capaz de oxidar parte del etanol producido por la levadura y transformarlo en ácido acético. En conjunto, las concentraciones determinadas fueron muy reducidas en las condiciones experimentales estudiadas, incluso el máximo fue muy inferior al límite de 0,5 % vol. aplicable a bebidas refrescantes que define una bebida no alcohólica en España.

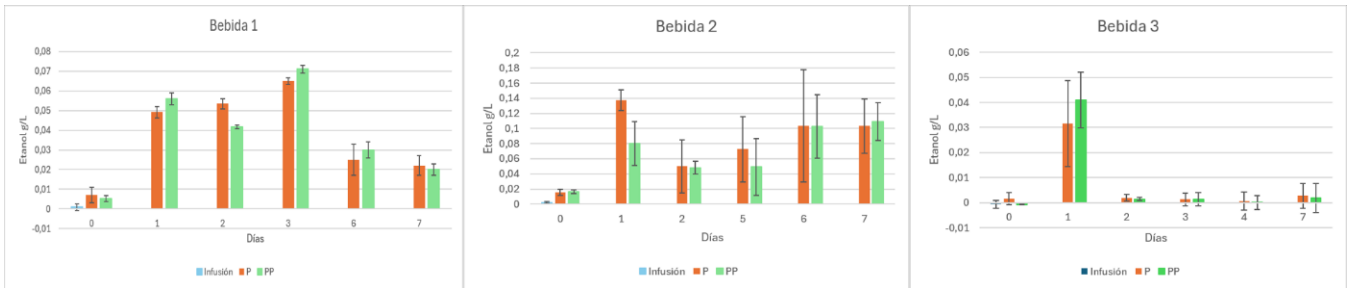


Figura 15. Concentraciones de etanol durante la fermentación.
Fuente: UDC, los resultados son la media de tres experimentos.

Recuento de microorganismos viables.

Los recuentos microbiológicos realizados tras tres días de fermentación mostraron que las bacterias constituían la mayor parte de la población microbiana viable en las formulaciones estudiadas. La levadura *Saccharomyces boulardii* también se mantuvo presente durante el proceso, contribuyendo al desarrollo de la fermentación conjunta.

La comparación entre las formulaciones P y PP no evidenció un incremento significativo de los recuentos bacterianos o de levaduras asociado a la incorporación de XOS. Estos resultados fueron coherentes con las observaciones realizadas mediante absorbancia, en las que tampoco se identificaron diferencias claras en el crecimiento global de los microorganismos.

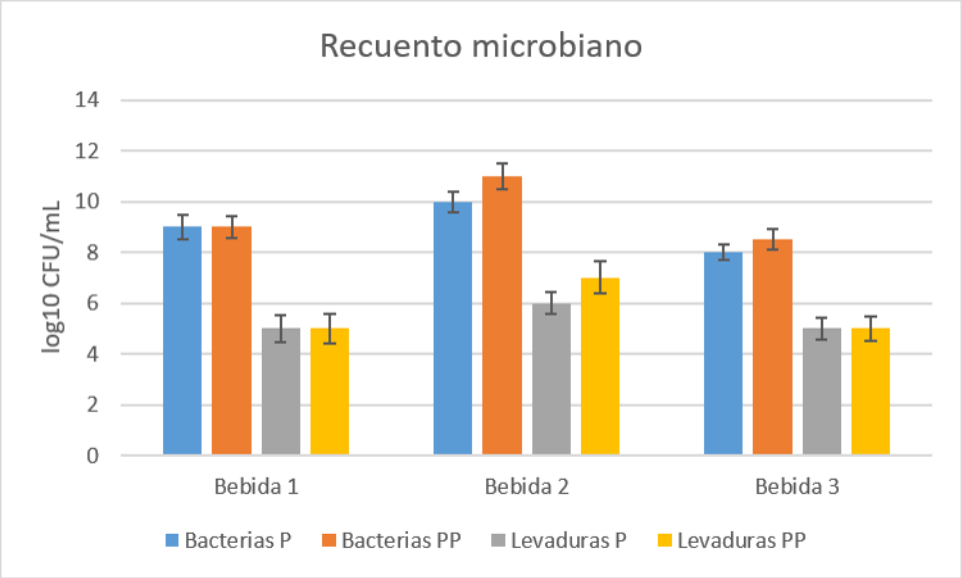


Figura 16. Recuento microbiano en placa (UFC/mL, Unidades Formadoras de Colonia/mL) al cabo de los tres días de fermentación, expresado como log10 UFC/mL.
Fuente: UDC, los resultados son la media de tres experimentos.

Capacidad antioxidante de las bebidas fermentadas.

La evaluación de la capacidad antioxidante mediante DPPH, realizada tras tres días de fermentación, mostró diferencias entre las formulaciones desarrolladas.

La bebida **RELAX** presentó la mayor capacidad antioxidante, un comportamiento que podría estar relacionado con la presencia de hibisco y su contenido en compuestos fenólicos y pigmentos vegetales, entre ellos las antocianinas. La formulación **DEFENSE** presentó los siguientes valores más elevados, posiblemente asociados a la contribución de los componentes vegetales del tomillo, la menta y el eucalipto.

La incorporación de XOS mostró una tendencia favorable sobre la capacidad antioxidante en algunas formulaciones. No obstante, este comportamiento debe interpretarse teniendo en cuenta las diferencias entre matrices vegetales y la posible contribución directa de los componentes incorporados al resultado del ensayo.

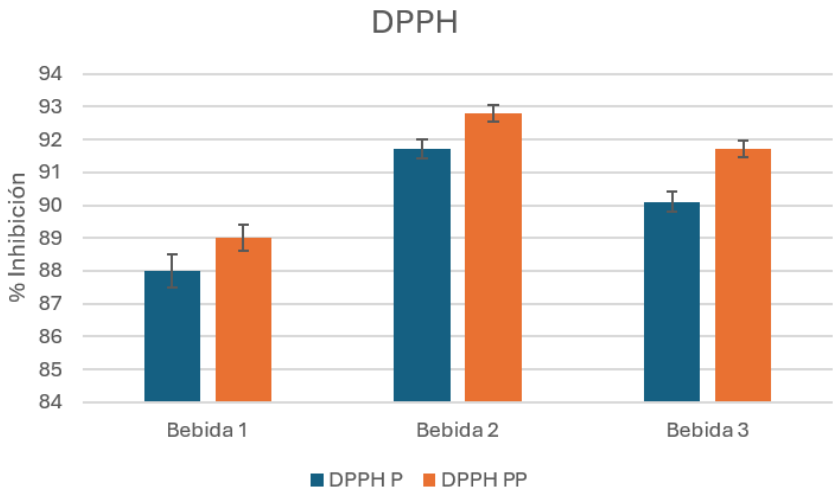


Figura 17. Evaluación de la capacidad antioxidante (DPPH) al cabo de los tres días de fermentación.
Fuente: UDC, los resultados son la media de tres experimentos.

En conjunto, los resultados de 2024 y 2025 permitieron establecer **tres formulaciones fermentadas diferenciadas**, caracterizar su comportamiento durante la fermentación y comprobar la influencia de la composición vegetal y de los microorganismos seleccionados sobre la evolución de los principales parámetros analizados. Asimismo, los ensayos con XOS proporcionaron información sobre su incorporación a las bebidas, aunque no se observaron efectos significativos sobre todos los parámetros estudiados.

Las formulaciones obtenidas constituyeron la base para las siguientes fases del proyecto, centradas en la incorporación de los componentes vitamínicos y en la evaluación de la estabilidad y vida útil de las bebidas finales.

3.4. Desarrollo de las formulaciones vitamínicas

Durante la segunda anualidad del proyecto, Glecex desarrolló minicomprimidos solubles de vitaminas hidrosolubles, destinados a su incorporación a las bebidas fermentadas elaboradas a partir de lúpulo y especies aromáticas. El objetivo fue obtener una formulación que permitiera aportar cantidades controladas de vitaminas C y del grupo B, manteniendo las características organolépticas de las bebidas y facilitando su dosificación.

Se seleccionó el formato de minicomprimido frente a la incorporación directa de mezclas en polvo o premezclas líquidas, por sus ventajas para la dosificación y manipulación de los ingredientes vitamínicos, así como por la posibilidad de mantenerlos separados de la matriz fermentada hasta el momento de su incorporación.

Optimización de la formulación y selección de excipientes.

Durante el desarrollo se evaluaron diferentes combinaciones de vitaminas y excipientes, con el propósito de conseguir comprimidos con una compactación adecuada y una rápida disolución en medio acuoso.

Las primeras formulaciones incorporaban celulosa microcristalina, croscarmelosa sódica, estearato de magnesio, edulcorantes como xilitol y glucósidos de esteviol, y aroma natural de

naranja. Sin embargo, los ensayos permitieron identificar componentes que podían eliminarse sin comprometer el comportamiento de los comprimidos.

En particular, se comprobó que la croscarmelosa sódica no era necesaria para conseguir una desintegración adecuada, por lo que se retiró de la composición. Asimismo, se descartaron los edulcorantes, aromas y colorantes evaluados, debido a que podían aportar sabores o tonalidades demasiado intensos e interferir en las características propias de las bebidas fermentadas.

Como resultado, se obtuvo una **formulación simplificada** en la que los únicos excipientes empleados fueron la celulosa microcristalina, como agente de carga, y el estearato de magnesio, como antiaglomerante.

Composición vitamínica y dosificación.

La formulación final incorporó vitamina C y ocho vitaminas del grupo B. Las cantidades se ajustaron tomando como referencia los Valores de Referencia de Nutrientes (VRN) establecidos en el Reglamento (UE) nº 1169/2011.

Se estableció como condición de utilización la incorporación de dos minicomprimidos por cada 250 mL de bebida, con el objetivo de aportar aproximadamente el 50 % de los VRN de las vitaminas seleccionadas.

La composición vitamínica de referencia fue la siguiente:

Tabla 3. Composición vitamínica de referencia para un aporte del 50% de los VRN.
Fuente: Glecex.

Vitamina	Cantidad para el aporte previsto del 50 % VRN
Vitamina C	40 mg
Vitamina B1 (tiamina)	0,55 mg
Vitamina B2 (riboflavina)	0,70 mg
Vitamina B3 (niacina)	8 mg
Vitamina B5 (ác. pantoténico)	3 mg
Vitamina B6	0,70 mg
Vitamina B8 (biotina)	25 µg
Vitamina B9 (ác. fólico)	100 µg
Vitamina B12	1,25 µg

Resultados de los ensayos de compactación y disolución.

Los ensayos de optimización permitieron obtener **minicomprimidos con buena compactación y ausencia de defectos estructurales visibles**, manteniendo un comportamiento homogéneo durante su manipulación.

Las pruebas de disolución realizadas en condiciones simuladas de utilización mostraron una **disolución completa en menos de cinco minutos**, sin residuos visibles. La eliminación de determinados excipientes permitió, además, reducir la posible influencia de los comprimidos sobre el color y el sabor de las bebidas.

Estos resultados confirmaron la viabilidad técnica del formato seleccionado para incorporar vitaminas hidrosolubles a las formulaciones fermentadas desarrolladas en el proyecto.

En conjunto, el trabajo realizado permitió establecer una **formulación de minicomprimidos vitamínicos con composición definida, adecuada compactación y rápida disolución**, preparada para su posterior evaluación de estabilidad y compatibilidad con las bebidas fermentadas. Los resultados de estos estudios se presentan en el siguiente apartado.

3.5. Evaluación de la estabilidad y control de las formulaciones

Una vez desarrollada y optimizada la formulación de los minicomprimidos vitamínicos, Glecex llevó a cabo su evaluación de estabilidad y compatibilidad, con el objetivo de comprobar el mantenimiento de los componentes activos y su comportamiento en condiciones representativas de utilización. Los estudios se desarrollaron durante la segunda anualidad del proyecto, combinando determinaciones analíticas mediante cromatografía liquida de alta eficiencia (HPLC) con controles organolépticos, fisicoquímicos y microbiológicos.

Los ensayos contemplaron la evaluación de las formulaciones en diferentes condiciones de preparación, así como el seguimiento de su composición vitamínica durante un periodo de tres meses. Para determinadas determinaciones analíticas y microbiológicas se contó con servicios técnicos externos.

Evaluación de la composición vitamínica en diferentes condiciones de preparación.

Se analizaron muestras preparadas a temperatura ambiente y mediante un proceso de infusionado a 90 °C, con el propósito de estudiar las posibles diferencias en las concentraciones de vitaminas detectadas. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4. Concentraciones de vitaminas detectadas en las muestras a temperatura ambiente y tras infusionado a 90 °C.
Fuente: Glecex.

Vitamina	Unidades	Temperatura ambiente	90 °C (infusionado)
Vitamina C	mg/100 g	<2,5	<2,5
Vitamina B1	mg/100 g	<0,20	0,25
Vitamina B2	mg/100 g	0,14	0,13
Vitamina B3	mg/100 g	2,94	3,20
Vitamina B5	mg/100 g	0,67	0,66
Vitamina B6	mg/100 g	0,28	0,24
Vitamina B8	µg/100 g	<10	<10
Vitamina B9	µg/100 g	13,4	16,4
Vitamina B12	µg/100 g	<0,5	<0,5

Los análisis mostraron concentraciones similares en ambas condiciones para algunas vitaminas, especialmente B2 y B5, mientras que se observaron diferencias en otras determinaciones. La vitamina B3 presentó valores de 2,94 y 3,20 mg/100g, respectivamente, y la vitamina B9 pasó de 13,4 a 16,4 µg/100g.

En el caso de la vitamina C, B8 y B12, los resultados se situaron por debajo de los límites analíticos indicados en ambas condiciones. Por ello, no es posible establecer diferencias entre los tratamientos para estas vitaminas a partir de los valores disponibles.

En conjunto, estos ensayos proporcionaron información sobre el comportamiento analítico de los compuestos vitamínicos en las condiciones de preparación evaluadas.

Estabilidad de la composición vitamínica durante tres meses.

El seguimiento de la estabilidad se realizó mediante determinaciones del contenido vitamínico al inicio del estudio y después de tres meses. Los resultados se recogen en la Tabla 5.

Tabla 5. Comparación de las concentraciones de vitaminas al inicio y tras tres meses de almacenamiento.
Fuente: Glecex.

Vitamina	Unidades	0 meses	3 meses
Vitamina C	mg/100 g	<2,5	<2,5
Vitamina B1	mg/100 g	0,25	<0,22
Vitamina B2	mg/100 g	0,13	0,14
Vitamina B3	mg/100 g	3,20	2,99
Vitamina B5	mg/100 g	0,66	0,66
Vitamina B6	mg/100 g	0,24	0,25
Vitamina B8	µg/100 g	<10	<10
Vitamina B9	µg/100 g	16,4	13,9
Vitamina B12	µg/100 g	<0,5	<0,5

Los resultados evidenciaron comportamientos diferenciados según la vitamina analizada. Las concentraciones de B2, B5 y B6 se mantuvieron próximas a los valores iniciales, con variaciones reducidas durante el periodo estudiado. La vitamina B5 permaneció en 0,66 mg/100g, mientras que la B2 pasó de 0,13 mg/100g a 0,14 mg/100g y la vitamina B6 de 0,24 a 0,25 mg/100g.

Por su parte, la vitamina B3 presentó una disminución de 3,20 a 2,99 mg/100g, mientras que la vitamina B9 pasó de 16,4 a 13,9 µg/100g. En el caso de la vitamina B1, la concentración inicial fue de 0,25 mg/100g y, a los tres meses, se obtuvo un resultado inferior a 0,22 mg/100g.

Las vitaminas C, B8 y B12 permanecieron por debajo de los límites analíticos indicados en ambos momentos de evaluación, por lo que estos resultados no permiten cuantificar su evolución durante el almacenamiento.

De acuerdo con la valoración técnica recogida por Glecex, los lotes evaluados cumplieron las especificaciones establecidas durante el periodo de estudio. No obstante, las diferencias observadas en determinadas vitaminas y los resultados inferiores a los límites analíticos deben considerarse al interpretar el mantenimiento individual de los componentes activos.

Resultados de los controles de disolución y evaluación organoléptica.

Los ensayos de disolución confirmaron que los minicomprimidos podían incorporarse al medio líquido mediante un proceso de aproximadamente cinco minutos, sin que se identificaran

problemas de disolución en las condiciones estudiadas. Según la evaluación técnica de Glecex, este proceso no produjo una degradación apreciable de los componentes activos.

Asimismo, Lutega y Orballo participaron en la evaluación sensorial de las muestras reconstituidas, comprobando su aspecto visual y la posible influencia de la formulación vitamínica sobre las características de las bebidas base.

Las muestras evaluadas presentaron apariencia aceptable, sin formación de turbidez ni precipitados visibles. Tampoco se identificaron modificaciones relevantes del perfil organoléptico atribuibles a la incorporación de los minicomprimidos, lo que respaldó la compatibilidad de la formulación seleccionada con las bebidas desarrolladas.

En conjunto, los estudios permitieron caracterizar el comportamiento de los minicomprimidos vitamínicos durante su preparación y almacenamiento, así como comprobar la compatibilidad física y sensorial con las matrices líquidas. Estos resultados contribuyeron a establecer las condiciones para su incorporación a las formulaciones finales del proyecto, posteriormente evaluadas en los estudios de estabilidad y vida útil de las bebidas fermentadas.

3.6. Evaluación de la vida útil y viabilidad de las formulaciones finales

Durante la tercera y última anualidad del proyecto se evaluó la estabilidad de las bebidas fermentadas desarrolladas, con el objetivo de determinar la evolución de sus principales características fisicoquímicas, microbiológicas y antioxidantes durante el almacenamiento. Estos estudios permitieron valorar el comportamiento de las formulaciones finales y obtener información relevante para su posible aplicación como bebidas fermentadas refrigeradas.

La Universidade da Coruña (UDC) realizó el seguimiento de las bebidas durante seis meses de conservación a 4 °C, mientras que Glecex llevó a cabo un estudio complementario del contenido fenólico y la capacidad antioxidante mediante diferentes técnicas analíticas.

Se analizaron tres bebidas base: GLOW (Bebida 1, código C), RELAX (Bebida 2, código K) y DEFENSE (Bebida 3, código A). Para cada una se estudiaron cuatro variantes experimentales, diferenciadas por la presencia o ausencia de xilooligosacáridos (XOS) y del complejo vitamínico desarrollado durante el proyecto.

Tabla 6. Variantes de bebida fermentada según la incorporación de XOS y complejo vitamínico.

Variante	Composición
P-	Bebida fermentada sin XOS ni complejo vitamínico
P+	Bebida fermentada sin XOS y con complejo vitamínico
PP-	Bebida fermentada con XOS y sin complejo vitamínico
PP+	Bebida fermentada con XOS y con complejo vitamínico

De este modo, se obtuvieron 12 formulaciones experimentales, que permitieron comparar la influencia de ambos ingredientes sobre los parámetros estudiados.

Estabilidad del pH y del contenido de etanol durante el almacenamiento.

El seguimiento realizado por la UDC mostró que el almacenamiento a 4 °C favoreció el mantenimiento de las características fisicoquímicas de las bebidas, limitando la actividad fermentativa posterior a los tres días iniciales de fermentación.

Los **valores de pH permanecieron relativamente estables** durante los seis meses de conservación, sin observarse variaciones pronunciadas que indicaran una reactivación importante de los procesos fermentativos. Este comportamiento fue coherente con el consumo prácticamente completo de los azúcares fermentables durante la fermentación inicial y con la reducción de la actividad metabólica de los microorganismos a baja temperatura.

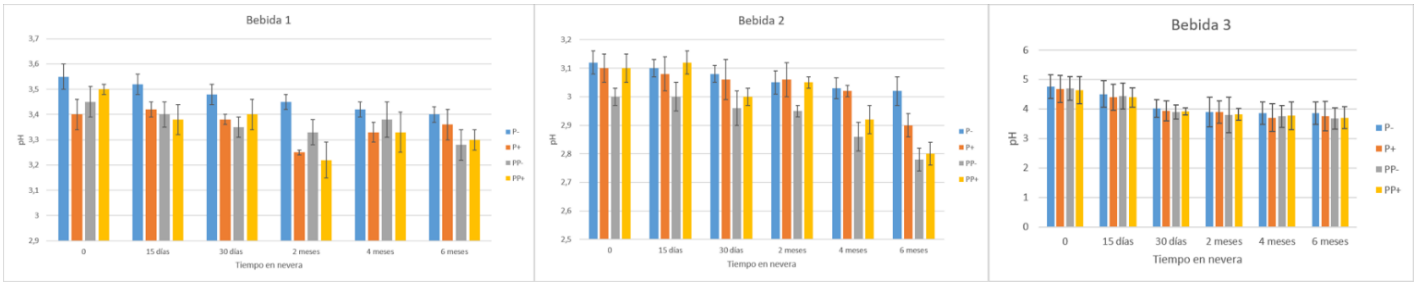


Figura 18. Evaluación del pH durante el almacenamiento a 4 °C en las tres bebidas con las cuatro combinaciones experimentales.
Fuente: UDC, los resultados son la media de tres experimentos.

De manera similar, las **concentraciones de etanol se mantuvieron reducidas y relativamente estables**, situándose por debajo de 0,02 % durante el periodo estudiado. Estos resultados indicaron que las condiciones de refrigeración limitaron la producción adicional de etanol en las formulaciones evaluadas.

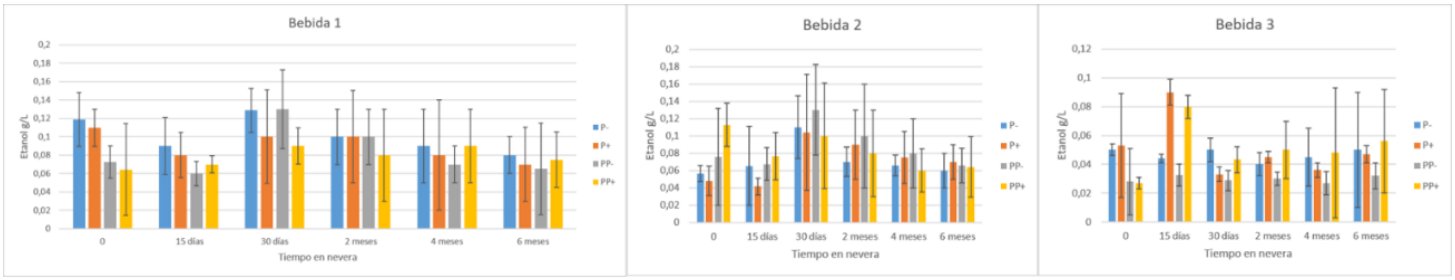


Figura 19. Evaluación del etanol durante el almacenamiento a 4 °C en las tres bebidas con las cuatro combinaciones experimentales.
Fuente: UDC, los resultados son la media de tres experimentos.

Evolución de la viabilidad microbiana.

Uno de los principales parámetros estudiados fue la supervivencia de los microorganismos durante el almacenamiento, debido a su importancia para el mantenimiento de las características microbiológicas de las bebidas fermentadas.

Los resultados **mostraron diferencias entre las tres formulaciones**. GLOW (Bebida 1) presentó, en general, la mayor viabilidad microbiana a lo largo del periodo de conservación, seguida de RELAX (Bebida 2). Ambas mantuvieron recuentos superiores a 10^6 UFC/mL durante los seis meses evaluados.

Por el contrario, DEFENSE (Bebida 3) mostró una disminución más acusada de la población viable, alcanzando valores inferiores a 10^6 UFC/mL a partir del cuarto mes de almacenamiento.

La incorporación de XOS se asoció, en términos generales, con una mayor supervivencia bacteriana durante la refrigeración, aunque el comportamiento dependió de la bebida y de la formulación concreta. Esta tendencia sugiere un posible efecto favorable de los XOS sobre la conservación de los microorganismos en determinadas condiciones de almacenamiento.

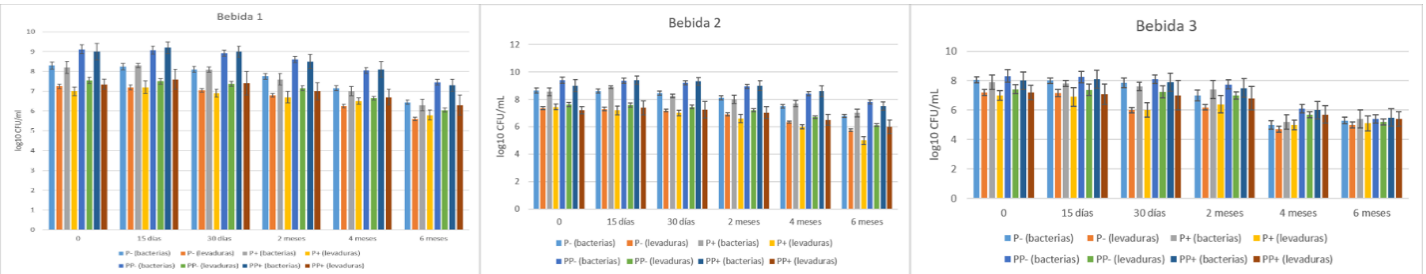


Figura 20. Evaluación de la viabilidad microbiana durante el almacenamiento a 4 °C en las tres bebidas con las cuatro combinaciones experimentales.
Fuente: UDC, los resultados son la media de tres experimentos.

Considerando conjuntamente las tres bebidas y sus diferentes variantes, la **UDC propuso un periodo orientativo máximo de dos meses de conservación refrigerada** para mantener recuentos superiores a 10^6 UFC/mL en todas las formulaciones.

Este resultado constituye una referencia experimental para el desarrollo posterior de los productos, aunque no supone por sí mismo la validación de una fecha de caducidad o consumo preferente comercial, que requeriría estudios adicionales en las condiciones definitivas de envasado y distribución.

Estabilidad de los ácidos orgánicos y del componente vitamínico.

El seguimiento de los ácidos orgánicos permitió comprobar el mantenimiento de los perfiles característicos de las bebidas durante el almacenamiento refrigerado.

En GLOW y RELAX, fermentadas con bacterias lácticas, el ácido láctico se mantuvo presente durante los seis meses, con concentraciones aproximadas de 3-5 g/L. Por su parte, en DEFENSE, fermentada con *Gluconobacter oxydans,* las concentraciones de ácido láctico fueron reducidas, mientras que el ácido glucónico constituyó uno de los componentes predominantes, manteniéndose en torno a 4 g/L al finalizar el periodo estudiado.

El ácido acético estuvo presente en las tres formulaciones, con concentraciones situadas aproximadamente entre 0,2 y 0,4 g/L a los seis meses. Los valores de ácido glucurónico fueron bajos y presentaron una elevada variabilidad analítica, por lo que su interpretación debe realizarse con cautela.

En las variantes enriquecidas con vitaminas también se evaluó la evolución del ácido ascórbico (vitamina C). Los resultados mostraron una disminución progresiva de su concentración durante la refrigeración, compatible con procesos de degradación oxidativa. No obstante, después de seis meses se conservó aproximadamente entre el 58 % y el 86 % del valor de fortificación inicial, dependiendo de la formulación.

La **bebida RELAX presentó un comportamiento especialmente favorable en este parámetro**, manteniendo concentraciones de ácido ascórbico superiores a 0,15 g/L al finalizar el periodo de almacenamiento.

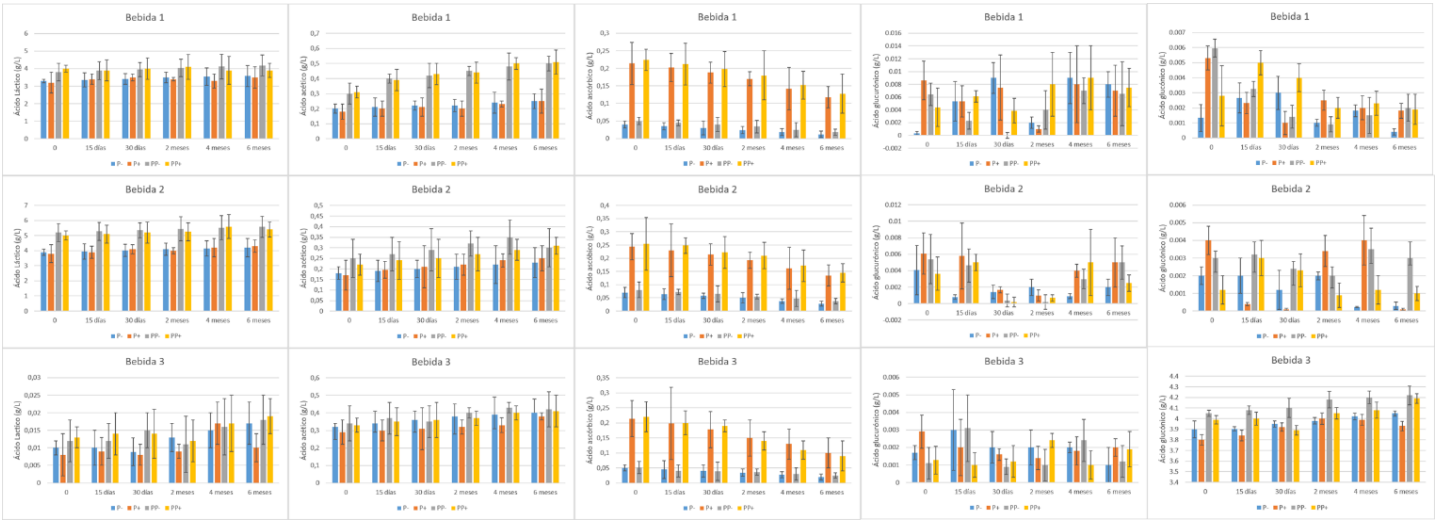


Figura 21. Evaluación de los ácidos láctico, acético, ascórbico, glucurónico y glucónico durante el almacenamiento a 4 °C en las tres bebidas con las cuatro combinaciones experimentales.
Fuente: UDC, los resultados son la media de tres experimentos.

Evolución de la capacidad antioxidante determinada mediante DPPH.

La UDC evaluó también la capacidad antioxidante de las formulaciones durante el almacenamiento mediante el ensayo DPPH, que permite determinar su actividad captadora de radicales libres.

Los **resultados mostraron que la actividad antioxidante tendió a disminuir ligeramente con el tiempo**, aunque se mantuvo durante los seis meses de conservación. La formulación RELAX presentó, en términos generales, los mayores valores de actividad antioxidante, en consonancia con los resultados obtenidos durante los estudios de fermentación de 2025.

La incorporación del complejo vitamínico se asoció con una mayor capacidad antioxidante en determinadas formulaciones, especialmente por la contribución del ácido ascórbico. Asimismo, las variantes enriquecidas con XOS mostraron una tendencia favorable en algunas determinaciones, aunque la magnitud del efecto dependió de la composición de cada bebida.

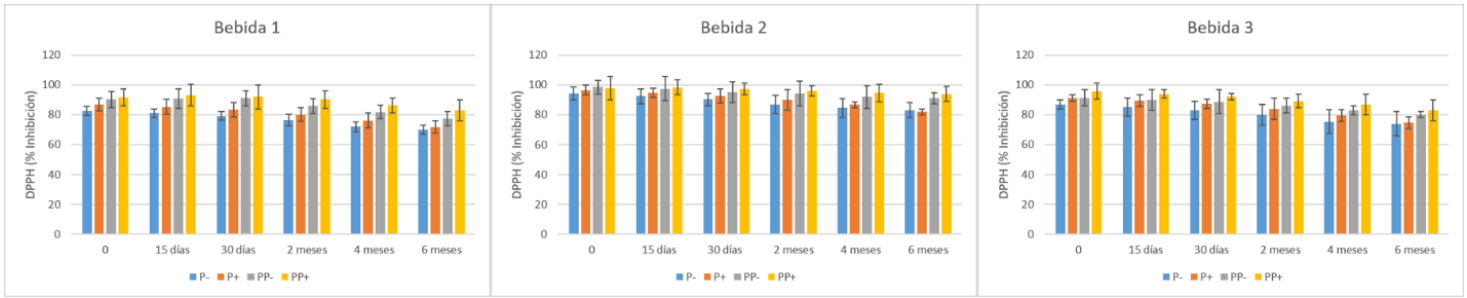


Figura 22. Evaluación de la capacidad antioxidante, determinada mediante DPPH, durante el almacenamiento a 4 °C en las tres bebidas con las cuatro combinaciones experimentales.
Fuente: UDC, los resultados son la media de tres experimentos.

Seguimiento del contenido fenólico y capacidad antioxidante realizado por Glecex.

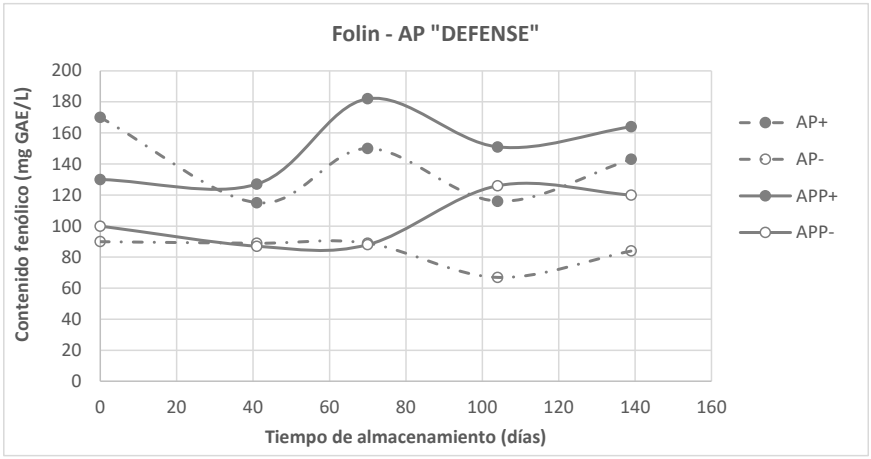
De forma complementaria a los estudios de la UDC, Glecex evaluó la evolución de las propiedades antioxidantes de las 12 formulaciones durante el almacenamiento, mediante determinaciones realizadas a los 0, 41, 70, 104 y 139 días.

Para ello se utilizaron dos métodos analíticos: Folin-Ciocalteu, empleado como indicador del contenido fenólico y de la capacidad reductora de las muestras, y H-ORAC, utilizado para evaluar la capacidad antioxidante frente a radicales peroxilo.

Los resultados mostraron diferencias entre las tres bebidas, así como entre las variantes con y sin XOS y con y sin suplementación vitamínica.

En el análisis mediante Folin-Ciocalteu, la bebida DEFENSE presentó, considerando el conjunto del periodo de almacenamiento, los mayores valores medios de contenido fenólico/capacidad reductora. Entre las formulaciones estudiadas destacó APP+, correspondiente a DEFENSE con XOS y vitaminas, con un valor medio de 150,8 mg equivalentes de ácido gálico por litro (mg GAE/L).

Globalmente, las variantes PP mostraron valores superiores a las formulaciones P, y la incorporación del complejo vitamínico se asoció también con mayores valores medios de capacidad reductora. No obstante, debe tenerse en cuenta que el ensayo Folin-Ciocalteu responde a diferentes sustancias reductoras, por lo que sus resultados no pueden atribuirse exclusivamente a los compuestos fenólicos.



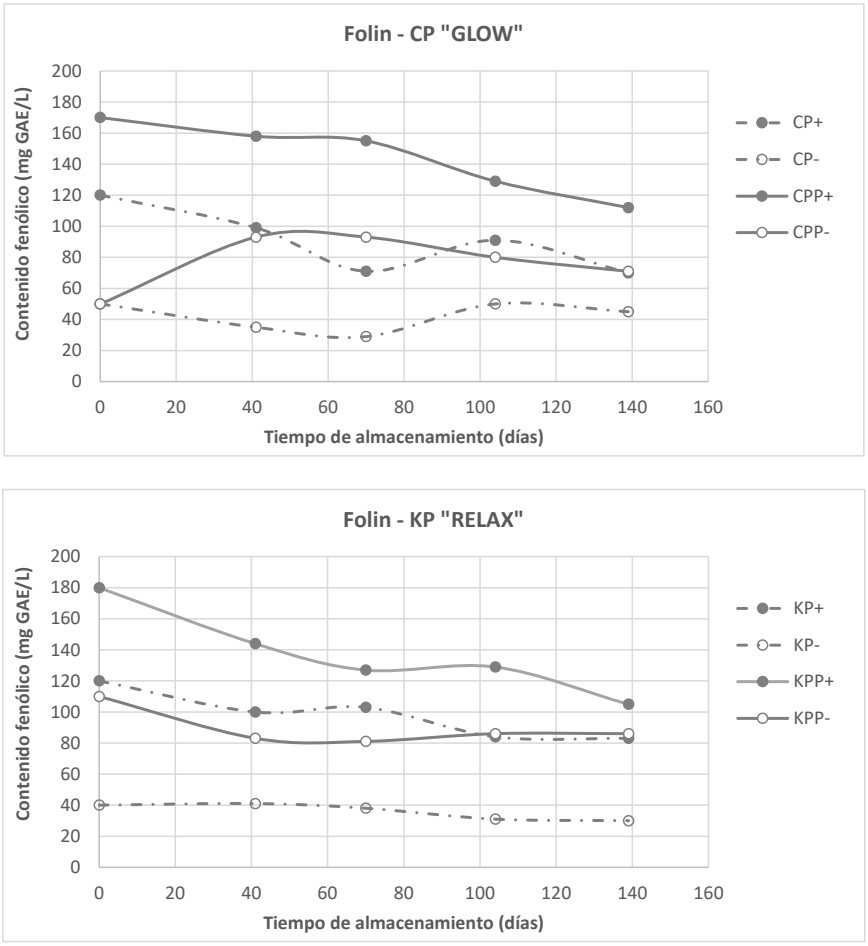


Figura 23. Evolución del contenido fenólico/capacidad reductora de las formulaciones GLOW, RELAX y DEFENSE durante el almacenamiento, determinada mediante Folin-Ciocalteu.
Fuente: Glecex.

En cuanto a la capacidad antioxidante determinada mediante H-ORAC, también se observaron diferencias relacionadas con la composición de las bebidas y la incorporación de los ingredientes funcionales.

Considerando los valores medios del periodo estudiado, DEFENSE presentó el comportamiento global más destacado. Sin embargo, la formulación individual con mayor valor medio fue KPP+, correspondiente a RELAX con XOS y vitaminas, que alcanzó 2.275 µmol equivalentes de Trolox por litro (µmol TE/L).

En términos generales, las formulaciones con XOS presentaron valores medios superiores a las variantes sin este ingrediente. La incorporación de vitaminas también influyó sobre los resultados, aunque su efecto no fue uniforme en todas las bebidas.

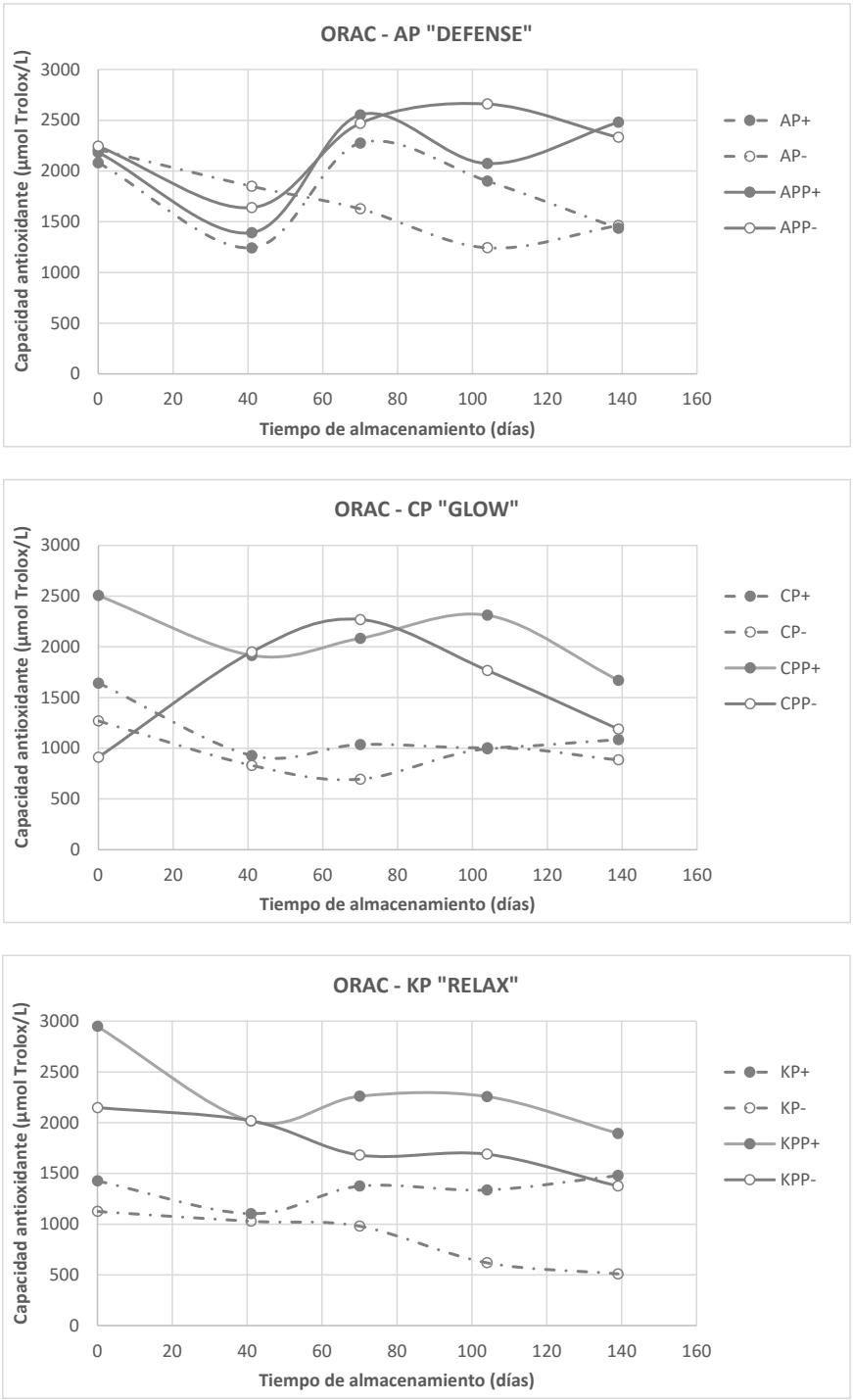


Figura 24. Evolución de la capacidad antioxidante de las formulaciones GLOW, RELAX y DEFENSE durante el almacenamiento, determinada mediante H-ORAC.
Fuente: Glecex.

Valoración global de la estabilidad y viabilidad de las formulaciones finales.

En conjunto, los estudios realizados durante la última anualidad confirmaron que las tres bebidas desarrolladas mantuvieron diferentes características fisicoquímicas y antioxidantes durante el almacenamiento refrigerado, aunque con comportamientos específicos según la composición vegetal, los microorganismos empleados y la incorporación de XOS y vitaminas.

Los ensayos de la UDC permitieron comprobar la estabilidad relativa del pH y del contenido de etanol, caracterizar la evolución de los ácidos orgánicos y establecer diferencias en la supervivencia microbiana de las tres bebidas. Por su parte, los análisis de Glecex aportaron información complementaria sobre el mantenimiento de la capacidad reductora y antioxidante durante el periodo estudiado.

La combinación de estos resultados permitió identificar las formulaciones con mejor comportamiento en determinados parámetros y establecer una referencia experimental de dos meses de conservación refrigerada para el mantenimiento de los recuentos microbianos considerados en el estudio.

Estos resultados constituyen una base técnica para la posible optimización y valorización de las bebidas desarrolladas en este proyecto, así como para futuros estudios de validación en condiciones de producción, envasado y distribución comercial.

3.7. Divulgación y comunicación de resultados

Las actividades desarrolladas por la Fundación Galicia Sustentable (FGS) permitieron generar materiales gráficos, audiovisuales y digitales destinados a divulgar los trabajos y resultados del Grupo Operativo Hop&Bot.

Durante las tres anualidades, se constituyó un **repositorio documental de 88 imágenes**, que incluye fotografías de los cultivos de lúpulo y plantas aromáticas, trabajos de laboratorio de la Universidade da Coruña y Glecex, entrevistas con los participantes y diferentes actividades del proyecto.

En el ámbito audiovisual, se elaboraron **nueve piezas**: **un vídeo resumen general del proyecto y ocho vídeos específicos** sobre las actividades de Lutega, Orballo, Universidade da Coruña y Glecex, que muestran las distintas fases del proyecto y recogen las explicaciones de los equipos participantes.



Figura 25. Vídeo resumen del Grupo Operativo Hop&Bot.
Fuente: FGS.

Asimismo, se elaboraron **dos guías divulgativas y ocho infografías digitales**, destinadas a presentar los conocimientos y principales resultados del proyecto mediante formatos visuales y accesibles.

Finalmente, se desarrolló **una página web específica del proyecto**, disponible en https://hopbot.galiciasustentable.org/index.html, que reúne los materiales divulgativos elaborados y facilita su consulta.

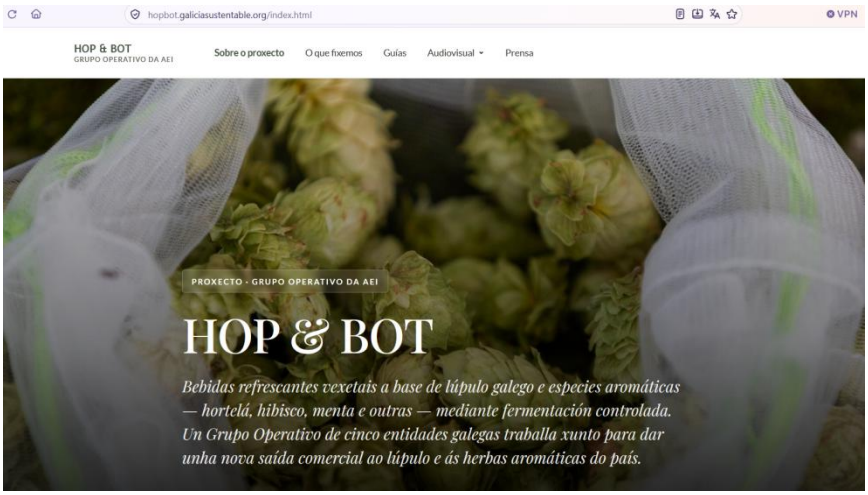


Figura 26. Página web del Grupo Operativo Hop&Bot.
Fuente: FGS.

Estos recursos contribuyen a la difusión de los resultados del proyecto y a la transferencia de conocimiento al sector agroalimentario y al público general.

4. CONCLUSIONES

El desarrollo del Grupo Operativo Hop&Bot ha permitido avanzar en la valorización del lúpulo y de diferentes especies aromáticas mediante su utilización como materias primas para la elaboración de nuevas bebidas refrescantes vegetales. A lo largo de las tres anualidades del proyecto se abordaron las principales etapas de desarrollo, desde la selección y caracterización de las materias primas hasta la formulación de bebidas fermentadas, su enriquecimiento vitamínico y la evaluación de su estabilidad durante el almacenamiento.

La caracterización inicial de los materiales vegetales permitió identificar diferencias en su composición y capacidad antioxidante, así como seleccionar combinaciones de lúpulo y plantas aromáticas adecuadas para el desarrollo de las bebidas. Los ensayos de extracción y formulación proporcionaron información sobre las condiciones de preparación y las características de los extractos obtenidos. Asimismo, el proyecto exploró el aprovechamiento de fracciones vegetales con menor aptitud para su comercialización directa, abriendo nuevas posibilidades de valorización para las producciones agrícolas.

Los estudios de fermentación permitieron desarrollar tres formulaciones diferenciadas, denominadas **GLOW, RELAX y DEFENSE**, y caracterizar la influencia de la composición vegetal y de los microorganismos seleccionados sobre su evolución. Se observaron diferencias en el comportamiento del pH, el consumo de azúcares, la formación de ácidos orgánicos y la capacidad antioxidante. Los ensayos con xilooligosacáridos (XOS) aportaron, además, información sobre su incorporación a las bebidas y su posible influencia sobre determinados parámetros, especialmente la supervivencia microbiana durante el almacenamiento.

En paralelo, se desarrolló una formulación de **minicomprimidos de vitaminas C y del grupo B**, diseñada para facilitar su dosificación e incorporación a las bebidas. Los ensayos de optimización permitieron seleccionar una composición con características adecuadas de compactación y disolución, mientras que los estudios posteriores proporcionaron información sobre su estabilidad y compatibilidad con las matrices líquidas. No obstante, los resultados analíticos evidenciaron diferencias en el comportamiento de determinadas vitaminas, aspecto que deberá considerarse en futuros desarrollos.

La evaluación de las formulaciones finales durante el almacenamiento refrigerado permitió comprobar una estabilidad relativa de sus principales parámetros fisicoquímicos y caracterizar la evolución de su viabilidad microbiana y capacidad antioxidante. Los resultados mostraron diferencias entre bebidas y permitieron establecer un **periodo orientativo de dos meses de conservación a 4 °C** para el mantenimiento de los recuentos microbianos considerados en el estudio. Esta referencia constituye una base experimental para futuras evaluaciones de vida útil, sin sustituir los estudios necesarios para establecer las condiciones definitivas de comercialización.

Por otra parte, las actividades de divulgación y comunicación desarrolladas por la Fundación Galicia Sustentable han permitido documentar las diferentes fases del proyecto y elaborar materiales destinados a facilitar la difusión de los conocimientos y resultados obtenidos. La generación de recursos gráficos, audiovisuales y digitales contribuye a acercar los avances del grupo operativo al sector agroalimentario y a la sociedad, reforzando la transferencia de conocimiento y la visibilidad de la colaboración entre las entidades participantes.

En conjunto, **el proyecto Hop&Bot ha permitido obtener y caracterizar nuevas formulaciones de bebidas vegetales fermentadas a partir de lúpulo y especies aromáticas**, generando conocimiento técnico sobre la selección de ingredientes, los procesos de elaboración, la incorporación de componentes vitamínicos y su comportamiento durante el almacenamiento. Los resultados obtenidos constituyen una base para continuar optimizando las formulaciones y estudiar su posible desarrollo a escala productiva.

Finalmente, el proyecto ha puesto de manifiesto el interés de la colaboración entre productores primarios, entidades de investigación y empresas especializadas para explorar nuevas aplicaciones agroalimentarias de materias primas vegetales. La experiencia adquirida abre oportunidades para diversificar los productos derivados del lúpulo y de las plantas aromáticas, contribuir a su valorización y favorecer la generación de nuevas alternativas de actividad económica vinculadas al medio rural.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Sanwal, N., Gupta, A., Bareen, M. A., Sharma, N., & Sahu, J. K. (2023). Kombucha fermentation: Recent trends in process dynamics, functional bioactivities, toxicity management, and potential applications. *Food Chemistry Advances, 3*, 100421. https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100421

[2] Ariff, R. M., Chai, X. Y., Chang, L. S., Fazry, S., Othman, B. A., Babji, A. S., & Lim, S. J. (2023). Recent trends in kombucha: Conventional and alternative fermentation in development of novel beverage. *Food Bioscience, 53*, 102714. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102714

[3] Europa Press (2023). «'Víver', la bebida de kombucha que más cuota de mercado gana en los últimos doce meses». *Europa Press*. https://www.europapress.es/andalucia/noticia-viver-bebida-kombucha-mas-cuota-mercado-gana-ultimos-doce-meses-20230626111919.html

[4] Parlamento Europeo y Consejo de la Unión Europea (2006). Reglamento (CE) nº 1924/2006, de 20 de diciembre de 2006, relativo a las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables en los alimentos. *Diario Oficial de la Unión Europea*, L 404, 9-25. https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2006/1924/oj

[5] Wang, R., Sun, J., Lassabliere, B., Yu, B., & Liu, S. Q. (2022). UPLC-Q-TOF-MS based metabolomics and chemometric analyses for green tea fermented with Saccharomyces boulardii CNCM I-745 and Lactiplantibacillus plantarum 299V. Current Research in Food Science, 5, 471–478. https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.02.012

[6] Chan, M. Z. A., Tan, L. T., Heng, S. W. Q., & Liu, S. Q. (2023). Effect of co-fermentation of Saccharomyces boulardii CNCM-I745 with four different probiotic lactobacilli in coffee brews on cell viabilities and metabolic activities. Fermentation, 9(3), 219. https://doi.org/10.3390/fermentation9030219

[7] Childs, C. E., et al. (2014). Xylo-oligosaccharides alone or in synbiotic combination with Bifidobacterium animalis subsp. lactis induce bifidogenesis and modulate markers of immune function in healthy adults: A double-blind, placebo-controlled, randomised, factorial cross-over study. British Journal of Nutrition, 111(11), 1945–1956. https://doi.org/10.1017/S0007114513004261

[8] Finegold, S. M., et al. (2014). Xylooligosaccharide increases bifidobacteria but not lactobacilli in human gut microbiota. Food & Function, 5(3), 436–445. https://doi.org/10.1039/C3FO60348B

[9] Cheng, Z., Moore, J., & Yu, L. (2006). High-throughput relative DPPH radical scavenging capacity assay. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54(20), 7429–7436. https://doi.org/10.1021/jf0611668

[10] Krajewski, V., et al. (2010). Metabolic engineering of Gluconobacter oxydans for improved growth rate and growth yield on glucose by elimination of gluconate formation. Applied and Environmental Microbiology, 76(13), 4369–4376. https://doi.org/10.1128/AEM.03022-09

[11] Sainz, F., Navarro, D., Mateo, E., Torija, M. J., & Mas, A. (2016). Comparison of D-gluconic acid production in selected strains of acetic acid bacteria. International Journal of Food Microbiology, 222, 40–47. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.01.015