

**Universidad Pública de Navarra**

*Nafarroako Unibertsitate Publikoa*

**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR  
DE INGENIEROS AGRÓNOMOS**

*NEKAZARITZAKO INGENIARIEN  
GOI MAILAKO ESKOLA TEKNIKOA*

**ESTUDIO DE LA VALORIZACIÓN DE LACTOSUERO  
MEDIANTE LA OBTENCIÓN DE UNA BEBIDA FERMENTADA  
FUNCIONAL EN SALINAS DE GUARANDA, ECUADOR**

.....

*Máster en Tecnología y Calidad en las Industrias Agroalimentarias*

presentado por

NAIARA GOROSTIDI MARTÍNEZ

.....(e)k

*aurkeztua*

Septiembre, 2014 / 2014, iraila

Iñigo Arozarena Martinicorena, profesor del Departamento de Tecnología de Alimentos, autoriza la presentación por parte de Naiara Gorostidi Martínez del Trabajo Fin de Master titulado “Estudio de la valorización de lactosuero mediante la obtención de una bebida fermentada funcional en la Comunidad de Salinas de Guaranda, Ecuador”

En Pamplona, a 11 de septiembre de 2014

Fdo. Iñigo Arozarena Martinicorena

## RESUMEN

El presente trabajo tuvo por finalidad desarrollar nuevas bebidas lácteas fermentadas funcionales a partir del lactosuero en la Quesera “El Salinerito” (PRODUCCOOP) de Salinas de Guaranda (Ecuador). El estudio se realizó a partir del programa de Formación Solidaria de la Universidad Pública de Navarra, durante una estancia de 6 meses. Se trata de obtener una bebida láctea fermentada funcional a base del lactosuero restante de la producción de queso, con el fin de valorizar un efluente altamente contaminante comercializándolo en mercados locales, lo que supondría la obtención de beneficios económicos, ambientales y de salud para los habitantes de la zona.

La formulación base de la bebida láctea fermentada (80% de lactosuero y un 20% de leche entera de vaca) se definió en función de las preferencias de un panel sensorial de 52 consumidores. Una vez definida la mezcla base se elaboraron diferentes tipos de bebidas lácteas edulcoradas y saborizadas: natural con 100% de stevia, natural con 50% stevia y 50% azúcar, mermelada de arándano y mermelada de fresa. Las bebidas lácteas saborizadas se formularon con mermeladas de frutas autóctonas elaboradas en empresas locales. Las especies lácteas utilizadas, incluidos probióticos fueron: *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* y *Bifidobacterium animalis* L. lo que convierte a esta bebida láctea fermentada en funcional.

Las bebidas fueron caracterizadas mediante un análisis físico-químico (proteínas, grasa, sólidos totales y cenizas). Además, se realizó un análisis microbiológico para verificar el grado de cumplimiento con respecto a la normativa vigente (INEN 2564:2011) del producto recién elaborado y durante las tres semanas siguientes. Los resultados indicaron que la bebida cumplía con los requisitos microbiológicos establecidos por la Norma Técnica Ecuatoriana de bebidas lácteas.

La investigación propuesta responde a la creciente preocupación por dar valor agregado al lactosuero, que constituye un desecho altamente contaminante para las industrias lácteas de la región. Así mismo se presenta una estimación del precio de venta de las diferentes bebidas lácteas fermentadas.

## **ABSTRACT**

The aim of this research was the development of a new functional fermented dairy drink by using the whey generated during the cheese manufacturing dairy processing in "El Salinerito" (PRODUCCOOP), Salinas de Guaranda (Ecuador).

The base formula of the fermented drink (80% of whey and 20% of whole cow's milk) was defined from the preferences of a consumers panel (n:52) respect to the following attributes: taste, colour, texture and residual sense. With the chosen base formula different samples of dairy drinks were produced, by adding different sweeteners and flavors: Natural I (100% Stevia), Natural II (50:50 %Stevia:sucrose), blueberry (sucrose 32 g/L) and strawberry (sucrose 60 g/L). Also, a threshold of different concentration of Stevia and sugar was determined by using a trained panel (n:17). The commercial jams (blueberry and strawberry) were bought in local markets from Salinas de Guaranda and were used to get the typical fruit flavours of the fermented beverages. Moreover, due to the inclusion of the probiotic and lactic cultives (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* B. and *Bifidobacterium animalis* L.), the dairy fermented beverage presented in this study could be considered as a functional drink. After the fermented drink characterization (proteins, fats, total solids and ashes), a microbiological analysis was conducted to verify the accordance with the Ecuadorian Technical standard regulations of dairy drinks.

This research focuses on the needs in the dairy industry to take advantage to the whey, which is probably the higher by-product of the local dairy industry and represents, nowadays, a highly polluting waste.

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer, pues sin ellos no hubiese podido llevar a cabo mi objetivo...

A mi tutor en la Universidad Pública de Navarra, Iñigo Arozarena, por sus valiosas sugerencias, acertados aportes y seguimiento prestado durante la realización del trabajo.

A mi tutora en la Universidad Técnica de Ambato, Juliana Gamboa, por su generosidad científica, seguimiento prestado y oportunas críticas a lo largo de todo el proceso.

Al director del trabajo, Ernesto Toalombo, brindarme la oportunidad de recurrir a su capacidad y experiencia, fundamentales para la concreción del trabajo.

Al Ingeniero Fabián Vargas, por permitir la realización de los análisis de laboratorio con la financiación por parte de la PRODUCOOP.

A Ana Rosa Chamorro, compañera trabajadora de la quesería “El Salinerito”, por ayuda profesional y amistad durante mi estancia en Salinas de Guaranda.

A los habitantes de Salinas de Guaranda por su entrañable acogida.

# ÍNDICE

## **CAPITULO 1: INTRODUCCIÓN**

1.1. Introducción	11
-------------------	----

## **CAPITULO 2: ANTECEDENTES**

2.1. Localización del trabajo	14
2.2. Salinas de Guaranda y el Gruppo Salinas	14
2.3. El lactosuero	18
2.4. Problemática ambiental del lactosuero	21
2.5. Utilización del suero en Salinas de Guaranda	22
2.6. Usos y aplicaciones para el lactosuero	23
2.7. Probióticos	25

## **CAPÍTULO 3: OBJETIVOS**

3.1. Objetivos	28
----------------	----

## **CAPÍTULO 4: MATERIALES Y MÉTODOS**

4.1. Localización	30
4.2. Plan de trabajo y diseños experimentales	30
4.3. Materia prima	32
4.4. Descripción del proceso de elaboración de la bebida fermentada	33
4.5. Diagrama de flujo	36
4.6. Formulación de las bebidas lácteas fermentadas	37
4.7. Caracterización del producto	38
4.8. Análisis sensorial	38
4.8.1. Prueba hedónica	40
4.8.2. Prueba triangular	40
4.8.3. Determinación del umbral de diferencia	40
4.8.4. Prueba hedónica 2	41
4.8.5. Análisis estadístico	42
4.9. Análisis físico-químicos	42
4.9.1. Acidez y Ph	42
4.9.2. Contenido en sólidos totales y cenizas	42
4.9.3. Contenido de materia grasa	43

4.9.4. Contenido en proteínas	43
4.10. Análisis microbiológico	43
4.11. Determinación del tiempo de vida útil	44
<b><u>CAPÍTULO 5: RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u></b>	
5.1. Análisis sensorial	47
5.1.1. Prueba hedónica 1	47
5.1.2. Prueba Triangular	48
5.1.3. Determinación del umbral de diferencia	49
5.1.4. Prueba hedónica 2	49
5.2. Caracterización fisicoquímica y microbiológica	51
5.2.1. Descripción de materias primas y proceso fermentativo	51
5.2.2. Características nutricionales de los productos finales	53
5.2.3. Análisis Microbiológico de los productos finales	54
5.3. Formulación de las bebidas lácteas fermentadas funcionales	55
5.4. Determinación de la vida útil	56
<b><u>CAPÍTULO 6: ANÁLISIS ECONÓMICO</u></b>	
6.1. Análisis económico	58
<b><u>CAPÍTULO 7: CONCLUSIONES</u></b>	
7.1. Conclusiones	61
7.2. Recomendaciones	62
<b><u>CAPÍTULO 8: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u></b>	
8.1. Referencias bibliográficas	64
8.2. Páginas web consultadas	68
<b><u>CAPÍTULO 10: ANEXOS</u></b>	
ANEXO I: NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 2564: 2011 70	
ANEXO II: FICHAS DE ANALISIS SENSORIAL	71
ANEXO III: RESULTADOS DEL ANALISIS FISICO-QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DEL GRUPO 2 DE BEBIDAS LÁCTEAS FERMENTADAS	75
ANEXO IV: COSTO DE PRODUCCIÓN DE LAS BEBIDAS LÁCTEAS FERMENTADAS	77

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Salinas de Guaranda.	18
Figura 2. Producción anual de leche y suero en Salinas de Guaranda en el 2013.	23
Figura 3. Diagrama de flujo de la bebida láctea fermentada.	36
Figura 4. Resultados de la prueba triangular de las bebidas lácteas fermentadas.	48
Figura 5. Valoraciones sensoriales medias de las cinco bebidas lácteas fermentadas.	50
Figura 6. Cinética de disminución de pH, (a) Cinética de acidez titulable (b) para la bebida lácteo fermentada natural.	52



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química de la leche procedente de ganado bovino.	18
Tabla 2. Contenido en vitaminas del lactosuero.	20
Tabla 3. Clasificación de los tipos de suero según su acidez.	20
Tabla 4. Composición del lactosuero dulce y ácido.	21
Tabla 5. Formulación del Grupo 1 de bebidas lácteas fermentadas.	37
Tabla 6. Ingredientes para la formulación del Grupo 2 de bebidas lácteas fermentadas.	38
Tabla 7. Códigos y especificaciones de las muestras de bebidas lácteas fermentadas utilizadas en las diferentes pruebas de análisis sensorial.	39
Tabla 8. Resultados del análisis ANOVA de la valoración hedónica previa.	47
Tabla 9. Resultados estadísticos de la segunda prueba hedónica.	49
Tabla 10. Resultados de pH y acidez de la leche y el suero.	51
Tabla 11. Resultados del Análisis Físico-químico de las distintas formulaciones.	53
Tabla 12. Resultados microbiológicos obtenidos para las muestras de bebidas lácteas fermentadas recién elaboradas.	54
Tabla 13. Formulaciones de la bebida fermentada.	55
Tabla 15. Estimación del precio de venta de las bebidas lácteas fermentadas.	58
Tabla 16. Desglose del precio de venta de las bebidas lácteas fermentadas.	59

# **CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN**

## 1.1. Introducción

La creciente preocupación por mejorar el aprovechamiento de recursos naturales, con el fin de evitar daños en el medio ambiente, hace que exista actualmente una búsqueda de nuevos productos y tecnologías que optimicen los procesos, reduciendo costos de producción y dando un valor añadido a residuos con potencial comercial (Carrera y Washington, 2010).

En el caso de la industria láctea, existe un derivado altamente contaminante, denominado lactosuero, que se obtiene en el proceso de fabricación del queso cuando la fracción líquida de la leche se separa de la cuajada. Este subproducto es de difícil aceptación en el mercado, ya que sus características no lo hacen apto para su comercialización directa como suero líquido (Urribarri y col., 2004). Sin embargo, posee excelentes propiedades alimenticias derivadas de su contenido en lactosa, proteínas, vitaminas y sales minerales. Debido a este contenido de nutrientes, es importante que las industrias del sector lácteo empleen el lactosuero como alimento que al mismo tiempo brinde aportes nutricionales para el consumidor (Chóez y Morales, 2010).

En Europa y Estados Unidos hace ya varios años comenzaron a aparecer en el mercado una variedad de productos a base de lactosuero, como bebidas, medicamentos, proteínas en polvo y quesos, entre otros, que aprovechan las propiedades nutricionales de este efluente y solucionan en gran parte los problemas ambientales que provoca (Anahí y Cuellas, 2008).

En América Latina el lactosuero es aprovechable en mínimas cantidades para alimento de animales, como cerdos y bovinos, y la mayor parte es desechada a los ríos y lagunas, provocando un incremento en los niveles de contaminación de suelos y aguas (Anahí y Cuellas, 2008).

En Ecuador, las industrias lácteas tienen gran importancia debido a que la elaboración de queso no es exclusividad de las grandes empresas, existen numerosas industrias de carácter artesanal (Ministerio de Agricultura y Ganadería SICA, 2009).

Entre las direcciones de mayores perspectivas en la utilización del suero se encuentran: la producción de bebidas, debido a su valor nutritivo y bajo costo de producción. Dentro de ellas, una línea de producción creciente son las bebidas lácteas fermentadas con bacterias o mezclas de éstas con levaduras, las que generalmente se mezclan con jugos u hortalizas o edulcorantes u otros saborizantes (Córdor y col., 2000). De aquí surge el desarrollo de bebidas fermentadas saborizadas con adición de cultivos probióticos, las cuales presentan mejores características terapéuticas y nutricionales. Con la incorporación de estos microorganismos se logran también, buenas características sensoriales y se extiende la vida útil del producto final (Heller, 2001).

## **CAPÍTULO 2: ANTECEDENTES**

## **2.1. Localización del trabajo**

El presente trabajo se desarrolla en la quesería de la cooperativa de producción agropecuaria “El Salinerito” (PRODUCOOP), la cual se encuentra en la comunidad de Salinas de Guaranda, en la provincia de Bolívar, República de Ecuador. El país tiene una extensión de 283 561 km<sup>2</sup> y una población de más de 14 millones de habitantes. Geográficamente se divide en tres zonas: la costa del Pacífico, al oeste; una sección volcánica de los Andes que cruza el país de norte a sur por el centro y la Amazonia en el este. El territorio ecuatoriano también incluye las oceánicas Islas Galápagos a 1000 km de la costa. Es el país con la más alta concentración de ríos por kilómetro cuadrado en el mundo, el de mayor diversidad por kilómetro cuadrado en el planeta y uno de los países con mayor biodiversidad teniendo un sinnúmero de especies animales y vegetales.

Bolívar es la provincia donde se encuentra Salinas de Guaranda, situada en el centro de Ecuador en medio de las montañas Andinas. La provincia de Bolívar tiene una extensión de 3.254 km<sup>2</sup>, con una población de 176.088 habitantes, de la cual el 70% vive en áreas rurales. Su capital es Guaranda. Bolívar tiene un clima variado que va desde el frío de los páramos, dónde se encuentra Salinas, hasta el cálido de las zonas subtropicales con temperaturas entre 22 y 25 grados centígrados. Las principales actividades económicas de la Provincia de Bolívar son la agricultura y la ganadería. La producción de leche tiene creciente importancia en la provincia, principalmente en Salinas, donde se destaca la elaboración de quesos y lácteos. La Parroquia de Salinas y sus comunidades se sitúan en la zona norte de la provincia.

## **2.2. Salinas de Guaranda y el Gruppo Salinas**

Salinas es uno de los pueblos más prósperos de la sierra ecuatoriana, se encuentra a 3550 m de altura y se ha convertido en un ejemplo de iniciativas comunitarias con una importante producción de quesos de gran calidad apreciados en los mercados europeos. Fue constituida como parroquia civil en 1884. La única fuente de trabajo eran las minas de sal, de que recibió el nombre.

Hasta 1970, en Salinas no había energía eléctrica, agua corriente ni asistencia médica. No existía la carretera que actualmente comunica Salinas con Guaranda. Era una aldea de chozas de barro y paja, de no más de 300 habitantes. Una aldea sumida en

la pobreza y la marginalidad. Los jóvenes y adultos emigraban masivamente a las grandes ciudades en busca de trabajo, ya que la única fuente de ingresos eran las minas de sal, trabajo duro y mal remunerado. Todos los habitantes servían a la familia Cordobés y eran explotados.

Todo ello mantenía estos territorios rurales completamente aislados de nuevas tecnologías, de actualizaciones de sistemas de producción agrícola, de mejoras higiénico-sanitarias y educativas, de cualquier influjo de sociedad más desarrollada, situada sólo a pocas decenas de kilómetros.

La evolución de Salinas no se puede entender sin el trabajo de voluntarios extranjeros y ecuatorianos junto a los propios salineros. En 1978, el padre Antonio Polo propuso a las comunidades indígenas organizarse para constituir microempresas y elaborar quesos, plasmando la tecnología suiza. Con el paso del tiempo la idea fue incluyendo otros productos como chocolates, turrónes, mermeladas, embutidos y artesanía que han llegado a mercados internacionales. Durante estos 40 años de trabajo, se ha constituido una extensa gama de productos comercializados con la marca “El Salinerito”, que ha llegado al mercado nacional con grandes expectativas a nivel internacional por su calidad y trabajo basado en la economía solidaria.

Actualmente existen múltiples microempresas que trabajan en red como fruto de la organización campesina, creando fuentes de trabajo que ha traído como consecuencia una economía estable y progresista, utilizando recursos de la zona.

Desde 1970, los salineros con la ayuda de voluntarios extranjeros y la Misión Salesiana apostaron por el Cooperativismo para enfrentarse a la pobreza y la marginación. Salinas pasó a ser un pueblo organizado y agroindustrial, convirtiéndose en un referente para el país. Este crecimiento llevó a la creación de organizaciones como la FUNORSAL, la cooperativa Salinas, el grupo juvenil, la Texal, la FSS, PRODUCCOOP, todas instituciones miembros del Gruppo Salinas. Estas asociaciones asumieron aspectos como: asesoramiento agroindustrial, seguimiento contable, ahorro y crédito, acompañamiento juvenil, apoyo a centros femeninos y apoyo pastoral-educativo. Sobre esta base organizativa se crearon 50 microempresas en las que se recibían y procesaban productos como leche, carne, hongos, lana, etc.

Dentro de este contexto se creó la Corporación Gruppo Salinas, institución encargada de articular procesos, apoyar iniciativas locales de sus miembros y fomentar la identidad salinera, que se expresa en los principios y valores de la economía solidaria. El Gruppo Salinas lleva a cabo una gestión social, a través de un proceso participativo y democrático que busca el bienestar social, económico, político y cultural.

La Comercializadora Nacional (CONA) es la empresa encargada de la distribución y venta de los productos (quesos, chocolates, turrone de maní y macadamia, mermeladas, jugos, embutidos, hongos, deshidratados, artesanías, aceites y esencias) que se elaboran en Salinas, para el mercado nacional. En 1992, inició su actividad bajo la coordinación de la FUNORSAL, hasta el año 2005 cuando se formó una sociedad con varios accionistas para re-potenciar esta empresa.

La Fundación de Organizaciones Campesinas de Salinas “Funorsal”, es una institución con carácter de fundación social que no persigue fines de lucro. Opera principalmente como agente social, educador, creador de fuentes de trabajo y financiero en proyectos de desarrollo agropecuario y agroindustrial, artesanía, ecología, comercialización, salud, etc. Actualmente agrupa 32 organizaciones que han sido beneficiadas de los servicios de asistencia técnica, capacitación créditos agropecuarios y micro empresariales, lo que ha permitido mejorar la calidad de vida de sus asociados.

La Fundación Familia Salesiana Salinas, es una organización social sin fines de lucro que nació con la idea de apoyar la labor pastoral desplegada a lo largo de 30 años por parte del padre Antonio Polo. El objetivo de la fundación se dirige a la atención de los jóvenes a través de los servicios pastorales mediante la creación de actividades para generar empleo. Canaliza recursos de instituciones nacionales y extranjeras para atender a niños, jóvenes y adultos, para actividades educativas, actividades relacionadas con la salud y la asistencia social. Cuenta con varias actividades para la autofinanciación como la fábrica de confites, la fábrica de aceites esenciales, el taller de alimentos procesados, taller de madera, taller de artesanías y taller de cerámica.

La Cooperativa de Ahorro y Crédito Salinas, nació de la necesidad de conseguir la propiedad de las minas de sal de forma colectiva. Se constituyó legalmente en Cooperativa de Ahorro y Crédito Salinas en 1972 y actualmente es una institución sólida, pionera en la prestación de servicios financieros en la parroquia de Salinas que



lidera una red de instituciones locales orientada al cambio y al crecimiento propio de sus socios.

En 1974, con el apoyo de las voluntarias ecuatorianas Teresa de Tonello, Susana Carrera e internacionales, se creó la asociación de Mujeres de Salinas TEXAL. Con sus productos (suéteres, gorras, guantes, bufandas, ponchos, bolsos, etc.) contribuye a la imagen de Salinas y a la economía de muchas familias.

En 1976, se creó la Fundación Grupo Juvenil Salinas, con el fin de crear fuentes de trabajo para nuevas generaciones (primera panificadora, mermeladas, piscicultura, forestación, hongos). Con el tiempo otras iniciativas se fueron consolidando, como el Hotel Refugio, turismo, etc.

En el 2003, el Centro de Exportaciones Salinas, inició su actividad con los productos de la TEXAL, poco a poco ampliaron la gama de productos (pasta de cacao, cacao, mermeladas, azúcar, panela granulada, jugos, turrone, hongos, artesanías de lana y paja) y el ámbito de clientes, involucrando a los “Amigos de Salinas” de Venecia y a las agencias de comercio Equo-Solidario de Italia.

En el año 2006, se creó la Cooperativa de producción agropecuaria PRODUCOOP, la cual está especializada en el sector lácteo pero también en el campo agrícola y agropecuario. Es una cooperativa de economía solidaria que atiende las necesidades de sus asociados y de los pequeños y medianos productores de la parroquia de Salinas. Su ámbito de acción es la compra, transformación, mercadeo, asistencia técnica y financiamiento productivo. Los productos que se elaboran son: queso fresco, Andino, Tilsit, Dambo, Gruyere, Gouda, queso con hierbas (orégano, comino), Raquelet, yogur y mantequilla.



**Figura 1.** Salinas de Guaranda.

### 2.3. El lactosuero

La leche es uno de los alimentos más completos que existe en la naturaleza por su alto valor nutritivo. Está compuesta principalmente por agua, materia grasa, proteínas, carbohidratos (lactosa), calcio, minerales y sal (Valencia y Ramírez, 2009). A continuación se especifica la composición de la leche procedente de ganado bovino.

**Tabla 1.** Composición química de la leche procedente de ganado bovino.

Especie	Proteína total (%)	Caseína (%)	Ser proteína (%)	Grasa (%)	Carbohidratos (%)	Cenizas (%)
Vaca	3.5	2.8	0.7	3.7	4.8	0.7

Fuente: Tetra Pak, 2003.

Las propiedades de la leche no están determinadas únicamente por su composición en macronutrientes, ya que contiene además vitaminas liposolubles e hidrosolubles, éstas se concentran en el lactosuero, como son la vitamina B2 (Riboflavina), B12 (Cianocobalamina), vitamina A, vitamina C, B1 (tiamina), y la vitamina B6 (piridoxina). El contenido en minerales es de 7 g/l, entre ellos se encuentran fósforo, calcio, zinc, aluminio y hierro (Toalombo, 2011) que constituyen nutrientes esenciales.

El lactosuero es el líquido que se obtiene por la coagulación de las proteínas presentes en la leche durante la elaboración del queso, una vez que se separa la cuajada del queso (la caseína) y la grasa (Guerrero y col., 2010). Contiene principalmente lactosa, proteínas como sustancias de importante valor nutritivo, minerales, vitaminas y grasa.

Se estima que a partir de 10 litros de leche de vaca se puede producir de 1 a 2 Kg de queso y un promedio 8 a 9 kg de suero. Al representar cerca del 90% del volumen de la leche, contiene la mayor parte de los compuestos hidrosolubles de ésta, el 95% de lactosa (azúcar de la leche), el 25% de las proteínas y el 8% de la materia grasa de la leche (Endara, 2002). Su composición varía considerablemente dependiendo del origen de la leche, el tipo de queso elaborado y el proceso de tecnología empleado, pero en general el contenido aproximado es de 93.1% de agua, 4.9% de lactosa, 0.9% de proteína cruda, 0.6% de cenizas (minerales), 0.3% de grasa, 0.2% de ácido láctico y vitaminas hidrosolubles. Cerca del 70% de la proteína cruda que se encuentra en el suero corresponde a proteínas con un valor nutritivo superior al de la caseína, como son  $\beta$ -lactoglobulina,  $\alpha$ -lactoglobulina, inmunoglobulinas, proteosapeptonas y enzimas nativas. (Valencia y Ramírez, 2009) A pesar del alto valor nutritivo de las proteínas del lactosuero, la  $\beta$ -lactoglobulina es el alérgeno más importante de la leche y la proteína soluble más abundante (3 g/l) en la leche (Toalombo, 2011). Sin embargo, la alergenicidad del suero podría combatirse con la utilización de bacterias acidolácticas, capaces de hidrolizar las proteínas de la leche y degradar la  $\beta$ -lactoglobulina (Pescuma y col., 2010). El suero es una de las mayores reservas de proteínas alimentarias que aún permanecen fuera de los canales de consumo humano (Terán y col., 2012).

En adición, la proteína de suero lácteo contiene una variable proporción de vitaminas del Complejo B, especialmente Vitamina B2 (Riboflavina), B12, Ácido Fólico y minerales, principalmente calcio, fósforo, potasio y magnesio. Las proteínas del suero constituyen un excelente vehículo del calcio debido a que la interacción de la proteína mineral potencia la biodisponibilidad del calcio y el fósforo (Naranjo, 2006).

**Tabla 2.** Contenido en vitaminas del lactosuero.

<b>Vitaminas</b>	<b>Concentración (mg/ml)</b>	<b>Necesidades diarias (mg)</b>
<b>Tiamina</b>	0.38	1.5
<b>Riboflavina</b>	1.2	1.5
<b>Ácido Nicotínico</b>	0.85	10-20
<b>Ácido Pantoténico</b>	3.4	10
<b>Piridoxina</b>	0.42	1.5
<b>Cobalamina</b>	0.03	2
<b>Ácido Ascórbico</b>	2.2	10-75

Fuente: Loaiza, 2001

En la elaboración de quesos, se producen dos tipos de lactosuero, dulce y ácido, el primero de ellos se obtiene de la coagulación de leches no ácidas por la acción enzimática de la renina, produciendo quesos de pastas prensadas y pastas cocidas como es el tipo cheddar, entre otros. El suero dulce posee mejores aptitudes para el procesamiento y obtención de subproductos de mayor valor agregado. Mientras que el lactosuero ácido se produce cuando el coagulo se forma por acidificación con un pH de 5.1 o menos, en la elaboración de quesos de pastas frescas y pastas blandas como son el tipo: Cottage y Ricotta, entre otros. (Guerrero y col., 2010).

**Tabla 3.** Clasificación de los tipos de suero según su acidez.

<b>Tipos de Suero</b>	<b>Acidez (%)</b>	<b>pH</b>
<b>Suero dulce</b>	0.1-0.2	5.8-6.6
<b>Suero medio ácido</b>	0.2-0.4	5.0-5.8
<b>Suero ácido</b>	0.4-0.6	4.0-5.0

Fuente: Loaiza, 2001

**Tabla 4.** Composición del lactosuero dulce y ácido.

<b>Compuesto</b>	<b>Suero dulce</b>	<b>Suero ácido</b>
<b>pH</b>	6.5	5.0
<b>Agua</b>	93 - 94 %	94 - 95 %
<b>Extracto Seco</b>	6 - 7 %	5-6 %
<b>Lactosa</b>	4.5 - 5.0 %	3.8 - 4.2 %
<b>Ac. Láctico</b>	Vestigios	0.8 %
<b>Proteínas</b>	0.8 - 1.0 %	0.8 % - 1.0 %
<b>Ac. Cítrico</b>	0.1 %	0.1 %
<b>Cenizas</b>	0.5 - 0.7 %	0.5 - 0.7 %

Fuente: Anahi y Cuellas, 2008.

Para determinar el uso que se le pueda dar a este subproducto es importante conocer las siguientes características fisicoquímicas (Guerrero y col., 2010.).

- a. Materia grasa
- b. Proteína
- c. Lactosa
- d. Sólidos totales
- e. Sales minerales
- f. Cenizas
- g. pH
- h. DQO

#### **2.4. Problemática ambiental del lactosuero**

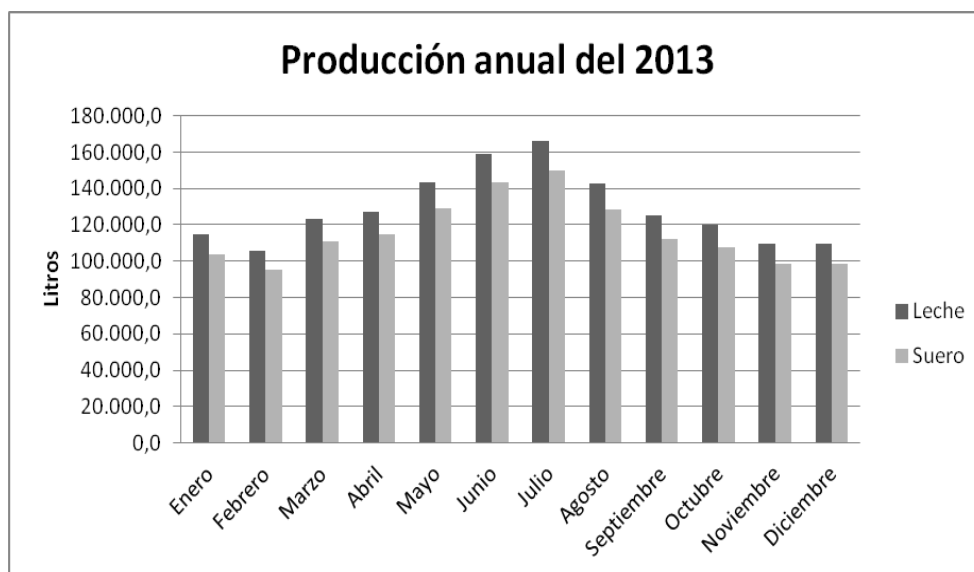
El lactosuero es una sustancia de alto valor nutritivo, pero muy contaminante para suelos y aguas y caro de procesar (Terán y col., 2012). La contaminación de la industria láctea se caracteriza por ser de tipo orgánica y biodegradable con una generación de efluentes líquidos que presentan una rápida tendencia a la fermentación por la conversión de lactosa a ácido láctico (Beldoménico y col., 1992). Se estima que una industria quesera media que produzca diariamente 40.000 litros de suero sin depurar genera una contaminación diaria similar a una población de 1.250.000 habitantes (Valencia y Ramírez, 2009).

A pesar de la diversidad de productos y aplicaciones que ofrece el suero de lechería, se continúa desechando y formando parte de los efluentes contaminantes de las industrias lácteas resultando un serio problema para el ambiente debido al gran volumen de lactosuero que se produce (Londero, 2012). Esto ocurre por su elevada demanda bioquímica de oxígeno (DBO). Al verter el suero en un sistema ecológico acuático, los microorganismos que lo degradan necesitan una gran cantidad del oxígeno disuelto en agua, y si la cantidad de éste baja significativamente, se producen olores fétidos por putrefacción y provoca la muerte de la fauna presente en estos ecosistemas (Carrillo, 2006). La demanda biológica del lactosuero es de 40000 a 50000 de  $O_2$  mg L<sup>-2</sup>, el oxígeno de un río no contaminado es de 10 mg L<sup>-2</sup>, al descender a 4 de  $O_2$  mgL<sup>-1</sup> desaparecen los peces, incluyendo especies poco exigentes en oxígeno. El vertido de un litro de suero causaría la muerte de todos los peces contenidos en 10 toneladas de agua (Londoño y col., 2008). Asimismo, cuando el suero es descargado en suelos puede alcanzar las capas freáticas de agua convirtiéndose en un peligro para la salud de animales y humanos (Carrillo, 2006).

## **2.5. Utilización del suero en Salinas de Guaranda**

Actualmente el lactosuero producido en la quesería de la cooperativa “El Salinerito” se destina a alimentación animal, concretamente para alimentación porcina mezclándolo con restos orgánicos, polvillo de cereal y granos de maíz. El resto del suero es desechado al río con los efluentes.

En la figura 2 se puede observar la recepción anual de leche y la producción anual de suero en la quesera “El Salinerito” en el año 2013. Los datos fueron obtenidos del registro de producción y ventas de la PRODUCCOOP. Los valores de producción de suero anual se estimaron teniendo en cuenta que supone un 90% de la leche destinada a producción de queso. En la gráfica podemos observar que la cantidad de leche recibida en la quesera, oscila entre 105.000 litros y 167.000 litros entre los meses de febrero y julio. Este incremento de producción de leche es debido a un mayor rendimiento de los pastos a lo largo de la estación de lluvias. Sin embargo se observa un claro descenso en la producción de leche entre julio y diciembre, debido a que corresponde a la estación de fuertes vientos y sequía, en la que los pastos se secan y en consecuencia las vacas producen menor cantidad de leche.



**Figura 2.** Producción anual de leche y suero en Salinas de Guaranda en el 2013.

## 2.6. Usos y aplicaciones para el lactosuero

Para la industria alimentaria, el lactosuero constituye una fuente de proteínas que otorga múltiples propiedades en una amplia gama de alimentos. Los productos del suero, incluyendo la lactosa, mejoran la textura, realzan el sabor y color, emulsifican y estabilizan, mejoran las propiedades de flujo y muestran muchas otras propiedades funcionales que aumentan la calidad de los productos alimenticios. Basados en el valor nutricional del lactosuero, se han obtenido una gran cantidad de subproductos con usos comerciales, tales como etanol, ácidos orgánicos, bebidas no alcohólicas, bebidas fermentadas, biomasa, concentrados, aislados e hidrolizados de proteína, películas comestibles, medio de soporte para encapsular sustancias, producción de xantana, enzimas, separación de la lactosa para fines endulzantes en alimentos entre otras aplicaciones.

Dentro de las posibles aplicaciones de los derivados del suero en la elaboración de alimentos se pueden mencionar, las proteínas del suero lácteo en sus formas de concentrados proteicos y aislados en alimentos lácteos (helados, yogures, productos untables y de bajas calorías), productos cárnicos (carnes procesadas, embutidos), panificados (bases para pasteles, galletitas, barras nutritivas), confitería (chocolates, coberturas, caramelos) y bebidas (mezclas con cacao, crema para café, bebidas para deportistas); lactosa para alimentos dietéticos, dulces y productos farmacéuticos.

El alto contenido proteico del suero hace que tenga propiedades espumantes y emulsionantes, lo que hace interesante su utilización en la industria agroalimentaria. Además puede utilizarse para enriquecer alimentos, mejorando su calidad nutricional (Pescuma y col., 2008).

Las bebidas de lactosuero constituyen un segmento emergente de productos lácteos, que requiere una caracterización fisicoquímica y sensorial para el control de calidad y desarrollo del producto (Gallardo-Escamilla, 2007).

Las tecnologías disponibles actualmente para el pretratamiento y procesamiento del suero son equipos para desnatado, clarificación y pasteurización (pretratamiento) y tecnologías de membrana y de secado en Spray (procesamiento). El fraccionamiento del suero lácteo proporciona una interesante posibilidad comercial en la fabricación de productos alimenticios. Es por esto que actualmente se encuentran en desarrollo nuevos procesos para la obtención de alimentos y productos de elevada calidad nutricional ([www.alimentosargentinos.gob.ar](http://www.alimentosargentinos.gob.ar)).

Cualquier alternativa a la hora de agregarle valor al suero dependerá de una serie de factores tales como el tamaño de la empresa, logística, capacidad de inversión y mercados. (Terán y col., 2012).

La conversión del suero a biogás también es una alternativa viable siempre y cuando se tenga en cuenta todos los factores que influyen en la digestión anaerobia (Viquez, 2012). Los tratamientos aeróbicos como los lodos activados no son apropiados para el tratamiento del suero. La digestión anaerobia ofrece ventajas energéticas al producir biogás y no consumir energía en los procesos de aireación, así como ventajas ambientales al reducir el contenido orgánico del suero (Saddoud y col., 2007). El biogás puede utilizarse en la industria láctea para alimentar calderas o marmitas. (Viquez, 2012). Por cada 100 litros de suero, proveniente de la producción de 10 Kg de queso, aproximadamente se podría producir potencialmente el equivalente a 2 l de gasolina en biogás. (Walsh y col., 1988).



## 2.7. Probióticos

Los probióticos se definen como microorganismos vivos que, al administrarse en cantidades adecuadas, confieren un beneficio a la salud o en la fisiología del huésped. La forma más frecuente de consumir probióticos es a través de alimentos lácteos que contienen especies intestinales de lactobacillus y bifidobacterias; por los efectos benéficos adicionales a los nutritivos, estos alimentos se consideran en el grupo de los alimentos funcionales (Figuroa-Gonzalez y col., 2011).

Una vez que los probióticos son ingeridos ocurren cambios en la microflora intestinal que repercuten positivamente en el estado de salud del consumidor. Contribuyen al mantenimiento de un equilibrio saludable de bacterias dentro del tracto gastrointestinal. Las bacterias probióticas ejercen su influencia beneficiosa de varias maneras. Algunas producen sustancias antimicrobianas, otras compiten con las bacterias patógenas por los nutrientes o por los puntos de unión en la pared intestinal, y otras modulan el sistema inmunitario del huésped (FAO, Probióticos en los alimentos, 2006). Sea cual sea el mecanismo, para que los efectos favorables se aprecien y duren es necesario consumir bacterias probióticas de manera regular, ya que tan solo pasan por el tracto intestinal, sin pasar a formar parte de la microflora intestinal del huésped.

Entre las bacterias probióticas más utilizadas para el consumo humano se encuentran las llamadas bacterias ácido lácticas (BAL), que incluyen las siguientes: *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, *L. casei*, *L. casei spp rhamnosus*, *L. delbrueckii spp bulgaricus*, *L. fermentum*, *L. reuteri*, *Lactococcus lactis spp lactis*, *Lactococcus lactis spp. Cremoris*, *Bifidobacterium bifidum*, *B. infantis*, *B. adolescentis*, *B. longum*, *B. breve*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, entre otros (Taranto y col., 2005). También se consideran probióticas las bacterias ácido propiónicas (BAP) cuya inclusión al grupo es bastante reciente, especialmente las del género *propionibacterium* (Vorobjeva y col., 2008).

Las BAL, además de contribuir en la biopreservación de los alimentos, mejoran las características sensoriales, como el sabor, olor, textura y aumentan su calidad nutritiva (Ramírez y col., 2011). Se observan efectos similares para la salud en el caso de bacterias iniciadoras de la fermentación de la lactosa, por ejemplo *L. delbrueckii*.

*Ssp. Bulgaricus* y *S. thermophilus* en productos lácteos fermentados como el yogur (FAO, Probióticos en los alimentos, 2006).

Las bacterias probióticas se desarrollan lentamente en la leche debido a una falta de actividad proteolítica (Oliveira y col., 2001) y a menudo pierden viabilidad durante el almacenamiento en refrigeración (Lucas y col, 2004.). Normalmente se añaden bacterias convencionales para el yogur, como pueden ser, *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* para reducir el tiempo de fermentación en la producción del yogur (Oliveira y col., 2001). Es importante tener en cuenta la viabilidad de las cepas utilizadas, a lo largo de la vida útil del producto y en el momento de su consumo, para garantizar que ofrezca beneficios para la salud del consumidor (Kristo y col., 2003).

## **CAPÍTULO 3: OBJETIVOS**

### **3.1. OBJETIVOS**

El objetivo del presente trabajo es realizar el estudio y diseño de una nueva bebida láctea fermentada funcional a partir del suero lácteo producido en la quesería de Salinas de Guaranda, Ecuador.

Dicho objetivo servirá a su vez para conseguir los siguientes subobjetivos:

- Proponer una solución al problema de vertido del lactosuero en la comunidad de Salinas de Guaranda.
- Obtener los parámetros básicos para desarrollar un nuevo subproducto fermentado a partir del lactosuero.
- Desarrollar a pequeña escala un producto fermentado funcional con el fin de obtener beneficios económicos, medioambientales y para la salud de los consumidores.
- Realizar un análisis económico para la proyección del producto a nivel industrial y realizar una propuesta de aplicación del nuevo producto.
- Generar una conciencia ambiental sobre la importancia de la valorización de residuos orgánicos.

## **CAPÍTULO 4: MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **4.1. Localización**

El desarrollo de la investigación de la bebida láctea se llevó a cabo en las instalaciones de la quesera “El Salinerito” (PRODUCCOOP) en Salinas de Guaranda, Ecuador. Los análisis físico-químicos y microbiológicos se realizaron tanto en el laboratorio Laconal de la Universidad Técnica de Ambato (UTA) y en el laboratorio de la quesera.

#### **4.2. Plan de trabajo y diseños experimentales**

En el presente trabajo se realizó un estudio exploratorio y analítico mediante una exhaustiva revisión bibliográfica. Una vez recopilada toda la documentación se llevó a cabo un plan de trabajo experimental con el fin de desarrollar el producto lácteo fermentado.

Inicialmente, se llevaron a cabo una serie de pruebas preliminares con el fin de establecer las variables de concentración de cultivo, tiempo y temperatura de fermentación. Una vez definido el proceso básico de elaboración, el desarrollo del producto implicó la aplicación de varios diseños experimentales en los que se manipularon una serie de variables o factores independientes, para determinar su influencia, bajo criterios estadísticos, en diversas variables dependientes.

Variables independientes:

- Proporción de leche y suero en el producto.
- Adición de saborizantes, colorantes, mermeladas de frutas.
- Edulcoración con sacarosa y/o con Stevia.
- Nivel de edulcoración.

Variables dependientes:

- Características físico-químicas.
- Características microbiológicas.
- Tiempo de vida útil.
- Preferencias sensoriales.

La unidad experimental correspondió a 10 litros de bebida fermentada elaborada según las operaciones descritas en el apartado 4.5. Cada lote elaborado se envasó en recipientes plásticos de 500 ml, que se convirtieron en la unidad de muestreo para la determinación de características físico-químicas (proteínas, grasa, sólidos totales y cenizas), microbiológicas y sensoriales.

A la hora de estructurar el trabajo, se realizaron 3 diseños experimentales:

### **Diseño I:**

El Grupo 1 de bebidas consistió en la elaboración de tres formulaciones base, la primera con 100% de suero (F1-100), la segunda con un 80% de suero y un 20% de leche (F2-80-20) y una tercera a base de un 70% de suero y 30% de leche (F3-70-30). Adicionalmente, a partir de cada una de las formulaciones se elaboraron tres bebidas, una natural y dos con sabor a fresa y a melocotón utilizando los saborizantes y colorantes artificiales que disponían en la quesera. En el apartado 4.7. (Tabla 5.) se encuentran las especificaciones de la formulación de este primer grupo de bebidas.

El Grupo 1 de bebidas sirvió para llevar a cabo un estudio previo basado en un análisis sensorial mediante una prueba hedónica en consumidores, lo cual se especifica en el apartado 4.8.1. Este estudio inicial tuvo la finalidad de establecer la mejor formulación base y encontrar orientación sobre las preferencias de los consumidores locales.

### **Diseños II y III:**

A partir de los resultados obtenidos del Diseño experimental I, se escogió la formulación base F2-80-20 y el estudio dio un giro hacia otro tipo de bebidas más naturales y funcionales. Se descartó por completo la utilización de colorantes y saborizantes artificiales sustituyéndolos por mermeladas elaboradas en Salinas de Guaranda, de arándanos (ARA) y de fresa (FR). Por otro lado se decidió hacer una bebida para diabéticos utilizando un edulcorante natural llamado Stevia (St) y otra bebida con un 50% de azúcar (Az) y un 50% de Stevia.

Se elaboró el Grupo 2 de bebidas (F2-80-20 Nat100%St, F2-80-20Nat-50%Az-50%St, F2-80-20ARA, F2-80-20FR), con el cual se realizaron una serie de pruebas de análisis sensorial.

Se llevó a cabo una prueba triangular para determinar si un grupo de 17 jueces era capaz de distinguir la bebida natural elaborada con un 100% de Stevia de la elaborada con un 50% de Stevia y un 50% de azúcar (apartado 4.8.2.). Complementariamente, ambos tipos de bebidas fueron utilizadas también para determinar el umbral de diferencia de los edulcorantes, con el fin de ajustar la concentración de los mismos (Diseño III, apartado 4.8.3.).

Y por último, se llevó a cabo una prueba hedónica con el Grupo 2 de bebidas lácteas fermentadas (apartado 4.8.4.).

Una vez definidas las formulaciones de las bebidas del Grupo 2, tal y como se especifica en los apartados 4.9 y 4.10, se procedió a la su caracterización físico-química (acidez, pH, sólidos totales, contenido de grasa, contenido de proteínas y cenizas) y microbiológica (Aerobios mesófilos, *E. Coli*, *Coliformes Totales*, *Lysteria Monocytogenes*, mohos y levaduras).

#### **Diseño IV:**

Por último, estaba previsto calcular la vida útil de las bebidas lácteas fermentadas funcionales en base al método PAVU explicado en el apartado 4.11. No fue posible terminar las pruebas requeridas, por falta de recursos y de tiempo.

### **4.3. Materia prima**

La leche utilizada para la bebida provenía de los productores de la zona y se adquirió en la misma quesera de “El Salinerito”, al igual que el suero restante de la producción de quesos. Como edulcorantes se utilizaron Stevia (Pharmabrand, Ecuador) y sacarosa (San Carlos, Ecuador). Inicialmente se utilizaron especies lácticas compuestas por *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii subs. bulgaricus* (YO-MIX™ 300 LYO 10 DCU, DANISCO, Dinamarca) proporcionadas por la Universidad Pública de Navarra. Una vez agotados se comenzó a utilizar un nuevo fermento compuesto por *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii*



*ssp.bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium animalis ssp.lactis* (Lyofast YAB 450 BB, SACCO, Italia) con el fin de elaborar una bebida láctea fermentada funcional. En un principio también se utilizaron colorantes achiote AP-10 CO- AP10 y carmín cochinilla 5% (CHR HANSEN, Dinamarca) y los saborizantes de concentrado de Melocotón CS- 7423 y concentrado de fresa CS 6470 (NOVAROM, Argentina), que después se sustituyeron por mermeladas de fresa y mortiño adquiridas en las plantas procesadoras de Gruppo Salinas.

#### **4.4. Descripción del proceso de elaboración de la bebida fermentada**

A continuación se describirá detalladamente el proceso de elaboración de la bebida fermentada, teniendo en cuenta los requisitos que se deben cumplir (Figura 3).

- **Recepción de materia prima**

Este primer paso se llevó a cabo con las debidas precauciones para obtener un producto final de buena calidad. La recolección tanto del suero fresco como de la leche se realizó bajo normas higiénicas (NTE INEN 09:2012 y 10:2012), utilizando envases plásticos desinfectados. El suero se obtuvo durante el procesamiento de diferentes variedades de queso. Se realizó una inspección visual del suero y la leche para verificar la ausencia de material contaminante y se lleva a cabo un control de pH, densidad y acidez.

Para que la empresa pueda hacer frente a los cambios de precio y disponibilidad de materias primas, hace que resulte muy difícil obtener un lactosuero de composición constante (Valencia, 2008).

- **Filtración**

La leche receptada se filtró pasándola por un paño limpio con el fin de retener sólidos y materias extrañas que pudieran afectar a la calidad del producto final. El suero se filtró para evitar trozos de queso.

- **Adición del conservante**

Los conservantes usados en productos lácteos fermentados son sorbato y benzoato de sodio, sin embargo el consumidor actual es cada vez más exigente en cuanto a la calidad de los productos que consume y prefiere que éstos sean naturales, saludables y seguros.

En el caso de la bebida fermentada se requiere la adición 0.1% de sorbato de potasio (E202), que se añadió antes del tratamiento térmico para evitar contaminaciones. Es un conservante fungicida y bactericida.

- **Pasteurización**

La pasteurización se llevó a cabo en una marmita de acero inoxidable con agitación constante para asegurar la homogeneización tanto de la leche como del suero. La leche fue pasteurizada a 85°C durante 10 minutos para eliminar las bacterias patógenas y desnaturalizar proteínas y grasas. La desnaturalización aporta un mejor flavor del producto final. El suero se pasteurizó a 70 °C durante 15 segundos.

- **Mezclado/ homogeneización**

La homogeneización se realiza con la finalidad de un mejoramiento de la viscosidad, consistencia y estabilidad del producto final. Una vez completado el tratamiento térmico se procedió a mezclar la leche y el suero, para ser luego homogeneizado a una temperatura de 40°C para evitar la separación de sus componentes y obtener un producto uniforme.

- **Inoculación**

Una vez que la mezcla alcanzó la temperatura óptima de inoculación (37- 41° C) se adicionaron cultivos lácticos (Lyofast YAB 450 BB, SACCO, Italia) a una concentración de 0.07g/l.

- **Incubación**

Dado que la actividad microbiana está determinada principalmente por la temperatura de incubación y la cantidad de inóculo agregado, se introduce la bebida inoculada en un autoclave (MEMMERT, Alemania) a 43 °C durante 5 horas, hasta que tenga una apariencia más cremosa así como un aroma característico proporcionado por las sustancias producidas por el cultivo empleado.

- **Enfriado**

Una vez transcurrido el tiempo de incubación, se enfrió la bebida hasta alcanzar una temperatura de 10 °C. De esta forma se detiene el crecimiento de las bacterias (Novoa y col., 2009).

- **Adición de la mermelada**

Para elaborar las bebidas saborizadas, se añadió la mermelada (arándano o fresa), una vez que la bebida se ha enfriado (10-15 °C) con la finalidad de agregar mejor los ingredientes, evitar un aumento de pH y la ruptura del coágulo.

- **Homogeneización**

La mezcla de la bebida fermentada y la mermelada, se licuó con una batidora domestica (Oster, Venezuela) a temperatura ambiente, con la finalidad de homogeneizar bien la mezcla. La homogeneización contribuye a la estabilidad de la grasa y a disminuir su velocidad de separación, aumenta la viscosidad y adquiere mejor cuerpo y sabor (Novoa y col., 2009).

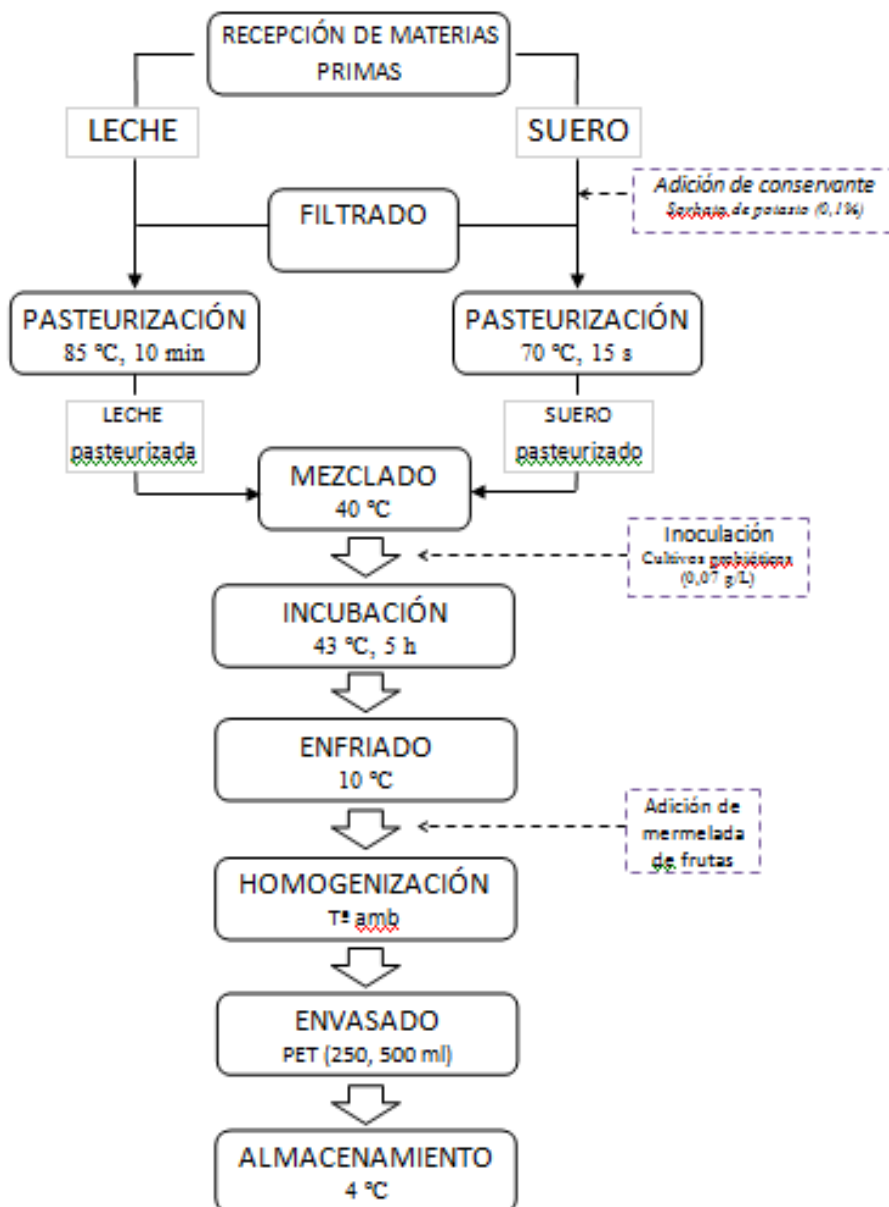
- **Envasado**

El producto se envasó en botellas de polietileno de alta densidad (PEAD) de 250 ml y 500 ml.

- **Almacenamiento**

Finalmente la bebida fue almacenada en condiciones de refrigeración (4°C), para ser luego sometida a los ensayos de evaluación sensorial, físico-químicos y microbiológicos.

#### 4.5. Diagrama de flujo



**Figura 3.** Diagrama de flujo de la bebida láctea fermentada.

#### 4.6. Formulación de las bebidas lácteas fermentadas

Todos los ingredientes utilizados en la elaboración de la bebida fermentada deben encontrarse libre de microorganismos patógenos y no deben contener componente alguno que pueda inhibir el crecimiento de microorganismos en el momento de la inoculación del cultivo.

Según el diseño experimental I, se llevaron a cabo una serie de pruebas preliminares en las que se establecieron todos los parámetros (dosis del inóculo, temperatura y tiempo de fermentación) a tener en cuenta a la hora de elaborar una bebida láctea fermentada. Se elaboraron tres bebidas con distintas proporciones de suero y leche, la primera con 100% suero (F1-100), la segunda con 80% suero y 20% leche (F2-80-20) y la tercera con 70% suero y 30% leche (F3-70-30), utilizando los fermentos lácticos (YO-MIX<sup>TM</sup> 300 LYO 10 DCU, DANISCO, Dinamarca). A partir de cada formulación base se hicieron tres bebidas de sabores diferentes: natural (Nat), fresa (Fr) y melocotón (M) (Tabla 5). En la elaboración de las bebidas saborizadas se utilizaron los colorantes achiote AP-10 CO- AP10 y carmín cochinilla 5% (CHR HANSEN, Dinamarca) y los saborizantes de concentrado de Melocotón CS- 7423 y concentrado de fresa CS 6470 (NOVAROM, Argentina).

**Tabla 5.** Formulación del Grupo 1 de bebidas lácteas fermentadas.

INGREDIENTES	F1-100Nat	F1-100Fr	F1-100M	F2-80-20Nat	F2-80-20Fr	F2-80-20M	F3-70-30Nat	F3-70-30Fr	F3-70-30M
Lactosuero	100%	100%	100%	80%	80%	80%	70%	70%	70%
Leche	0%	0%	0%	20%	20%	20%	30%	30%	30%
Azúcar (%)	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Sorbato de potasio (%)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Colorante Carmín cochinilla (ml/l)		0,2			0,2			0,2	
Colorante Achiote (ml/l)			0,2			0,2			0,2
Concentrado de fresa (ml/l)		0,28			0,28			0,28	
Concentrado melocotón (ml/l)			0,24			0,24			0,24
Fermentos lácticos (g/l)	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07

Una vez formuladas las 9 bebidas, se llevó a cabo un análisis sensorial basado en una prueba hedónica en consumidores. A partir de los resultados de esta prueba se decidió formular nuevas bebidas más naturales y funcionales (Grupo 2). En la tabla 6 se listan las materias primas utilizadas en la elaboración del Grupo 2 de bebidas.

**Tabla 6.** Ingredientes para la formulación del Grupo 2 de bebidas lácteas fermentadas.

<b>MATERIA PRIMA</b>	<b>ESPECIFICACIONES</b>	<b>MARCA</b>
<b>Lactosuero</b>	Suero Dulce	El Salinerito, Ecuador
<b>Leche</b>	Pasteurizada	El Salinerito, Ecuador
<b>Azúcar</b>	Granulada	San Carlos, Ecuador
<b>Stevia</b>	Granulada	Pharmabrand, Ecuador
<b>Sorbato de Potasio</b>	Granulado, blanco, esférico	
<b>Mermelada</b>	Arándanos y fresa	El Salinerito, Ecuador
<b>Fermentos</b>	<i>Streptococcus thermophilus,</i> <i>Lactobacillus acidophilus,</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> <i>subsp. Bulgaricus,</i> <i>Bifidobacterium animalis ssp.</i> <i>Lactis</i>	SACCO, Italia

#### 4.7. Caracterización del producto

Al final del proceso productivo, se seleccionaron muestras representativas de cada lote para determinar las características sensoriales, físico-químicas (acidez, pH, sólidos totales, contenido de grasa, contenido de proteínas y cenizas) y microbiológicas (Aerobios mesófilos, *E. Coli*, *Coliformes Totales*, *Lysteria Monocytogenes*, mohos y levaduras).

#### 4.8. Análisis sensorial

La importancia de la evaluación sensorial en las industrias agroalimentarias radica principalmente en aspectos como:

- Control del proceso de elaboración: el análisis sensorial se debe realizar en cada una de las materias primas que entran en el proceso y en el producto final.
- Vigilancia del producto: este principio es importante para la estandarización de la vida útil del producto y las condiciones que se deben tener en cuenta para la comercialización del producto.

- Condiciones de almacenamiento: es necesario mantener el producto bajo condiciones óptimas de almacenamiento para que no se alteren las características sensoriales.
- Sensación experimentada por el consumidor: se basa en el grado de aceptación o rechazo del producto por parte del consumidor. Se debe tener claro los atributos a medir.
- La evaluación sensorial también permite medir el tiempo de vida útil de un producto alimenticio.

En la Tabla 7 se indican los códigos de muestra y las especificaciones de las bebidas elaboradas en el presente trabajo, así como las diferentes Pruebas de Análisis Sensorial a las cuales fueron sometidas.

Las fichas técnicas utilizadas para los análisis sensoriales se encuentran en el ANEXO II.

**Tabla 7.** Códigos y especificaciones de las muestras de bebidas lácteas fermentadas utilizadas en las diferentes pruebas de análisis sensorial.

		<b>Código de muestra</b>	<b>Especificaciones</b>	<b>Diseño experimental Análisis sensorial</b>
<b>Grupo 1</b>	1	F1-100-Nat	Natural 100:0, suero:leche	<b>Diseño I</b> Prueba Hedónica en consumidores (n:52)
	2	F2-80-20-Nat	Natural 80:20, suero:leche	
	3	F3-70-30-Nat	Natural 70:30, suero:leche	
	4	F1-100-Fr	Fresa 100:0, suero:leche	
	5	F2-80-20-Fr	Fresa 80:20, suero:leche	
	6	F3-70-30-Fr	Fresa 70:30, suero:leche	
	7	F1-100-M	Melocotón 100:0, suero:leche	
	8	F2-80-20-M	Melocotón 80:20, suero:leche	
	9	F3-70-30-M	Melocotón 70:30, suero:leche	
<b>Grupo 2</b>	10	F2-80-20-Nat100%	Natural 80:20, suero:leche 100:0 Stevia	<b>Diseño II y III</b> Prueba Triangular (10 y 11) Umbral de Diferencia (10 y 11) Prueba Hedónica (n:17) (10 a 13)
	11	F2-80-20-Nat50%	Natural 80:20, suero:leche 50:50 Stevia:azúcar	
	12	F2-80-20-FR	Mermelada de fresa – 80:20, suero:leche	
	13	F2-80-20-ARA	Mermelada de arándanos – 80:20, suero:leche	

#### **4.8.1. Prueba hedónica 1**

Primeramente se realizó una evaluación sensorial a partir de una prueba de aceptación en consumidores de la localidad de Salinas de Guaranda, Ecuador con el fin de elegir la formulación de la bebida más aceptada del Grupo 1 (sin olvidar el objetivo de maximizar la valorización del suero). En este análisis previo participaron 52 personas de edades comprendidas entre 15 y 55 años que evaluaron los atributos: textura, el color y el sabor de tres formulaciones distintas de la bebida con sabor natural, fresa y melocotón (Tabla 5). Para medir el grado de aceptación de las formulaciones elaboradas se utilizó una escala hedónica de 5 puntos, donde 1 denotaba “me gusta muchísimo” y 5 “me disgusta muchísimo”. La ficha utilizada para el análisis sensorial mediante la prueba hedónica se encuentra en el anexo II.

Una vez analizado el perfil de la bebida, en función del nivel de aceptación de los potenciales consumidores, se procedió a reformular la bebida variando el contenido de edulcorantes y reemplazando los saborizantes y colorantes sintéticos por mermeladas elaboradas en Salinas de Guaranda (Tabla 6).

#### **4.8.2. Prueba triangular**

Con el Grupo 2 de bebidas lácteas fermentadas se realizaron diferentes Pruebas Triangulares con la finalidad de entrenar a un panel de 17 jueces en la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos (FCIAL, UTA) de edades comprendidas entre 20 y 25. La primera Prueba Triangular tuvo como objetivo determinar si los jueces eran capaces de distinguir diferentes marcas de bebidas lácteas comerciales y la segunda prueba triangular se realizó con el fin de determinar si los jueces eran capaces de distinguir las muestras de bebidas formuladas con un 50% de azúcar y 50% de Stevia de las elaboradas con un 100% de Stevia. Asimismo, se evaluaron las preferencias respecto a cada par de muestras y el nivel de dificultad en la determinación de la diferencia.

#### **4.8.3. Determinación del umbral de diferencia**

A continuación, con la finalidad de definir la concentración de edulcorante que se utilizaría en la formulación final, se realizó una Prueba de Umbral Diferencial para las bebidas F2-80-20Nat100%Stevia y F2-80-20Nat50% del Grupo 2. El objetivo del



análisis fue establecer el umbral de diferencia a partir de una muestra patrón, 3 g/L en el caso de la F2-80-20Nat100%Stevia y 30 g/L de azúcar para la F2-80-20Nat50%. Se prepararon una serie de muestras de las siguientes concentraciones: 10, 20, 30, 40, 50 g/L de azúcar y 1, 2, 3, 4, 5 g/L de Stevia. Teniendo en cuenta las respuestas de los catadores (aciertos, fallos) se determinó el Intervalo de incertidumbre y el Umbral diferencial siguiendo la metodología propuesta por (Saltos, 2010).

Los catadores debían ensayar la solución patrón y seguidamente se les ofrecía otra muestra de mayor o menor concentración para que anotasen si era de mayor o menor concentración que la muestra patrón. Las respuestas debían recogerse en una tabla (Anexo II, Ficha 4) expresándolas como porcentaje en los siguientes tipos de respuesta:

- Mayor dulzor ( $R > P$ )
- Dudoso o igual dulzor ( $R = P$ )
- Menor dulzor que el patrón ( $R < P$ )
- Aciertos 100- ( $R < P$ )

Graficando  $100-(R < P)$  y la concentración del edulcorante en porcentaje se obtiene el umbral de diferencia entre ambas líneas de tendencia teniendo el punto medio la concentración de la muestra patrón.

La prueba de Umbral de diferencia sirve para minimizar costes de producción, ya que permite establecer un rango de concentraciones de los edulcorantes, en el que el consumidor no es capaz de distinguir. De tal manera que al elegir la menor concentración del umbral se conseguiría ahorrar en edulcorantes.

#### **4.8.4. Prueba hedónica 2**

Una vez definida la concentración de edulcorantes en la formulación final, el panel procedió a evaluar el sabor, olor, color, textura y sabor residual del Grupo 2 de bebidas lácteas fermentadas, con la misma escala hedónica de 5 puntos utilizada previamente.

#### **4.8.5. Análisis estadístico**

Para evaluar si las diferencias entre las medias de las valoraciones hedónicas dadas por los catadores eran significativas se llevó a cabo un análisis de varianza (ANOVA) mediante el programa estadístico Statgraphics Centurión XV. Los resultados de las Pruebas triangulares se sometieron al test binomial (Saltos, 2010), con el propósito de determinar si entre dos productos se identificaba alguna diferencia referida al conjunto de atributos característicos de las muestras.

#### **4.9. Análisis físico-químicos**

##### **4.9.1. Acidez y pH**

Siguiendo el Diseño experimental II, la acidez o el contenido en ácido láctico se midió con una solución de NaOH (Tecnilac, Ecuador), 0.1 N, utilizando fenolftaleína (Tecnilac, Ecuador) como indicador (Guevara, 2011). Se determinó el contenido de ácido láctico en el producto inoculado a intervalos de 1 h durante 5 h de incubación. Se construyó la correspondiente curva de acidez (Y) vs. Tiempo de inoculación (X). La acidez se expresó como contenido de ácido láctico mediante la siguiente fórmula:

$$MI \text{ Na OH} * N * meq. \text{ Ácido} * 100 / \text{muestra} = \% \text{ A. T. (ácido láctico)}$$

Donde:

N: normalidad de NaOH

Meq: miliequivalente

A.T.: Acidez total

La variación de pH se determinó con un medidor de pH digital (Eco Testr), a intervalos de 1 h durante las 5 h de incubación a 43°C.

##### **4.9.2. Contenido en sólidos totales y cenizas**

El contenido de sólidos totales se determinó gravimétricamente en estufa a 100 °C durante 3 h, utilizando un peso inicial de muestra de 3 g (AOAC Ed 19927.05). Transcurrido este tiempo se registra su peso en una balanza analítica y se calcula la humedad de la muestra para determinar los sólidos totales a partir de la siguiente fórmula.

$$\% \text{ Sólidos Totales} = 100 - \text{humedad}$$

La determinación del contenido de cenizas se realizó a partir de 3g de muestra que fue sometida a una evaporación en una estufa a 130 °C durante 2 horas, para ser luego incinerada a 550 °C durante 4 (PE05-5.4-FQ. AOAC Ed 19, 2012 930.30).

#### **4.9.3. Contenido de materia grasa**

El contenido de materia grasa se midió siguiendo el principio del método Soxhlet (Morales, 2011), teniendo en cuenta la norma AOAC 2000, 18 Gerber, Ed 19, 2012. El método consiste en someter la muestra previamente homogeneizada y seca, a una extracción con éter de petróleo (Fisher Scientific, EE.UU.) con la finalidad de extraer la materia grasa libre total.

#### **4.9.4. Contenido en proteínas**

Para determinar el contenido de nitrógeno total de las bebidas lácteas fermentadas se utilizó el método Kjeldahl teniendo en cuenta la norma AOAC 991.2 Ed 19, 2012. El procedimiento de Kjeldahl determina la materia nitrogenada total para luego ser transformado a través de un factor (6.36) en proteína. Para ello, se descompone la materia orgánica bajo calentamiento en presencia de ácido sulfúrico concentrado (96.6%, Fisher Scientific, EE.UU.). De esta forma se produce sulfato de amonio que sometido a un exceso de hidróxido de sodio libera amoníaco, el cual es finalmente cuantificado (Morales, 2011). La fórmula utilizada para calcular el contenido de proteína (%) figura a continuación:

$$\% \text{ de proteína} = 14 N V \text{ factor } 100/m 1000$$

Donde:

N= normalidad de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

V= Volumen gastado de H<sub>2</sub> SO<sub>4</sub>

Factor = 6,36

M = masa de la muestra en gramos

#### **4.10. Análisis microbiológico**

El recuento de microorganismos viables se realizó mediante los métodos de diluciones sucesivas del producto elaborado y siembra en Petrifilm (3M, EE.UU.) teniendo en cuenta la Norma Técnica Ecuatoriana de leches fermentadas (NTE INEN

2564:2011), se determinó el contenido de *aerobios mesófilos*, *coliformes totales*, *E. Coli* y *Listeria monocytogenes*. Además se midieron mohos y levaduras.

Para el recuento de aeróbios mesófilos, las placas se incubaron durante 48 h a 35 °C. Para la determinación de *E. Coli* se incubaron a 35 °C durante 24 horas y coliformes totales a 35 °C durante 48 horas, El recuento de mohos y levaduras se llevó a cabo incubando a 25 °C durante 5 días, mientras que para la determinación de *Listeria Monocytogenes* se incubó a 35°C durante 24 horas.

En el Anexo I se exponen los requisitos microbiológicos que deben cumplir las bebidas lactofermentadas, establecidos por la Norma Técnica Ecuatoriana (NTE INEN 2564:2011) de bebidas lácteas.

#### **4.11. Determinación del tiempo de vida útil**

La vida útil está basada en la cantidad de pérdida de calidad que se permitirá antes del consumo del producto. Para los consumidores, el extremo de vida útil es el tiempo cuando el producto absolutamente ya no tiene un sabor aceptable. Desde el punto de vista de la producción de un nuevo producto el conocimiento de la vida útil es un aspecto muy importante. Debe al menos exceder el tiempo mínimo requerido de distribución del productor al consumidor.

La vida útil es controlada por:

- la interacción de los componentes del sistema.
- el proceso empleado.
- la permeabilidad del empaque a la luz, la humedad y los gases.
- la distribución de la humedad y tiempo-temperatura relativa durante el transporte y almacenaje.

El productor debe tener un conocimiento de estos factores así como de las maneras críticas de falla del alimento. Con esta información, el productor puede entonces elegir los mejores sistemas para maximizar la vida de almacén. Poner sobre el producto una fecha abierta que indique la vida de alta calidad del producto.

Para determinar la vida útil del producto elaborado, se utilizó el método PAVU. La primera prueba se realizó a temperatura ambiente (10-12 °C), la segunda a temperatura de refrigeración (4 °C) sin Sorbato de potasio y la tercera a temperatura de refrigeración con Sorbato de Potasio. Las dos primeras pruebas por 21 días y la tercera por 35 días.

Para las dos primeras pruebas se tomaron 10 envases de 500 ml, los mismos que fueron abiertos para evaluar características como el sabor, aroma, textura y pH.

## **CAPÍTULO 5: RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## 5.1. Análisis sensorial

### 5.1.1. Prueba hedónica 1

Según los resultados obtenidos mediante la prueba hedónica realizada en consumidores se observa que las mayores valoraciones correspondieron a las muestras F2-80-20-M y F3-70-30-M para los tres atributos analizados; textura, sabor y color. Mientras que las menores valoraciones fueron dadas para la muestra F1-100-M para el atributo de textura y la muestra F1-100-Nat para los atributos de sabor y color, por lo que la formulación base de 100% suero fue claramente descartada.

Entre las formulaciones de 80% y 70% de suero no hubo grandes diferencias por lo que se eligió la primera opción con el fin de aprovechar la mayor cantidad de suero posible e incrementar el rendimiento de la formulación.

**Tabla 8.** Resultados del análisis ANOVA de la valoración hedónica previa.

<b>VALORACIÓN HEDÓNICA (Media ± desviación estándar)</b>			
<b>MUESTRAS</b>	<b>TEXTURA</b>	<b>SABOR</b>	<b>COLOR</b>
<b>F1-100-Nat</b>	2,48 ± 0,92 <sup>b</sup>	2,70 ± 0,87 <sup>b</sup>	2,82 ± 1,05 <sup>a</sup>
<b>F2-80-20-Nat</b>	1,90 ± 0,89 <sup>a</sup>	2,13 ± 0,9 <sup>a</sup>	2,18 ± 0,91 <sup>b</sup>
<b>F3-70-30-Nat</b>	2,27 ± 0,74 <sup>b</sup>	2,47 ± 0,91 <sup>ab</sup>	2,35 ± 0,87 <sup>b</sup>
<b>F1-100-Fr</b>	2,34 ± 1,01 <sup>b</sup>	2,38 ± 0,9 <sup>a</sup>	2,22 ± 0,94 <sup>a</sup>
<b>F2-80-20-Fr</b>	1,98 ± 0,83 <sup>a</sup>	2,06 ± 0,74 <sup>a</sup>	2,14 ± 0,87 <sup>a</sup>
<b>F3-70-30-Fr</b>	1,92 ± 0,81 <sup>a</sup>	2,13 ± 0,86 <sup>a</sup>	2,14 ± 0,87 <sup>a</sup>
<b>F1-100-M</b>	2,50 ± 1,08 <sup>b</sup>	2,58 ± 0,86 <sup>b</sup>	2,37 ± 1,08 <sup>b</sup>
<b>F2-80-20-M</b>	1,84 ± 0,8 <sup>a</sup>	1,94 ± 0,66 <sup>a</sup>	2,04 ± 0,89 <sup>ab</sup>
<b>F3-70-30-M</b>	1,87 ± 0,89 <sup>a</sup>	1,85 ± 0,84 <sup>a</sup>	1,90 ± 0,83 <sup>a</sup>

Por otro lado, a partir de las sugerencias de los consumidores, se optó por formular bebidas más naturales utilizando mermeladas propias de la marca “El Salinerito” en lugar de colorantes y saborizantes artificiales. Se eligió la mermelada de fresa (*Fragaria ananassa*) puesto a que es uno de los sabores preferidos por los consumidores y la mermelada de arándanos (*Vaccinium corymbosum*) como producto original de Salinas de Guaranda. Además de utilizar mermeladas, se decidió elaborar

dos tipos de bebida natural, una a base de Stevia y otra con un 50% de azúcar y un 50% de Stevia.

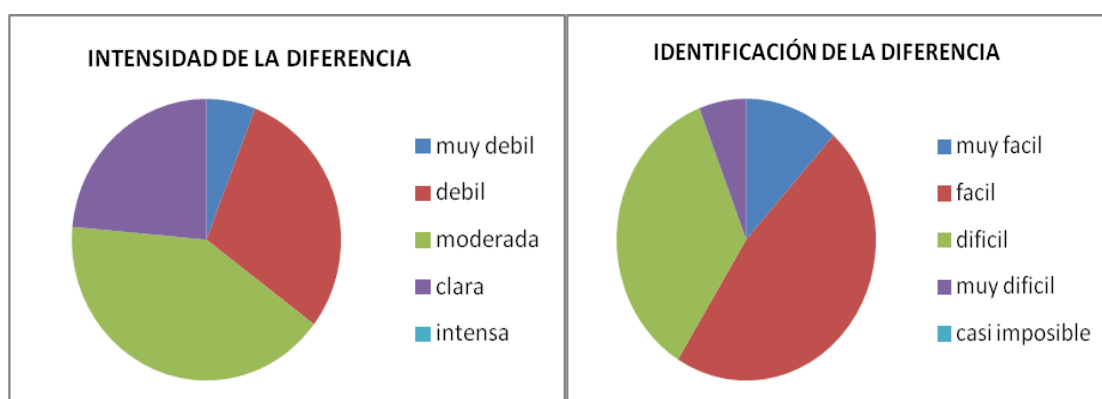
### 5.1.2. Prueba Triangular

En la prueba triangular en la que se comparó la bebida F2-80-20-Nat100% y la F2-80-20-Nat50%, 13 personas acertaron cual era la bebida que difería del resto, 3 personas fallaron y 1 no contestó. El 100 % de los catadores prefirieron la bebida natural con 50 % de azúcar - 50% Stevia

En la figura 4 se observa que a un 42% de los catadores les pareció difícil identificar la diferencia entre la bebida a base de 100% de Stevia y la bebida de 50% Stevia- 50% azúcar y a un 5 % le pareció muy difícil. Para la otra mitad de los panelistas no hubo problema en la identificación de la diferencia.

En cuanto a la intensidad de la diferencia entre ambas bebidas funcionales, un 29% de los catadores la consideró débil y un 5 % muy débil. El 41% de los catadores la consideraron moderada y el 23% restante claramente diferenciaron ambas bebidas.

A partir del test binomial, se llegó a la conclusión de que los catadores diferenciaron las muestras sometidas a análisis, con un nivel de significancia del 1%.



**Figura 4.** Resultados de la prueba triangular de las bebidas lácteas fermentadas.



### 5.1.3. Determinación del umbral de diferencia

A partir de los resultados obtenidos, se estableció un umbral de diferencia de 2-3.8 g/100 ml en el caso de la bebida láctea fermentada elaborada con Stevia, partiendo de un patrón de 3 g/l. Mientras que el umbral de diferencia de la bebida elaborada con 50% de Stevia y 50% de azúcar se estableció entre 0.2-0.3 g/100 ml de azúcar, partiendo de un patrón de 30 g/l.

En ambos casos podría reducirse la concentración de edulcorantes sin que el consumidor aprecie la diferencia.

### 5.1.4. Prueba hedónica 2

Una vez definidas las nuevas bebidas, se llevó a cabo una segunda prueba hedónica con jueces de edades comprendidas entre 20-25 años, en la Universidad Técnica de Ambato. Se les ofreció a los panelistas las correspondientes muestras de las bebidas fermentadas funcionales y se añadió una muestra de una bebida láctea comercial.

Los resultados de la tabla mostraron que la bebida comercial presentó el más alto grado de preferencia entre los catadores. Cabe destacar que el consumidor cambia de opinión una vez informado de los beneficios que aporta la bebida fermentada funcional a partir del suero de leche.

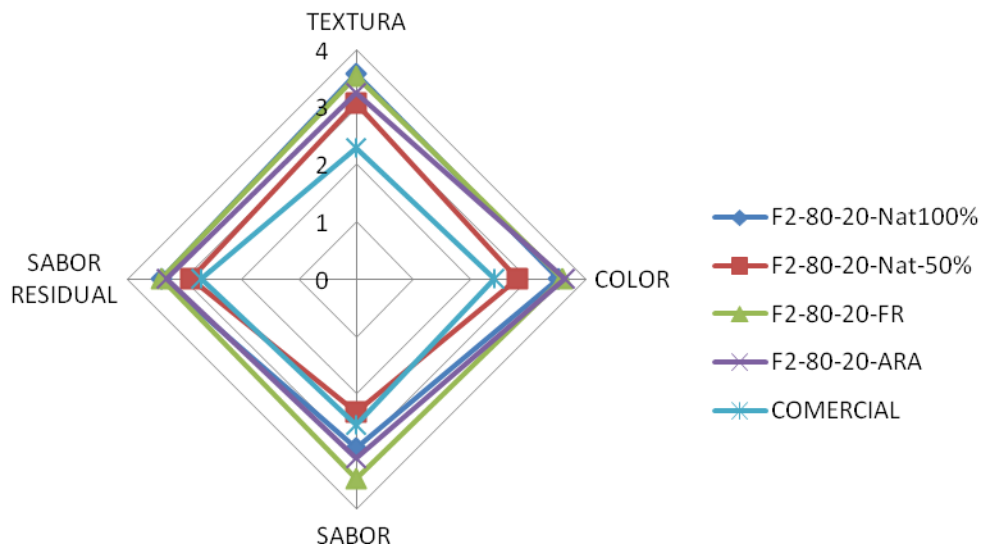
En la tabla 9 podemos observar que los panelistas prefirieron la bebida natural con un 50% de azúcar y un 50% de Stevia ante la bebida edulcorada con un 100% de Stevia.

**Tabla 9.** Resultados estadísticos de la segunda prueba hedónica.

MUESTRAS	Nº	TEXTURA	SABOR	COLOR	SENSACIÓN RESIDUAL
F2-80-20-Nat100%	1	3,59 ± 0,87 <sup>b</sup>	3,53 ± 1,07 <sup>bc</sup>	2,93 ± 0,96 <sup>abc</sup>	3,69 ± 0,95 <sup>c</sup>
F2-80-20-Nat-50%	2	3,06 ± 1,09 <sup>b</sup>	2,81 ± 1,11 <sup>ab</sup>	2,38 ± 0,89 <sup>a</sup>	2,88 ± 1,09 <sup>ab</sup>
F2-80-20-FR	3	3,53 ± 1,01 <sup>b</sup>	3,59 ± 0,71 <sup>c</sup>	3,47 ± 1,01 <sup>c</sup>	3,41 ± 0,94 <sup>bc</sup>
F2-80-20-ARA	4	3,25 ± 0,86 <sup>b</sup>	3,63 ± 0,96 <sup>c</sup>	3,13 ± 0,8 <sup>bc</sup>	3,31 ± 0,70 <sup>abc</sup>
COMERCIAL	5	2,29 ± 1,21 <sup>a</sup>	2,41 ± 1,33 <sup>a</sup>	2,53 ± 1,33 <sup>ab</sup>	2,71 ± 1,26 <sup>a</sup>

Para apoyar la interpretación de los resultados de la tabla 9, en la figura 5 se presentan las valoraciones sensoriales medias de las 5 bebidas lácteas fermentadas utilizadas en la segunda prueba hedónica. Se observa que el atributo de color fue el que mejores valoraciones recibió y el atributo de textura el que peores en el caso de las bebidas del Grupo 2. La textura mejoraría fácilmente con la utilización de emulsionantes y estabilizantes. Se aprecia también claramente que la bebida comercial tiene la mejor valoración respecto a las bebidas del Grupo 2.

Por otro lado se puede apreciar que en la segunda prueba hedónica, la bebida natural F2-80-20-Nt-50%, siendo la más parecida a la F2-80-20-Nat del Grupo 1 de bebidas, recibió peores valoraciones. Probablemente debido a la comparación con una bebida comercial.



**Figura 5.** Valoraciones sensoriales medias de las cinco bebidas lácteas fermentadas.

## 5.2. Caracterización fisicoquímica y microbiológica

### 5.2.1. Descripción de materias primas y proceso fermentativo

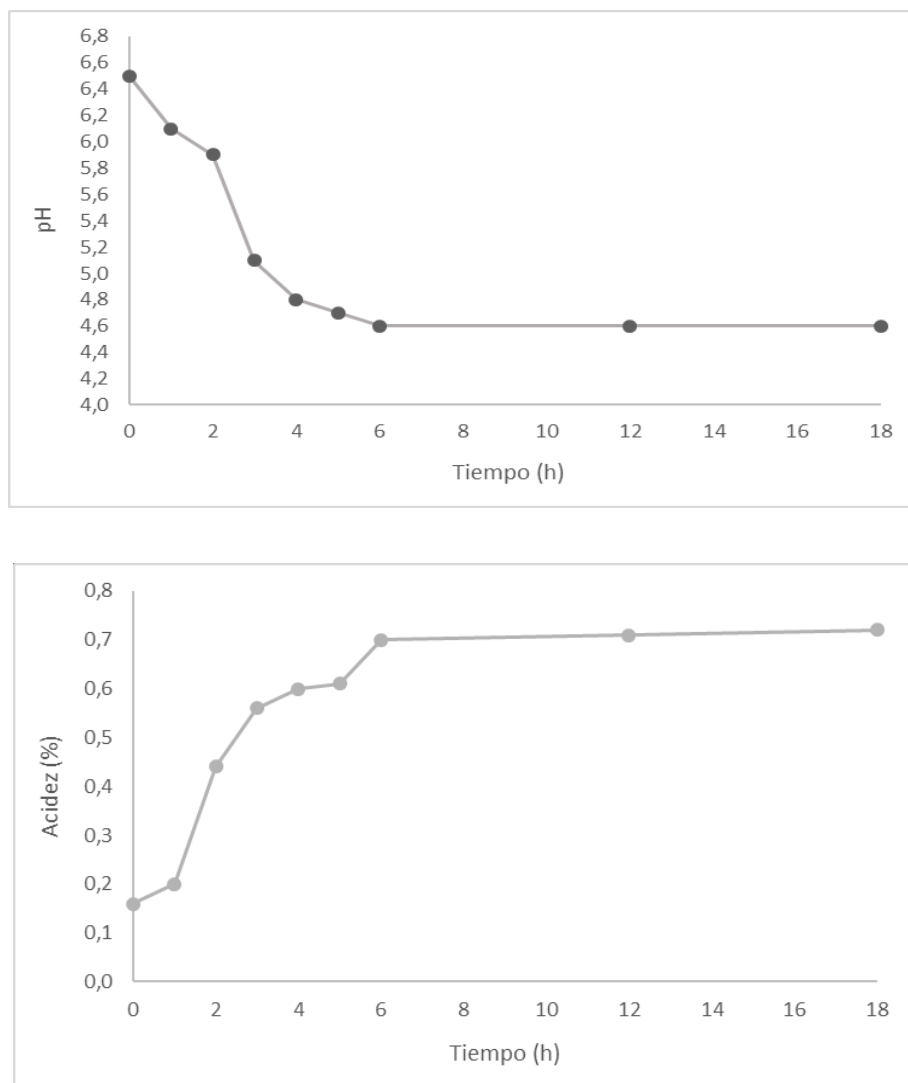
El pH de la leche y del suero antes del proceso de elaboración fue de  $6,6 \pm 0,1$  y  $6,5 \pm 0,1$ . Durante la fermentación se produjo una clara disminución del pH como consecuencia del crecimiento y actividad de los cultivos lácticos (Figura 6. (a)), la cual coincide con los datos reportados por la bibliografía. Los cultivos lácticos utilizan la lactosa como fuente de energía para el crecimiento y la multiplicación celular. (Miranda y col., 2007, Marulanda, 2012, Vélez, 2002).

**Tabla 10.** Resultados de pH y acidez de la leche y el suero.

	<b>pH Promedio <math>\pm</math> DE</b>	<b>Acidez Promedio <math>\pm</math> DE</b>
<b>Leche</b>	$6,6 \pm 0,05$	$0,17 \pm 0,01$
<b>Suero</b>	$6,5 \pm 0,05$	$0,13 \pm 0,01$

La figura 6 (a). muestra la cinética de los resultados de pH obtenidos durante 5 horas de incubación a  $43^{\circ}\text{C}$ . El pH de la leche y el suero fueron de 6,6 y 6,5 respectivamente, lo cual coincide con los datos obtenidos por Loaiza, M., 2011 quien desarrollo una bebida de suero fermentada con sabor a mora. El valor de pH del suero nos indica que se encuentra dentro del rango de pH de un suero dulce (Loaiza, 2011).

Miranda, O. y col, 2007, establecieron las principales características físico-químicas de una bebida fermentada a partir de suero de queso, de las cuales obtuvieron un pH de 4,37 y una acidez titulable de 0,71%.



**Figura 6.** Cinética de disminución de pH, **(a)** Cinética de acidez titulable **(b)** para la bebida lácteo fermentada natural.

La figura 4. (b) muestra la cinética de acidificación de la bebida inoculada con el cultivo lácteo funcional. Se observa que el contenido de ácido láctico en las muestras ensayadas incrementa linealmente a partir de una hora de incubación. Ello demuestra que las bacterias inoculadas en la mezcla durante el proceso de elaboración lograron desarrollarse en este medio, gracias en parte a la composición del suero y la leche utilizada. Cabe recalcar que se utilizó suero dulce obtenido de la elaboración del queso Andino. Los valores promedio obtenidos a partir de las medidas de acidez por triplicado, aumentaron hasta un valor de 0.72%, este valor se encuentra dentro del rango de los datos encontrados en la bibliografía (Miranda y col, 2007, Chinchilla, 2000). Miranda y col, 2007, elaboraron una bebida fermentada a partir de suero de queso para

establecer las principales características físicas, químicas, sensoriales y nutricionales. En sus estudios obtuvieron una acidez titulable de 0,71% a las 24 horas de inoculación y un valor de pH de 4.37. Chinchilla, 2000, utilizó un suero de 0.14% de acidez y elaboró una bebida saborizada que alcanzó una acidez de 0.74%.

### 5.2.2. Características nutricionales de los productos finales

En la Tabla 11 se muestra la caracterización fisicoquímica obtenida para los productos finales. Se puede observar que los contenidos de proteínas ( $1,34 \pm 0,06$ ), grasas ( $1,23 \pm 0,08$ ) y cenizas ( $0,54 \pm 0,04$ ) son similares independientemente del sabor de la bebida considerada. Estos valores son similares ya que dependen de los ingredientes mayoritarios de la formulación (lactosuero: 80% y leche entera: 20%) y están dentro de los rangos reportados por la bibliografía para este tipo de productos (Londoño y col., 2008; Guevara, 2011; Endara, 2002; Barrera, 2011; Londero, 2011). Con respecto al contenido de sólidos totales los valores difieren en función de la formulación ensayada. Se observan mayores contenidos de sólidos totales para las formulaciones de fresa y mortiño, lo cual es esperable dado que se han utilizado. La diferencia entre el valor de sólidos totales de las bebidas de mortiño y fresa será debido a que la bebida de fresa contenía mayor cantidad de azúcar proveniente de la mermelada.

**Tabla 11.** Resultados del Análisis Físico-químico de las distintas formulaciones.

Muestras	Proteína (%) (N*6.38)	Grasa (%)	Sólidos Totales (%)	Cenizas (%)
<b>F2-80-20-Nat</b>	1,37	1,31	8,59	0,592
<b>F2-80-20-Fr</b>	1,38	1,23	15,4	0,510
<b>F2-80-20-Ara</b>	1,28	1,15	18,8	0,529
<b>Promedio (<math>\pm</math> DE)</b>	$1,34 \pm 0,06$	$1,23 \pm 0,08$	$14,26 \pm 5,19$	$0,45 \pm 0,18$

Los valores obtenidos a partir de los análisis nutricionales concuerdan con los obtenidos por Londoño y col., 2008, quienes desarrollaron una bebida fermentada de suero de queso fresco inoculada con *Lactobacillus casei*. En el caso del contenido de

grasa, los resultados difieren levemente presentando valores mayores debido a la utilización de un 20% de leche entera de vaca.

La bebida fermentada funcional, presenta diferencias en sus indicadores al ser comparado con lo reportado por Morales, 2011, y Barrera, 2011, lo cual evidencia que la composición físico-química del suero depende en gran parte a la composición de la leche de la cual se obtuvo el suero así como del tratamiento al que fue sometida la cuajada durante la elaboración del queso.

Endara, 2002, elaboro una bebida formulada con un 25 % de suero y un 75% de leche descremada con sabor a mango, sus análisis muestran un porcentaje de proteína significativamente mayor (2.47%) debido a que utiliza mayor contenido de leche.

### 5.2.3. Análisis Microbiológico de los productos finales

**Tabla 12.** Resultados microbiológicos obtenidos para las muestras de bebidas lácteas fermentadas recién elaboradas.

Microorganismos	F2-80-20-Nat	F2-80-20-Ara	F2-80-20-Fr
Mohos	<10	<10	<10
Levaduras (UFC/g)	$3 \times 10^2$	$7,2 \times 10^3$	$6,6 \times 10^3$
Aerobios mesófilos (UFC/g)	$4 \times 10^2$	$1,6 \times 10^3$	$2,5 \times 10^3$
Coliformes Totales (UFC/g)	<10	<10	<10
E.Coli (UFC/g)	<10	<10	<10
Listeria spp. (UFC/g)	<10	<10	<10

Fuente: Laboratorio Laconal de la Universidad Técnica de Ambato.

En la tabla 12, se presentan los resultados obtenidos del análisis microbiológico de la bebida. Los estudios microbiológicos indicaron un bajo número de Aerobios Mesófilos y levaduras y una ausencia total de *Coliformes Totales*, *E. Coli* y *Listeria*. Estos hallazgos permitieron afirmar que la bebida fue realizada en condiciones higiénicas-sanitarias adecuadas y que el número de organismos encontrados se encontraba dentro de las especificaciones de calidad microbiológica establecidas por la Norma Técnica Ecuatoriana (NTE INEN 2564:2011).

Respecto a los fermentos utilizados, la función de los cultivos iniciadores lácticos es la producción de ácido láctico a partir de la lactosa. Esto produce un aumento de acidez del producto, de manera que se inhiben los microorganismos indeseables. Desde el punto de vista organoléptico los cultivos tienen la función de potenciar el sabor. Además de que proveen efectos beneficiosos sobre el consumidor.

### 5.3. Formulación de las bebidas lácteas fermentadas funcionales

Finalmente a partir de las diferentes pruebas del análisis sensorial se estableció la formulación definitiva de las bebidas lácteas fermentadas funcionales del Grupo 2.

Para la elaboración de las bebidas fermentadas funcionales se utilizará un 80% de suero de leche dulce proveniente de la elaboración de una variedad de quesos y se añadirá un 20% de leche. A diferencia del Grupo 1 de bebidas, en el Grupo dos se utilizará un fermento compuesto por bacterias ácido lácticas y probióticos, lo cual hace que el producto sea funcional, siendo éste beneficioso para la salud del consumidor. Además se utilizará Stevia como edulcorante en algunas de las formulaciones con la finalidad de que sean aptas para diabéticos además de ser más saludables para el resto de consumidores por ser bebidas bajas en azúcar o sin azúcar. En la tabla 13 se especifica las cuatro formulaciones elegidas para las nuevas bebidas.

**Tabla 13.** Formulaciones de la bebida fermentada.

INGREDIENTES	TIPO DE BEBIDA			
	F2-80-20-Nat-100% St	F2-80-20-Nat-50%	F2-80-20-ARA	F2-80-20-FR
<b>Azúcar (%)</b>	0	50	0	0
<b>Stevia (%)</b>	100	50	0	0
<b>Mermelada de fresa (g/l)</b>	0	0	0	300
<b>Mermelada de mortiño (g/l)</b>	0	0	125	0
<b>Sorbato de potasio (%)</b>	0,1	0,1	0,1	0,1
<b>Fermento (g/l)</b>	0,07	0,07	0,07	0,07

#### **5.4. Determinación de la vida útil**

La bebida sin Sorbato de Potasio se mantuvo su vida útil durante 20 días, ya que durante ese tiempo no se logró detectar el crecimiento de colonias. Es un producto que presenta varias barreras al crecimiento de microorganismos. En primer lugar está el tratamiento térmico al que se ve sometido y en segundo lugar está el pH de 4.6 al que se ve fijado. Además el envase del producto es hermético y no permite la entrada de sustancias y microorganismos externos. Finalmente la temperatura de almacenamiento fue de 4°C lo cual es otra barrera de protección para la bebida. Chinchilla, llevó a cabo un estudio de una bebida saborizada a partir de suero de leche, del cual obtuvo una vida útil de 20 días.

Las características como el sabor, el color y el aroma se mantuvieron durante los 20 días de vida útil, sin embargo la textura no se mantuvo debido a la separación del suero y la leche. Por ello sería necesario aplicar algún tipo de emulsionante y estabilizante en la bebida.

De acuerdo con los resultados de las pruebas de estabilidad realizadas, se pudo observar que el producto mantuvo la mayoría de las características sensoriales. Sería necesario realizar estudios con emulsionantes y estabilizantes para mantener la textura de la bebida a lo largo de la vida útil.

El estudio realizado no fue suficiente para establecer la vida útil de las bebidas elaboradas con Sorbato de Potasio como conservante.



## **CAPÍTULO 6: ANÁLISIS ECONÓMICO**

## 6.1. Análisis económico

Para conocer la rentabilidad del nuevo producto, se realizó un balance de costos y se determinó el precio final del producto. La puesta en marcha de una nueva línea de productos en la quesera” El Salinerito” no supondría costos elevados de inversión debido a que ya disponen de personal maquinaria para ello. Únicamente se necesitaría adquirir una licuadora industrial para la etapa de adición de mermeladas.

**Tabla 15.** Estimación del precio de venta de las bebidas lácteas fermentadas.

	<b>NATURAL 100% STEVIA</b>	<b>NATURAL 50%</b>	<b>ARANDANOS</b>	<b>FRESA</b>
<b>COSTOS DE FABRICACIÓN</b>	11,24	11,32	17,60	19,93
<b>Gastos Operacionales (10%)</b>	1,12	1,13	1,76	1,99
<b>COSTO TOTAL DE PRODUCCIÓN</b>	12,36	12,45	19,36	21,93
<b>Utilidad (30%)</b>	3,71	3,73	5,81	6,58
<b>PRECIO DE VENTA</b>	<b>16,07</b>	<b>16,18</b>	<b>25,17</b>	<b>28,51</b>

**Tabla 16.** Desglose del precio de venta de las bebidas lácteas fermentadas.

	<b>NATURAL 100% STEVIA</b>	<b>NATURAL 50%</b>	<b>MERMELADA ARANDANOS</b>	<b>MERMELADA FRESA</b>
<b>COSTOS DE FABRICACIÓN</b>	11,24	11,32	17,60	19,93
<b>GASTOS PERACONALES</b>	1,12	1,13	1,76	1,99
<b>COSTO TOTAL DEPRODUCCIÓN</b>	12,36	12,45	19,36	21,93
<b>PRECIO DE VENTA</b>	16,07	16,18	25,17	28,51
<b>1 LITRO</b>	<b>1,61</b>	<b>1,62</b>	<b>2,52</b>	<b>2,85</b>
<b>1/2 LITRO</b>	<b>0,80</b>	<b>0,81</b>	<b>1,26</b>	<b>1,43</b>

El análisis de costos de la bebida se hizo con costos variables y mano de obra directa para tener una idea del precio al que se puede vender. Los costos fijos y el margen de ganancia son agregados por la Planta de Lácteos. En la tabla 15 se refleja el precio estimado para 10 litros de bebidas lácteas fermentadas, mientras que en la tabla 16 se observa la estimación del precio de unidades de un litro y de 500 ml de las bebidas.

## **CAPÍTULO 7: CONCLUSIONES**

## 7.1. Conclusiones

- La elaboración de subproductos obtenidos a partir del lactosuero es una opción rentable para la industria quesera además de una alternativa de tratamiento del efluente evitando así la contaminación del medio ambiente.
- Por medio del presente trabajo se ha podido determinar que el lactosuero puede ofrecer una alternativa para consumo humano, elaborando una bebida láctea fermentada con probióticos.
- Durante la fermentación de la bebida el contenido de ácido láctico se incrementó linealmente hasta que el pH alcanzó un valor de 4,6. Una vez refrigerada la fermentación se detuvo manteniéndose constantes la acidez y el pH.
- El análisis microbiológico mostró que la bebida cumplía con las especificaciones de la Norma Técnica Ecuatoriana (NTE INEN 2564:2011) de bebidas lácteas.
- Los resultados del análisis sensorial mostraron que no había diferencias significativas entre las formulaciones con 30% y 20% de leche en su formulación, por lo que se escogió la segunda para conseguir un mayor aprovechamiento del suero.
- Se comprobó que los jueces consumidores prefirieron aquellos productos que contenían una mezcla de sacarosa y Stevia a partes iguales, que aquellos que sólo contenían sacarosa.
- También se comprobó que los jueces prefirieron una bebida comercial a las diferentes muestras de las bebidas fermentadas funcionales.
- Este trabajo presenta una propuesta que ofrece una alternativa para aprovechar el lactosuero elaborando una bebida con excelentes cualidades nutricionales para el consumidor. Será necesario continuar trabajando a fin de establecer las condiciones para la estabilidad del producto por un tiempo mayor.

## 7.2. Recomendaciones

- Se deberían realizar estudios utilizando estabilizantes y emulsionantes para asegurar la unión de la grasa y el suero a lo largo de la vida útil, manteniendo así la textura de la bebida láctea fermentada.
- Una vez establecido la cantidad de emulsionante necesario para mantener la textura de la bebida, sería necesario llevar a cabo un estudio para calcular la vida útil del producto.
- Hacer un análisis químico detallado, que presente los contenidos nutricionales de la bebida con el fin de especificarlo en la etiqueta.

## **CAPÍTULO 8: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## 8.1. Referencias bibliográficas

Anahi M., Cuellas V., 2008. “Aprovechamiento industrial del suero de quesería. Obtención de una bebida energizante a partir del efluente”. Universidad Nacional de Quilmes, Buenos Aires, Argentina.

Barrera Y., 2011. Evaluación del impacto económico de la elaboración de bebidas de suero dulce fermentado, Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de la Habana.

Beldoménico H., Radzimirski A., 1992. Desagües en la Industria Láctea Introducción a su estudio. Publicación INTI.

Carrera B., Washington X., 2010. “Elaboración de una bebida saborizada con base en suero de queso mozzarella”. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Universidad Técnica de Ambato.

Carrillo J.L., 2006. Tratamiento y reutilización del suero de leche. Mundo Lácteo y Cárnico.

Chinchilla P. J., 2000. Elaboración de una bebida saborizada a partir de suero de leche, Universidad Earth, Guácimo, Costa Rica.

Chóez J., Morales M.F., 2010. Elaboración de una bebida hidratante a base de lactosuero y enriquecida con vitaminas, Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción, Escuela Superior Politécnica del Litoral, Campus Gustavo Galindo, Guayaquil, Ecuador.

Cóndor R., Meza V., Ludeña F., 2000. “Obtención de una bebida a partir de suero de queso utilizando células inmovilizadas de *kluveromyces marcianus*”. Revista Peruana de Biología. Vol.7, N° 2.

Consulta de Expertos FAO/OMS, Probioticos en los alimentos. Propiedades Saludables y nutricionales y directrices para la evaluación.

Endara F. A., 2002. Elaboración de una bebida a partir del suero de queso y leche descremada con sabor a mango. Carrera de Agroindustria, Honduras.



Figuroa-Gonzalez I. y col., 2011. Probiotics and prebióticas- perspectives an challenges. Science of Food and Agriculture, Vol. 91: 1341-1348.

Gallardo-Ecamilla F.J., Kelly A.L., Delahunty C.M. 2007. Mouthfeel and flavor of fermented whey with added hydrocolloids. International Dairy Journal, Vol 17: 308-315.

Guerrero W. J., Gomez C.A., Castro J., Gonzalez C.A, Santos C.A., Santos E.M., 2010. Caracterización fisicoquímica del lactosuero en el valle de Tulancingo. Centro de Investigaciones Químicas, ICBI, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México.

Guevara M., 2011. Elaboración de una bebida de tipo funcional para la alimentación a partir de lactosuero, Facultad de ciencias químicas. Universidad Veracruzana.

Heller K. J., 2001. probiotic bacteria in fermented foos: product characteristics and starter organisms. American Society for Clinical Nutrition. Vol. 73: 374-379.

Kristo E., Biliaderis C.G., Tzanetakis N., 2003. Modelling of rheological, microbiological and acidification properties of a fermented milk product containing a probiotic strain of *Lactobacillus paracasei*. International Dairy Journal, Vol. 13: 517-528.

Loaiza M., 2011. Aprovechamiento del suero de leche para la elaboración de una bebida funcional, Facultad de Ingeniería y Ciencias Agropecuarias, Universidad de las Américas.

Londero A., Quinta R., Arraham A.G., Sereno R., De Antoni G., Garrote G.L., 2011. Inhibitory Activity of Cheese Whey Fermented with Kefir Grains, Journal of food protection, Vol. 74: 94-100.

Londero A., Hamet M.F., De Antoni G., Garrote G.L., Arraham A.G., 2012. Kefir grains as a starter for whey fermentation at different temperatures: chemical and microbiological characterization, J Dairy Res, Vol. 79(3): 262-71.

Londoño M., Sepúlveda J., Hernandez A. y Parra J. 2008. Bebida fermentada de suero de queso fresco inoculada con *Lactobacillus casei*, Revista Facultad Nacional de Agronomía de Colombia, p. 4409-4421.

Lucas A., Sodini I., Monnet C., Jlivet P., Corrieu G., 2004. Probiotic cell counts and acidification in fermented milks supplemented with milk protein hydrolysates. International Dairy Journal, Vol. 14: 47-53.

Marulanda M.L., 2012. Elaboración y evaluación de una bebida tipo yogurth a base de lactosuero dulce fermentada con *Streptococcus Salivarius ssp. Thermophilus* y *Lactobacillus Casei ssp. Casei*. Universidad de Cartagena.

Miranda O., Fonseca P., Ponce I., Cerdeño C., Sam L., Marti L., 2007. Elaboración de una bebida fermentada a partir del suero de queso. Características distintivas y control de calidad. Rev Cubana Aliment Nutr, Vol. 17 (2): 103-108.

Morales R.A., 2011. Elaboración de una bebida de tipo funcional para la alimentación a partir del lactosuero, Facultad de Ciencias químicas, Universidad Veracruzana.

Naranjo C. A., 2006. "Elaboración de una bebida fermentada a base de suero lácteo con pulpa de manzana Emilia (*malus comunis-L*)", Facultad de Ciencia e Ingeniería de Alimentos, Universidad Técnica de Ambato.

Novoa C, 2009. Guía para la elaboración de algunos productos derivados de la leche, Derivados Lácteos, Universidad Nacional de Colombia.

Oliveira M.N. Sodini I., Remeuf F., Corrieu G., 2001. Effect of milk supplementation and culture composition on acidification, textural properties and microbiological stability of fermented milks containing probiotic bacteria, International Dairy Journal, Vol. 11: 938-942.

Pescuma M., Hérbert E.M., Mozzi F., Font de Valdez G., 2008. Whey fermentation by thermophilic lática acid bacteria: Evolution of carbohydrates and protein content. Food Microbiology, Vol. 25(3): 442-451.

Pescuma M., Hérbert E.M., Mozzi F., Font de Valdez G., 2010. Functional fermented whey-based beverage using lactic acid bacteria, *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 141: 73-81.

Ramirez J.C., Rosas P., Velázquez M.Y., Armando J., Arce F., 2011. Bacterias lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la salud. Universidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Centro de Tecnología de Alimentos, Universidad autónoma de Nayarit.

Sachdeva A., Rawat S., Nagpal J., 2014. Efficacy of fermented milk and whey proteins in *Helicobacter pylori* eradication: A review, *World Journal of Gastroenterology*, Vol. 20 (3): 724-737.

Saddoud A. Hassairi I., Sayadi S., 2007. Anaerobic membrane reactor with phase separation for the treatment of cheese whey. *Elsevier*: Vol. 98: 2012-2108.

Salto H. A., 2010. *Sensometría Analisis en desarrollo de Alimentos Procesados*. Editorial Pedagógica Freire, Riobamba, Ecuador.

Taranto M., Médici M., Font de Valdez G., 2005. Alimentos funcionales probióticos. *Química Viva*, p. 4-26.

Terán J C., Paez R., 2012. Características generales sobre el uso del suero de queso en la Provincia de Santa Fe. Instituto Nacional de Tecnología Industrial, Argentina.

Tetra Pak Hispania S.A., 2003. *Manual de industrias lácteas*, Arganda del Rey (Madrid) España.

Toalombo M. E., 2011. Estudio de nisina en la vida útil de queso ricotta, Facultad de ciencia e ingeniería en alimentos, Universidad Técnica de Ambato.

Urribarri L., Vielma A., Paéz G., Ferrer J., Mármol Z. y Ramones E., 2004. Producción de ácido láctico a partir de suero de leche, utilizando *Lactobacillus helveticus* en cultivo continuo, *Revista Científica, FCV-LUZ/ Vol. 4:297- 302*.

Valencia E., Ramirez M.L., 2009. La industria de la leche y la contaminación del agua, Instituto Tecnológico de Puebla, Departamento de Ingeniería en Biotecnología, Universidad Politécnica, Vol. 73: 27-31.

Valencia J., 2008. El Suero de Quesería y Sus Posibles Aplicaciones. Parte 1/3, Mundo Lácteo y Cárnico,

Vélez L. C., 2002. Desarrollo de bebida láctea tipo yogur con edulcorante no calórico, Universidad Nacional de Colombia.

Viquez A., 2012. Conversión de suero lácteo a biogás, UTN informa el sector agropecuario, N° 60.

Vorobjeva L.I., Khodjaev E.YU., Vorobjeva N.V. 2008. Propionic acid bacteria as probióticas. Moscow State University, Microbial Ecology in Health and Disease, Vol. 20: 109-112.

Walsh J., Roos C., Smith M., harper S., Wilkins A., 1988. Handbook on biogas utilization. USA. Environment, Health and Safety división Georgia Tech Research Institute, p. 133.

## **8.2. Páginas web consultadas**

- [www.alimentosargentinos.gob.ar](http://www.alimentosargentinos.gob.ar)
- Ministerio de Agricultura y ganadería
- SICA: <http://www.agricultura.gob.ec/sinagap/>
- INFORME DE ELABORACION DE LECHES FERMENTADAS  
<http://tecnilacteos.blogspot.com/2010/02/informe.html>
- Tendencias en bebidas lácteas funcionales  
<http://www.portalechero.com/innovafrent/search.jsp>
- Instituto Ecuatoriano de normalización. Bebidas lácteas requisitos.  
<http://www.normalizacion.gob.ec/>
- PROBIOTICOS  
<http://www.cedimcat.info/html/es/dir2452/doc26751.html>

## **CAPÍTULO 10: ANEXOS**

**ANEXO I: NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 2564:  
2011**

**Requisitos microbiológicos para bebidas lácteas pasteurizadas**

<b>Requisito</b>	<b>N</b>	<b>m</b>	<b>M</b>	<b>C</b>	<b>Método de ensayo</b>
<b>Recuento de microorganismos aerobios mesófilos, REP, UFC/cm<sup>3</sup></b>	5	30 000	50 000	1	NTE INEN 1529-5
<b>Recuento de coliformes, UFC/cm<sup>3</sup></b>	5	<1	10	1	NTE INEN 1529-7
<b>Listeria monocytogenes/25 g</b>	5	Ausencia	-	0	ISO 11290-1
<b>Recuento de Escherichia coli, UFC/g</b>	5	<1	-	0	NTE INEN 1529-8

n = número de muestras para analizar

m = criterio de aceptación

M = criterio de rechazo

c = número de unidades que pueden estar entre m y M

## ANEXO II: FICHAS DE ANALISIS SENSORIAL

### FICHA 1: PRUEBA HEDÓNICA EN CONSUMIDORES

Nombre:

Fecha:

Nombre del producto: Bebida láctea fermentada

Frente a usted hay nueve muestras de bebida fermentada, pruébalas una a una y por favor valore la textura y el sabor del 1 al 5.

Textura	Sabor
1: Muy agradable	1: Me gusta muchísimo
2: Agradable	2: Me gusta
3: Regular	3: Ni gusta ni me disgusta
4: Desagradable	4: Me disgusta
5: Muy desagradable	5: Me disgusta muchísimo

	F1			F2			F3		
	Natural	Fresa	Durazno	Natural	Fresa	Durazno	Natural	Fresa	Durazno
<b>Textura</b>									
<b>Sabor</b>									
<b>Color</b>									

Prefiero la muestra:

A continuación, por favor responda a las siguientes preguntas.

1. ¿Sabe que ingredientes se utilizan para elaborar las bebidas fermentadas?  
Si ( ) No ( )
2. ¿Compraría la bebida fermentada que seleccionó?  
Si ( ) No ( )
3. ¿Cuánto estarías dispuesto a pagar por este producto?
4. ¿Qué sabor le gustaría más para la bebida fermentada? Marque con 1 el que le gusta más, con 2 el que le sigue y así sucesivamente. Si algún sabor no le gusta marque con una x.  
Fresa ( ), durazno ( ), mora ( ), otro.
5. ¿Le cambiaría algo al producto?  
Si ( ) No ( ) ¿Qué?

COMENTARIOS

## FICHA 2: PRUEBA HEDÓNICA EN UN PANEL DE CATADORES

Nombre:

Fecha:

Edad:

Nombre del producto: Bebida láctea fermentada

Frente a usted hay cuatro muestras de bebida fermentada, pruébalas una a una y por favor valore la textura, el sabor, el color y la sensación residual del 1 al 5.

1: Me gusta muchísimo  
 2: Me gusta  
 3: Ni gusta ni me disgusta  
 4: Me disgusta  
 5: Me disgusta muchísimo

MUESTRA	Textura					Sabor					Color					Sensación residual				
<b>482</b>	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
<b>576</b>	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
<b>324</b>	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5

Prefiero la muestra:

A continuación, por favor responda a las siguientes preguntas.

1. ¿Sabe que ingredientes se utilizan para elaborar las bebidas fermentadas?  
Si ( ) No ( )
2. ¿Compraría la bebida fermentada que seleccionó?  
Si ( ) No ( )
3. ¿Cuánto estaría dispuesto a pagar por este producto?
4. ¿Qué sabor le gustaría más para la bebida fermentada? Marque con 1 el que le guste más, con 2 el que le sigue y así sucesivamente. Si algún sabor no le gusta marque con una x.  
Fresa ( ), mortiño ( ), natural ( ) otro.
5. ¿Le cambiaría algo al producto?  
Si ( ) No ( ) ¿Qué?

COMENTARIOS



### FICHA 3: PRUEBA TRIANGULAR

NOMBRE:

EDAD:

FECHA:

#### PRUEBA TRIANGULAR

PRODUCTO: Bebidas lácteas saborizadas y/o fermentadas

OBJETO DEL ENSAYO: Identificar a la muestra diferente entre tres.

#### Instrucciones:

Pruebe las muestras presentadas empezando por aquella situada a su izquierda, anote las claves numéricas en ese orden y señale con un círculo la que considere diferente.

Claves numéricas

¿Cuál prefiere?

¿Puede ud determinar la intensidad de la diferencia que percibe? Marque la respuesta con una X dentro del recuadro correspondiente.

MUY DÉBIL	DÉBIL	MODERADA	CLARA	INTENSA
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

La identificación de la muestra diferente le ha parecido...

MUY FÁCIL	FÁCIL	DIFÍCIL	MUY DIFÍCIL	CASI IMPOSIBLE
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

#### FICHA 4: DETERMINACIÓN DEL UMBRAL DE DIFERENCIA

Nombre:

Fecha:

Edad:

Nombre del producto: Bebida láctea fermentada

Frente a usted tiene una muestra patrón a partir de la cual deberá indicar si las siguientes muestras tienen mayor, igual o menor concentración de edulcorante.

- mayor dulzor ( $R > P$ ),
- dudoso o igual dulzor ( $R = P$ ),
- menor dulzor que el patrón ( $R < P$ )

CÓDIGO DE MUESTRA	PORCENTAJE DE RESPUESTAS			
	R > P	R = P	R < P	100- (R < P)

## ANEXO III: RESULTADOS DEL ANALISIS FISICO-QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DEL GRUPO 2 DE BEBIDAS LÁCTEAS FERMENTADAS



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO  
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS  
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS  
**LABORATORIO DE CONTROL Y ANÁLISIS DE ALIMENTOS**



Dir: Av. Los Chasquis y Río Payamino, Huachi, Ambato Ecuador Telefonos: 2400987 Correo: laconal@hotmail.com

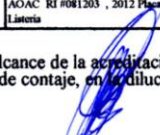
"Laboratorio de ensayo acreditado por el OAE con acreditación N°: OAE LE C 10-008"

### CERTIFICADO DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

<b>Certificado No:14-125</b>		R01-5.10 06
Solicitud No: 14-125		Pág.:1 de 2
Fecha de recepción: 06 mayo 2014		Fecha de ejecución de ensayos: 06 - 12 mayo 2014
<b>Información del cliente:</b>		
Empresa: Coop de Produccion Agropecuaria El Salinerito		C.I./RUC: 0291504639001
Representante: Srta. Naiara Gorostidi		Tif: n/a
Dirección: Bypass s/n via a Guaranda		Celular:0984369740
Ciudad: Guaranda		E mail: naiaragm@hotmail.com
<b>Descripción de las muestras:</b>		
Producto: Bebida Láctea		Peso/Volumen: 250 ml
Marca comercial: n/a		Tipo de envase: Plástico con cierre hermetico
Lote: s/l		No de muestras: Tres
F. Elb.: 05 mayo 2014		F. Exp.: 20 de mayo 2014
Conservación: Ambiente: Refrigeración: X Congelación:		Almac. en Lab: 30 días
Cierres seguridad: Ninguno: Intactos: X Rotos:		Muestreo por el cliente: 05 mayo 2014

### RESULTADOS OBTENIDOS

Muestras	Código del laboratorio	Código cliente	Ensayos solicitados	Métodos utilizados	Unidades	Resultados
Bebida Láctea	12514290	NATURAL	*Cenizas	PE05-5.4-FQ. AOAC Ed 19, 2012 930.30	%	<b>0.592</b>
			*Proteína	AOAC 991.2. Ed 19, 2012	%(Nx6.38)	<b>1.37</b>
			*Sólidos Totales	PE06-5.4-FQ. AOAC Ed 19 927.05	%	<b>8.59</b>
			*Grasa	AOAC 2000.18 Gerber. Ed 19, 2012	%	<b>1.31</b>
			Mohos	PE-02-5.4-MB AOAC 997.02. Ed 19, 2012	UFC/g	<b>&lt;10</b>
			Levaduras	PE-02-5.4-MB AOAC 997.02. Ed 19, 2012	UFC/g	<b>3.0X10<sup>3</sup></b>
			Aerobios Mesófilos	PE-03-5.4-MB AOAC 990.12. Ed 19, 2012	UFC/g	<b>4.0X10<sup>2</sup></b>
			*Coliformes Totales	PE-01-5.4-MB AOAC 991.14. Ed 19, 2012	UFC/g	<b>&lt;10</b>
			*E. Coli	PE-01-5.4-MB AOAC 991.14. Ed 19, 2012	UFC/g	<b>&lt;10</b>
			*Listeria spp.	AOAC RI #081203 , 2012 Placas Petrifilm Listeria	UFC/g	<b>&lt;10</b>
Bebida Láctea	12514291	MORTIÑO	*Cenizas	PE05-5.4-FQ. AOAC Ed 19, 2012 930.30	%	<b>0.510</b>
			*Proteína	AOAC 991.2. Ed 19, 2012	%(Nx6.38)	<b>1.38</b>
			*Sólidos Totales	PE06-5.4-FQ. AOAC Ed 19 927.05	%	<b>15.4</b>
			*Grasa	AOAC 2000.18 Gerber. Ed 19, 2012	%	<b>1.23</b>
			Mohos	PE-02-5.4-MB AOAC 997.02. Ed 19, 2012	UFC/g	<b>&lt;10</b>
			Levaduras	PE-02-5.4-MB AOAC 997.02. Ed 19, 2012	UFC/g	<b>7.2x10<sup>3</sup>(e)</b>
			Aerobios Mesófilos	PE-03-5.4-MB AOAC 990.12. Ed 19, 2012	UFC/g	<b>1.6X10<sup>3</sup></b>
			*Coliformes Totales	PE-01-5.4-MB AOAC 991.14. Ed 19, 2012	UFC/g	<b>&lt;10</b>
			*E. Coli	PE-01-5.4-MB AOAC 991.14. Ed 19, 2012	UFC/g	<b>&lt;10</b>
			*Listeria spp.	AOAC RI #081203 , 2012 Placas Petrifilm Listeria	UFC/g	<b>&lt;10</b>

Certificado No:14-125				Pág.: 2 de 2		
Bebida Láctea	12514292	FRESA	*Cenizas	PE05-5.4-FQ. AOAC Ed 19, 2012 930.30	%	<b>0.529</b>
			*Proteína	AOAC 991.2. Ed 19, 2012	%(Nx6.38)	<b>1.28</b>
			*Sólidos Totales	PE06-5.4-FQ. AOAC Ed 19 927.05	%	<b>18.8</b>
			*Grasa	AOAC 2000.18 Gerber. Ed 19, 2012	%	<b>1.15</b>
			Mohos	PE-02-5.4-MB AOAC 997.02. Ed 19, 2012	UFC/g	<b>&lt;10</b>
			Levaduras	PE-02-5.4-MB AOAC 997.02. Ed 19, 2012	UFC/g	<b>6.6x10<sup>4</sup>(e)</b>
			Aerobios Mesófilos	PE-03-5.4-MB AOAC 990.12. Ed 19, 2012	UFC/g	<b>2.5X10<sup>8</sup></b>
			*Coliformes Totales	PE-01-5.4-MB AOAC 991.14. Ed 19, 2012	UFC/g	<b>&lt;10</b>
			*E. Coli	PE-01-5.4-MB AOAC 991.14. Ed 19, 2012	UFC/g	<b>&lt;10</b>
			*Listeria spp.	AOAC RI #081203 , 2012 <del>Plasma</del> Petrifilm Listeria	UFC/g	<b>&lt;10</b>
<p>Conds. Ambientales: 19.5°C: 53%HR</p> <p>Nota: Los ensayos marcados con (*) no están incluidos en el alcance de la acreditación del OAE  Los resultados marcados con (e) son valores estimados de contaje, en dilución mas baja.</p> <p style="text-align: center;">  Ing. Gladys Risueño  Director Técnico</p>						
Autorización para transferencia electrónica de resultados: No						GR

Nota: Los resultados consignados se refieren exclusivamente a la muestra recibida. El Laboratorio no es responsable por el uso incorrecto de este certificado.  
No es un documento negociable. Sólo se permite su reproducción sin fines de lucro y haciendo referencia a la fuente.

"La información que se está enviando es confidencial, exclusivamente para su destinatario, y no puede ser vinculante. Si usted no es el destinatario de esta información recomendamos eliminarla inmediatamente. La distribución o copia del mismo está prohibida y será sancionada según el proceso legal pertinente".

## ANEXO IV: COSTO DE PRODUCCIÓN DE LAS BEBIDAS LÁCTEAS FERMENTADAS

### A.MATERIA PRIMA DIRECTA E INDIRECTA

Materia Prima Directa	Unidad	NATURAL100% Stevia			Natural 50% Stevia			Mermelada Arándanos			Mermelada Fresa			Fresa		
		Cantidad	Valor Unitario (USD)	Valor Total (USD)	Cantidad	Valor Unitario (USD)	Valor Total (USD)	Cantidad	Valor Unitario (USD)	Valor Total (USD)	Cantidad	Valor Unitario (USD)	Valor Total (USD)	Cantidad	Valor Unitario (USD)	Valor Total (USD)
Suero	L	8	0,38	3,0400	8	0,38	3,0400	8	0,38	3,0400	8	0,38	3,0400	8	0,38	3,0400
Leche	L	2	0,42	0,8400	2	0,42	0,8400	2	0,42	0,8400	2	0,42	0,8400	2	0,42	0,8400
Azúcar	GR				300	0,6	0,3968									
Stevia	GR	8	0,0795	0,6360	4	0,0795	0,3180									
Mermelada mortiño	GR							1500	1,4	7,0000						
Mermelada fresa	GR										2000	1,4	9,3333			
Colorante	ML													0,2	12,62	0,0025
Saborizante	ML													0,28	12,62	0,0035
<b>Materia Prima Indirecta</b>																
Sorbato de Potasio	KG	0,01	11,57	0,0001	0,01	11,57	0,0001	0,01	11,57	0,0001	0,01	11,57	0,0001	0,01	11,57	0,0001
Fermentos	GR	0,14	20	0,1050	0,14	20	0,1050	0,14	20	0,1050	0,14	20	0,1050	0,14	20	0,1050
Fenoltaleína	ML	0,30	5,19	0,0156	0,30	5,19	0,0156	0,30	5,19	0,0156	0,30	5,19	0,0156	0,30	5,19	0,0156
Hidroxido de Sodio	ML	0,10	7,72	0,0008	0,10	7,72	0,0008	0,10	7,72	0,0008	0,10	7,72	0,0008	0,10	7,72	0,0008
			<b>TOTAL</b>	<b>4,64</b>			<b>4,72</b>			<b>11,00</b>			<b>13,33</b>			<b>4,01</b>
			:													

## B. PERSONAL

Personal	Cantidad	Sueldo	Valor Día	Valor Hora	Duración	Valor Total (USD)
Obrero	1	340	15,45	1,93	3	5,80
					<b>TOTAL :</b>	<b>5,80</b>

## C. EQUIPOS Y MATERIALES

Equipos y Materiales	Cantidad	Costo	Vida Útil	Costo Hora	Horas Utilizadas	Costo Uso Total (USD)
Incubadora de Acero Inoxidable	1	1070,25	10	0,0372	5	0,1858
Balanza Análítica	1	119,60	10	0,0042	0,02	0,0001
Balanza Electrónica	1	206,00	10	0,0072	0,02	0,0001
Frigorífico	1	500,00	10	0,0174	12	0,2083
Tina Pasteurizadora	1	68,00	10	0,0024	0,5	0,0012
Termometro	1	28,07	5	0,0019	0,05	0,0001
Baldes de Incubación	2	6,88	5	0,0005	5	0,0024
Envases	10	0,18				1,751
				<b>TOTAL :</b>		<b>0,40</b>

## D. SUMINISTROS

Suministros	Unidad	Cantidad	Valor Unitario (USD)	Valor Total (USD)
Agua	m <sup>3</sup>	0,02	0,30	0,01
Energía	kw-h	5	0,08	0,40
			<b>TOTAL :</b>	<b>0,41</b>