



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**“ELABORACIÓN Y CONTROL DE CALIDAD DE UNA BEBIDA A  
BASE DE SUERO DE LECHE Y AVENA (*Avena sativa*), PARA  
PRODUCCOOP “EL SALINERITO””**

**TESIS DE GRADO**

**PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE**

**BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

**PRESENTADO POR:**

**GLENDIA STEFANIA VEGA MONTERO**

**RIOBAMBA - ECUADOR**

**2012**

### ***Dedicatoria***

Dedico este trabajo:

A Dios por ser el ser supremo que ha guiado mi vida por el camino del bien y del saber.

A mis queridos padres Esthela y Oswaldo de quienes eh recibido un profundo amor y ejemplo, por sus alientos sobre todo por motivarme a persistir para alcanzar mis metas.

A mis hermanas Jessica, Maricela y Carolina por siempre estar a mi lado y animarme a sobresalir y ser fuerte en mis caídas.

A toda mi familia en especial a mis tíos Anicia y Angel por haber depositado en mí su confianza y brindarme su apoyo moral e incondicional en todo momento.

## **Agradecimiento**

Agradezco a Dios por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente por ser la guía espiritual que se necesita para escoger el camino correcto.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, a la Escuela de Bioquímica y Farmacia por brindarme la oportunidad de formarme como profesional de ética y conocimiento para servir a mi país.

Expreso mi profundo y grandioso agradecimiento a la Quesera “EL SALINERITO” en especial al Ing Ernesto Toalombo por su acogida y financiamiento de esta investigación.

A la Ing Paola Chiluzza por su dirección en el trabajo de tesis, a la Dra Olga Lucero por su colaboración, siendo guías en la elaboración de este trabajo, por el tiempo dedicado hasta la conclusión del mismo, personas que gentilmente asumieron las responsabilidades de mi acción.. A todos y cada uno de mis maestros quienes con su sabiduría supieron enriquecer mis conocimientos.

A todos mis compañer@s y amig@s en especial a Taty, Majito, Nataly, Janneth, Katty, Dianita, Meche con quienes eh compartido una etapa de amistad y estudiantil.

# ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

## FACULTAD DE CIENCIAS

### ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación “ELABORACIÓN Y CONTROL DE CALIDAD DE UNA BEBIDA A BASE DE SUERO DE LECHE Y AVENA (*Avena sativa*), PARA PRODUCCOOP “EL SALINERITO”” es de responsabilidad de la señorita egresada Glenda Stefania Vega Montero, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

	FIRMA	FECHA
Dra. Yolanda Díaz. DECANA FACULTAD DE CIENCIAS	_____	_____
Dr. Luis Guevara DIRECTOR DE ESCUELA	_____	_____
Ing. Paola Chiluiza DIRECTOR DE TESIS	_____	_____
Dra. Olga Lucero MIEMBRO DE TRIBUNAL	_____	_____
Tec. Carlos Rodríguez DIRECTOR CENTRO DE DOCUMENTACIÓN	_____	_____
NOTA DE TESIS ESCRITA	_____	

Yo, Glenda Stefania Vega Montero, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la  
ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

---

**GLENDIA STEFANIA VEGA MONTERO**

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AOA	Association of Oficial Analytical Chemist
$\alpha$	Alfa
ADP	Adenosin difosfato
°Brix	Grado Brix
<i>B</i>	Beta
BPM	Buenas Prácticas de Manufactura
conc.	Concentrado
°C	Grados celsius
CO <sub>2</sub>	Dióxido de Carbono
D.B.O	Demanda Bioquímica de Oxígeno
FAO	Organización de la Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
g	Gramos
HCl	Ácido Clorhídrico
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ácido sulfúrico
h	Horas
INEN	Instituto Ecuatoriano de Normalización
L	Litro
min	Minutos
mL	Mililitro
mg	Miligramos
NaOH	Hidróxido de sodio
N	Normalidad
NAD <sup>+</sup>	Dinucleótido de nicotinamida y adenina
ATP	Adenosin trifosfato
OMS	Organización mundial de la salud
pH	Potencial de hidrógeno
RED	Requerimiento Energético Diario
UFC	Unidades formadoras de colonias
UPC	Unidades propagadoras de colonias
VDR	Valor Diario Recomendado
%	Porcentaje
%C	Porcentaje de ceniza
%ELn	Porcentaje de extracto libre no nitrogenado
%F	Porcentaje de fibra
%G	Porcentaje de grasa
%H	Porcentaje de humedad
DCU	Danisco Culture Unit

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

ÍNDICE DE ANEXOS

INTRODUCCIÓN

### CAPÍTULO I

1. PARTE TEÓRICA. ....	1
1.1 SUERO DE LECHE. ....	1
1.1.1 RESEÑA HISTÓRICA. ....	2
1.1.2 OBTENCIÓN DEL SUERO. ....	3
1.1.3 CARACTERÍSTICAS Y TIPOS DE SUERO. ....	3
1.1.3.1 SUERO DULCE. ....	4
1.1.3.2 SUERO MEDIO ÁCIDO. ....	4
1.1.3.3 SUERO ÁCIDO. ....	4
1.1.4 COMPOSICIÓN Y NATURALEZA DEL SUERO DE LECHE. ....	5
1.1.4.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS DEL SUERO. ....	6
1.1.4.2 PROTEÍNAS DEL SUERO. ....	7
1.1.4.3 CARBOHIDRATOS DEL SUERO. ....	9
1.1.4.4 VITAMINAS DEL SUERO. ....	10
1.1.5 EFECTOS FAVORABLES PARA LA SALUD POR UTILIZACIÓN DE SUERO DE LECHE. ....	12
1.1.6.1 APLICACIONES ....	13
1.1.6.2 PRODUCTOS A BASE DE SUERO DE LECHE. ....	14
1.1.6 BEBIDAS CON SUERO DE LECHE. ....	16

1.2.1	ORIGEN E IMPORTANCIA.....	19
1.2.3.1	PROTEÍNAS.....	20
1.2.3.2	LÍPIDOS.....	20
1.2.3.3	HIDRATOS DE CARBONO.....	20
1.2.3.4	VITAMINAS, MINERALES Y OLIGOELEMENTOS.....	21
1.2.3.5	FIBRA.....	21
1.3.3.1	FERMENTACIÓN ETANÓLICA O ALCOHÓLICA.....	26
1.3.3.2	FERMENTACIÓN Y BACTERIAS DEL ÁCIDO LÁCTICO.....	29
1.4	ADITIVOS ALIMENTARIOS.....	33
1.4.1	JUSTIFICACIÓN DEL USO DE ADITIVOS.....	33
1.4.2	CLASIFICACIÓN.....	34
1.5	AZÚCAR.....	34
1.5.1	PROPIEDADES NUTRICIONALES.....	35
1.5.2	BENEFICIOS Y PROPIEDADES.....	36
1.5.3	TIPOS DE AZÚCAR.....	36
1.6	SABORIZANTES.....	37
1.6.1	TIPOS DE SABORIZANTES.....	37
1.6.2	VAINILLA.....	38
1.6.2.1	ORIGEN E IMPORTANCIA.....	38
1.6.2.2	PROPIEDADES DE LA VAINILLA.....	38
1.7	ESTABILIZANTES.....	39
1.7.1	FUNCIONES.....	39
1.7.2	CLASIFICACIÓN.....	40
1.7.3.1	FUNCIONES.....	41
1.8	CONSERVANTES.....	42
1.8.1	FUNCIÓN.....	42
1.8.2	SORBATOS.....	43
1.9	SISTEMAS DE TRATAMIENTO POR CALOR.....	43
1.9.2.1	PROCESOS DE PASTEURIZACIÓN.....	44
1.10	REFRIGERACIÓN.....	45
1.10.1	APLICACIONES.....	46



1.11 CALIDAD DE LOS PRODUCTOS.....	46
1.11.1 CALIDAD NUTRITIVA. ....	46
1.11.2 CALIDAD SANITARIA.....	47
1.12 ANÁLISIS PROXIMAL Y/O BROMATOLÓGICO.....	47
1.12.1 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD. ....	48
1.12.2 DETERMINACIÓN DE CENIZAS.....	48
1.12.3 DETERMINACIÓN DE FIBRA. ....	49
1.12.4 DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA. ....	50
1.12.5 EXTRACTO ETÉREO.....	50
1.12.6 EXTRACTO LIBRE NO NITROGENADO.....	50
1.12.7 PH.....	50
1.12.8 ° BRIX.....	51
1.13 EVALUACIÓN SENSORIAL.....	51
1.13.1 ATRIBUTOS SENSORIALES.....	52
1.13.2 MÉTODOS PARA TEST DE RESPUESTA SUBJETIVA.....	52
1.13.2.1 TEST DE PREFERENCIA.....	53
1.13.2.2 TEST DE ACEPTABILIDAD.....	53
1.14 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.....	54
1.14.1 MICROBIOLÓGICA DEL SUERO DE LECHE Y SUS DERIVADOS.....	55
1.15 TIEMPO DE VIDA UTIL.....	57
1.16 PRUEBAS ESTADÍSTICAS.....	57
1.16.1 ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA).....	57
1.16.2 PRUEBA DE TUKEY.....	58
1.16.3 PRUEBA Z.....	59

## CAPÍTULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL.....	60
2.1 LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN.....	60
2.1.1 ENCUESTADOS.....	60
2.2 MATERIALES.....	60

2.2.1	MATERIA PRIMA.....	60
2.2.2	MATERIAL DE LABORATORIO.....	61
2.2.3	EQUIPOS.....	62
2.2.4	REACTIVOS.....	63
2.2.5	MEDIOS DE CULTIVO.....	63
2.3	MÉTODOS.....	64
2.3.1	PROCESOS TECNOLÓGICOS SEGUIDOS PARA LA ELABORACIÓN DE LAS BEBIDAS.....	65
2.3.2	ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DEL SUERO Y DE LAS BEBIDAS LÁCTEAS A BASE DE SUERO DE LECHE Y AVENA.....	70
2.3.3	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL SUERO Y DE LAS BEBIDAS LÁCTEAS.....	87
2.3.3	ANÁLISIS DEL VALOR NUTRITIVO.....	88
2.3.4	VIDA DE ANAQUEL.....	89

### CAPÍTULO III

3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	90
3.2	EVALUACIÓN DE LA MATERIA PRIMA.....	90
3.1.1	EVALUACIÓN DE CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DEL SUERO DE LECHE DULCE Y AVENA MOLIDA.....	90
3.1.2	EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DEL SUERO DE LECHE.....	91
3.1.2	EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DEL SUERO DE LECHE.....	92
3.2	FORMULACIÓN Y CONDICIONES PARA LA ELABORACIÓN DE BEBIDAS LÁCTEAS.....	93
3.2.1	FORMULACIONES DE LAS BEBIDAS LÁCTEAS.....	93
3.3	ANÁLISIS SENSORIAL A TRAVÉS DE PRUEBAS DE DEGUSTACIÓN.....	98
3.1.1	ACEPTABILIDAD DE LAS BEBIDAS A BASE DE SUERO DE LECHE Y AVENA.....	98

3.4 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS DE LAS BEBIDAS LÁCTEAS CON MAYOR ACEPTABILIDAD.....	108
3.5 ANÁLISIS DEL VALOR NUTRITIVO ENTRE LAS TRES BEBIDAS LÁCTEAS. ....	111
3.6 VIDA DE ANAQUEL. ....	112
3.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO. ....	118
3.7.1 ANÁLISIS DE COMPARACIÓN DE ACEPTABILIDAD DE LAS BEBIDAS ENTRE NIÑOS Y ADULTOS. ....	118
3.7.2 ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DEL PROXIMAL OBTENIDOS EN CADA UNA DE LAS BEBIDAS LÁCTEAS (NORMAL, LÁCTICA, ALCOHÓLICA).....	120
CAPÍTULO IV	
4. CONCLUSIONES.....	121
CAPÍTULO V	
5. RECOMENDACIONES.....	124
CAPÍTULO VI	
6. RESUMEN. ....	125
CAPÍTULO VII	
7. BIBLIOGRAFÍA. ....	128
CAPÍTULO VIII	
8. ANEXOS. ....	138

## ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO No. 1	RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN SENSORIAL DEL LACTOSUERO DULCE Y AVENA MOLIDA. ....	90
CUADRO No. 2	RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN DE CARACTERÍSTICAS FÍSICO- QUÍMICAS DEL SUERO DULCE .....	91
CUADRO No. 3	RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL SUERO DULCE.....	92
CUADRO No. 4	FÓRMULA PATRÓN PARA LA ELABORACIÓN DE LA BEBIDA LÁCTEA NO FERMENTADA, EMPLEANDO EL 70% DE SUERO DE LECHE DULCE Y EL 30% DE AVENA MOLIDA. ....	93
CUADRO No. 5	FÓRMULA PATRÓN PARA LA ELABORACIÓN DE LA BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA CON <i>Streptococcus thermophilus</i> Y <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> , EMPLEANDO EL 70% DE SUERO DE LECHE DULCE Y EL 30% DE AVENA MOLIDA. ....	94
CUADRO No. 6	FÓRMULA PATRÓN PARA LA ELABORACIÓN DE LA BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA CON LEVADURA ACTIVA SECA <i>Sacharomyces cerevisiae</i> , EMPLEANDO EL 60% DE SUERO DE LECHE DULCE Y EL 40% DE AVENA MOLIDA. ....	95
CUADRO No. 7	CONDICIONES ESTABLECIDAS PARA LA PASTEURIZACIÓN DEL SUERO DE LECHE DULCE .....	96
CUADRO No. 8	CONDICIONES FÍSICO-QUÍMICAS ESTABLECIDAS PARA LA ELABORACIÓN DE LAS BEBIDAS FERMENTADAS CON <i>Streptococcus thermophilus</i> - <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> Y <i>Sacharomyces cerevisiae</i> . ....	97

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA No.1	CLASIFICACIÓN DE LOS SUEROS DERIVADOS DE LA PRODUCCIÓN DE QUESO SEGÚN SU ACIDEZ.....	5
TABLA No. 2	COMPOSICIÓN DE ALGUNOS SUEROS FLUIDOS Y EN POLVO COMERCIALES.....	6
TABLA No. 3	CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE LOS TIPOS DE SUERO.....	6
TABLA No. 4	COMPOSICIÓN EN AMINOÁCIDOS ESENCIALES (g/100g DE PROTEÍNA).....	9
TABLA No. 5	COMPOSICIÓN DE LACTOSUERO DULCE FLUIDO .....	11
TABLA No. 6	VENTAJAS DE CONSUMIR LACTOSUERO .....	12
TABLA No. 7	COMPOSICIÓN DE LA AVENA POR CADA 100g .....	22
TABLA No. 8	CLASIFICACIÓN DE LOS ESTABILIZANTES DE ACUERDO AL ORIGEN.....	40
TABLA No. 9	FORMULACIONES QUE SE UTILIZARON PARA LA ELABORACIÓN DE LAS BEBIDAS .....	64
TABLA No. 10	PRE ENSAYO DE FERMENTACIÓN PARA LA ELABORACIÓN DE LA BEBIDA ALCOHÓLICA. ....	68
TABLA No. 11	ANÁLISIS DE ENCUESTAS. PRIMERA PREGUNTA ¿CUÁL PRODUCTO PREFIERE? .....	98
TABLA No. 12	ANÁLISIS DE ENCUESTAS. SEGUNDA PREGUNTA ¿POR QUÉ LO PREFIERE? .....	100
TABLA No. 13	ANÁLISIS DE ENCUESTAS. PRIMERA PREGUNTA: SÍRVASE DEGUSTAR LAS MUESTRAS QUE SE PRESENTAN, CADA UNA IDENTIFICADA POR COLORES, VERDE, NARANJA, Y ROSADA; Y ORDÉNELAS SEGÚN SU PREFERENCIA, COLOCANDO EN EL PRIMER LUGAR LA(AS) MUESTRA(AS) QUE MÁS LE AGRADE, Y EN EL ÚLTIMO, LA(AS) MUESTRA(AS) QUE MENOS LE AGRADE. ....	101
TABLA No. 14	ANÁLISIS DE ENCUESTAS. SEGUNDA PREGUNTA: LA(AS) MUESTRAS QUE FUERON DE SU PREFERENCIA EVALÚELA SEGÚN SUS ATRIBUTOS DE CALIDAD. ....	102

TABLA No. 15	RESULTADOS DE LA CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE LAS BEBIDAS CON MAYOR ACEPTABILIDAD.....	108
TABLA No. 16	VIDA DE ANAQUEL DE LA BEBIDA LÁCTEA SIN FERMENTAR .....	112
TABLA No. 17	VIDA DE ANAQUEL DE LA BEBIDA FERMENTADA CON <i>Streptococcus thermophilus</i> y <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> .....	113
TABLA No. 18	VIDA DE ANAQUEL DE LA BEBIDA FERMENTADA CON <i>Sacharomyces cerevisiae</i> . ....	117
TABLA No. 19	PREFERENCIA DE LAS BEBIDAS LÁCTEAS EN NIÑOS Y ADULTOS .....	118
TABLA No. 20	COMPARACIÓN DE PARÁMETROS DEL ANÁLISIS PROXIMAL ENTRE LAS TRES BEBIDAS LÁCTEAS. ....	120

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO No. 1	EVALUACIÓN POR PREFERENCIA DE LAS BEBIDAS LÁCTEAS CON ETIQUETAS VERDE (Normal) Y NARANJA (Láctica). ....	99
GRÁFICO No. 2	EVALUACIÓN DE LAS VARIABLES DE ACEPTABILIDAD PARA LA BEBIDA DE COLOR VERDE Y LA BEBIDA DE COLOR NARANJA. ....	100
GRÁFICO No. 3	EVALUACIÓN DE LAS MUESTRAS SEGÚN LA PREFERENCIA POR LOS ADULTOS. ....	101
GRÁFICO No. 4	EVALUACIÓN DE LA MUESTRA DE COLOR VERDE POR ATRIBUTOS DE CALIDAD. ....	102
GRÁFICO No. 5	EVALUACIÓN DE LA MUESTRA COLOR NARANJA POR ATRIBUTOS DE CALIDAD. ....	103
GRÁFICO No. 6	COMPORTAMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS AEROBIOS MESÓFILOS EN EL TIEMPO DE VIDA ÚTIL DE LA BEBIDA NO FERMENTADA A PARTIR DE SUERO DULCE Y AVENA MOLIDA. ....	112
GRÁFICO No. 7	COMPORTAMIENTO DEL pH EN EL TIEMPO DE VIDA ÚTIL DE LA BEBIDA FERMENTADA CON <i>Streptococcus thermophilus</i> Y <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> A PARTIR DE SUERO DULCE Y AVENA MOLIDA. ....	114
GRÁFICO No. 8	COMPORTAMIENTO DE LA ACIDEZ EN EL TIEMPO DE VIDA ÚTIL DE LA BEBIDA FERMENTADA CON <i>Streptococcus thermophilus</i> Y <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> A PARTIR DE SUERO DULCE Y AVENA MOLIDA. ....	115
GRÁFICO No. 9	COMPORTAMIENTO DE LAS BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS EN EL TIEMPO DE VIDA ÚTIL DE LA BEBIDA FERMENTADA CON <i>Streptococcus thermophilus</i> Y <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> . A PARTIR DE SUERO DULCE Y AVENA MOLIDA. ....	116
GRÁFICO No. 10	COMPORTAMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS MOHOS Y LEVADURAS EN EL TIEMPO DE VIDA ÚTIL DE LA BEBIDA FERMENTADA CON <i>Streptococcus thermophilus</i> Y <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> A PARTIR DE SUERO DULCE Y AVENA MOLIDA. ....	116

GRÁFICO No. 11 COMPORTAMIENTO DEL pH EN EL TIEMPO DE VIDA ÚTIL DE LA BEBIDA FERMENTADA CON *Sacharomyces cerevisiae* A PARTIR DE SUERO DULCE Y AVENA MOLIDA..... 117



## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA No. 1	FLUJOGRAMA PARA LA ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA A BASE DE LACTOSUERO Y AVENA. ....	66
FIGURA No. 2	FLUJOGRAMA PARA LA ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA FERMENTADA LÁCTICA A BASE DE LACTOSUERO Y AVENA. ....	67
FIGURA No. 3	FLUJOGRAMA PARA LA ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA FERMENTADA ALCOHÓLICA A BASE DE LACTOSUERO Y AVENA. ....	69

## ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA No. 1 MEDICIÓN DE PH .....	70
FOTOGRAFÍA No. 2 MEDICIÓN DE ACIDEZ.....	71
FOTOGRAFÍA No. 3 MEDICIÓN DE °BRIX .....	73
FOTOGRAFÍA No. 4 SÓLIDOS TOTALES Y CENIZAS.....	74
FOTOGRAFÍA No. 5 FIBRA POR MÉTODO DE WEENDE.....	76
FOTOGRAFÍA No. 6 GRADO ALCOHÓLICO.....	85

## ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO No. 1	MODELO DE LA ENCUESTA DE ACEPTABILIDAD APLICADA A LOS NIÑOS.....	138
ANEXO No. 2	MODELO DE LA ENCUESTA DE ACEPTABILIDAD APLICADA A LOS ADULTOS.....	140
ANEXO No. 3	DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD DE MICROORGANISMOS. AEROBIOS MESÓFILOS. MÉTODO DE RECUENTO: SIEMBRA EN PLACAS PETRIFILM. ....	142
ANEXO No. 4	DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD DE MICROORGANISMOS. COLIFORMES TOTALES. MÉTODO DE RECUENTO: SIEMBRA EN PLACAS PETRIFILM. ....	144
ANEXO No. 5	DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD DE MICROORGANISMOS. MOHOS Y LEVADURAS. MÉTODO DE RECUENTO: SIEMBRA EN PLACAS PETRIFILM. ....	146
ANEXO No. 6	DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD DE MICROORGANISMOS. <i>Staphylococcus aureus</i> . MÉTODO DE RECUENTO: SIEMBRA EN PLACAS PETRIFILM. ....	148
ANEXO No. 7	ANÁLISIS PROXIMAL DE LA BEBIDA LÁCTEA A BASE DE SUERO DE LECHE Y AVENA. ....	150
ANEXO No. 8	PROXIMAL DE LA BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA CON <i>Streptococcus thermophilus</i> Y <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> A BASE DE SUERO DE LECHE Y AVENA.....	151
ANEXO No. 9	ANÁLISIS PROXIMAL DE LA BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA CON <i>Saccharomyces cerevisiae</i> A BASE DE SUERO DE LECHE Y AVENA.....	152
ANEXO No. 10	FICHA TÉCNICA DEL FERMENTO LÁCTICO YOMIX™ 300 LYO 10 DCU DANISCO. ....	153
ANEXO No. 11	TÉCNICA PARA EL RECUENTO DE BACTERIAS LÁCTICAS EN LA BEBIDA FERMENTADA LÁCTICA.....	155
ANEXO No. 12	TABLA DE VALORES DE Z PARA EL ANÁLISIS ESTADÍSTICO O PRUEBA Z.....	157
ANEXO No. 13	TABLA DE CORRECCIÓN DE DATOS PARA EL CÁLCULO DEL GRADO ALCOHÓLICO.....	158

ANEXO No. 14	FOTOGRAFÍAS DEL PROCESO DE ELABORACIÓN Y ANÁLISIS DEL PRODUCTO. ....	160
ANEXO No. 15	ETIQUETA FINAL DEL PRODUCTO (BEBIDA NO FERMENTADA Y BEBIDA FERMENTADA LÁCTICA).....	164
ANEXO No. 16	UBICACIÓN GEOGRÁFICA DE SALINAS DE GUARANDA – BOLIVAR.....	165

## INTRODUCCIÓN

La fabricación de queso consume gran cantidad de leche, dando inevitablemente lugar a la producción de una cantidad excesiva de lactosuero, es decir el 85% de la transformación de leche en queso termina como suero lácteo. En los países productores de quesos, aun no existen los medios adecuados para aprovechar el suero; lo que se hace es descharlo directamente como agua residual, lo cual constituye un problema grave, debido a la fermentación de materia orgánica, y a la disminución del tenor de oxígeno soluble en agua. La demanda bioquímica de oxígeno (D.B.O) del suero es de 40000 mg/L a 50000 mg/L<sup>-1</sup>, mientras que el oxígeno de un río no contaminado es de 10 mg/L<sup>-1</sup> al descender a 4 de O<sub>2</sub> mg/L<sup>-1</sup> desaparecen los peces, incluyendo especies poco exigentes en oxígeno. (24)

Para la alimentación humana el lactosuero resulta ser un subproducto de gran calidad energética y nutricional, debido a que sus proteínas son de alto valor biológico (por su contenido en triptófano, lisina y aminoácidos azufrados), tienen una calidad igual a las del huevo y no son deficientes en ningún aminoácido, virtualmente cada aminoácido presente en el lactosuero dulce excede las recomendaciones de consumo nutricional de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Organización Mundial de Salud (OMS), además, el suero presenta una cantidad rica de minerales donde sobresale el potasio, seguido del calcio, fósforo, sodio y magnesio, cuenta también con vitaminas del grupo B. Es así que por lo menos el 50% en peso de los nutrimentos de la leche se quedan en el lactosuero.

Por consiguiente, es importante que la industria quesera tenga un portafolio de opciones para usar el lactosuero como base de alimentos, preferentemente para el consumo humano, con el fin adicional de no contaminar el medio ambiente y de recuperar, con creces el valor monetario del lactosuero.

Actualmente la Quesera “El Salinerito” tiene una recepción mensual de 107 251 L de leche cruda, donde el 88-90% es destinado a la producción de quesos, generando 94 859,5 L de suero lácteo. Este subproducto rico en nutrientes es entregado a los proveedores de leche, quienes lo destinan a la alimentación de ganado porcino, es decir no se aprovecha en su mayor parte.

En ese sentido para esta empresa surge la gran necesidad, de aprovechar este derivado lácteo, en la elaboración de productos alimenticios de interés. La eficiencia de los costos es un factor importante en el uso de productos de suero, por lo que su aprovechamiento va a proporcionar una cifra respetable de diferentes productos de gran calidad, insustituible en la alimentación humana, otra ventaja de estos derivados es la potencialidad de mejorar los atributos nutrimentales de manera económica, haciendo de la empresa láctea rentable.

Además, desde el punto de vista de mercadeo, constituye una excelente alternativa, ya que, mundialmente hay una tendencia hacia productos funcionales y saludables; otra ventaja de estos productos como las bebidas lácteas, es que en el mercado nacional aún no están disponibles, solo se pudo identificar alimentos que contenían como ingrediente el concentrado de proteína de lactosuero, como las fórmulas infantiles y los suplementos alimenticios.

Por lo expuesto, en la presente investigación se plantearon los siguientes objetivos:

Elaboración y control de calidad de una bebida a base de suero de leche y avena (*Avena sativa*); se seleccionó la avena para aumentar la cantidad de proteína, ya que esta contiene más proteína que todos los cereales (con excepción del amaranto y quinua denominados falsos cereales), lo que resulta muy útil para la renovación de tejidos corporales, además es rica en grasas insaturadas, fibra soluble, ácidos grasos (omega-6), vitaminas del grupo B, minerales (la avena supera al trigo en Calcio). Para el desarrollo de esta bebida se realizó tres formulaciones (dos bebidas fermentadas y una sin

fermentar) con las proporciones adecuadas de suero de leche y avena molida, utilizando cultivos de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, y *Saccharomyces cerevisiae* en dos de estas bebidas, para proporcionarle valor nutracéutico (probiótico) y nuevas características sensoriales que le vuelva más agradable hacia el consumidor; aparte de que estos cultivos dan gran estabilidad al producto final. Además se establecieron las condiciones adecuadas para la elaboración de bebidas, se evaluó la aceptabilidad por parte de un grupo de degustadores (niños y adultos), mediante la aplicación de test de degustación, se determinaron las características sensoriales, físico-químicas y microbiológicas de las tres bebidas, y la vida de anaquel mediante pruebas normales de estabilidad. Con los resultados obtenidos se estableció la formulación de la bebida de mayor valor nutricional.

## CAPÍTULO I

### 1. PARTE TEÓRICA

#### 1.1 SUERO DE LECHE

El suero de leche es un líquido obtenido en el proceso de fabricación del queso y de la caseína, después de la separación de la cuajada o fase micelar. Sus características corresponden a un líquido fluido, de color verdoso amarillento, turbio, de sabor fresco, débilmente dulce, de carácter ácido, con un contenido de nutrientes o extracto seco del 5.5% al 7% provenientes de la leche. Representa el 80-90% del volumen total de la leche que entra en el procesamiento del queso, y contiene alrededor del 50% de los nutrientes de la leche original. (33)

El material más contaminante por su alto contenido orgánico en la actualidad, es el lactosuero, pues cada litro genera aproximadamente una Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) de 40,000 mg/L a 60,000 mg/L. Estos valores son cerca de 100 veces más altos que los producidos por la descarga de aguas negras de una familia promedio. Según Janer García Alarcón la cantidad normal de (DBO) en un río ronda entre 2 mg/L a 8 mg/L dependiendo su caudal. (46)

Sin embargo, no hacer uso del lactosuero como alimento es un desperdicio de nutrientes; pues el lactosuero contiene un poco más del 25 % de las proteínas de la leche, cerca del 8 % de la materia grasa y cerca del 95 % de la lactosa. Esto es equivalente a los requerimientos diarios de proteína de cerca de 130 personas y a los requerimientos diarios de energía de más de 100 personas. (46)



### 1.1.1 RESEÑA HISTÓRICA

Su primer uso fue como alimento para los animales, una vez que el hombre descubrió la coagulación enzimática. Las ovejas y cabras, fueron domesticadas en Mesopotamia, en el año 5000 AC, y en ese momento, la cuajada enzimática de la leche comenzó a ser un alimento importante para su civilización. El suero se almacenaba en jarrones de cerámica. Posteriormente, algunos nómadas que tenían gran cantidad de ovejas y cabras, hervían el suero en calderas de cobre, y obtenían un nutritivo alimento sólido. (33)

Además, el uso del lactosuero como bebida en la nutrición humana, especialmente para fines terapéuticos, data desde la antigua Grecia; Hipócrates, en el año 460 antes de Cristo prescribía suero para una variedad de enfermedades humanas. En la Edad Media, el suero era valorado como una medicina, un afrodisíaco y un bálsamo para la piel. Se utilizaba como componente de ungentos y lociones, para curar heridas, inspirar vitalidad y remediar varias enfermedades, mientras que por la mitad del siglo IX remedios de suero alcanzaron un gran auge con el establecimiento de más de 400 casas de elaboración de suero en el Oeste de Europa. Luego en 1940 en los spas de Europa Central, la anemia, uremia, artritis, gota, enfermedades al hígado e incluso la tuberculosis eran tratadas con la ingestión de hasta 1500 gramos de suero por día. (36)

En nuestro país, algunas plantas procesadoras lo utilizan sobre todo para la alimentación porcina, y en algunos casos, para el riego de potreros. También, se incluyen como ingrediente en algunas formulaciones. Empresas de pequeño y mediano tamaño, lo utilizan para la alimentación animal o la producción de quesos de suero (Richota).

Considerables esfuerzos han sido realizados en el pasado para explorar nuevas alternativas para la utilización de lactosuero y reducción de la contaminación ambiental. (33)

Entre los productos de exitosa aceptación debido a sus bajos costos de producción, grado de calidad alimenticia y aceptable sabor, se encuentran las bebidas refrescantes, bebidas fermentadas, y alcohólicas, proteína unicelular, biopelículas, producción de ácidos orgánicos, concentrados de proteínas, derivados de lactosa entre otros. (33)

### 1.1.2 OBTENCIÓN DEL SUERO

Después de dejar el queso en la tina en la fase de drenado, el suero pasa a través de un colador para remover las partículas finas de la cuajada. Estas partículas son generadas de nuevo a la cuajada y el suero va a un tanque de mantenimiento, de igual manera puede ir a un clarificador centrifugo o a un filtro muy fino, para remover las partículas que han sido retenidas en la primera filtrada. Si el suero va a ser almacenado antes de su procedimiento, es enfriado debajo de los 10 °C. El suero está así libre de partículas, pero contiene remanentes de grasa en forma globular, para remover la grasa, el suero es calentado de 50-55°C para derretir toda la grasa que puede ser separada por centrifuga, dejando solamente alrededor de 0.05% de grasa en el suero; sin embargo, un calentamiento a 45 °C basta para la separación de la grasa por centrifugación. La temperatura de almacenamiento del suero debe ser menor de 10°C si este se pretende usar después de unas horas pero si se quiere almacenar por más tiempo ésta debe ser a 4°C. (32)

El suero dulce debe procesarse pocas horas después de ser eliminado de la cuajada del queso para preservar su calidad. (16)

### 1.1.3 CARACTERÍSTICAS Y TIPOS DE SUERO

El suero lácteo representa a la fase hídrica de la leche y puede considerarse como formada por el conjunto de sustancias disueltas en el agua, cualquiera que sea el tamaño de sus moléculas (incluidas las proteínas solubles), o únicamente por las sustancias de bajo peso molecular: principalmente la lactosa y las sales. Sus características corresponden a un líquido turbio, color verdoso amarillento, sabor dulce. (1)

Dependiendo del origen de la leche, el tipo de queso, y las variaciones del proceso, el tipo de suero será diferente. Una de las clasificaciones está en función de su acidez: (Ver Tabla No. 1)

#### **1.1.3.1 Suero dulce**

Se obtiene como subproductos de quesos duros, semiduros y frescos en los que se utiliza cuajo, su acidez es de  $\text{pH} > 5.8$ . Procedente de fabricaciones de coagulación enzimática por uso de enzima coagulante. La precipitación de las proteínas se produce por hidrólisis específica de la caseína. Por lo tanto el pH es próximo al de la leche inicial y no hay variación de la composición mineral. El suero dulce es el más empleado por la industria y tiene una composición química más estable, lo que permite estimar los valores medios de composición. (31)

#### **1.1.3.2 Suero medio ácido**

Es obtenido al separarse la caseína por acidificación y su acidez es de  $\text{pH} 5.0-5.8$ . (46)

#### **1.1.3.3 Suero ácido**

Obtenida de una coagulación ácida o láctica de la caseína, presentando un pH próximo a 4,5. Se produce al alcanzar el punto isoeléctrico de la caseína con anulación de las cargas eléctricas que las mantienen separadas por las fuerzas de repulsión que generan, impidiendo la floculación. Conlleva una total desmineralización de la micela y la destrucción de la estructura micelar (gel muy frágil). Es un suero muy mineralizado pues contiene más del 80% de los minerales de la leche de partida. En éste, el ácido láctico secuestra el calcio del complejo de paracaseinato cálcico, produciendo lactato cálcico. (46)

El suero ácido contiene más calcio y fosfatos que el suero dulce debido a la acción disolvente del ácido que se utiliza para precipitar la caseína. (16)

El uso que se le puede dar al lactosuero varía desde la producción como medio de cultivo, propagación de inóculo en las queserías, producción de ácidos orgánicos, producción de alcohol, bebidas fermentadas (cerveza y vino), producción de enzimas, jarabes de suero, producción de biopelículas a partir de proteínas del suero, producción de probióticos y bacteriocinas, entre muchos más. (40)

**TABLA No. 1 CLASIFICACIÓN DE LOS SUEROS DERIVADOS DE LA PRODUCCIÓN DE QUESO SEGÚN SU ACIDEZ**

<b>TIPO DE SUERO</b>	<b>ACIDEZ TITULABLE</b>	<b>pH</b>
Suero dulce	0.10 a 0.20%	5.8 a 6.6
Suero medianamente ácido	0.20 a 0.40%	5.0 a 5.8
Suero ácido	0.40 a 0.60%	4.0 a 5.0

FUENTE: KOSIKOWSKI, 1982.

#### 1.1.4 COMPOSICIÓN Y NATURALEZA DEL SUERO DE LECHE

En la composición del lactosuero intervienen los siguientes factores:

1. La tecnología de elaboración del queso.
2. La composición de la leche.
3. El tratamiento del calor del lactosuero.
4. El almacenamiento del lactosuero.
5. El tipo de queso a procesar.

En la Tabla No. 2 podemos observar una composición generalizada de estos productos. (33)

**TABLA No. 2 COMPOSICIÓN DE ALGUNOS SUEROS FLUIDOS Y EN POLVO COMERCIALES**

<b>COMPONENTE</b>	<b>SUERO DULCE FLUIDO</b>	<b>SUERO ÁCIDO FLUIDO</b>	<b>SUERO DULCE EN POLVO</b>	<b>SUERO ÁCIDO EN POLVO</b>
Sólidos Totales	6.35%	6.5%	96.5%	96.0%
Humedad	93.70%	93.5%	3.5%	4.0%
Grasa	0.5%	0.04%	0.8%	0.6%
Proteína Total	0.8%	0.75%	13.1%	12.5%
Lactosa	4.85%	4.90%	75.0%	67.4%
Cenizas	0.50%	0.80%	7.3%	11.8%
Ácido Láctico	0.05%	0.40%	0.2%	4.2%

FUENTE: KOSIKOWSKI, 1982

#### 1.1.4.1 Características físico químicas del suero

En la Tabla No. 3 se muestra las características físico-químicas para cada tipo de suero.

(33)

**TABLA No. 3 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE LOS TIPOS DE SUERO**

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

FUENTE: APROVECHAMIENTO INDUSTRIAL DEL SUERO DE QUESERÍA. [http://www.portalechero.com/ver\\_items\\_descrip.asp?wVarItem=1906](http://www.portalechero.com/ver_items_descrip.asp?wVarItem=1906). 2012-05-23

#### 1.1.4.2 Proteínas del suero

Reciben este nombre el conjunto de sustancias nitrogenadas que no precipitan cuando el pH de la leche se lleva a 4.6, pH que corresponde al punto isoeléctrico de la caseína bruta. Por eso se las denomina también proteínas solubles. Se encuentran en el suero que se separa del coágulo obtenido por adición del cuajo. Representan aproximadamente el 20 % del total de las proteínas de la leche. (33)

No constituyen la fracción más abundante, pero es la más interesante en los terrenos económico y nutricional. Representa una rica y variada mezcla de proteínas secretadas que poseen amplio rango de propiedades químicas, físicas y funcionales. Concretamente, suponen alrededor del 20% de las proteínas de la leche de bovino, siendo su principal componente la  $\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ -LG) con cerca de 10% y  $\alpha$  lactoalbúmina con 4% de toda la proteína láctea, además, contiene otras proteínas como, lactoferrina, lactoperoxidasa, inmunoglobulinas, y glicomacropéptid. La  $\beta$ -LG es secretada en leches de rumiantes con alta resistencia a la digestión gástrica, lo que origina intolerancia y/o alergenidad en seres humanos, sin embargo, tratamientos industriales como esterilización, calentamiento o presión hidrostática alta y la hidrólisis mejoran la digestibilidad de la  $\beta$ -LG presente en el lactosuero. (13)(23)

Los diversos métodos de fraccionamientos permiten distinguir cuatro grandes fracciones: albúminas, globulinas, fracción proteosa - peptosa, proteínas menores.

**Albúminas:** Cuantitativamente es la fracción más importante, pues representa el 75 % de proteínas del suero lácteo y el 15 % del total de las proteínas de la leche. Comprende fundamentalmente tres constituyentes:  $\alpha$ -latoalbúmina,  $\beta$ -lactoalbúmina y la seroalbúmina. (13)

**$\alpha$ -albúminas:** Representa del 25 % de la fracción albúminas. La proteína interviene en la biosíntesis de la lactosa, de la cual se sabe que está bajo el control de tres enzimas, uno

de los cuales, la lactosa sintetasa, está constituida por dos subunidades proteicas A y B. La proteína B no es otra cosa que la  $\alpha$ -lactoalbúmina. (34)

**$\beta$ -albúminas:** Representa aproximadamente el 60% de la fracción albúminas. Insoluble en agua destilada y soluble en diluciones de sales, se desnaturaliza y precipita a menos de 73 °C (no resiste la pasteurización). Esta proteína no se encuentra en la leche humana, siendo abundante especialmente en rumiantes y es considerada la responsable de ciertas reacciones alérgicas en los infantes. (34)

**Seroalbúmina:** Es una de las proteínas más importantes del plasma de la sangre, se encarga de transportar sustancias de naturaleza química muy diversa, como ácidos grasos, aminoácidos, esteroides, metales (como el calcio), y numerosos fármacos, facilitando la transferencia de muchas de ellas desde la circulación sanguínea a órganos como el hígado, el riñón, el intestino y el cerebro. (13)

**Globulinas:** Representa el 10 al 12% de las proteínas solubles. Presentan una actividad inmunológica importante. Por esto se las llama a menudo inmunoglobulinas, las mismas que desempeñan un papel fundamental en la transmisión de inmunidad de la madre al recién nacido durante los primeros días de vida post-uterina. (34)

**Proteosas-peptonas:** Representa aproximadamente el 10% de las proteínas del suero lácteo. No precipitan fácilmente a temperaturas altas. Está compuesto por hexosas, hexosaminas, ácido siálico, glúcidos y fósforo. (13)

**Proteínas menores:** Agrupa un cierto número de proteínas que se encuentran en la leche en pequeñas cantidades y son difíciles de clasificar. Entre ellas destaca la transferrina, lactolina y las proteínas de la membrana del glóbulo graso. En conjunto representan más o menos el 5 % de las proteínas del suero lácteo. La Lactotrasferrina puede fijar reversiblemente el hierro. La lactoperoxidasa es un enzima termoestable, posee efectos nocivos contra *E.coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimorium*, además de evitar el crecimiento de bacterias gram positivas. (31)

En sí el lactosuero contiene proteínas de alto valor biológico (por su contenido en triptófano, lisina y aminoácidos azufrados), tienen una calidad igual a las del huevo y no son deficientes en ningún aminoácido, virtualmente cada aminoácido presente en el lactosuero dulce excede las recomendaciones de consumo nutricional de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Organización Mundial de Salud (OMS). (Ver Tabla No. 4).

**TABLA No. 4 COMPOSICIÓN EN AMINOÁCIDOS ESENCIALES (g/100g DE PROTEÍNA)**

AMINOÁCIDO	LACTOSUERO	HUEVO	EQUILIBRIO RECOMENDADO POR LA FAO
Treonina	6,2	4,9	3,5
Cisteína	1,0	2,8	2,6
Metionina	2,0	3,4	2,6
Valina	6,0	6,4	4,8
Leucina	9,5	8,5	7,0
Isoleucina	5,9	5,2	4,2
Fenilalanina	3,6	5,2	7,3
Lisina	9,0	6,2	5,1
Histidina	1,8	2,6	1,7
Triptófano	1,5	1,6	1,1

FUENTE: IMPORTANCIA DEL LACTOSUERO EN LA INDUSTRIA. <http://www.agro.unalmed.edu.co/publicaciones/revista/docs/Art.Lactosuero-ImportanciaenlaIndustria2.pdf>. 2012-05.24

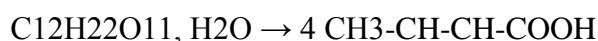
Algunos factores afectan las propiedades funcionales de proteínas alimenticias. Estos incluyen propiedades intrínsecas, como la secuencia acida de aminoácidos y la composición, la estructura secundaria y terciaria, el carácter hidrófilo/hidrófobo de la superficie de la proteína, la carga neta, y las distribuciones de carga; y también factores extrínsecos como pH, fuerza iónica, temperatura e interacción con otros ingredientes alimenticios. (32)

#### **1.1.4.3 Carbohidratos del suero**

La lactosa es el componente mayoritario de la materia seca de la leche. Otros azúcares están también presentes, pero en cantidades vestigiales. Se trata principalmente de poliosidos que contienen fructosa y glúcidos nitrogenados, como la N-acetil



glucosamida. La lactosa es un glúcido reductor que pertenece al grupo de los diholósidos. Está formada por la unión de una molécula de  $\alpha$  o  $\beta$ -glucosa y otra de  $\beta$ - galactosa. La hidrólisis enzimática también es posible. Algunas levaduras y numerosas bacterias poseen una lactosa que pueden provocarla. La evolución más frecuente, y a la vez más importante, es su transformación en ácido láctico, llevada a cabo, principalmente, por numerosas bacterias. (31)



Lactosa      Ácido Láctico

Esta reacción se acompaña, en general de la producción de sustancias secundarias en cantidades más o menos apreciables, según los gérmenes responsables de la degradación y las condiciones en las que actúan.

#### **1.1.4.4 Vitaminas del suero**

El suero contiene numerosas vitaminas del grupo B (tiamina, ácido pantoténico, riboflavina, piridoxina, ácido nicotínico, cobalamina) y ácido ascórbico. Las vitaminas liposolubles son muy escasas, al carecer este producto de suficiente materia grasa. La presencia de muchas de estas vitaminas, lo hacen un medio de características positivas para el desarrollo de fermentaciones. (31) (36)

En términos generales, se dice que, la calidad del lactosuero está dada por los componentes que contiene. La Tabla No. 5 detalla la información aproximada de los componentes del lactosuero donde se destacan elementos nutritivos, minerales y vitaminas.

**TABLA No.5 COMPOSICIÓN DE LACTOSUERO DULCE FLUIDO**

<b>COMPONENTE</b>	<b>UNIDADES APROXIMADAS</b>	<b>CANTIDAD EN 100 g</b>
<b>NUTRIENTES</b>		
Agua	g	93.12
Energía	Kcal	27
Proteína (Nx6.38)	g	0.85
Grasa	g	0.36
Carbohidratos	g	5.14
Fibra	g	0
Cenizas	g	0.53
<b>MINERALES</b>		
Calcio	mg	47
Hierro	mg	0.06
Magnesio	mg	8
Fósforo	mg	46
Potasio	mg	161
Sodio	mg	54
Zinc	mg	0.13
<b>VITAMINAS</b>		
Ácido ascórbico	mg	0.10
Tiamina	mg	0.036
Riboflavina	mg	0.158
Niacina	mg	0.074
Ácido pantoténico	mg	0.383
Vitamina B6	mg	0.031
Folacina	mg	1
Vitamina B12	mg	0.277
Vitamina A	UI	26
<b>COLESTEROL</b>	mg	2

FUENTE: AGRICULTURE HANDBOOK No. 8 -1. USDA. 1976.

Cuando el suero se concentra y se seca hay un incremento aproximado de 11 veces en el contenido de sólidos y este aumento en concentración se refleja en un aumento en la mayoría de las vitaminas. (16)

### 1.1.5 EFECTOS FAVORABLES PARA LA SALUD POR UTILIZACIÓN DE SUERO DE LECHE

**TABLA No. 6 VENTAJAS DE CONSUMIR LACTOSUERO**

<b>ETAPAS</b>	<b>VENTAJAS</b>
<b>Niños</b>	Este subproducto nutritivo, gracias a sus inmunoglobulinas, ayuda a que los niños tengan un excelente desarrollo físico y mental, fortalece sus defensas para tener mayor resistencia a enfermedades, creciendo más sanos y fuertes, protegiendo su aparato digestivo de lo agresivo de otros productos menos nutritivos consumidos por infantes como golosinas y comida chatarra.
<b>Deportistas</b>	Las proteínas del suero de leche proporcionan un beneficio significativo en la recuperación de tejidos musculares, cuando el daño o lesión no son graves, tales como daños o traumas asociados con el ejercicio. Gracias a sus antioxidantes, combate los radicales libres causados por el exceso de ejercicio, fortalece los huesos gracias a su contenido de calcio.
<b>Mujeres</b>	El lactosuero es una fuente natural de nutrientes que le brinda lo mejor para hacer frente a los desgastes propios de su sexo, mejora su rendimiento y les da más y mejor energía para realizar sus actividades, proporciona nutrientes indispensables para cubrir las necesidades del organismo durante el embarazo y aligera los trastornos hormonales ocasionados por la menopausia.
<b>Hombres</b>	Incrementa en los hombres la energía para responder a las necesidades que le exige su ritmo de vida. Reduce el cansancio, la tensión y el estrés, además de proporcionar nutrientes de calidad que contrarrestan las deficiencias de su alimentación. Promueve a través del selenio y el zinc una mejor vida sexual.
<b>Personas Mayores</b>	En las personas mayores los nutrientes presentes en el lactosuero mejoran la agudeza mental mientras que su contenido de calcio fortalece huesos y dientes, estimula el sentido del gusto y mejora la digestión, además incrementa la inmunidad contra enfermedades, reduce la fatiga y el estrés.

FUENTE: ESTUDIO DE PRE-FACTIBILIDAD PARA LA INSTALACIÓN DE UNA PLANTA PROCESADORA DE BEBIDAS A BASE DE LACTOSUERO.  
<http://pml.org.ni/Documentos/suero.pdf>. 20120527

El lactosuero generado, que es un alimento totalmente natural, facilita al organismo los elementos nutritivos en calidad y cantidad adecuados para complementar las deficiencias de la alimentación habitual. La Tabla No. 6 presenta algunas ventajas de consumir lactosuero en las diferentes etapas de la vida. (46) (50)

Sus propiedades terapéuticas más importantes son:

Estimulante del peristaltismo intestinal, regenera la flora intestinal, estimula y desintoxica el hígado, favorece la eliminación del exceso de líquido en los tejidos, activa la eliminación de toxinas por los riñones, mejora la asimilación de nutrientes, corrige el medio orgánico.

#### 1.1.6 APLICACIONES Y PRODUCTOS ACTUALES A BASE DE SUERO DE LECHE

##### 1.1.6.1 Aplicaciones

El suero es un derivado de la leche, que tradicionalmente ha sido considerado, en el Ecuador y el mundo, como un simple subproducto de la elaboración de quesos. Por largo tiempo, el suero simplemente fue vertido en los campos o dado como suplemento alimenticio para los animales. Hoy en día, las proteínas derivadas de la leche se emplean en una gran diversidad de las categorías de los alimentos tales como:

- Lactosuero transformado en polvo dulce, ácido, desmineralizado y deslactosado, obtención de lactosa, proteínas, quesos, sirve además para obtener alcohol etílico, ácido láctico y vinagre.
- El concentrado de lactosuero se utiliza como sustituto de la leche concentrada desnatada en la elaboración de helados, postres, recubrimientos, sopas, salsas entre otros.
- Además tenemos: Barras de proteína, Alimentos con fortificación nutricional (formulas infantiles), Panificación (galletas), Cereales (avenas instantáneas),

Lácteos (cremas para untar, smoothies, batidos, etc.), Confitería, Bebidas, aderezos de ensaladas, Cárnicos, Surimi, etc.

- Otra importante aplicación del lactosuero es la producción de margarina y otros productos grasos para untar.
- Como emulsificantes, los concentrados de proteína de suero de leche sirven para una amplia gama de aplicaciones en la formulación de bebidas nutricionales con proteína y de otros productos médicos nutricionales.

Las ventajas de utilizar proteínas de suero de leche en productos médicos y de nutrición incluyen los siguientes: un sabor limpio, mejoramiento del patrón de aminoácidos, mejoramiento de la estabilidad física del producto, disponibilidad de lactosa de bajo nivel de hidrólisis, anti-oxidantes de alta calidad y la creación de geles que ayudan a ligar la cocoa en polvo, por ejemplo en productos con sabor. (35) (48)

#### **1.1.6.2 PRODUCTOS A BASE DE SUERO DE LECHE**

##### **❖ Quesones, Ricottone o Ricotta**

Producto obtenido por precipitación de las proteínas mediante el calor en medio ácido producido por acidificación, debido al cultivo de bacterias lácticas apropiadas o por ácidos orgánicos permitidos a ese fin, de las sustancias proteicas de la leche o del suero de quesos. Para su elaboración se usa lactosueros de quesos Cheddar y Mozzarella son los más apropiados para la elaboración de este producto. El pH del lactosuero no debe ser menor de 6.6. (46)

##### **❖ Quesos tipo Mysost**

Los "quesos" tipo Mysost son productos comerciales de origen escandinavo, que tienen las ventajas de usar todos los sólidos del lactosuero y de que su procesamiento no requiere grandes inversiones. Se debe usar lactosuero fresco, o lactosuero enfriado rápidamente para minimizar el desarrollo de acidez. (46)

### ❖ **Sorbetes y Yogures**

Es un sorbete de leche elaborado con los mismos procedimientos que la elaboración convencional de estos productos, la única diferencia es que se le agrega concentrado proteico de suero (polvo). La proteína del suero que tienden a aportar cremosidad al producto. (48)

### ❖ **Bebidas (presentación en polvo)**

Por la simple filtración del suero quedan retenidos por la membrana, los WPC (whey protein concentrates), que pueden contener desde un 15 hasta un 85% de proteínas. Su elaboración requiere cantidades mayores de lactosuero líquido para obtener una porción en polvo. (46)

### ❖ **Bebidas (presentación líquida)**

Las bebidas o fórmulas lácteas son bebidas nutricionales análogas de leche que se pueden elaborar a base de lactosueros no salados. El contenido de proteína de las bebidas lácteas nutricionales debería ser el mismo de la leche, ~30 g/L, pero su contenido de materia grasa puede variar dentro del rango entre 1 y 33 g/L. (46)

Empleando el lactosuero para elaborar bebidas en presentación líquida se aprovecha todos los componentes del suero, obteniéndose un producto con alto valor energético. Los tipos de bebidas que pueden obtenerse a partir del lactosuero son:

- Bebida láctea, contiene en su formulación suero de la fabricación de queso, agua, zumo de frutas, aroma, colorante, estabilizantes y azúcar.
- Bebidas límpidas, dulces, aromatizadas, no alcohólicas, gaseosas o no, obtenidas a partir de lactosuero desproteinizado.

- Bebidas proteinizadas, en forma de leche, tras la homogenización con la nata, o en forma de mezclas con zumos de frutas o de legumbres.
- Bebidas alcohólicas, en cervecería se ensaya la introducción del suero hidrolizado en el mosto (operación autorizada en U.S.A.). Puede hacerse un vino de lactosuero, con o sin adición de azúcar, con o sin adición de aromas. Se utiliza como mosto el “permeado” de la ultrafiltración desalinizado mediante electrodiálisis y luego sembrado con una cepa adaptada de *Kluyveromyces fragilis* a 30°C. Después de su tratamiento a la bentonita se obtiene un vino agradable que ha perdido el sabor a lactosuero. (25) (51)

#### ❖ **Proteína de lactosuero en tabletas**

Productos derivados de las proteínas del suero del queso, respondiendo a las necesidades de las industrias farmacéutica y de la alimentación. También se desarrollan aminoácidos concentrados. (46)

#### 1.1.6 BEBIDAS CON SUERO DE LECHE

El suero también se puede utilizar para la fabricación de bebidas refrescantes de alto contenido energético. Las bebidas o fórmulas lácteas son bebidas nutricionales análogas de leche, ideales para programas gubernamentales, que se pueden elaborar a base de sueros salados. El contenido de proteínas de las bebidas lácteas debería ser el mismo de la leche, 30g/L, pero su contenido de materia grasa puede variar dentro del rango entre 1 y 33g/L, como lo es en las leches descremadas, semidescremadas y enteras, siendo estas consideraciones de diseño más bien un reflejo de los propósitos y las estrategias de dichos programas. (36)

El consumo de bebidas en general se ha alejado de su función de saciar la sed, sino que al igual que otros alimentos, las bebidas tienen un valor hedónico (procurar placer) y en ocasiones llegan a consumirse en cantidades que exceden en mucho las necesidades para mantener la hidratación corporal. En la actualidad, el mercado ofrece una gran variedad

de bebidas refrescantes, muchas de ellas son carbonatadas, aunque el consumo de refrescos sin gas es cada vez mayor. Estos últimos son un grupo intermedio entre los refrescos carbonatados y los jugos de fruta y se obtienen de la mezcla de lactosuero, agua con azúcares o edulcorantes, aromatizantes y acidulantes, también se les suele añadir ácido ascórbico como antioxidante y fuente de vitamina C. (38)

Si la filosofía es ofrecer a ciertos segmentos de población (niños en edad escolar, mujeres embarazadas, etc), bebidas nutritivas a bajo costo, el balance de nutrientes (grasas y proteínas) puede provenir de fuentes de menos costo que el de sus contrapartes en la leche fluida (grasa y/o aceites vegetales, concentrados de proteínas de lactosuero). En tal caso, el bajo contenido de colesterol constituye un beneficio adicional. (31)

En el mundo moderno, nunca antes había estado la gente tan centrada en la salud y el bienestar. Los complejos consumidores de hoy están dispuestos a pagar por productos que prometan armonía de cuerpo y alma. Según el estudio de consumidores realizado por el grupo internacional Mintel, un sorprendente 43% responde que compran alimentos y bebidas funcionales ocasionalmente, y el 56% quisiera saber más sobre sus beneficios. El término “funcional” es bastante arbitrario pero, en general, describe un alimento o bebida que aporta beneficios de salud o unos efectos fisiológicos deseables, más allá de la nutrición básica. Estos datos presentan una oportunidad de oro, para que los comercializadores de lácteos formulen productos innovadores para coincidir con las necesidades de los consumidores, y comercializar eficientemente el valor del producto. Sin duda que los consumidores, conscientes de la salud, aunque escasos de tiempo, buscan soluciones rápidas y fáciles a sus necesidades. Las bebidas son fáciles y rápidas de consumir, más convenientes que masticar comida, como las barritas, cuando se tiene poco tiempo. Los conceptos líderes de bebidas con valor añadido, están enfocados a la inmunidad, la salud cardíaca, el refuerzo para los huesos y la energía. (44) (38)

La bebida suiza Rivella, bebida fermentada desarrollada a partir de lactosuero. Esta bebida gasifica y cristalina, con una infusión de hierbas, la cual se le ha eliminado la proteína, fue lanzada al mercado en el año de 1952. A partir de ello, se ha desarrollado en Suiza, un mercado de bebidas, con propiedades terapéuticas. Su proceso de producción,



incluye la eliminación de las proteínas, y posterior clarificación. Posteriormente, se hace una fermentación láctica del mismo, para luego concentrarse en un evaporador, de doble efecto. Luego se incorporan hierbas, se filtra e incorpora una solución de sacarosa pasteurizada. Finalmente se le incorpora agua dura, se carbonata y se embotella. (51)

En algunos casos, se combinaron las fermentaciones de ácido láctico y alcohólicas, para producir bebidas a base de suero. Se desarrollaron fortificadas con sacarosa, fermentadas con levaduras y bacterias lácticas. También se han desarrollado bebidas de suero espumante. Normalmente, se alcanza la concentración de 1% de ácido láctico, para su posterior fermentación etílica, hasta alcanzar cantidades del alcohol etílico inferiores al 1%. El lactosuero se utilizó también para la elaboración de productos similares a la cerveza, incorporando lúpulo, sin necesidad de incorporar malta. (46)

En los países nórdicos, se producen bebidas fermentadas, utilizando diferentes cepas de cultivos *Lactobacillus helveticus*, cuyo beneficio funcional es el de disminuir la presión sanguínea, a partir de la producción de los pépticos activos, derivados del metabolismo de la caseína. (12)

## 1.2 AVENA (*Avena sativa*)

La avena es uno de los cereales más completos. Por sus cualidades energéticas y nutritivas ha sido la base de la alimentación de pueblos y civilizaciones como la escocesa, irlandesa y algunos pueblos de las montañas Asiáticas. (38)

Una de las características reconocidas de la avena es su valor como fuente de energía y vitalidad, lo que hace que sea el alimento ideal para quienes desean aumentar su capacidad energética.

Actualmente es un cereal que está muy valorado por sus propiedades alimentarias, hasta el punto que en Estados Unidos se ha convertido en el más utilizado, después del maíz.

Además la avena es un cereal que se destaca por su alto contenido en proteínas vegetales, también es rica en grasas insaturadas, hidratos de carbono y vitamina B1, aporta minerales que no deben faltar en nuestra dieta como el Potasio, Calcio, Fósforo, Magnesio y Hierro. (38)

### 1.2.1 ORIGEN E IMPORTANCIA

Las avenas cultivadas tienen su origen en Asia central; la historia de su cultivo es desconocida, aunque parece confirmarse que este cereal no llegó a tener importancia en épocas tan tempranas como el trigo o la cebada, ya que antes de ser cultivada la avena fue una mala hierba de estos cereales. Los primeros restos arqueológicos se hallaron en Egipto, mientras que los restos más antiguos encontrados de cultivos de avena se localizan en Europa central, y están datados en la Edad del Bronce. Se considera una planta de estación fría, localizándose las mayores áreas de producción en los climas templados más fríos. Es una planta muy sensible a las altas temperaturas y a la sequía sobre todo durante la floración y la formación del grano. (38)

Prefiere suelos profundos y arcillo-arenosos, ricos en cal pero sin exceso y que retengan humedad, pero sin que quede el agua estancada. El grano está compuesto, como media, por un 3% de embrión, un 30% de salvado y un 57% de endospermo harinoso, aunque estas proporciones pueden oscilar notablemente entre las diferentes variedades y con la climatología y condiciones de cultivo. Su contenido en  $\beta$ -glucanos es elevado, pero inferior al de la cebada. (38)

### 1.2.2 CARACTERÍSTICAS

La avena (*Avena sativa*) es una planta de la familia de las poáceas. En realidad es un cereal, al igual que el arroz, el trigo o el maíz. Esta planta alcanza metro y medio de altura, posee hojas lanceoladas de hasta unos 4cm de longitud, las flores aparecen en espigas, pero lo que más se conoce son los granos que maduran sobre la misma espiga, alcanzan 1,5cm y presentan una forma bastante alargada y estrecha, a diferencia del trigo

que es más redondeado. Precede de Europa, donde todavía se puede encontrar en estado salvaje. (43)

### 1.2.3 COMPOSICIÓN NUTRICIONAL

La avena contiene más proteínas dentro de los cereales después del trigo, es muy rica en grasas, doblando al trigo, siendo la mayoría de ellas de carácter insaturado.

#### 1.2.3.1 Proteínas

Cuanto más elevado es el número de aminoácidos esenciales presentes en un alimento, mayor es su valor biológico; y la avena contiene seis de los ocho aminoácidos imprescindibles para la síntesis correcta de proteínas.

Los aminoácidos presentes en la avena son: leucina, isoleucina y treonina, necesarios para el crecimiento infantil junto con la metionina, que además ayuda a eliminar el colesterol, al hacer que el hígado produzca más lecitina y permite que el cuerpo pueda eliminar los materiales pesados. (43) (18)

#### 1.2.3.2 Lípidos

La avena es el cereal con mayor porcentaje de grasa vegetal. El 65 % es de ácidos grasos insaturados y el 35% de ácido linoleico. A su vez, 100g de avena cubren un tercio de nuestras necesidades diarias de ácidos grasos esenciales. (18)

#### 1.2.3.3 Hidratos de carbono

La avena contiene hidratos de carbono de absorción lenta y de fácil asimilación. Estos proporcionan energía durante mucho tiempo después de haber sido absorbidos por el aparato digestivo, evitando la sensación de fatiga y desmayo que experimenta cuando el cuerpo reclama glucosa de nuevo (hipoglucemia). (18)

#### **1.2.3.4 Vitaminas, minerales y oligoelementos**

El contenido de estos elementos es en concentraciones óptimas, tanto para curar como para prevenir. 100 g de avena contienen: 5mg, de sodio, 400mg de potasio, 70mg de calcio, 430mg de fósforo, 140mg de magnesio, 4mg de hierro, 0,47mg de cobre, 4mg de cinc, 0,56mg de vitamina B1, 0,15mg de vitamina B2, 1mg. de vitamina B3 y 0,16mg de vitamina B6. También 1,1mg de vitamina E (18).

La avena es rica en Hierro, aparte que esta supera al trigo en Calcio. Además contiene muchos aminoácidos, como leucina, isoleucina y treonina, necesarios para el crecimiento infantil junto con la metionina que, además ayuda a eliminar el colesterol, y permite que el cuerpo pueda eliminar los materiales pesados (38).

#### **1.2.3.5 Fibra**

Además de estos componentes esenciales, la avena contiene otros elementos no tan importantes desde el punto de vista nutritivo, pero necesarios para el buen funcionamiento intestinal. Se trata de sustancias insolubles que, ingeridas con la alimentación, no se absorben en el intestino. Es lo que normalmente conocemos como FIBRA. (18)

La avena posee un gran contenido de dos tipos de fibra: fibra insolubles muy adecuada para facilitar el tránsito intestinal y evitar el estreñimiento; y fibra soluble, que resulta también muy recomendable para reducir el colesterol, ya que dificulta su absorción intestinal. Además de fibra soluble su contenido en ácidos grasos Omega-6, ayudan también a disminuir el colesterol de la sangre. (43)

**TABLA No. 7 COMPOSICIÓN DE LA AVENA POR CADA 100g**

<b>NUTRIENTE</b>	<b>APORTE</b>
<b>NUTRIENTES</b>	
Agua	8.2g
Energía	389Kcal
Proteína	16.8g
Lípidos	6.9-7.1g
Carbohidratos	66.27g
Fibra	10.6g
<b>MINERALES</b>	
Calcio	54 mg
Hierro	4.7 mg
Magnesio	11 mg
Fósforo	523 mg
Potasio	429 mg
Sodio	2 mg
Zinc	3.9 mg
<b>VITAMINAS</b>	
Vitamina C	0 mg
Vitamina B <sub>1</sub>	0.76 mg
Vitamina B <sub>2</sub>	0.13 mg
Vitamina B <sub>6</sub>	0.11 mg
Vitamina A	0 UI mg
Vitamina E	0.70 mg
Folato	56 mcg
Niacina	0.323 mg

FUENTE: AVENA <http://www.botanical-online.com/avena.htm>. 20120524

#### 1.2.4 BENEFICIOS DE LA AVENA

Los copos de avena tienen seis de los ocho aminoácidos esenciales. Si se compara con el trigo, que contiene sólo uno, o la cebada y el centeno que no tienen ni uno, se puede ver la importancia de incluir este cereal en la dieta alimentaria.

Entre todos los cereales, la avena es el que más vitaminas y minerales concentrados tiene. Vitaminas, E, B1, B2 y minerales como el calcio, hierro, zinc, fósforo y magnesio están presentes en grandes cantidades.

Es un alimento ideal para personas que sufren gran desgaste físico por su actividad, como los deportistas, y para todas aquellas que se sientan cansadas, sin fuerza, con sensación de sueño permanente o con estrés.

La avena no engorda y además ayuda a reducir los kilos de más. Al contener fibra, esta actúa como regulador metabólico. Es un alimento saciante que ayuda a regular la sensación de apetito, ya que aporta energía durante largo tiempo. Además, es diurética por lo que ayuda a reducir la acumulación de líquido en el cuerpo.

Es un buen medicamento para los trastornos digestivos; sensación de llenura, ardor de estómago, estreñimiento o diarreas. Su fibra ayuda el tránsito intestinal y los betaglucanos forman una capa fina en el intestino, que lo protege. (38) (43).

### 1.3 FERMENTACIÓN

Todos los procedimientos y procesos de fermentación descritos hasta ahora se aplicaron y se aplican por los humanos desde hace miles de años. Las experiencias así recogidas pasaron de generación en generación. Sin embargo, se desconocía lo que era en realidad la fermentación y cómo se ponía en marcha. (10)

En el siglo XIX Louis Pasteur (1822-1895) aclaró el asunto. Colocó la primera piedra para el dominio de los procesos técnicos, en los cuales los microorganismos son los “animales de carga”, y por ello es uno de los padres de la biotecnología moderna.

La fermentación de los alimentos se descubrió indudablemente por casualidad, pero sus efectos ventajosos (almacenamiento duradero, mejor digeribles, aroma más rico, y experiencia embriagadora con los productos que contienen alcohol) fueron tan obvios que pronto se consiguieron productos de fermentación de muchos cultivos. La fermentación, por consiguiente, fue una primera forma de refinación de los alimentos. (22)

En realidad, los primeros pueblos sedentarios conocían sólo el secado y la conservación con sal de los alimentos. Por eso la sal era a menudo un tesoro. Con la introducción de la fermentación se pudo elaborar productos más aceptables y más diversos; y también disminuyó claramente el riesgo de intoxicaciones alimentarias. (54)

Mientras que hoy, en los países muy industrializados, el valor del placer de los alimentos fermentados está en primer plano, en los países en desarrollo tienen su original importante valor. En estos países todavía se estropea un tercio de los alimentos. (22)

### 1.3.1 FERMENTACIÓN DEL SUERO LÁCTEO

El suero lácteo se utiliza como medio de cultivo para el desarrollo de algunos microorganismos. Muchos microorganismos pueden fermentar el suero, y por ello, se pueden obtener múltiples productos metabólicos de estos procesos. El proceso de fermentación permite mejorar las características nutritivas de este producto, además de hacerlo más paladeable. (24)

Para este proceso metabólico, deben seleccionarse microorganismos capaces de fermentar la lactosa, ya que es el único carbohidrato fermentable presente en el producto.

Los productos fermentados, a partir del suero lácteo, son utilizados para la alimentación animal, debido al alto contenido de vitaminas del complejo B. (10) (33)

La fermentación del suero, sirve para:

- ✓ Mejorar las propiedades nutritivas del suero
- ✓ Mejorar su sabor y apariencia, para desarrollar un alimento más paladeable
- ✓ Aprovechar todo suero, para evitar residuos que deban ser tratados
- ✓ Desarrollar un producto que pueda ser vendido con una utilidad.

La fermentación más conocida del suero, es la producción de levadura. Muchas de estas levaduras son utilizadas principalmente para la alimentación animal, el limitante para el consumo humano, es la alta presencia de purinas y pirimidinas en las células de levadura, y que elevarían considerablemente los niveles de ácido úrico en la sangre (33).

### 1.3.2 FERMENTACIÓN INDUSTRIAL

La fermentación industrial se trata de un proceso industrial llevado a cabo por microorganismos. Los procesos de fermentación son universales; esto es, se encuentran en todo tipo de organismos y, por consiguiente, probablemente represente una de las formas más antiguas de conservación de la energía. (15)

La microbiología industrial es la disciplina que utiliza los microorganismos, cultivados a gran escala, para obtener productos con gran valor comercial o realizar importantes transformaciones químicas. La microbiología industrial se inició con los procesos de fermentación alcohólica como los que se usan para producir cerveza y vino. (22)

Los fermentadores industriales son de diferente tamaño, y pueden dividirse en dos clases principales, según se trate de procesos anaeróbicos o aeróbicos. Los fermentadores anaeróbicos requieren poco equipamiento especial, así mismo los fermentadores a escala de industrial casi siempre se fabrican en acero inoxidable. (10)

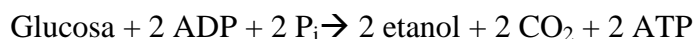


### 1.3.3 RUTAS FERMENTATIVAS

En las fermentaciones de los hidratos de carbono y de otros sustratos aparecen bien aislados o mezclados los siguientes productos: etanol, lactato, propionato, formiato, butirato, succinato, capronato, acetato, n-butanol, 2,3-butanodiol, acetona, 2-propanol, anhídrido carbónico e hidrógeno molecular. Según el producto de excreción prioritario en cantidad, o más características, se diferencia entre fermentación alcohólica, láctica, propiónica, acética, butírica y fórmica.

#### 1.3.3.1 Fermentación etanólica o alcohólica

El piruvato se reduce para formar etanol y CO<sub>2</sub>:



Este es el proceso de fermentación que lleva a cabo *Saccharomyces cerevisiae* y algunas (pocas) bacterias que poseen el enzima *alcohol deshidrogenasa*. En la cual las moléculas de glucosa sufren glucólisis originando ácido pirúvico. Este ácido pirúvico en condiciones anaeróbicas se descarboxila para transformarse en acetaldehído, el cual se reduce a alcohol etílico por acción del NADH<sub>2</sub> convirtiéndose así en el aceptor final de los electrones del NADH obtenido en la glucólisis.

Las levaduras pueden respirar bien en presencia de oxígeno o fermentar. Mediante la fermentación, sin embargo, originan menor energía que con la respiración. Sin oxígeno se multiplican aproximadamente 20 veces más despacio que con suficiente oxígeno.

Bajo este proceso se lleva las levaduras, a una situación de necesidad, para obtener alcohol y la producción de dióxido de carbono.

Para sobrevivir, las levaduras deben procesar mucho más azúcar en la fermentación que en la respiración.

Por eso las fermentaciones son tan productivas; sin embargo, si se utilizan grandes cantidades de levadura, por ejemplo para empezar bioprocesos o para producir levaduras de forraje, si las levaduras deben también multiplicarse, el oxígeno se bombea adicionalmente a la disolución de alimentación. Entonces se origina sólo poco alcohol.

Junto a las levaduras, como “aeróbicos facultativos” con su doble vida, hay también microbios, para los que son mortales las más pequeñas cantidades de oxígeno (anaeróbicos estrictos), por ejemplo las metano bacterias forman metano sólo en ausencia de aire o los clostridios, que también pueden vivir en los alimentos enlatados sin aire y causan peligrosas intoxicaciones alimentarias. (54)

#### ❖ *Sacharomyces cerevisiae*

Levadura es un nombre genérico que agrupa a una variedad de hongos, incluyendo tanto especies patógenas para plantas y animales, como especies no solamente inocuas sino de gran utilidad. De hecho, las levaduras constituyen el grupo de microorganismos más íntimamente asociado al progreso y bienestar de la humanidad. Algunas especies de levaduras del género *Sacharomyces* son capaces de llevar a cabo el proceso de fermentación, propiedad que se ha explotado desde hace muchos años en la producción de pan y de bebidas alcohólicas, y que a su vez ha inspirado un sin número de obras de arte que ensalzan al Dios del vino y a aquellos que disfrutaban su consumo. Desde el punto de vista científico, el estudio de las levaduras como modelo biológico ha contribuido de manera muy importante a elucidar los procesos básicos de la fisiología celular. (66)

En 1897, los hermanos Hans y Edward Buchner obtuvieron extractos libres de células moliendo levadura para pan con granos de arena, a los cuales adicionaron grandes cantidades de azúcar de caña para evitar su posible contaminación. Para su sorpresa, encontraron que el azúcar se fermentaba rápidamente: por primera vez se había descubierto un modelo para el estudio de la fermentación alcohólica en un sistema

carente de células. Este descubrimiento atrajo la atención de los bioquímicos, que decidieron analizar cada uno de los pasos que conducían a la producción de etanol y bióxido de carbono a partir de la glucosa. Este trabajo implicó el esfuerzo de muchos científicos y dio como resultado el descubrimiento y descripción del metabolismo del carbono; algunas de las vías metabólicas que conocemos actualmente, llevan los nombres de los científicos que participaron en este trabajo, como Embden y Meyerhof. La vía metabólica que permite la utilización de glucosa fue la primera ruta metabólica descrita, y la metodología empleada para lograrlo se utilizó para el estudio posterior de otras vías que constituyen el metabolismo celular.

Así, desde fines del siglo XIX se reconocieron algunas de las ventajas que ofrece el uso de la levadura, *Sacharomyces cerevisiae*, como modelo biológico en la investigación: por un lado, la facilidad con la que se obtienen grandes cantidades de este microorganismo; y por otro, el hecho de que *S. cerevisiae* posee un ciclo de vida que al incluir una fase sexual, permite abordar estudios con las herramientas que provee la genética formal. Todas estas variantes de levaduras se conocen con el nombre de levaduras de “fermentación alta”. (66)

### **Levadura como agente de fermentación y como suplemento alimenticio**

Las levaduras son los microorganismos más importantes y más ampliamente utilizados en la industria. Se cultivan por sus propias células, por sus componentes celulares y por los productos finales que producen durante la fermentación alcohólica. Las células de levadura también se utilizan como fuente de alimento (enzimas para la industria alimentaria: invertasa, galactosidasa), de vitaminas (Vitaminas B y D) y de diversos factores de crecimiento. La producción de células de levadura y la producción de alcohol mediante levadura son procesos que se diferencian desde el punto de vista industrial en el hecho de que el primero requiere la presencia de oxígeno para la producción máxima de material celular, mientras que la fermentación alcohólica es anaerobia. Sin embargo, en casi todos los procesos industriales se utiliza una misma especie de levadura, a saber,

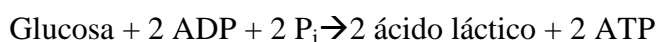
*Sacharomyces cerevisiae*. El etanol como producto de fermentación de la levadura es usado para alcohol industrial y como aditivo de la gasolina. (15)

### 1.3.3.2 Fermentación y bacterias del ácido láctico

Las bacterias del ácido láctico son bacilos o cocos Gram positivos que originan ácido láctico como producto de fermentación. Los miembros de este grupo carecen de porfirinas y citocromos, no llevan a cabo transporte de electrones vía fosforilación, con lo que obtienen la energía solamente a través de la fosforilación a través del sustrato. Todas estas bacterias crecen anaeróbicamente. No obstante, al contrario que las anaerobias, no son sensibles al oxígeno y pueden crecer tanto en presencia como en ausencia de él; por ello, se les considera como anaerobios aerotolerantes. La mayoría de las bacterias lácticas obtienen su energía solamente del metabolismo de los azúcares y, por esta razón, sus hábitat están restringidas a la presencia de azúcares. Tienen metabolismo biosintético bastante limitado, con lo que requieren medios de cultivos ricos con aminoácidos, vitaminas y purinas y pirimidinas. (15)

Una diferencia importante entre los subgrupos de las bacterias lácticas radica en qué tipos de productos de fermentación generan a partir de los azúcares. El grupo llamado homofermentativo produce solamente el ácido láctico, mientras que el heterofermentativo produce otros compuestos como etanol y CO<sub>2</sub>. La diferencia viene marcada por la presencia o ausencia del enzima aldosa, enzima clave de la glucólisis. Los heterofermentativos, carecen de esta aldosa y no pueden romper la fructosa difosfato. En su lugar, oxidan la glucosa-6-fosfato hasta 6-fosfogluconato y después lo descarboxilan hasta pentosa fosfato que se escinde hasta triosa fosfato y acetil fosfato por medio de la fosfoacetolasa. (15)

Fermentación homofermentativa: Su único producto final es el ácido láctico



Es un proceso de fermentación presente en muchas bacterias del grupo láctico: *Streptococcus*, *Pediococcus* y varios grupos de *Lactobacillus*.

#### ❖ **Cultivos lácticos**

Son cultivos puros o mezclas de cultivos de bacterias lácticas, la mayoría de ellos son cultivos congelados en nitrógeno líquido, sembrados en un medio idóneo y concentrado por centrifugación. De este modo se facilita, con evidentes ventajas, la carga, distribución y almacenaje de los cultivos concentrados congelados. Con la utilización de estos cultivos se elimina la necesidad de mantener la colección de cultivos y efectuar las correspondientes siembras rutinarias. También se evitan los problemas de contaminación de los cultivos durante el mantenimiento o resiembra de los mismos. La cantidad de células es tan grande, en muchos de estos cultivos, que se pueden emplear envases de unos 45 g (conteniendo alrededor de 310 g de concentrado) para siembra directa en un tanque quesero de más de 2250 kg de leche. (8)

Para el desarrollo de esta investigación se utilizó el fermento mixto YO- MIX (Yogurt Cultures), el mismo que posee todas las propiedades deseadas para casi cualquier aplicación en yogurts o leches fermentadas, se compone de una mezcla de cepas tradicionales de yogurt *Streptococcus thermophilus* & *Lactobacillus delbrueckii subsp.bulgaricus*. (55)

YO-MIX™ 300 LYO 10 DCU es una mezcla de cepas seleccionadas para la inoculación directa en las bases de la leche, la leche y otros productos alimenticios. Estas cepas han sido especialmente asociados para satisfacer sus necesidades en cuanto a la acidificación, la textura y el sabor. (55)

#### ❖ **Bacterias del yogurt**

Las bacterias ácido-lácticas se han empleado para fermentar o crear cultivos de alimentos durante al menos 4 milenios. Su uso más corriente se ha aplicado en todo el mundo a los productos lácteos fermentados, como el yogur, el queso, la mantequilla, el kéfir y el

koumiss, constituyen un vasto conjunto de microorganismos benignos, dotados de propiedades similares, que fabrican ácido láctico como producto final del proceso de fermentación. Se encuentran en grandes cantidades en la naturaleza, así como en nuestro aparato digestivo. (21)

La acción de estas bacterias desencadena un proceso microbiano por el cual la lactosa (el azúcar de la leche) se transforma en ácido láctico. A medida que el ácido se acumula, la estructura de las proteínas de la leche va modificándose (van cuajando), y lo mismo ocurre con la textura del producto. Existen otras variables, como la temperatura y la composición de la leche, que influyen en las cualidades particulares de los distintos productos resultantes.

El ácido láctico es también el que confiere a la leche fermentada ese sabor ligeramente acidulado. Los elementos derivados de las bacterias ácido-lácticas producen a menudo otros sabores o aromas característicos. El acetaldehído, por ejemplo, da al yogur su aroma característico, mientras que el diacetilo confiere un sabor de mantequilla a la leche fermentada. Pueden añadirse asimismo al cultivo de microorganismos, como las levaduras, a fin de obtener sabores particulares.

En lo que concierne al yogur, su elaboración deriva de la simbiosis entre dos bacterias, el *Streptococcus thermophilus* y el *Lactobacillus bulgaricus*, que se caracterizan porque cada una estimula el desarrollo de la otra. Cualquier yogur comercial también puede llevar aunque no es necesario *Streptococcus lactis*. Esta interacción reduce considerablemente el tiempo de fermentación y el producto resultante tiene peculiaridades que lo distinguen de los fermentados mediante una sola cepa de bacteria. (21)

Los lactobacilos son bacilos microaerófilos, grampositivos y catalasa negativos, estos organismos forman ácido láctico como producto principal de la fermentación de los azúcares. Los Lactobacilos homofermentativos dan lugar a ácido láctico como producto principal de fermentación. Este grupo está integrado por *Lactobacillus caucasicus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus*

*del brueckii*, los lactobacilos heterofermentativos producen además de ácido láctico, dióxido de carbono, etanol y otros productos volátiles, *Lactobacillus fermenti* es heterofermentativo y es capaz además, de dar buen crecimiento a temperaturas elevadas.

De (45 °C, 113 °F), morfológicamente, algunos bacilos son bastones delgados y largos, otros son algo parecido al colibacilo, pero, al contrario de este, todos son gram positivos. Casi todos son inmóviles, pero se han señalado excepciones. Muchos cultivos muestran una forma diplobacilar característica, a menudo reniforme.

Las necesidades individuales de aminoácidos varían de 2 a 15, además, en general se requiere piridoxina, tiamina, riboflavina, biotina, ácido fólico y ácido nicotínico, variando las necesidades en cada caso. Estos requerimientos nutritivos variados tienen aplicación práctica en técnicas de dosificación microbiológica de vitaminas y de algunos aminoácidos, para los cuales son más sensibles que los métodos químicos disponibles. En concentración adecuada, hay cierta relación definida, incluso lineal, entre la concentración de vitamina en un medio de cultivo adecuado, pero exento de vitamina, y el desarrollo o la cantidad de ácido producidos.

*Lactobacillus bulgaris*, es una bacteria láctea homo fermentativa. Se desarrolla muy bien entre 42 y 45°, produce disminución del pH, puede producir hasta un 2,7% de ácido láctico, es proteolítica, produce hidrolasas que hidrolizan las proteínas. Esta es la razón por la que se liberan aminoácidos como la valina, la cual tiene interés porque favorece el desarrollo del *Streptococcus thermophilus*. (20)

Los estreptococos son un género de bacterias gram-positivas y catalasa negativas, esféricas pertenecientes al filo firmicutes. Observadas bajo el microscopio, se ve que *Streptococcus thermophilus* crece formando pares (diplococos) o cadenas medianamente largas de células esféricas o elipsoides de un diámetro aproximado de 0,7-0,9  $\mu\text{m}$ . *Streptococcus thermophilus*, es una bacteria homo fermentativa termorresistente produce ácido láctico como principal producto de la fermentación, se desarrolla a 37-40° pero puede resistir 50° e incluso 65° media hora. Tiene menor poder de acidificación que el *Lactobacillus*. En el yogur viven en perfecta simbiosis. (20)

## **1.4 ADITIVOS ALIMENTARIOS**

Los aditivos alimentarios son aquellas sustancias orgánicas o inorgánicas que se le agregan a los alimentos con la intención no solo de preservar el tiempo de almacenamiento del alimento, sino con el objetivo también de mejorar su textura, apariencia, sabor, color y contenido vitamínico.

Sustancia o mezcla de sustancias que sin entrar a formar parte de la materia básica del alimento se encuentra en éste como consecuencia de cualquier circunstancia relacionada con la producción, procesamiento, almacenamiento y envasado. Este término no contempla el hecho fortuito de una posible contaminación (OMS, 1965). (8)

### **1.4.1 JUSTIFICACIÓN DEL USO DE ADITIVOS**

El uso de aditivos alimentarios está justificado únicamente si ello ofrece alguna ventaja, no presenta riesgos apreciables para la salud de los consumidores, no induce a error a éstos, y cumple una o más de las funciones tecnológicas establecidas por el Codex y los requisitos que se indican a continuación en los apartados a) a d), y únicamente cuando estos fines no pueden alcanzarse por otros medios que son factibles económica y tecnológicamente:

- a)** Conservar la calidad nutricional del alimento; una disminución intencionada en la calidad nutricional de un alimento estaría justificada en las circunstancias indicadas en el subpárrafo b) y también en otras circunstancias en las que el alimento no constituye un componente importante de una dieta normal.
- b)** Proporcionar los ingredientes o constituyentes necesarios para los alimentos fabricados para grupos de consumidores que tienen necesidades dietéticas especiales.
- c)** Aumentar la calidad de conservación o la estabilidad de un alimento o mejorar sus propiedades organolépticas, a condición de que ello no altere la naturaleza, sustancia o calidad del alimento de forma que engañe al consumidor.



- d) Proporcionar ayuda en la fabricación, elaboración, preparación, tratamiento, envasado, transporte o almacenamiento del alimento, a condición de que el aditivo no se utilice para encubrir los efectos del empleo de materias primas defectuosas o de prácticas (incluidas las no higiénicas) o técnicas indeseables durante el curso de cualquiera de estas operaciones. **CODEX STAND 192-1995**

#### 1.4.2 CLASIFICACIÓN

Originalmente los aditivos fueron clasificados por su origen en naturales y sintéticos. Esta clasificación, aunque lógica contribuyó durante algún tiempo al mantenimiento de una dualidad errónea en la que se equiparaba lo natural con lo sano y lo sintético con lo peligroso y que podía colocar al consumidor en una actitud equivocada. La clasificación más adecuada se establece teniendo en cuenta la actividad específica de cada aditivo:

- Sustancias que impiden las alteraciones químicas biológicas (antioxidantes, sinérgicos de antioxidantes y conservantes).
- Sustancias estabilizadoras de las características físicas (emulgentes, espesantes, gelificantes, antiespumantes, antiapelmazantes, antiaglutinantes, humectantes, reguladores de pH).
- Sustancias correctoras de las cualidades plásticas, (mejoradoras de la panificación, correctores de la vinificación, reguladores de la maduración).
- Sustancias modificadoras de los caracteres organolépticos (colorantes, potenciadores del sabor, edulcorantes artificiales, aromas). (8)

### 1.5 AZÚCAR

El Azúcar o sacarosa se obtiene de la caña de azúcar (de su tallo) o de la remolacha. Pertenece al grupo de los hidratos de carbono simples, de los disacáridos, más concretamente. Es una sacarosa que se encuentra en grandes cantidades en estas 2 plantas mencionadas anteriormente y en más o menos cantidad en todas las plantas.

Es necesario consumir diariamente azúcar, porque es beneficioso para nuestro organismo. Lo aconsejable son 70 gr/día. La energía que proporciona el azúcar y la glucosa, son necesarias para el buen funcionamiento de nuestro cerebro, los ojos, el sistema nervioso, los músculos, los glóbulos rojos. Y nos dan la energía necesaria para afrontar nuestros quehaceres diarios, no solamente para los niños, sino también para los mayores. Se debe tomar a todas las edades. Con el azúcar se fabrican los caramelos, las gominolas. Y todos los productos de la industria de la golosina. Es base fundamental en la pastelería y la elaboración de los chocolates.

Al azúcar tiene otras utilidades, que no son las alimenticias: es preservante del sabor en las conservas de frutas para que no se agrien; es antioxidante, evita la formación de óxidos en hierro; se utiliza como excipiente y agente granulador y tensoactivo en jabones, productos de belleza y tintas. Los principales productores de azúcar en el mundo son: Brasil, India, Europa, China, EEUU, Tailandia, México, Australia, Pakistán y Rusia. El 70% del azúcar del mundo se consigue de la caña de azúcar y el 30% de la remolacha. Los orígenes del azúcar están en Bengala y en la China meridional, hace 2.500 años. Pero se dio a conocer al mundo gracias a Alejandro Magno que la descubrió en Persia hace unos 500 años. Se ha sabido, que también por esa época la caña de azúcar era conocida en Egipto, aunque de peor calidad, así como la remolacha. Empezó a utilizarse en Europa a partir del siglo XVII. Entró por el puerto de Venecia, gracias a la Ruta de la Seda; y por España, gracias a los árabes, que la introdujeron. A través de España e Italia se extendió al resto de Europa. (39)

#### 1.5.1 PROPIEDADES NUTRICIONALES

El Azúcar es un hidrato de carbono simple que contiene: molécula de glucosa, una molécula de fructosa y muchísimas calorías. Sólo aporta 4 calorías por gramo.

Existen distintos tipos de hidratos de carbono simple: los monosacáridos (como la glucosa, fructosa y lactosa) y disacáridos (como la sacarosa o el azúcar). (39)

100 gramos de Azúcar contienen:

- 95% hidratos carbono.
- Vitaminas: **B1** (0.10 ml.), **B2** (0.20 ml.), **A** (50 U.I. unidades).
- 450 calorías.

El azúcar contiene:

- Las citadas Vitaminas: B1, B2, A.
- Otros: sacarosa, glucosa (dextrosa), fructosa (levulosa). policosanol, ácido pantoténico, antioxidante.

### 1.5.2 BENEFICIOS Y PROPIEDADES

Recomendado para:

- ✓ El metabolismo.
- ✓ Reduce los niveles de colesterol y/o triglicéridos en sangre.
- ✓ Antioxidante favorece la circulación sanguínea: evita la formación de trombos
- ✓ Para el corazón: que incrementa la irrigación sanguínea.
- ✓ Antitrombótica: evita la formación de trombos o coágulos de sangre.
- ✓ Incrementa el efecto hipotensivo de los beta-bloqueantes, sin modificar el ritmo cardiaco.(39)

### 1.5.3 TIPOS DE AZÚCAR

Los distintos tipos o clases de azúcar:

- **azúcar blanquilla**, tiene un 95,5 de sacarosa. Se utiliza para infusiones y líquidos en general; azúcar moreno y Candy.
- **azúcar glass** (o **glasé** o **impalpable**), para decorar todo tipo de postres dulces: frutas, macedonias, bizcochos, pastas, etc.

- **Azúcar rubio:** ha sufrido menos procesos de refinamiento que el blanco. Tiene más sacarosa que el moreno.
- **Azúcar moreno o intedral o crudo,** tiene 96 % de sacarosa. Se utiliza para la repostería que hacemos en el hogar y para todo tipo de infusiones, cafés, zumos, yogures. (39)

## 1.6 SABORIZANTES

Los saborizantes son preparados de sustancias que contienen los principios sávido aromáticos, extraídos de la naturaleza (vegetal) o sustancias artificiales, de uso permitido en términos legales, capaces de actuar sobre los sentidos del gusto y del olfato, pero no exclusivamente, ya sea para reforzar el propio (inherente del alimento) o transmitiéndole un sabor y/o aroma determinado, con el fin de hacerlo más apetitoso pero no necesariamente con este fin. Suelen ser productos en estado líquido, en polvo o pasta, que pueden definirse, en otros términos a los ya mencionados, como concentrados de sustancias. Es de uso habitual la utilización de las palabras sabores, esencias, extractos y oleorresinas como equivalentes a los saborizantes. (11)

### 1.6.1 TIPOS DE SABORIZANTES

- ❖ **Sintético artificial:** son las sustancias que no han sido aún identificadas en productos naturales, procesados o no, y que son aptas para el consumo humano. Son obtenidos mediante procesos químicos.
- ❖ **Idéntico al natural:** sustancia químicamente aislada a partir de materias primas aromáticas u obtenidas de modo sintético; químicamente idénticas a las sustancias presentes en productos naturales procesados o no y que son aptas para el consumo humano.
- ❖ **Natural:** preparación de sustancias o sus mezclas obtenidas exclusivamente por procesos físicos, a partir de vegetales o materias primas de origen animal en su

estado natural o procesado o por fermentación de materias lácteas y que son aptas para el consumo humano. (18)

## 1.6.2 VAINILLA

### 1.6.2.1 Origen e importancia

Fruto en forma de vaina de una orquídea trepador del género *Vanilla*, originaria de Centro y Sudamérica. Existen diferentes especies como *plafolia*, *tahitensis* y *pompona* que se reproducen fácilmente en climas tropicales, actualmente Indonesia y Madagascar son los principales productores. El sabor de la vainilla se desarrolla a través de un proceso fermentativo donde las vainas cosechadas al inicio de su maduración son expuestas a altas temperaturas para favorecer tanto la acción enzimática que ayudará a desprender aceites volátiles, como reacciones de oscurecimiento enzimático y no enzimático (Maillard) que generan nuevos compuestos aromáticos y de color. Este proceso dura varios meses. Al finalizar, la vainilla consigue un aroma único compuesto por más de 200 moléculas diferentes, donde la predominante es la vainillina. (18)

### 1.6.2.2 Propiedades de la vainilla

- ❖ Entre los alimentos de la categoría de las salsas y condimentos que tenemos disponibles entre los alimentos en nuestra tienda o supermercado habitual, se encuentra la vainilla. Este alimento, pertenece al grupo de los condimentos.
- ❖ La vainilla se encuentra entre los alimentos bajos en purinas ya que este alimento no contiene purinas.
- ❖ Entre las propiedades nutricionales de la vainilla cabe destacar que tiene los siguientes nutrientes: 0,12 mg. de hierro, 0,06 g. de proteínas, 11 mg. de calcio, 148 mg. de potasio, 0,11 mg. de zinc, 12,65 g. de carbohidratos, 12 mg. de magnesio, 9 mg. de sodio, 0,01 mg. de vitamina B1, 0,10 mg. de vitamina B2, 0,43 mg. de vitamina B3, 0,04 ug. de vitamina B5, 0,03 mg. de vitamina B6, 6 mg. de fósforo, 51,40 kcal. de calorías, 0,06 g. de grasa y 12,65 g. de azúcar.

- ❖ La vainilla es un alimento sin colesterol y por lo tanto, su consumo ayuda a mantener bajo el colesterol, lo cual es beneficioso para nuestro sistema circulatorio y nuestro corazón.
- ❖ La vainilla al no tener purinas, es un alimento que pueden tomar sin problemas aquellas personas que tengan un nivel alto de ácido úrico. Por este motivo, consumir alimentos bajos en purinas como la vainilla, ayuda a evitar ataques en pacientes de gota.(69)

## **1.7 ESTABILIZANTES**

Estabilizantes, gomas e hidrocoloides, son algunas de las palabras usadas para referirse a un grupo de productos que regulan la consistencia de los alimentos. Los estabilizantes son productos que se hidratan cuando se añaden al agua. Durante este proceso las moléculas más grandes de estabilizante se disgregan y se disuelven. Esto lleva a la formación de enlaces o puentes de hidrogeno que a través de todo el líquido forma una red, reduciendo así la movilidad del agua restante no enlazada. Cuando se trabaja con estabilizantes, estos efectos son fácilmente observables, ya que imparten una alta viscosidad, incluso, forman un gel.

Cuando se refiere a estabilizar un determinado producto, básicamente lo que se desea es cambiar ciertas propiedades funcionales o reológicas del producto a elaborar. Los estabilizantes son en su amplia mayoría gomas o hidrocoloides que regulan la consistencia de los alimentos principalmente debido a que luego de su hidratación forman enlaces o puentes de hidrógeno que a través de todo el producto forma una red que reduce la movilidad del agua restante. (44)

### **1.7.1 FUNCIONES**

Un estabilizante debe cumplir con las siguientes funciones:

- Estabilizar las proteínas durante los tratamientos térmicos.

- Disminuir la sedimentación y aumentar la homogeneidad de los ingredientes
- Aumentar la viscosidad o la fuerza del gel
- Modificar la textura: Firmeza, brillo, cremosidad, etc.
- Evitar la separación del suero
- Reducir el contenido de sólidos brindando las mismas características. (45)

### 1.7.2 CLASIFICACIÓN

De acuerdo a su origen los estabilizantes pueden clasificarse en:

**TABLA No. 8 CLASIFICACIÓN DE LOS ESTABILIZANTES DE ACUERDO AL ORIGEN**

CLASIFICACIÓN POR SU ORIGEN	ESTABILIZANTE
Biopolímeros	Xantana, Gelana, Wellana
Semillas de plantas	Goma Loccust, Guar y Garrofin
Algas	Carrageninas, Agar, Alginatos
Frutas (manzana y cítricos)	Pectinas
Exudados de plantas	Goma Arábica, Tagacanto, Karaya
Celulosa y derivados	Carboximetil celulosa de sodio (CMC)
Almidón	Almidones modificados o nativos
Origen Animal	Gelatina, Proteínas de leche, Colágeno

FUENTE: MARTÍNEZ, R. (2009)

### 1.7.3 LA GELATINA

La gelatina es una proteína de origen animal que se utiliza en alimentación, especialmente en pastelería y confitería, por su capacidad de formar geles acuosos muy elásticos y termorreversibles si se aumenta la temperatura. (56)

Tradicionalmente relegada a la repostería, la gelatina es algo más que un postre fácil de hacer. De hecho la gelatina, es proteína en estado puro. Se obtiene de materia prima colagenosa. Se trata de un alimento natural, de valor nutritivo y de gusto neutro que no contiene grasas ni hidratos de carbono. Además está exenta de conservantes y otros aditivos, y no contiene colesterol. La gelatina se digiere con facilidad y el organismo humano la descompone completamente.

La gelatina posee las siguientes características:

- La gelatina seca al ponerla en contacto con un líquido lo absorbe y se hincha. Al calentar el líquido se forma un sol (un sistema coloidal fluido), con el líquido como dispersante.
- A medida que se enfría el sistema, la viscosidad del fluido aumenta y acaba solidificando formando un gel (sistema coloidal de aspecto sólido).
- El estado de gel es reversible al estado de sol si se aumenta la temperatura.

#### 1.7.3.1 Funciones

- Como proteína, la gelatina provee menos calorías (4Kcal/g), comparada con la grasa (9 Kcal /g)
- Capacidad de retención de agua: la gelatina es el ingrediente indicado en los alimentos bajos o reducidos en grasa, y en los que parte de la grasa es sustituida por el agua.
- Estabilizantes: es fundamental para la estabilidad de las emulsiones y espumas. La gelatina, incluso a dosis bajas, da estabilidad al sistema.



- Textura: las características de la gelatina son elegidas para imitar la textura de la grasa de la margarina como extensibilidad, firmeza y cremosidad.
- Sensación en la boca: el punto de fusión de la gelatina está cerca de la temperatura del cuerpo, produciendo una sensación en la boca muy superior a la de otros sustitutos de la grasa, y conservando el placer de comer alimentos saludables. (56)

## **1.8 CONSERVANTES**

Los aditivos que se añaden específicamente para evitar el deterioro o descomposición de los alimentos se llaman conservadores químicos. Estas alteraciones pueden ser causadas por microorganismos, por enzimas de los propios alimentos o por reacciones químicas.

Uno de los principales fines del empleo de conservadores químicos es conseguir la inhibición del crecimiento y de la actividad de los microorganismos. (8)

### **1.8.1 FUNCIÓN**

La función principal de la conservación es retrasar el deterioro de los alimentos y prevenir alteraciones de su sabor, en algunos casos, de su aspecto. Este objetivo puede lograrse de distintas formas, gracias al uso de aditivos alimentarios como antioxidantes y conservantes. Los conservantes se usan principalmente para producir alimentos más seguros para el consumidor, previniendo la acción de agentes biológicos. Para el consumidor, la mayor amenaza procede del deterioro o incluso toxicidad de los alimentos, debido a la acción nociva de microorganismos en su interior (por ejemplo, bacterias, levaduras o mohos). Algunos de estos organismos segregan sustancias tóxicas (toxinas), peligrosas para la salud humana y que pueden llegar a ser mortales. (42)

## 1.8.2 SORBATOS

El ácido sórbico, así como sus sales cálcicas, sódicas o potásicas se utilizan como aditivos directos en alimentos y como “spray”, baño o película en materiales para empaquetado. Ampliamente usado en quesos, productos de quesería y panadería, bebidas, jarabes, zumos de frutas, compotas, mermeladas, macedonia de frutas, encurtidos, margarinas y frutos secos.

El ácido sórbico y sus sales inhiben a las levaduras y mohos, aunque su efectividad es menor frente a las bacterias. A valores bajos de pH son más activos, presentando un pH máximo para su utilización de aproximadamente 6,5. Estos compuestos son más eficaces que el benzoato sódico a pH por encima de 4,0. (8)

## 1.9 SISTEMAS DE TRATAMIENTO POR CALOR

Los procesos tecnológicos utilizados para tratar a los alimentos por calor se han desarrollado y perfeccionado, sobre todo, durante el siglo XX. Entre ellos podemos destacar: escaldado, pasteurización, esterilización. (67)

### 1.9.1 ESTERILIZACIÓN

Es un procedimiento más drástico, en el que se somete al alimento a temperaturas de entre 115 y 127 grados. Para alcanzarlas, se utilizan autoclaves o esterilizadores. El proceso se debe mantener un cierto tiempo (en algunos alimentos, hasta veinte minutos), y la temperatura afecta al valor nutricional (se pueden perder algunas vitaminas) y organoléptico de ciertos productos. (6)

Al realizar un tratamiento esterilizante hay que tener en cuenta algunos factores, como el pH del alimento y la termorresistencia de los microorganismos o los enzimas. De entre los microorganismos patógenos esporulados eventualmente presentes en los alimentos de baja acidez (pH mayor a 4,5), *Clostridium botulinum* es el más peligroso.

La esterilización UHT se basa en utilizar altas temperatura (135-150°C, durante 1 y 3 segundos). Es cada vez más utilizado, ya que su repercusión sobre el valor nutricional y organoléptico de los alimentos es menor que la esterilización convencional. (67)

## 1.9.2 PASTEURIZACIÓN

La pasteurización, a veces denominada pasterización, es el proceso térmico realizado a líquidos (generalmente alimentos) con el objeto de reducir los agentes patógenos que puedan contener: bacterias, protozoos, mohos y levaduras, etc. El proceso de calentamiento recibe el nombre de su descubridor, el científico-químico francés Louis Pasteur (1822-1895).

Este método, que conserva los alimentos por inactivación de sus enzimas y por destrucción de los microorganismos sensibles a altas temperaturas (bacterias no esporuladas, como levaduras y mohos), provoca cambios mínimos tanto en el valor nutritivo como en las características organolépticas del alimento. (11)

La intensidad del tratamiento y el grado de prolongación de su vida útil se ven determinados principalmente por el pH. El objetivo principal de la pasteurización aplicada a alimentos de baja acidez (pH mayor a 4,5) es la destrucción de las bacterias patógenas, mientras que en los alimentos de pH inferior a 4,5 persigue la destrucción de los microorganismos causantes de su alteración y la inactivación de sus enzimas. (57)

### 1.9.2.1 Procesos de pasteurización

Existen tres tipos de procesos bien diferenciados: pasteurización VAT o lenta, pasteurización a altas temperaturas durante un breve periodo de tiempo (HTST - High Temperature/Short Time) y el proceso a ultra-altas temperaturas (UHT - Ultra- High Temperature). (57)

**Proceso VAT:** El proceso consiste en calentar grandes volúmenes de leche en un recipiente estanco a 63°C durante 30 minutos, para luego dejar enfriar lentamente.

**Proceso HTST:** Existen dos métodos distintos bajo la categoría de pasteurización HTST: en "batch" (o lotes) y en "flujo continuo". Para ambos métodos la temperatura es la misma (72°C durante 15 segundos). En el proceso "batch" una gran cantidad de leche se calienta en un recipiente estanco (autoclave).

**Proceso UHT:** El proceso UHT es de flujo continuo y mantiene la leche a una temperatura superior más alta que la empleada en el proceso HTST, y puede rondar los 138 °C durante un período de al menos dos segundos. Debido a este periodo de exposición, aunque breve, se produce una mínima degradación del alimento.

La leche cuando se etiqueta como "pasteurizada" generalmente se ha tratado con el proceso HTST, mientras que para la leche etiquetada como "ultrapasteurizada" o simplemente "UHT", se debe entender que ha sido tratada por el método UHT. (32)

## 1.10 REFRIGERACIÓN

La refrigeración consiste en la conservación de los productos a bajas temperaturas, pero por encima de su temperatura de congelación. De manera general, la refrigeración se enmarca entre -1°C y 8°C. De esta forma se consigue que el valor nutricional y las características organolépticas casi no se diferencien de las de los productos al inicio de su almacenaje. Es por esta razón que los productos frescos refrigerados son considerados por los consumidores como alimentos saludables. La refrigeración evita el crecimiento de los microorganismos termófilos y de muchos mesófilos. (64)

Una serie de factores a considerar en este tipo de almacenamiento son: la temperatura de refrigeración, humedad relativa, velocidad del aire y composición de la atmósfera del local y posible empleo de radiaciones ultravioleta o de otro tipo. (8)

### 1.10.1 APLICACIONES

Las aplicaciones de la refrigeración son entre muchas:

- La Climatización
- La Conservación de alimentos
- Los Procesos industriales
- La Criogénesis o enfriamiento a muy bajas temperaturas
- Motores de combustión interna
- Máquinas-herramientas (64)

## 1.11 CALIDAD DE LOS PRODUCTOS

### 1.11.1 CALIDAD NUTRITIVA

La calidad nutritiva está dada por el perfil de nutrientes de cada alimento. Los alimentos que aportan cantidades significativas de varios nutrientes o de alguno que no esté tan distribuido se consideran de alta calidad, y los que aportan solo calorías o son muy pobres en nutrientes se consideran de baja calidad. (5)

El aspecto preventivo tiene que ver con el perfil de algunos nutrientes y sustancias (como grasas, grasas saturadas, colesterol o aditivos de la industria alimentaria) que deben encontrarse dentro de ciertos límites para evitar que la alimentación se transforme en un factor de riesgo. Los nutrientes más importantes contenidos en los alimentos son hidratos de carbono, proteínas, grasas, minerales, vitaminas y agua. No todos proveen energía, solo los hidratos de carbono y las proteínas (aportan 4 calorías por gramo) y las grasas (9 calorías por gramo). (5)

Se ha estudiado en múltiples ocasiones los beneficios que los probióticos y los prebióticos tienen sobre la salud de los consumidores frecuentes (mayor función inmunológica, mejoramiento de la integridad de colon, disminución de la incidencia y

duración de las infecciones intestinales, respuestas alérgicas reguladas y mejora de la digestión, entre otros) demostrando que pueden conseguirse siempre que se cuente con una buena cepa, se seleccionen los productos y se sigan las directrices y dosificación adecuadas. (33)

### 1.11.2 CALIDAD SANITARIA

El control sanitario en la preparación de alimentos es determinante para reducir los factores de riesgo que influyen en la transmisión de enfermedades por alimentos para proteger la salud del consumidor. Los criterios microbiológicos ofrecen a la industria alimentaria y a los organismos reguladores las directrices para controlar los sistemas de elaboración de alimentos. Como criterios microbiológicos se pueden utilizar microorganismos indicadores de contaminación, la presencia de microorganismos patógenos específicos, la detección de una toxina específica producida por un patógeno. Los microorganismos indicadores que generalmente se cuantifican para determinar calidad sanitaria de alimentos son mesofílicos aerobios, mohos, levaduras, coliformes totales, coliformes fecales, entre otros. (12)

### 1.12 ANÁLISIS PROXIMAL Y/O BROMATOLÓGICO

Entendemos por análisis básico (proximal), la determinación conjunta de un grupo de sustancias estrechamente emparentadas. Comprende la determinación del contenido de agua, proteína, grasa (extracto etéreo), cenizas y fibra; las sustancias extractibles no nitrogenadas (ELN) se determinan por cálculo restando la suma de estos 5 componentes de 100%, para subrayar que se trata de grupos de sustancias más o menos próximas y no de compuestos individuales, los analistas suelen usar el término bruta y/o cruda detrás de proteína, grasa o fibra. (14)

### 1.12.1 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

El contenido de humedad de los alimentos es de gran importancia por muchas razones científicas, técnicas y económicas (Comité de Normas alimentarias, 1979), pero su determinación precisa es muy difícil. El agua se encuentra en los alimentos esencialmente en dos formas, como agua enlazada y como agua disponible o libre; el agua enlazada incluye moléculas de agua unidas en forma química, o a través de puentes de hidrógeno a grupos iónicos o polares, mientras que el agua libre es la que no está físicamente unida a la matriz del alimento y se puede congelar o perder con facilidad por evaporación o secado. Puesto que la mayoría de los alimentos son mezclas heterogéneas de sustancias, contienen proporciones variables de ambas formas. (14)

En la mayoría de las industrias alimentarias, la humedad se suele determinar a diario. Los niveles máximos se señalan frecuentemente en las especificaciones comerciales.

Existen para esto varias razones, principalmente las siguientes:

- El agua si está presente por encima de ciertos valores, facilita el desarrollo de microorganismos.
- El agua es el adulterante por excelencia para ciertos alimentos como leche, quesos, mantequilla, etc.
- Los materiales pulverulentos se aglomeran en presencia de agua. Por ejemplo la sal, azúcar.
- La cantidad de agua puede afectar la textura. Ejemplo carnes curadas.

La determinación del contenido de agua representa una vía sencilla para el control de la concentración en las distintas etapas de la fabricación de alimentos. (18)

### 1.12.2 DETERMINACIÓN DE CENIZAS

El concepto de residuo de incineración o cenizas se refiere al residuo que queda tras la combustión (incineración) completa de los componentes orgánicos de un alimento en

condiciones determinadas. Una vez que se eliminan otras impurezas posibles y partículas de carbono procedentes de una combustión incompleta, este residuo se corresponde con el contenido de minerales del alimento. (18)

La determinación de cenizas es importante porque:

- Nos da el porcentaje de minerales presentes en el alimento.
- Permite establecer la calidad comercial o tipo de harina.
- Da a conocer adulteraciones en alimentos, en donde se ha adicionado sal, talco, yeso, cal, carbonatos alcalinos, etc, como conservadores, material de carga, auxiliares ilegales de la coagulación de la leche para quesos, neutralizantes de la leche que empieza a acidificarse, respectivamente.
- Establece el grado de limpieza de materias primas vegetales (exceso de arena, arcilla).
- Sirve para caracterizar y evaluar la calidad de alimentos.

### 1.12.3 DETERMINACIÓN DE FIBRA

La fibra cruda o bruta representa la parte fibrosa e indigerible de los alimentos vegetales, químicamente está constituida por compuestos poliméricos fibrosos carbohidratados (celulosa, hemicelulosa, pectinas, gomas, mucílagos) y no carbohidratados (lignina, polímero del fenilpropano). El organismo humano carece de sistemas enzimáticos que degraden estos polímeros y por ello aparecen inalterados en el intestino grueso (colon) y ejercen una acción reguladora del peristaltismo y facilitan la evacuación de las heces fecales. (14)

El AOAC define a la fibra cruda como “la porción que se pierde tras la incineración del residuo seco obtenido después de digestión ácida-alcalina de la muestra seca y desengrasada en condiciones específicas”. La fibra contribuye a la textura rígida, dura y a la sensación de fibrosidad de los alimentos vegetales.



#### 1.12.4 DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA

Hasta hace poco, el contenido total de proteínas en los alimentos se determinaba a partir del contenido de nitrógeno orgánico determinado por el método Kjeldahl. En la actualidad, existen varios métodos alternativos físicos y químicos, algunos de los cuales han sido automatizados o semiautomatizados. El método Kjeldahl, sigue siendo la técnica más confiable para la determinación de nitrógeno orgánico. (14)

#### 1.12.5 EXTRACTO ETÉREO

El método Soxhlet utiliza un sistema de extracción cíclica de los componentes solubles en éter que se encuentran en el alimento. Insoluble en agua y soluble en disolventes orgánicos. Proporcionan energía y son la principal reserva energética del organismo.

Fuente de ácidos grasos esenciales, transporte de combustible metabólico y disolvente de algunas vitaminas. Influyen en la absorción de las proteínas y en la calidad de la grasa que se deposita en el cuerpo y de los productos grasos que se obtienen. (14)

#### 1.12.6 EXTRACTO LIBRE NO NITROGENADO

Eminentemente energético, son sustancias que producen calor y energía de movimiento. Lo componen los azúcares, el almidón o fécula. (14)

#### 1.12.7 pH

La acidez medida por el valor de pH, junto con la humedad son, probablemente, las determinaciones que se hacen con más frecuencia. El pH es un buen indicador del estado general del producto ya que tiene influencia en múltiples procesos de alteración y estabilidad de los alimentos, así como en la proliferación de microorganismos. (14)

Se puede determinar colorimétricamente mediante los indicadores adecuados, pero, para su mayor exactitud, se ha de recurrir a métodos eléctricos mediante el uso de pH-metros.

#### 1.12.8 ° Brix

Es el porcentaje de sólidos solubles presentes en alguna sustancia. En alimentos, este valor indica la cantidad de azúcar (sacarosa) presente en el producto. Obviamente el valor se puede regular agregando azúcar al producto. Este valor es importante ya que la normativa de ciertos productos exige que se mantenga un contenido de sólidos de azúcar determinado, especialmente en mermeladas, bases para yogurt, cajeta, etc. (14)

Para medirlo se utiliza un aparato llamado refractómetro, en el cual se coloca una muestra del producto y a través de una lente se puede observar la medida.

### 1.13 EVALUACIÓN SENSORIAL

El análisis sensorial es una disciplina muy útil para conocer las propiedades organolépticas de los alimentos, así como de productos de la industria farmacéutica, cosméticos, por medio de los sentidos. La evaluación sensorial es innata en el hombre ya que desde el momento que se prueba algún producto, se hace un juicio acerca de él, si le gusta o disgusta y describe y reconoce sus características de sabor, olor, textura. (23)

El análisis sensorial de los alimentos es un instrumento eficaz para el control de calidad y aceptabilidad de un alimento, ya que cuando ese alimento se quiere comercializar, debe cumplir los requisitos mínimos de higiene, inocuidad y calidad del producto, para que éste sea aceptado por el consumidor, más aún cuando debe ser protegido por un nombre comercial los requisitos son mayores, ya que debe poseer las características que justifican su reputación como producto comercial. La herramienta básica o principal para llevar a cabo el análisis sensorial son las personas, en lugar de utilizar una máquina, el instrumento de medición es el ser humano. (52)

### 1.13.1 ATRIBUTOS SENSORIALES

Las características sensoriales de un alimento, lo que denominamos sus atributos, son los que nos impulsan a degustarlo. Estas características se clasifican según el sentido que lo percibe:

- ✓ Apariencia o aspecto (vista): color, forma, tamaño, brillo, rugosidad, turbidez.
- ✓ Textura (tacto manual o bucal): dureza, viscosidad, cremosidad, arenosidad, elasticidad.
- ✓ Olor (olfato): canela (aldehído cinámico), almendras (benzaldehído), vainilla (vainillina), limón (citrál), menta (mentol), etc.
- ✓ Gusto (boca y paladar): salado (cloruro de sodio), ácido (ácido cítrico), amargo (cafeína), dulce (azúcar), umami (glutamato monosódico), metálico (sulfato ferroso heptahidratado). Hay otras sensaciones, llamadas sensaciones químicas conexas, en las que no participa ningún sentido y las que son percibidas por el sentido químico común (terminaciones de los nervios, vago, trigémino y glossofaríngeo) como son las de pungencia, sensación de pinchazo (anhídrido carbónico), astringencia, sensación de sequedad bucal (taninos), ardor, sensación de calor (pimienta), frescor, sensación de frescura (mentol).

Se define FLAVOR, a la sensación que se percibe al paladear el alimento en la boca. Incluye aroma (olor retronasal), gusto y sensaciones químicas conexas. (52)

### 1.13.2 MÉTODOS PARA TEST DE RESPUESTA SUBJETIVA

Estos test han sido diseñados para determinar la posible aceptación o preferencia del consumidor. Algunos de estos métodos pueden ser administrados en laboratorio con paneles que no requieren entrenamiento, a diferencia de los tests de respuesta objetiva que sí usan jueces entrenados. Otros se programan para un número ilimitado de jueces, ya que interesa que estos jueces sean lo más representativos de la población potencialmente consumidora del alimento en estudio. (52)

Se pueden clasificar en dos grupos:

- De preferencia
- De aceptabilidad

#### **1.13.2.1 Test de preferencia**

Tienen como objetivo determinar cuál, de dos o más muestras, es preferida por un gran número de personas.

Cuando se está conduciendo una investigación, a menudo resulta útil conocer la preferencia que existe por el producto. Muchas veces, se llega a obtener formulaciones diferentes que son igualmente convenientes, y esto hace difícil definir por cuál decidirse. En este caso, por medio de un test de preferencia se puede obtener la solución al problema. (23)

Los test de preferencia miden factores psicológicos y factores que influyen en el sabor del alimento.

Entre los test de preferencia tenemos:

- Simple preferencia o comparación pareada preferencia.
- Ranking u ordenamiento.
- Escala hedónica. (52)

#### **1.13.2.2 Test de aceptabilidad**

Los test pertenecientes a este grupo nos permiten tener una indicación de la probable reacción del consumidor, frente a un nuevo producto, o a una modificación de uno ya existente o de un sucedáneo o sustituto de los que habitualmente se consumen.

Cuando este tipo de test se conduce en forma eficiente se puede ahorrar cantidades grandes de dinero, ya que se detectan a tiempo las deficiencias del producto y éstas pueden corregirse a tiempo.

Cuando el producto está aún en fase de prueba se emplean paneles de referencia. Si el producto ya cumplió esa etapa, debe usarse un panel formado por un gran número de personas experimentadas en este tipo de trabajo. (23)

Entre los métodos que se usan están:

- ✓ Panel piloto.
- ✓ Panel de consumidores.

**Test de Panel de Consumidores:** En este test se emplea una gran cantidad de público consumidor. Debe ser conducido por personas experimentadas para que la información sea la que interesa y no queden libres todas las variables circunstanciales. A veces se puede determinar incluso la hora del día en que el producto tiene mayor aceptación. Se recomienda usar diseño experimental. (52)

#### **1.14 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO**

El análisis microbiológico es importante ya que está relacionado con la inocuidad y deterioro de los alimentos, determina el grado de contaminación al que está expuesto éste en sus diferentes etapas. Al multiplicarse los microorganismos en el alimento, pueden producir cambios en sus características organolépticas y en su pH, lo que se traduce en alteraciones fáciles de constatar, como rancidez, acidez o alcalinización, putrefacción y aparición de manchas en la superficie. Pero puede ser también que el alimento no presente alteración apreciable, y sin embargo estar contaminado, representando así un riesgo para el consumidor. (33)

El examen microbiológico de alimentos comprende la investigación de especies, familias o grupos de microorganismos cuya presencia refleja las condiciones higiénico sanitarias de estos productos ya sean naturales, elaborados en la industria, elaborado artesanalmente o sea que se trate de comidas preparadas. Precisamente uno de los objetivos más importantes de la Microbiología de alimentos es detectar la presencia de flora patógena para evitar riesgos en la salud del consumidor. (19)

#### 1.14.1 MICROBIOLÓGICA DEL SUERO DE LECHE Y SUS DERIVADOS

El suero es un producto pasteurizado, que se obtiene de la elaboración de queso al utilizar leche pasteurizada como materia prima, sin embargo, pueden existir microorganismos en la leche y por ende en el suero como subproducto debido a que en muchas empresas se pueden elaborar quesos con leche sin pasteurizar.

La leche por su composición, posee un elevado valor biológico, con una concentración de entorno al 4% de lactosa, hidrato de carbono que puede ser empleado por una gran variedad de microorganismos sacarolíticos, un 3% de proteína fácilmente metabolizable por gérmenes proteolíticos y un 3% de grasa digerible por microorganismos lipídicos.

En consecuencia existe el riesgo de que una amplia gama de microorganismos se desarrollen en la leche y el suero dependiendo de las condiciones a las cuales sean expuestos y la aplicación o no de sistemas de aseguramiento de la calidad e inocuidad. (7)

Se identifica fácilmente dos medios por los cuales microorganismos causantes de cambios adversos se inserten a la leche y suero; a) vía mamaria, los microorganismos pueden alcanzar la leche por vía mamaria ascendente y descendente, para el primer caso después del ordeño el esfínter del pezón queda abierto por donde ingresan a la ubre microorganismos principalmente *Staphilococcus aureus*, *Streptococcus*, *Coliformes*, mientras que para el segundo caso se puede desarrollar una enfermedad sistémica donde los microorganismos se movilizan a través de la sangre y por los capilares mamaros llegan a infectar la ubre siendo éstos *Salmonellas*, *Brucellas*, *Mycobacterium*; b) vía

ambiental, puede producirse contaminación una vez extraída la leche de la glándula mamaria siendo los vectores principales utensilios, tanques de almacenamiento, sistemas de transporte y principalmente el personal que manipula la leche. La pasteurización de ciclo abierto ( $68^{\circ} * 15$  minutos) de la leche permite destruir las bacterias patógenas con lo que asegura la conservación del queso y suero, evitando contaminación cruzada postproceso. (2)

El recuento de gérmenes o microorganismos viables ayuda a conocer la carga bacteriana presente en el producto. Ésta carga puede ser antes del proceso de pasteurización o después, se puede verificar su eficacia comparando los dos valores.

#### 1.14.2 MICROBIOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS FERMENTADOS

Los microorganismos favorables se usan en los alimentos de muchas maneras. Entre éstos se incluyen las células microbianas que crecen activamente, las que no crecen, los productos metabólicos secundarios y los componentes celulares de los microorganismos. Los microorganismos usados con estos propósitos deben cumplir algunos criterios comerciales y normativos.

La fermentación del alimento implica un proceso en que se convierten los materiales crudos a fermentados por medio del crecimiento y las actividades metabólicas de microorganismos deseables. Los microorganismos utilizan algunos componentes presentes en los materiales crudos como sustratos para generar energía y componentes celulares, para aumentar la población y para producir muchos productos secundarios útiles que se excretan en el ambiente. Los componentes que no se usan de los materiales crudos y los productos microbianos secundarios (y a veces las células microbianas) constituyen, en conjunto, los alimentos fermentados. (19)

## **1.15 TIEMPO DE VIDA UTIL**

La vida útil de un alimento se puede definir como el tiempo que transcurre entre la producción/envasado del producto y el punto en el cual se vuelve inaceptable bajo determinadas condiciones ambientales. La finalización de la vida útil de alimentos puede deberse a que el consumo implique un riesgo para la salud del consumidor, o porque las propiedades sensoriales se han deteriorado hasta hacer que el alimento sea rechazado. En este último caso el análisis sensorial es la principal herramienta de evaluación, ya que no existen métodos instrumentales o químicos que replacen adecuadamente a nuestros sentidos. El empaque para quesos usualmente se lo realiza con cera, films de plástico o láminas de aluminio, lo que se requiere es extender el almacenamiento.

El estudio de la vida útil tiene como objetivo evaluar el comportamiento de los productos en desarrollo y tradicionales a los que se les ha hecho un cambio en la receta o en el proceso, durante un tiempo determinado y a diferentes temperaturas. La vida útil de un alimento se puede definir como el tiempo el cual en el producto almacenado no se percibe significativamente distinto al producto inicial o recién elaborado. Para la evaluación del producto se utiliza técnicas de evaluación sensorial, análisis físicos, químicos y microbiológicos. (2)

## **1.16 PRUEBAS ESTADÍSTICAS**

### **1.16.1 ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA)**

En estadística, análisis de varianza (ANOVA, según terminología inglesa) es una colección de modelos estadísticos y sus procedimientos asociados. El análisis de varianza sirve para comparar si los valores de un conjunto de datos numéricos son significativamente distintos a los valores estadísticos y sus procedimientos asociados.



Para la utilización de esta técnica, se deben calcular las varianzas de cada muestra, plantearse una hipótesis nula, hipótesis alternativa y luego realizar los cálculos responder cuál de las dos hipótesis se cumple para aceptar o rechazar el ANOVA. (63)

### 1.16.2 PRUEBA DE TUKEY

Las pruebas múltiples de medias son útiles para seleccionar él o los tratamientos, y se aplican cuando los Análisis de Varianza declaran diferencias significativas. Se denominan pruebas múltiples de medias, porque simultáneamente se comparan varios promedios de los tratamientos. (63)

Una severidad alta hace referencia a que se necesitan diferencias de promedios altas, para poder declarar diferencias significativas entre los tratamientos. Para obtener los valores de prueba de Tukey se debe realizar:

Obtener el valor del comparador WP

$$WP = q\alpha * S\bar{x}$$

$q^\circ$  (P, glee), donde P= numero de medidas a comparar: glee= grados de libertad de error.

El valor se busca en la tabla correspondiente

$$SS\bar{x} = \sqrt{\frac{CMee}{r}}$$

Error experimental ajustado por el tamaño de la muestra (Número de repeticiones).

Ordenar los promedios de los tratamientos en forma descendente horizontalmente entre ellos

**Regla de Decisión:** si la diferencia entre dos promedios es mayor que el comparador WP, los promedios son estadísticamente diferentes. Si la diferencia entre dos promedios es menor o igual que WP, los promedios son iguales y se identifican con el mismo literal. (63)

### 1.16.3 PRUEBA Z

Las pruebas estadísticas aplicables en la comparación de proporciones, ya sean dos o más, también difieren según se trate de comparar medidas realizadas en grupos independientes o de datos apareados (medidas realizadas en un mismo grupo de individuos en dos momentos distintos del tiempo). En el caso de comparar dos proporciones independientes, las pruebas más utilizadas son la prueba Z de comparación de proporciones y la prueba de Ji-cuadrado. (62)

Esta prueba se basa en la aproximación normal de la distribución binomial. Queremos comparar dos proporciones,  $p_1$  y  $p_2$ , observadas en dos grupos distintos de tamaños  $n_1$  y  $n_2$ , respectivamente. Esta prueba es utilizable cuando los tamaños muestrales  $n_1$  y  $n_2$  son grandes, para poder aplicar el Teorema Central del Límite. El estadístico de contraste se calcula como:

$$Z = \frac{P_1 - P_2}{\sqrt{\frac{P_1(1-P_1)}{n_1} + \frac{P_2(1-P_2)}{n_2}}}$$

## **CAPÍTULO II**

### **2. PARTE EXPERIMENTAL**

#### **2.1 LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN**

La presente investigación se llevó a cabo en:

- Laboratorios de Microbiología y Bromatología de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.
- Centro de Servicios Técnicos y Transferencia Tecnológica Ambiental “CESTTA” ESPOCH.

##### **2.1.1 ENCUESTADOS**

Treinta y cinco niños de 6 años pertenecientes a la Escuela Dr. Leonidas García; y veinte y ocho adultos de 19 a 22 años pertenecientes al tercer nivel de la Escuela de Biotecnología Ambiental de la ESPOCH de la Ciudad de Riobamba, Provincia de Chimborazo.

### **2.2 MATERIALES**

#### **2.2.1 MATERIA PRIMA**

El lactosuero descremado proporcionado por la Quesera “El Salinerito” de la Parroquia Salinas, Provincia Bolívar; mientras que la Avena Quaker molida se adquirió en el Supermercado AKI de la Ciudad de Riobamba, Provincia Chimborazo.

**Ingredientes:**

- Lactosuero descremado
- Avena Quaker molida
- Leche pasteurizada homogenizada (PROLAC)
- Azúcar
- Esencia de vainilla
- Canela
- Conservante (Sorbato de Potasio)
- Estabilizante (Gelatina sin sabor)
- Fermento lácteo YO-MIX™ (DANISCO)
- Levadura liofilizada (LEVAPAN)

2.2.2 MATERIAL DE LABORATORIO

- Vasos de precipitación
- Matraces volumétricos
- Pipetas volumétricas
- Tubos de ensayo
- Desecador
- Cápsulas de porcelana
- Pinza para cápsula
- Crisoles de Gooch
- Varilla de agitación
- Espátula
- Pizeta
- Probeta graduada
- Pinza de bureta
- Bureta
- Soporte universal

- Papel filtro
- Cajas petri
- kitasato
- Cepillos
- Pomas de plástico
- Equipo de protección personal (mandil, mascarilla, cofia, guantes)
- Toallas de cocina
- Envases de vidrio
- Petrifilm
- Dispensor para petrifilm
- Hielo
- Cuchara
- Detergentes y desinfectantes
- Libreta de anotaciones
- Calculadora

### 2.2.3 EQUIPOS

- Balanza analítica (ae ADAM<sup>®</sup>)
- Reverbero
- pHmetro (HANNA)
- Autoclave (FEDEGARI)
- Baño María (MEMMERT)
- Estufa (FANEM<sup>®</sup>)
- Mufla (SNOL)
- Equipo de Kjeldhal
- Bomba de vacío (MEDI-PUMP)
- Analizador Ultrasónico de leche-LACTOSCAN (MASTER PRO)
- Refrigeradora (INDURAMA)
- Refractómetro (RL 2)
- Equipo de destilación simple

- Ollas
- Cámara fotográfica (SONNY)
- Computador (HP Mini)
- Cámara de Flujo laminar (ESCO)

#### 2.2.4 REACTIVOS

- Agua destilada
- Hidróxido de Sodio
- Ácido Clorhídrico
- Ácido Sulfúrico
- Rojo de metilo
- Solución indicadora de Fenolftaleina
- Cloruro de Sodio
- Metanol
- Hexano
- Reactivo de Carrez I
- Reactivo de Carrez II
- Solución de Fheling

#### 2.2.5 MEDIOS DE CULTIVO

- Láminas Petri film para Aerobios Mesófilos
- Láminas Petri film para Mohos y Levaduras
- Láminas Petri film para *Staphylococcus aureus*
- MRS Agar para Recuento de Bacterias Lácticas (MERCK)
- Caldo lactosa bilis 2% verde brillante conteniendo tubos de Durham invertidos (MERCK)

## 2.3 MÉTODOS

Al iniciar el trabajo de experimentación se realizó una limpieza y desinfección de las instalaciones, equipos y materiales a utilizarse, con el objetivo de que se encuentren libres de cualquier agente patógeno que puedan alterar los productos a elaborarse. Realizándose esta actividad cada vez que se elaboró el producto, durante la investigación.

La primera etapa del estudio incluyó la caracterización físico-química del suero de leche dulce, y la selección de ingredientes adecuados para la elaboración de las bebidas. Conociendo ya las cantidades a añadir, se preparó tres productos con proporciones diferentes de lactosuero y avena; estas formulaciones se muestran a continuación en la tabla No. 9.

**TABLA No.9 FORMULACIONES QUE SE UTILIZARON PARA LA ELABORACIÓN DE LAS BEBIDAS**

<b>PRODUCTOS</b>	<b>FORMULACIONES</b> <b>Suero de leche: Avena</b>
A (Bebida sin fermentar)	70: 30
B (Bebida láctica)	70: 30
C (Bebida alcohólica)	60: 40

En cada formulación se usaron ingredientes tales como: leche entera pasteurizada, azúcar, esencia de vainilla, canela, conservante (sorbato de potasio), estabilizante (gelatina sin sabor), fermento lácteo YO-MIX™, levadura liofilizada. Cabe indicar que los aditivos empleados en la elaboración de las bebidas, son de uso permitido según la Comisión del Codex Alimentarius y la norma NTE INEN 2074.

Además se describió un perfil sensorial para cada bebida, mediante pruebas de degustación, estableciendo así el nivel de preferencia de los productos; esto se efectuó con 35 niños de la Escuela Dr. Leonidas García y 28 estudiantes de la Facultad de Biotecnología Ambiental de la ESPOCH de la Ciudad de Riobamba, Provincia de

Chimborazo. Se empleó encuestas con Métodos para Test de Respuesta Subjetiva, diseñados para determinar la posible aceptación o preferencia del consumidor, así para los niños no se degustó la bebida alcohólica y se aplicó el Test de Consumidores; mientras que para los adultos se aplicó el Test de Preferencia y de Valoración con la degustación de las tres bebidas. (Ver Anexo No. 1 y 2).

Aparte del análisis sensorial, también se analizó el valor nutritivo de las tres bebidas (humedad, fibra, proteína, ceniza, extracto etéreo y extracto libre no nitrogenado, azúcares reductores y totales, minerales como calcio, magnesio y fósforo), la calidad microbiológica y su respectivo estudio de vida de anaquel para cada producto elaborado.

### 2.3.1 PROCESOS TECNOLÓGICOS SEGUIDOS PARA LA ELABORACIÓN DE LAS BEBIDAS

Se elaboró tres bebidas con diferentes proporciones de suero de leche y avena:

*Una sin fermentar:*

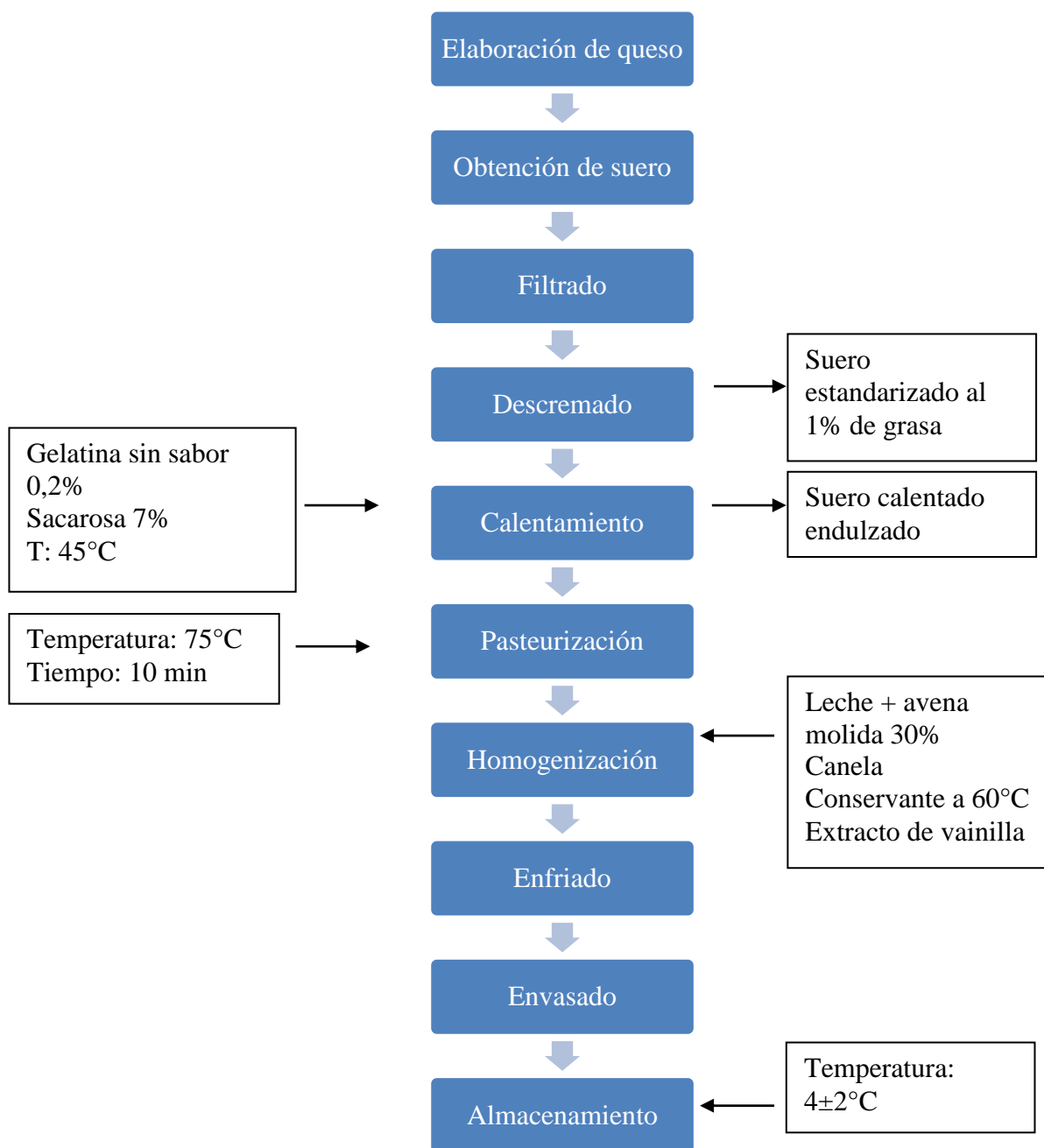
- Lactosuero dulce + Avena

*Dos fermentadas:*

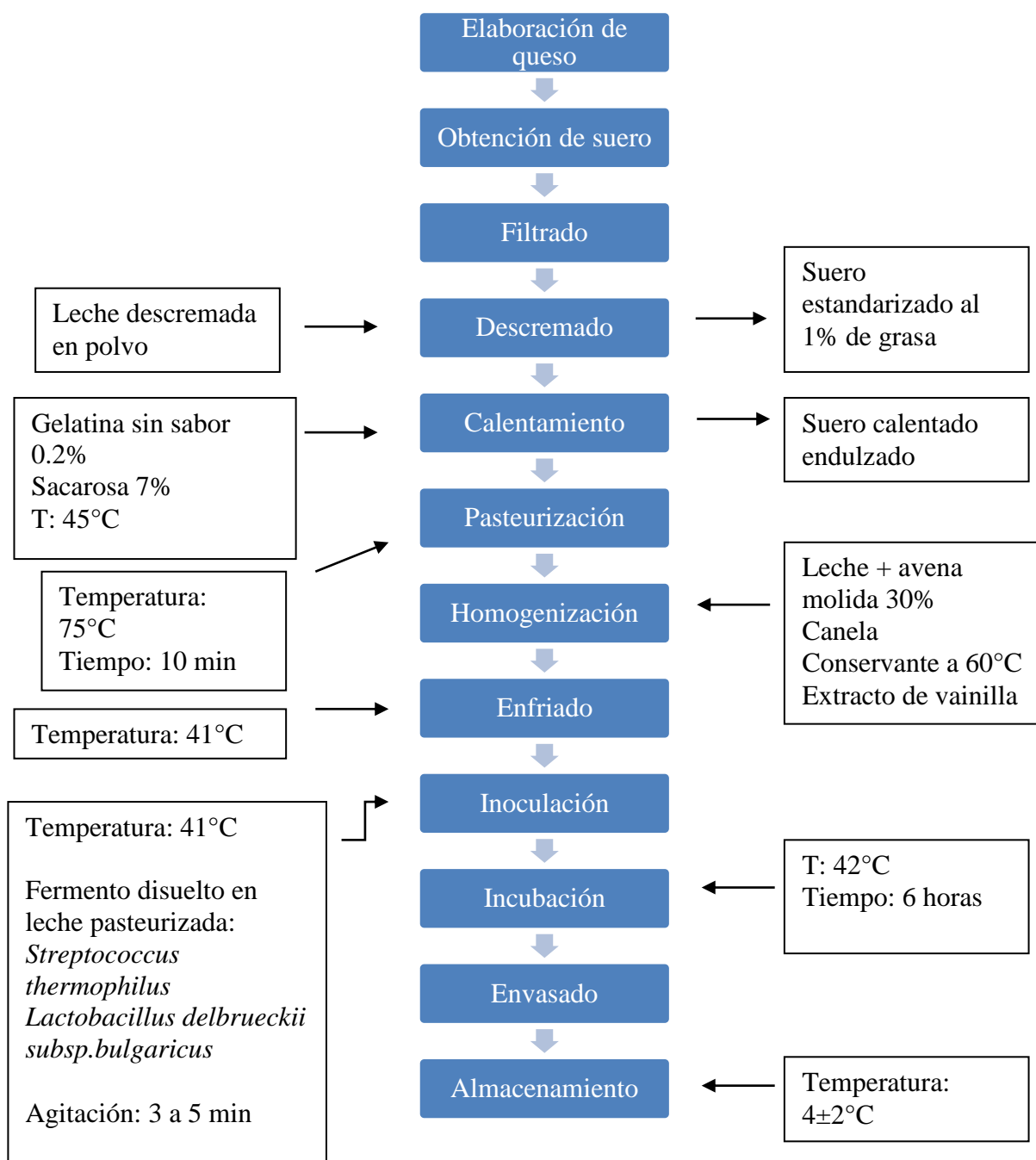
- Lactosuero dulce + Avena (fermentados con fermento lácteo YOMIX™)
- Avena (fermentada con *Sacharomyces cerevisiae*) + Lactosuero dulce

Antes de la preparación de las bebidas, se determinó el tiempo y temperatura de pasteurización del suero de leche mediante diferentes ensayos (T 72°C x 15 min, T 75°C x 5 min, T 80°C x 10 min, T 85°C x 10 seg), este proceso se llevó a cabo de forma artesanal en una bandeja con cubos de hielo y sal común, llevándose a cabo el choque térmico. Los procesos de elaboración para las tres formulaciones se presentan en flujogramas a continuación en las Figuras No. 1,2 y 3.





**FIGURA No. 1 FLUJOGRAMA PARA LA ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA A BASE DE LACTOSUERO Y AVENA**



**FIGURA No. 2 FLUJOGRAMA PARA LA ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA FERMENTADA LÁCTICA A BASE DE LACTOSUERO Y AVENA**

Para determinar la cantidad de inóculo a utilizar se realizó el siguiente cálculo estimado en las fichas de descripción de fermentos lácticos DANISCO:

$$\begin{array}{r} 50 \text{ DCU} \quad 14,8\text{g} \\ 10 \text{ DCU} \quad \mathbf{X} \end{array}$$

$$\mathbf{X} = 10\text{DCU} \times 14,8\text{g} / 50\text{DCU}$$

$$\mathbf{X} = 2,96\text{g de fermento} / 100\text{L}$$

$$\begin{array}{r} 2,96\text{g} \quad 100\text{L} \\ \mathbf{X} \quad 1,5\text{L} \end{array}$$

$$\mathbf{X} = 2,96\text{g} \times 1,5\text{L} / 100\text{L}$$

$$\mathbf{X} = 0.044\text{g de fermento} / 1,5\text{L}$$

Previo a la homogenización de la bebida total, se realizó la cocción de la leche pasteurizada PROLAC más la avena molida con la adición de canela, azúcar, extracto de vainilla, el conservante se añadió a 60°C.

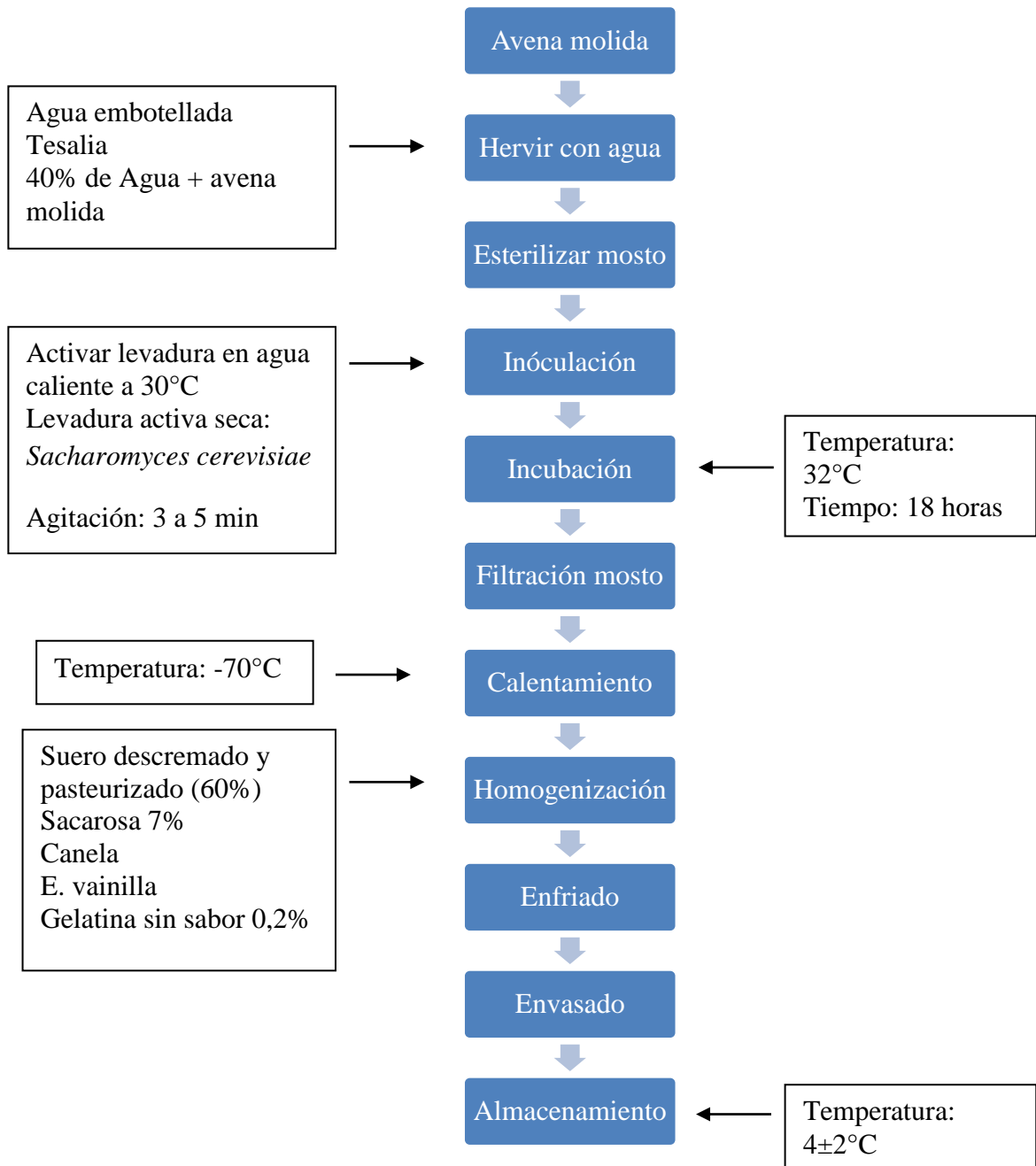
Para la bebida alcohólica se estableció la concentración de levadura mediante los siguientes pre ensayos (Tabla No. 10) con la medición de parámetros como °Brix y pH antes y después de la fermentación.

**TABLA No. 10 PRE ENSAYO DE FERMENTACIÓN PARA LA ELABORACIÓN DE LA BEBIDA ALCOHÓLICA**

CONCENTRACIÓN DE LEVADURA	°BRIX INICIAL Y FINAL		AZÚCAR AÑADIDO	pH INICIAL Y FINAL	
0,00089	3	1,8	1 g	7,04	5,18
0,0165	3	1,5	1 g	7,00	5,21
0,0317	3	1,5	1 g	6,94	5,07
0,0632	3	1,4	1 g	6,75	4,70
0,0636	17,5	13	15 g	6,57	4,88

FUENTE: TESISISTA GLENDA STEFANIA VEGA MONTERO

Se eligió la menor concentración de levadura debido a que el mosto de avena fermentado presentó un olor parcial a alcohol, en la fermentación del mosto con concentración de 15 g de azúcar sobresalió el olor a levadura más no se percibía el alcohol.



**FIGURA No. 3 FLUJOGRAMA PARA LA ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA FERMENTADA ALCOHÓLICA A BASE DE LACTOSUERO Y AVENA**

### 2.3.2 ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DEL SUERO Y DE LAS BEBIDAS LÁCTEAS A BASE DE SUERO DE LECHE Y AVENA

Para este tipo de análisis se extrajeron muestras de las diferentes unidades experimentales mismas que se evaluaron en el Laboratorio de Alimentos y Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH. El análisis físico-químico del suero dulce se realizó en el Laboratorio de Control de Calidad – Quesera “El Salinerito”, para lo cual se empleó el LACTOSCAN MILKANALYZER.

Dentro de la caracterización física-química se determinó: pH, acidez, °Brix, humedad, ceniza, proteína, fibra, extracto etéreo, extracto libre no nitrogenado, azúcares.

#### ❖ DETERMINACIÓN DEL pH (NTE INEN 389)



FUENTE: VEGA, G. LABORATORIO DE ALIMENTOS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH

**FOTOGRAFÍA No. 1 MEDICIÓN DE PH**

#### **Principio**

El pH de un alimento se mide con un indicador de color o un pHmetro en el que tienen electrodos en forma de varilla sumergible. Estos medidores determinan la diferencia de potencial entre un electrodo de vidrio y un electrodo estándar de calomel, que forman parte de un electrodo de combinación, y se calibran con soluciones amortiguadoras preparadas o comerciales de pH preciso y conocido.

## Procedimiento

Si la muestra corresponde a productos densos o heterogéneos, homogenizarla con ayuda de una pequeña cantidad de agua (recientemente hervida y enfriada) con agitación.

2. Colocar el vaso de precipitación aproximadamente 10g de la muestra preparada, añadir 100mL de agua destilada (recientemente hervida y enfriada) y agitarla suavemente.
3. Si existen partículas en suspensión, dejar en reposo el recipiente para que el líquido se decante.
4. Determinar el pH introduciendo los electrodos del potenciómetro, en el vaso de precipitación con la muestra (Ver Fotografía No. 1), cuidado que estos no toquen las paredes del recipiente, ni las partículas sólidas.

### ❖ DETERMINACIÓN DE ACIDEZ TITULABLE (NTE INEN 13)



FUENTE: VEGA, G. LABORATORIO DE ALIMENTOS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH  
**FOTOGRAFÍA No. 2 MEDICIÓN DE ACIDEZ**

## Principio

Consiste en titular la muestra con una solución estandarizada de Hidróxido de Sodio, usando Fenolftaleína como indicador.

## Procedimiento

1. La determinación realizar por duplicado sobre la misma muestra preparada.
2. Lavar cuidadosamente y secar el matraz Erlenmeyer en la estufa a  $103^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$  durante 30 min.
3. Invertir, lentamente tres o cuatro veces, la botella que contiene la muestra preparada; inmediatamente, transferir al matraz Erlenmeyer y pesar con aproximadamente al 0,1 mg, aproximadamente 20 g de muestra.
4. Diluir el contenido del matraz con un volumen dos veces mayor de agua destilada, y agregar  $2\text{cm}^3$  de solución indicadora de fenolftaleína.
5. Agregar, lentamente, y con agitación, la solución 0,1 N de hidróxido de sodio, justamente hasta conseguir un color rosado persistente (si la muestra es coloreada titule potencio métricamente hasta pH 8,4) que desaparece lentamente. (Ver Fotografía No. 2)
6. Continuar agregando la solución hasta que el color rosado persista durante 30 s.
7. Leer en la bureta el volumen de solución empleada, con aproximadamente a  $0,05\text{cm}^3$ .

## Cálculos

La acidez se calcula en % del ácido representativo, mediante la ecuación siguiente:

$$\frac{V_A \times N_A \times meqB \times 100}{gB}$$

Siendo:

$V_A$  = volumen de la solución de hidróxido de sodio empleado en la titulación, en  $\text{cm}^3$

$N_A$  = normalidad de la solución de hidróxido de sodio

$meqB$  = mili equivalentes del ácido representativo (ácido láctico)

$gB$  = gramos del ácido representativo

❖ **DETERMINACIÓN DE °BRIX. Técnicas utilizadas en el laboratorio de alimentos de ciencias ESPOCH**



FUENTE: VEGA, G. LABORATORIO DE ALIMENTOS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH

**FOTOGRAFÍA No. 3 MEDICIÓN DE °BRIX**

### **Principio**

Consiste en determinar el porcentaje de sólidos solubles o sólidos de azúcar (sacarosa) presentes en los alimentos, para medirlo se utiliza un aparato denominado refractómetro.

### **Procedimiento**

1. Pesar 5 o 10 g de muestra y diluir con 50 o 100 mL de agua destilada
2. Ajustar el refractómetro con agua destilada
3. Con los prismas del refractómetro abiertos, se depositan algunas gotas muestra en la superficie del prisma fijo, en seguida se cierra el prisma móvil sobre el fijo. (Ver Fotografía No. 3)
4. Se orienta entonces el refractómetro hacia una fuente luminosa regulando el ocular cuanto sea necesario, a fin de que sea visible nítidamente la escala al igual que la línea de separación entre el campo claro y el campo sombreado.
5. La lectura obtenida nos indicará el porcentaje en peso de azúcar si se trata de soluciones azucaradas o el porcentaje de sólidos solubles en el caso de tratarse de otras sustancias (puré o pasta de tomate, vinagres, etc.).



6. Después de hacerse la lectura se limpia cuidadosamente la superficie de los prismas con un paño suave humedecido con agua.

#### ❖ DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS TOTALES Y CENIZAS (NTE INEN 14)



FUENTE: VEGA, G. LABORATORIO DE ALIMENTOS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH

FOTOGRAFÍA No. 4 SÓLIDOS TOTALES Y CENIZAS

### Principio

**Método de desecación en estufa de aire caliente:** Consiste en secar la muestra en la estufa a una temperatura de  $103 \pm 3$  °C hasta peso constante, el secado tiene una duración de 2 - 3 horas.

**Método de incineración en mufla:** Se lleva a cabo por medio de incineración seca y consiste en quemar la sustancia orgánica de la muestra problema en la mufla a una temperatura de  $550^{\circ}\text{C} \pm 25^{\circ}\text{C}$ ., con esto la sustancia orgánica se combustiona y se forma el  $\text{CO}_2$ , agua y la sustancia inorgánica (sales minerales) se queda en forma de residuos, la incineración se lleva a cabo hasta obtener una ceniza color gris o gris claro. (29)

### Procedimiento

1. La determinación realizar por duplicado sobre la misma muestra preparada.

2. Lavar cuidadosamente y secar la cápsula en la estufa ajustada a  $103^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$  durante 30 min. Dejar enfriar en el desecador y pesar con aproximación al 0,1 mg.
3. Invertir lentamente, tres o cuatro veces, la botella que contiene la muestra preparada; inmediatamente, transferir a la cápsula y pesar con aproximadamente al 0,1 mg aproximadamente 5 g de muestra.
4. Colocar la cápsula en el baño María a ebullición durante 30 min, cuidando que su base quede en contacto directo con el vapor.
5. Transferir la cápsula a la estufa ajustada a  $103^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$  y calentar durante 3 h. (Ver Fotografía No. 4)
6. Dejar enfriar la cápsula (con los sólidos totales) en el desecador y pesar con aproximación al 0,1 mg. Repetir el calentamiento por períodos de 30 min, enfriando y pesando hasta que no haya disminución en la masa.
7. Colocar la cápsula (con los sólidos totales) cerca de la puerta de la mufla abierta y mantenerla allí durante unos pocos minutos para evitar pérdidas por proyección de material que podrían ocurrir si la cápsula se introduce directamente en la mufla. (Ver Fotografía No. 4)
8. Introducir la cápsula en la mufla a  $530^{\circ} \pm 20^{\circ}\text{C}$  hasta obtener cenizas libres de partículas de carbón (esto se obtiene al cabo de 2 ó 3 h).
9. Sacar la cápsula (con las cenizas), dejar enfriar en el desecador y pesar con aproximación al 0,1 mg. Repetir la incineración por periodos de 30 min, enfriando y pesando hasta que no haya disminución en la masa.

### Cálculos

$$S = [(m_1 - m) / (m_2 - m)] \times 100$$

Dónde:

S = contenido de sólidos totales, en porcentaje de masa

m = masa de la cápsula vacía, en g

$m_2$  = masa de la cápsula con la leche (antes de la desecación), en g

$m_1$  = masa de la cápsula con los sólidos totales (después de la desecación), en g

Cuando se determine únicamente el contenido de sólidos lácteos no grasos, deberá restarse del porcentaje de sólidos totales el porcentaje del contenido de grasa.

La cantidad de cenizas de la leche se calcula mediante la ecuación siguiente:

$$C = \frac{m_3 - m}{m_2 - m} \times 100$$

Dónde:

C = cantidad de cenizas de la leche, en porcentaje de masa

m = masa de la cápsula vacía, en g

m<sub>2</sub> = masa de la cápsula con la leche (antes de la incineración), en g

m<sub>3</sub> = masa de la cápsula con las cenizas (después de la incineración), en g

#### ❖ DETERMINACIÓN DE FIBRA. Método de WEENDE (NTE INEN 750)



FUENTE: VEGA, G. LABORATORIO DE ALIMENTOS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH  
FOTOGRAFÍA No. 5 FIBRA POR MÉTODO DE WEENDE

#### Principio

La fibra es el residuo orgánico combustible e insoluble que queda después de que la muestra se ha tratado en condiciones determinadas; se basa en la separación sucesiva de la ceniza, proteína, grasa y sustancia extraída libre de nitrógeno. Las condiciones más

comunes son tratamientos con petróleo ligero, ácido sulfúrico diluido hirviente, hidróxido de sodio diluido hirviente, ácido clorhídrico diluido, alcohol y éter. Este tratamiento empírico proporciona la fibra cruda que consiste principalmente de celulosa además de la lignina y hemicelulosas contenidas en la muestra.

### **Procedimiento**

1. Se pesa 1 gramo de la muestra problema por adición en un papel aluminio y se registra este peso. (W1)
2. Se coloca la muestra en el vaso y se pesa el papel con el sobrante y se anota este peso. (W2)
3. A cada vaso con la muestra se coloca 200mL de H<sub>2</sub>S04 al 7% mas 2mL de alcohol n-amílico; estos vasos colocamos en las hornillas del digestor levantando lentamente haciendo coincidir los vasos con los bulbos refrigerantes.
4. Se deja por el tiempo de 25 minutos regulando la temperatura de la perilla en 7, también controlando que el reflujo de agua se encuentre funcionando adecuadamente (etapa de digestión ácida).
5. A los 25 minutos se baja la temperatura de la posición 7 a 2,5 y se añade 20mL de NaOH al 22 % manejando los vasos con sumo cuidado y se deja por unos 30 minutos exactos. Los tiempos se toman desde que empieza la ebullición.
6. Una vez terminada la digestión alcalina se arma el equipo de bomba de vacío, preparando además los crisoles de Gooch con su respectiva lana de vidrio para proceder a la filtración.
7. Se coloca los crisoles en la bomba, filtrando de esta manera el contenido de los vasos realizando su lavado con agua destilada caliente.
8. En las paredes del vaso se raspa con el policia los residuos que están adheridos para enjuagar posteriormente.
9. El lavado se realiza con 200mL de agua, se debe tratar con cuidado la filtración para evitar que se derrame por las paredes del crisol.

10. Luego se coloca los crisoles en una caja petri y sobre la sustancia retenida en la lana de vidrio se añade acetona hasta cubrir el contenido en el crisol para eliminar agua, pigmentos y materia orgánica.
11. Posteriormente se pasa los crisoles con toda la caja petri a la estufa por el lapso de 8 horas para secar a una temperatura de 105°C.
12. Se saca al desecador y se realiza el primer peso registrando en primera instancia. (W3)
13. Una vez pesados son llevados hasta la mufla a una temperatura de 600 °C por un tiempo de 4 horas como mínimo una vez que la mufla ha alcanzado la temperatura indicada.
14. Terminado este tiempo los crisoles son sacados de la mufla al desecador por un tiempo de 30 minutos para finalmente realizar el segundo peso del crisol más las cenizas. (W4) (Ver Fotografía No. 5)
15. Finalmente por diferencia de pesos se realiza el cálculo de la fibra bruta. (29)

### Cálculos

Porcentaje de Fibra:

$$\%F = \frac{W_3 - W_4}{W_2 - W_1} \times 100$$

Dónde:

F = fibra en muestra seca y desengrasada

W<sub>1</sub> = peso del papel solo

W<sub>2</sub> = peso del papel más muestra húmeda

W<sub>3</sub> = peso del crisol más muestra seca

W<sub>4</sub> = peso del crisol más cenizas

❖ **Fibra bruta en base seca**

$$\%F.B.S = \frac{100 \times \%FB}{\%H}$$

Dónde:

%F.B.S = % Fibra en Base Seca

%FB= % Fibra Bruta

%H = % Humedad

❖ **Fibra en base fresca**

$$\%F.B.F = \frac{\%FBS \times [100 - (\%H + \%G)]}{100}$$

Dónde:

%F.B.F = % Fibra en base fresca

%F.B.S = % Fibra bruta en base seca

%H = % Humedad

%G = % Grasa

❖ **DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA MACRO KJELDAL. Técnicas utilizadas en el Laboratorio de Alimentos de Ciencias ESPOCH**

**Principio**

Sometiendo a un calentamiento y digestión una muestra problema con ácido sulfúrico concentrado los hidratos de carbono y las grasas se destruyen hasta formar CO<sub>2</sub> y agua, la

proteína se descompone con la formación del amoníaco, que es retenido por el ácido sulfúrico formando sulfato de amonio; que por adición de una base fuerte NaOH al 40% se desprende el nitrógeno en forma de amoníaco, este amoníaco es retenido en una solución de ácido bórico al 4% como el indicador mixto (verde de bromocresol y rojo de metilo) y titulado con HCl 0,1 N.

### **Procedimiento**

1. Pesar el papel aluminio, añadir se pesa 0,5 g de la muestra, se registra el peso del papel solo y del papel mas la muestra. En este contenido del papel más la muestra se añade 1.8 g de sulfato de sodio más 0,2 g de sulfato cúprico llamada también muestra catalizadora.
2. Todo este contenido se coloca en cada balón al cual se añade 20mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado (grado técnico).
3. Agitar el contenido de cada balón con todo este contenido es llevado al Macro Kjeldahl para su digestión, a una temperatura graduada en 2.9 por un tiempo de 45 minutos a partir del momento que se clarifica la digestión.
4. Luego de este tiempo son enfriados.
5. Una vez terminada la fase de digestión se procede a preparar la etapa de destilación para lo cual colocamos en los matraces Erlenmeyer 50 cm<sup>3</sup>.colocar 25 cm<sup>3</sup>de ácido bórico al 4% mas indicador mixto (rojo metilo y verde de bromocresol) y los colocamos en cada una de las terminales del equipo de destilación.
6. En cada tubo con la muestra clarificada se coloca 25cm<sup>3</sup>. de agua destilada
7. Se enciende el equipo para inicial la destilación que dura hasta que el contenido del matraz adquiera un color verde esmeralda este proceso dura aproximadamente 30segundos Se retira los tubos con su contenido, se desechan.
8. Para la fase de titulación se arma el soporte universal con la bureta con HCl al 0.1N.
9. Se titula hasta obtener un color grisáceo transparente que es el punto final de la titulación.
10. El número dem<sup>3</sup>. de HCl al 0.1 N. gastado se registra para el cálculo respectivo.

### Cálculos

$$\text{Porcentaje de Proteína} = \frac{NHCl \times 1,4 \times 6,25 \times \text{cm}^3 HCl}{m}$$

Dónde:

%PB = % Proteína Bruta

$m$  = peso de la muestra

0,014 = mil equivalentes del N<sub>2</sub>

1.25 = factor para convertir el % del N<sub>2</sub> a % de proteína

cm<sup>3</sup> HCl = cm<sup>3</sup> de ácido clorhídrico utilizados para titular

$$\text{Proteína en Base Seca} = \frac{100 \times \%PB}{\%MS}$$

Dónde:

%PBS= Proteína en Base Seca

%PB= % Proteína en Base Fresca

%MS= % Materia Seca

### ❖ EXTRACTO LIBRE NO NITROGENADO (ELnN)

$$\%ELnN = 100 - \sum (\%H + \%C + \%F + \%Ex.E + \%P)$$

Dónde:

%ELnN= porcentaje de carbohidratos digeribles.

%H= porcentaje de humedad



%C = porcentaje de cenizas

%F= porcentaje de fibra

%Ex. E= porcentaje de extracto etéreo

%P= porcentaje de proteína

### ❖ DETERMINACIÓN DE AZÚCARES: Método de Fehling (Oxidoreducción)

#### Principio

Los azúcares que tienen en su estructura grupos aldehídicos o cetónicos libres reaccionan como agentes reductores libres y se llaman azúcares reductores. Estos incluyen a todos los monosacáridos y los disacáridos como la maltosa, lactosa y celobiosa. Los disacáridos como la sacarosa y la rafinosa, así como otros oligosacáridos están formados por azúcares simples unidos a través de grupos aldehídicos o cetónicos y por tanto son carbohidratos no reductores (hasta que son hidrolizados en los azúcares reductores que los forman). Estas propiedades se usan para cuantificar azúcares por la medición de la reducción del Cu (I) al Cu (II).

El licor de Fehling consiste en tartrato cúprico alcalino y se convierte en óxido cuproso insoluble al calentarse a ebullición con una solución de azúcar reductor.

#### AZUCARES REDUCTORES

##### Procedimiento

1. Pesar 5g de muestra previamente preparada (desmuestra), en caso de muestras que al realizar su desmuestra desprendan líquidos o grasa es mejor pesar 5g de muestra (porción comestible) tal cual y luego realizar el desmuestra y trasvasar cuantitativamente con ayuda de agua destilada o el solvente indicado para la extracción del analito que se quiere dosificar a un balón volumétrico de 250mL y añadir 100mL de agua destilada.

2. Adicionar 15mL de solución de Carrez I y 15mL de solución de Carrez II, agitando después de cada adición.
3. Aforar a 250mL con agua destilada y filtrar por filtro de pliegues.
4. El filtrado colocar en una bureta de 50mL.
5. En un Erlenmeyer de 250mL colocar 5ml de sol. de Fehling A y 5mL de sol. de Fehling B.
6. Mezclar y añadir 40mL de agua destilada, núcleos de ebullición y colocar en una fuente calórica y calentar hasta ebullición.
7. En este momento y controlando el tiempo con un cronómetro empezar a añadir lentamente cada 2 segundos y en pequeña cantidad de 0,5mL la solución problema desde la bureta, sin dejar de hervir.
8. A 1 minuto y 55 segundos de ebullición adicionar 3 gotas de sol. Indicadora de azul de metileno al 1% y continuar la titulación a ritmo de 0,1mL por segundo hasta color rojo brillante.
9. Repetir la titulación adicionando de una sola vez el volumen gastado inicialmente en la titulación anterior, menos 0,5mL.
10. Titular a ritmo de 0,5mL cada 10 segundos.

### Cálculos

El % de azúcares reductores se obtiene aplicando la siguiente fórmula:

$$\%AR = (A \times a \times 100) / (W \times V)$$

Dónde:

%AR = porcentaje de azúcares reductores

A= aforo de la muestra

a= título de Fehling (10cm<sup>3</sup> de solución de Fehling es igual a 0,05 de glucosa)

W= peso de muestra en g

V= volumen de la solución problema gastado en la titulación

## AZUCARES TOTALES

### Procedimiento

1. Pesar 5g de muestra previamente preparada (desmuestre)
2. Colocar en balón volumétrico de 250mL y añadir 100mL de agua destilada
3. Adicionar 5mL de HCl conc.
4. Calentar a reflujo 20 minutos.
5. Neutralizar con NaOH al 50% hasta pH 7.
6. Aforar a 250mL con agua destilada.
7. En un Erlenmeyer de 250mL colocar 5mL de sol. de Fehling A y 5mL de sol. de Fehling B, mezclar y añadir 40mL de agua destilada, núcleos de ebullición y colocar en una fuente calorífica y calentar hasta ebullición.
8. En este momento y controlando el tiempo con un cronómetro empezar a añadir lentamente cada 2 segundos y en pequeña cantidad 0,5mL la solución problema desde la bureta, sin dejar hervir.
9. A 1 minuto y 55 segundos de ebullición adicionar 3 gotas de sol. indicadora de azul de metileno al 1% y continuar la titulación a ritmo de 0,1mL por segundo hasta color rojo brillante.
10. Repetir la titulación adicionando de una sola vez el volumen gastado inicialmente en la titulación anterior, menos 0,5mL.
11. Titular a ritmo de 0,5mL cada 10 segundos.

### Cálculos

$$\%AT = (A \times a \times 100) / (W \times V)$$

Dónde:

%AT = porcentaje de azúcares totales

A= aforo de la muestra

a= título de Fehling

V= volumen de la solución problema gastado en la titulación

### **AZÚCARES NO REDUCTORES (SACAROSA)**

Se saca por cálculo, previa determinación experimental de los azúcares reductores y totales, con la siguiente fórmula:

$$\%ANR = \%AT - \%AR$$

Dónde:

%ANR = porcentaje de azúcares no reductores

%AT = porcentaje de azúcares totales

%AR = porcentaje de azúcares reductores

### **❖ DETERMINACIÓN DE GRADO ALCOHÓLICO (NTE INEN 340)**



FUENTE: VEGA, G. LABORATORIO DE ALIMENTOS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH

**FOTOGRAFÍA No. 6GRADO ALCOHÓLICO**

### **Principio**

El título alcohólico es igual al número de litros de alcohol etílico absoluto, contenidos en 100 litros de vino, medidos ambos volúmenes a la misma temperatura, y se expresan con

una precisión de 0,1° % vol. Se determina por destilación simple, del líquido neutralizado, y medida la densidad del destilado por areometría.

### **Procedimiento**

1. Lavar cuidadosamente el equipo para destilación con agua destilada y proceder a armarlo
2. Enjuagar el matraz con una porción de la muestra de bebida alcohólica, llenarlo con la muestra hasta sobrepasar la marca de 250 cm<sup>3</sup> y tapar el matraz.
3. Colocar el matraz en el baño de agua, a temperatura constante de 15° ± 0,5°C ó 20° ± 0,5°C, según el caso, durante 20 minutos y retirar el exceso de muestra que sobrepasa la marca, utilizando una pipeta, hasta obtener el volumen exacto de 250 cm<sup>3</sup>.
4. Transferir el contenido al matraz del aparato de destilación y lavar con tres porciones de 10 cm<sup>3</sup> de agua destilada, recogiendo el agua de lavado en el mismo matraz del aparato de destilación. Añadir núcleos de ebullición.
5. Destilar lentamente la muestra, recogiendo el condensado en un matraz volumétrico de 250 cm<sup>3</sup> al que se añaden previamente 10 cm<sup>3</sup> de agua destilada, hasta que se haya recogido 220 cm<sup>3</sup> aproximadamente.
6. Colocar el matraz en un baño de agua a temperatura constante 15° ± 0,5°C ó 20° ± 0,5°, según el caso, durante 20 minutos y luego añadir cuidadosamente agua destilada a 15°C ó 20°, según el caso, hasta completar el volumen de 250 cm<sup>3</sup> y homogenizar.
7. Efectuar la determinación en la misma muestra preparada por duplicado
8. Colocar la muestra preparada en la probeta perfectamente limpia y seca
9. Limpiar y secar cuidadosamente el alcoholímetro y el termómetro e introducirlos suavemente en la probeta con la muestra, manteniéndolos así durante 10 minutos.
10. Agitar ligeramente para igualar la temperatura del sistema y leer la temperatura
11. Dejar en reposo hasta que desaparezcan las burbujas de aire que se forman en el seno del líquido y efectuar la lectura en el alcoholímetro, considerando el nivel

real del líquido y no la elevación del menisco, utilizando una lupa, si fuera necesario. (Ver Fotografía No. 6)

12. Corregir el grado alcohólico aparente medido a 15°C y 21°C, según las tablas que se muestran en dicha norma. (Anexo No. 13)

### 2.3.3 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL SUERO Y DE LAS BEBIDAS LÁCTEAS

El análisis microbiológico es importante ya que está relacionado con la inocuidad y deterioro de los alimentos, determina el grado de contaminación al que está expuesto éste en sus diferentes etapas. Al multiplicarse los microorganismos en el alimento, pueden producir cambios en sus características organolépticas y en su pH, lo que se traduce en alteraciones fáciles de constatar, como rancidez, acidez o alcalinización, putrefacción y aparición de manchas en la superficie. Pero puede ser también que el alimento no presente alteración apreciable, y sin embargo estar contaminado, representando así un riesgo para el consumidor.

Se realizó el análisis microbiológico del suero de leche dulce y de las tres bebidas, aplicando el Método Británico en placas Petrifilm y los resultados fueron comparados con los límites establecidos en las normas NTE INEN 2594:2011 para suero de leche líquido, y NTE INEN 2564:2011 para bebidas lácteas.

En el análisis microbiológico se analizó principalmente la presencia de los siguientes microorganismos:

#### ❖ **Determinación de Mohos y levaduras**

Para este ensayo se utilizó EL MÉTODO DE RECUENTO: SIEMBRA EN PLACAS PETRIFILM. Ver Anexo No.5

❖ **Determinación de microorganismos Aerobios Mesófilos**

Para este ensayo se utilizó EL MÉTODO DE RECUENTO: SIEMBRA EN PLACAS PETRIFILM. Ver Anexo No.3

❖ **Determinación de microorganismos Coliformes Totales**

Este ensayo se hizo en un medio de cultivo líquido de acuerdo a las normas NTE INEN 1529:6, 1529:8, 1529:9.

❖ **Determinación de microorganismos *Staphylococcus aureus***

Para este ensayo se utilizó EL MÉTODO DE RECUENTO: SIEMBRA EN PLACAS PETRIFILM. Ver Anexo No. 6

### 2.3.3 ANÁLISIS DEL VALOR NUTRITIVO

Sabemos que el valor nutritivo de los alimentos viene dado por la cantidad de nutrientes que aportan a nuestro organismo cuando son consumidos. Estos nutrientes pueden ser lípidos, glúcidos, proteínas, vitaminas y minerales. El valor nutritivo es diferente en cada grupo de alimentos, algunos alimentos poseen más o menos nutrientes que otros.

Los preparados aportan a la dieta un valor diario requerido VDR, para esto es necesario determinar los porcentajes de humedad, proteína, fibra, ceniza, grasa y a partir de estos determinar el extracto libre no nitrogenado; con estos datos se calculó el valor calórico a las tres bebidas lácticas (no fermentada, fermentada láctea y fermentada alcohólica) de acuerdo a lo especificado en la norma NTE INEN 1334-2:2011.

Comparar los nutrientes que proporcionan las tres bebidas con los VDR establecidos en NTE INEN 1334-2: 2011 para establecer su valor nutritivo, además se utilizó pruebas

estadísticas como ANOVA (análisis de varianza) y la prueba de tukey para establecer diferencias o semejanzas estadísticas entre las tres bebidas lácteas.

#### 2.3.4 VIDA DE ANAQUEL

Debido a que las bebidas lácteas son productos perecibles, es necesario conocer el tiempo de vida o estabilidad de las mismas, para de esta manera garantizar al consumidor un producto además de nutricional, que sea óptimo y de buena calidad.

Se preparó las tres formulaciones de bebidas a nivel de laboratorio según el porcentaje del contenido de suero y avena, posterior a su elaboración fueron envasados en envases de polietileno y sometidos a estudios de estabilidad normal durante 21 días bajo refrigeración ( $4\pm 2$  °C), con el fin de analizar los cambios físico-químicos, microbiológicos y organolépticos durante el transcurso del tiempo antes mencionado, para lo cual cada 7 días se procedía a realizar el análisis de los indicadores establecidos para cada bebida; recuento de microorganismos aerobios mesófilos y coliformes totales para la bebida normal; pH, acidez, recuento de bacterias lácticas, recuento de mohos y levaduras para la bebida fermentada láctica; pH y recuento de mohos y levaduras para la bebida fermentada alcohólica.



## CAPÍTULO III

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.2 EVALUACIÓN DE LA MATERIA PRIMA

##### 3.1.1 EVALUACIÓN DE CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DEL SUERO DE LECHE DULCE Y AVENA MOLIDA

**CUADRO No. 1 RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN SENSORIAL DEL LACTOSUERO DULCE Y AVENA MOLIDA**

<b>CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS</b>	<b>SUERO DULCE</b>	<b>AVENA MOLIDA*</b>
CONSISTENCIA	Líquido turbio	Polvo fino
COLOR	Verdoso amarillento	Blanco hueso
SABOR	Débilmente dulce	Característico
OLOR	Agradable	Característico

FUENTE: TESIS GENDA STEFANIA VEGA MONTERO  
\* Avena molida QUAKER

Los resultados obtenidos en el análisis sensorial del suero de leche (Cuadro No. 1) coinciden con lo reportado por CHÓEZ., J, (2010) donde sus características corresponden a un líquido fluido, de color verde amarillento, turbio, de sabor fresco, débilmente dulce de carácter ácido y con lo expuesto por BADUI, (1999) “Los carotenoides y la riboflavina tienen algo de influencia sobre el color de la leche y del suero, ya que los primeros le confieren tonalidades amarillas y verdes la segunda”. Mientras que LARRAÑAGA., I, (1999) resalta que “el suero es un líquido más o menos turbio que corresponde a la fracción hidrosoluble con la lactosa disuelta”.

### 3.1.2 EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DEL SUERO DE LECHE

**CUADRO No. 2 RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN DE CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DEL SUERO DULCE**

<b>PARÁMETROS</b>	<b>SUERO DULCE</b>
Temperatura	30°C
Densidad (15°C)	1025,0 kg/m <sup>3</sup>
pH	5,6
Acidez	11°D
Humedad	93,5%
Proteínas	0,93%
Grasa	0,80 %
Carbohidratos	4,15%
Ceniza	0,62%

FUENTE: Laboratorio Control de Calidad – Quesera “El Salinerito”

En el Cuadro No. 2 se presentan los resultados de los análisis físico-químicos realizados al suero dulce en la elaboración de las bebidas lácteas.

El pH obtenido (5,6) permite clasificar al lactosuero utilizado como dulce, por provenir de la coagulación enzimática, por uso de enzima coagulante. LARRAÑAGA., I., (1999) señala que el sabor del suero es muy dulce, ya que carece de caseína, y la lactosa es el componente mayoritario, pues supone desde un 70% a un 75%; el valor de proteína fue de 0,93%, considerándose similar al reportado en la NTE INEN 2594:2011. Este es el componente de mayor importancia para la elaboración de las bebidas ya que contiene  $\alpha$ -lactoalbúmina y  $\beta$ -lactoglobulina. El contenido de grasa fue 0,80% p/v, que luego del descremado se redujo a 0.30%. No obstante es importante indicar que un contenido graso alto en el lactosuero conduce al desarrollo de olores y sabores desagradables, sobre todo

cuando se encuentran en sistemas ácidos porque los triglicéridos sufren hidrólisis, liberando algunos radicales que conducen a defectos por rancidez, BADUI, (1999). Los sólidos totales 6,5% se encuentran dentro de los valores normales de este subproducto, a mayor cantidad de sólidos totales, mayor será el rendimiento de producción. BADUI (2006).

### 3.1.2 EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DEL SUERO DE LECHE

Con el fin de alcanzar la calidad e inocuidad del producto y detectar otros microorganismos que podrían ser causantes de alteraciones microbianas (enfermedades) se efectuaron análisis microbiológicos para revelar la presencia de estos, antes de partir con la elaboración de las bebidas lácteas; los resultados se muestran en el Cuadro No. 3.

**CUADRO No. 3 RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL SUERO DULCE PASTEURIZADO**

<b>PARÁMETROS</b>	<b>SUERO DULCE</b>	<b>ÍNDICES MÁXIMOS PERMISIBLES NTE INEN 2594:2011</b>
Aerobios mesófilos UFC/mL	$1 \times 10^4$	30000
Coliformes fecales y <i>E.coli</i> NMP/mL	6	< 10
<i>Staphylococcus aureus</i> UFC/mL	< 1	< 100

FUENTE: TESIS GENDA STEFANIA VEGA MONTERO

En el Cuadro No. 3 se presentan los resultados del análisis microbiológico para el suero dulce; como se puede observar estos se encuentran dentro de los límites establecidos datos que reflejan que la planta de lácteos “El Salinerito” a modernizado su infraestructura, tecnificado los procesos y aplica normas de higiene que garantizan la inocuidad de los derivados lácteos y los subproductos como el suero.

En cuanto a la avena es un producto que para su comercialización a cumplido con todo lo estipulado en el Reglamento de Registro y Control Sanitario de los Alimentos en lo que respecta al Registro Sanitario.

## 3.2 FORMULACIÓN Y CONDICIONES PARA LA ELABORACIÓN DE BEBIDAS LÁCTEAS

### 3.2.1 FORMULACIONES DE LAS BEBIDAS LÁCTEAS

Para obtener un producto con características deseadas, se realizó 3 tres formulaciones, en las que se empleó diferentes proporciones de suero dulce y avena molida, de manera que las bebidas que se desarrollen cumplan con especificaciones según las normas empleadas (NTE INEN 2564:2011 Bebidas lácteas a base de suero de leche, CODEX STAN 243-2003 Leches fermentadas). Cuadros No. 4,5 y 6.

**CUADRO No. 4 FÓRMULA PATRÓN PARA LA ELABORACIÓN DE LA BEBIDA LÁCTEA NO FERMENTADA, EMPLEANDO EL 70% DE SUERO DE LECHE DULCE Y EL 30% DE AVENA MOLIDA**

<b>Materia prima e Ingredientes</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>Avena Quaker molida</b>	40g	2,7%
<b>Azúcar</b>	105g	7%
<b>Esencia de vainilla</b>	0,30g	0,02%
<b>Canela</b>	0,90g	0,06%
<b>Sorbato de Potasio</b>	0,75g	0,05%
<b>Gelatina sin sabor</b>	3g	0,20%
<b>Suero dulce</b>	1050mL	70%
<b>Leche entera pasteurizada</b>	450mL	30%

FUENTE: TESISISTA GENDA STEFANIA VEGA MONTERO

En el Cuadro No. 4 se puede apreciar las cantidades que se utilizaron en la elaboración de la bebida láctea no fermentada, las mismas que están expuestas en base a lo establecido en la norma para Bebidas lácteas con suero de leche (NTE INEN 2564:2011), donde el ingrediente principal es el lactosuero representando el 70% del total de ingredientes del producto. Las proporciones de materia prima e ingredientes se hicieron para 1500mL de bebida. La leche entera pasteurizada homogenizada en unión con la avena forman el 40% de la formulación en la bebida, contribuyendo adicionalmente con los nutrientes

contenidos en la leche. Además se usó la norma para Aditivos Alimentarios (NTE INEN 2074) donde se establece los límites máximos permitidos de las sustancias añadidas como conservantes (sorbato de potasio 1000 mg/ kg), espesante ó estabilizantes (gelatina sin sabor) y saborizantes o aromatizantes (esencia de vainilla).

**CUADRO No. 5 FÓRMULA PATRÓN PARA LA ELABORACIÓN DE LA BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA CON *Streptococcus thermophilus* Y *Lactobacillus delbrueckii subsp.bulgaricus*, EMPLEANDO EL 70% DE SUERO DE LECHE DULCE Y EL 30% DE AVENA MOLIDA**

<b>Materia prima e Ingredientes</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>Avena Quaker molida</b>	30g	2,0%
<b>Azúcar</b>	105g	7%
<b>Esencia de vainilla</b>	0,30g	0,02%
<b>Canela</b>	0,90g	0,06%
<b>Gelatina sin sabor</b>	2g	0,13%
<b>Fermento láctico YO-MIX™ 300 LYO 10 DCU</b>	0,044g	0,003%
<b>Suero dulce</b>	1050mL	70%
<b>Leche entera pasteurizada</b>	450mL	30%

FUENTE: TESIS GENDA STEFANIA VEGA MONTERO

En el Cuadro No. 5 se puede apreciar las cantidades que se emplearon en la elaboración de la bebida láctea fermentada, las mismas que están expuestas en base a lo establecido en la norma para Bebidas lácteas con suero de leche (NTE INEN 2564:2011), donde el ingrediente principal es el suero representando el 70% del total de ingredientes del producto. Este estudio se orientó al desarrollo de una bebida fermentada con características similares a un yogur tradicional sustituyendo la adición de leche por lactosuero dulce. La cantidad de avena molida y gelatina sin sabor es menor en comparación con las demás formulaciones, debido a que el fermento láctico hace que la bebida sea más espesa.

Según la Norma CODEX STAN 243-2003 para Leches fermentadas, es permitido el uso de emulsionantes, estabilizantes, espesantes y conservantes; pero en este caso la bebida no contiene conservante alguno por consiguiente la presencia del ácido láctico producido durante la fermentación láctica, es responsable del sabor ácido, y de mejorar la estabilidad y seguridad microbiológica del alimento. FRAZIER, W.C Y WESTHOFF, D.C, (1978) resaltan que para la formación de un cantidad adecuada de ácido láctico se necesita la presencia de *Lactobacillus bulgaricus* y que la producción de aroma depende de los gérmenes lácticos heterofermentativos.

**CUADRO No. 6 FÓRMULA PATRÓN PARA LA ELABORACIÓN DE LA BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA CON LEVADURA ACTIVA SECA *Sacharomyces cerevisiae*, EMPLEANDO EL 60% DE SUERO DE LECHE DULCE Y EL 40% DE AVENA MOLIDA**

<b>Materia prima e Ingredientes</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>Avena Quaker molida</b>	40g	2,7%
<b>Azúcar</b>	105g	7%
<b>Esencia de vainilla</b>	0,30g	0,02%
<b>Canela</b>	0,90g	0,06%
<b>Gelatina sin sabor</b>	3g	0,20%
<b>Sorbato de Potasio</b>	0,75g	0,05%
<b>Levadura activa seca</b>	0,053 g	0,0035%
<b>Suero dulce</b>	900mL	60%
<b>Agua</b>	600mL	40%

FUENTE: TESIS GENDA STEFANIA VEGA MONTERO

En el Cuadro No. 6 se puede apreciar las cantidades que se emplearon en la elaboración de la bebida láctea fermentada, las mismas que están expuestas en base a lo establecido en la norma para Bebidas lácteas con suero de leche (NTE INEN 2564:2011), donde el ingrediente principal es el suero representando el 60% del total de ingredientes del producto. A diferencia de las dos formulaciones aquí se utilizó agua el mismo que en conjunto con la avena formará el 40% de dicha formulación. La concentración adecuada

de levadura activa seca se efectuó en el pre ensayo a escala de laboratorio, donde se realizó varias formulaciones, siendo la mas adecuada 0,0089 g en 500 mL, haciendo una relación para 1500 mL se utilizó 0,053 g de levadura.

### 3.2.2 CONDICIONES DE ELABORACIÓN

**CUADRO No. 7 CONDICIONES ESTABLECIDAS PARA LA PASTEURIZACIÓN DEL SUERO DE LECHE DULCE**

<b>PARÁMETROS</b>	<b>PASTEURIZACIÓN DEL SUERO DULCE</b>
Temperatura	75 °C
Tiempo	10 min
Indicador de eficacia	No precipitación de las proteínas séricas

FUENTE: TESISTA GENDA STEFANIA VEGA MONTERO

El Cuadro No. 7 reporta los parámetros utilizados en la pasteurización del suero de leche, este proceso se llevó a cabo a nivel de laboratorio en una marmita a 75°C durante 10 min, esta temperatura resultó ser la más eficaz luego de realizar ensayos a diferentes temperaturas y tiempos (72°C x 15 min, 75°C x 5 min, 80°C x 10 min, 85°C x 10 seg) y utilizando el indicador de eficacia la precipitación de las proteínas séricas. Además el suero utilizado proviene de leche pasteurizada utilizada para la elaboración de queso, sin embargo, pueden existir microorganismos en la leche y por ende en el suero como subproducto debido a que en el proceso de pasteurización aplicado es a baja temperatura a largo tiempo (68°C por 15 min) que no garantiza la destrucción de microorganismos patógenos.

**CUADRO No. 8 CONDICIONES FÍSICO-QUÍMICAS ESTABLECIDAS PARA LA ELABORACIÓN DE LAS BEBIDAS FERMENTADAS CON *Streptococcus thermophilus*- *Lactobacillus delbrueckii subsp.bulgaricus* Y *Sacharomyces cerevisiae***

PARÁMETROS	BEBIDA LÁCTICA	BEBIDA ALCOHÓLICA
Temperatura de Incubación	42 °C	32 °C
Tiempo de Incubación	6 horas	18 horas
pH inicial	6,26 a 20,1 °C	7,04 a 20,1 °C
pH final	4,26 a 20,1 °C	5,18 a 20,1 °C
°Brix inicial	--	3
°Brix final	18	1,4
Concentración de cultivo	0,044 g de fermento	0,053 g de levadura

FUENTE: TESISTA GENDA STEFANIA VEGA MONTERO

El Cuadro No. 8 se muestra las condiciones establecidas para la elaboración de las bebidas. Así las condiciones para las bebidas fermentadas dependen del microorganismo o cultivo láctico a utilizar, ya que los parámetros de incubación, temperatura, pH, son diferentes en cada uno de estos. El sustrato (azúcar) usado en la fermentación alcohólica fue 1g siendo este bajo, por tanto los °Brix o sólidos solubles también serán bajos, no siendo así en la bebida láctica. El valor del °Brix aumenta conforme el porcentaje de suero de leche que contenga la bebida sea mayor, esto se debe a que el suero como tal tiene un grado de dulzor, lo que provoca que mientras más cantidad de suero se le agregue a la bebida, mayor serán los °Brix.

En este contexto MORALES (1992) fija un límite de pH, como factor determinante para el suero previo a la adición por sustitución en la fabricación de yogures desnatados, no inferior a 6,0-6,5 con el fin de evitar la coagulación espontánea. Como se había mencionado antes, la temperatura y el tiempo de incubación son variables críticas en la elaboración de bebidas fermentadas. FRAZIER, W.C Y WESTHOFF, D.C, (1978) señalan que al inocular y manipular los cultivos se debe tener presente la temperatura y duración del periodo de incubación, que serán los más idóneos para la población heterogénea. De forma que se evite el predominio de una cepa o especie determinada sobre las demás.



MADIGAN, M.T, (2004) asume que en la mayoría de los casos, no sólo es necesario medir el crecimiento del cultivo y la formación del producto, sino también controlar el proceso modificando los parámetros ambientales a medida que tiene lugar dicho proceso. Los factores ambientales que se controlan con mayor frecuencia son la temperatura, la concentración de oxígeno, el pH, la masa celular y la concentración del producto.

### 3.3 ANÁLISIS SENSORIAL A TRAVÉS DE PRUEBAS DE DEGUSTACIÓN

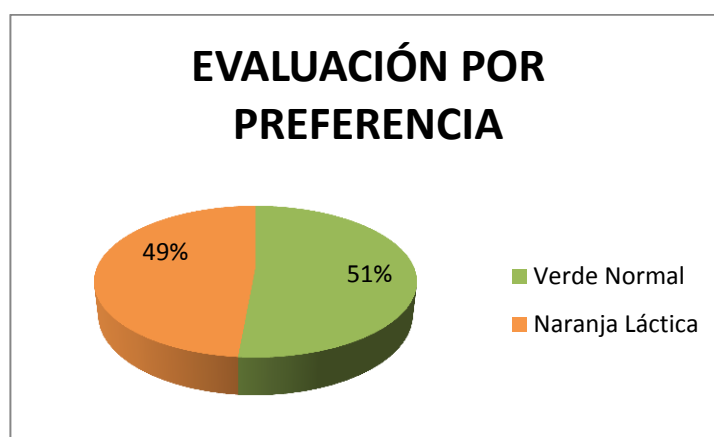
En las pruebas de degustación de las bebidas a base de suero de leche y avena, se emplearon muestras independientes e identificadas por colores (verde, naranja y rosada), a estudiantes del cuarto nivel de la Escuela de Biotecnología Ambiental de la ESPOCH y a los niños del segundo año de educación básica de la Escuela Dr. Leonidas García de la Ciudad de Riobamba, con la diferencia que para los niños no se emplea la muestra de color rosada (bebida alcohólica).

#### 3.1.1 ACEPTABILIDAD DE LAS BEBIDAS A BASE DE SUERO DE LECHE Y AVENA

**ENCUESTA A NIÑOS:** En la Tabla No. 11 se analiza la aceptabilidad de las bebidas

**TABLA No. 11 ANÁLISIS DE ENCUESTAS. PRIMERA PREGUNTA ¿CUÁL PRODUCTO PREFIERE?**

<b>MUESTRA POR COLORES</b>	<b>TIPO DE BEBIDA</b>	<b>TOTAL</b>	<b>%</b>
Verde	Normal	18	51
Naranja	Láctica	17	49
<b>TOTAL DE ENCUESTADOS</b>		<b>35</b>	<b>100</b>



**GRÁFICO No. 1 EVALUACIÓN POR PREFERENCIA DE LAS BEBIDAS LÁCTEAS CON ETIQUETAS VERDE (Normal) Y NARANJA (Láctica)**

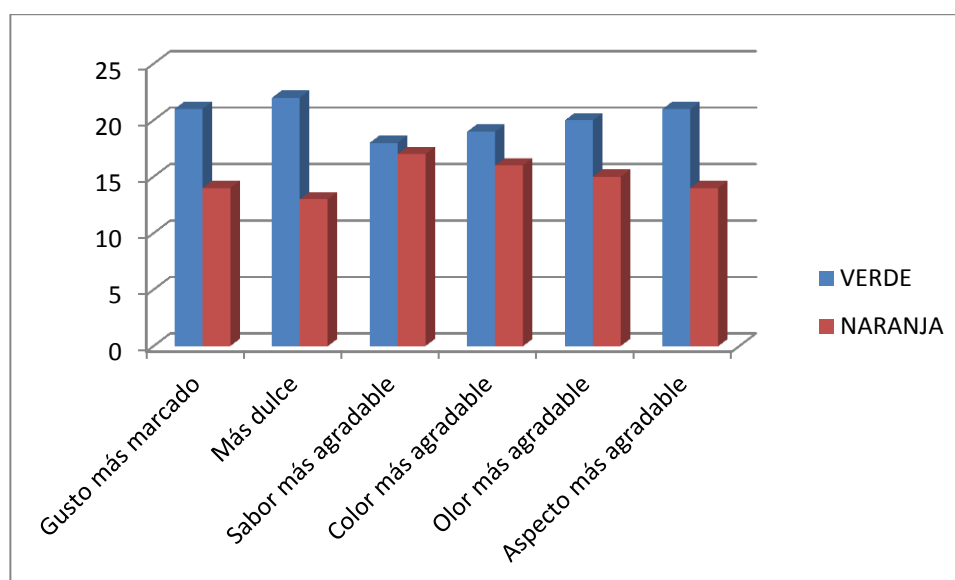
Como se puede observar en el Gráfico No. 1 la bebida de mayor aceptabilidad es la de color verde (70% de suero de leche, 30% de avena y otros como azúcar, leche descremada, gelatina sin sabor, canela, vainilla y Sorbato de potasio); que alcanzó un 51% de preferencia y la bebida con etiqueta de color naranja presenta el 49% de aceptabilidad.

En efecto a los niños les gusta tanto el sabor dulce como el ácido, y la bebida sin fermentar tiene sabor dulce, que es el más atractivo para este grupo etario y que se refleja en la industria alimenticia que elabora un alto porcentaje de productos con este sabor como: mermeladas, jugos, néctares, caramelos, confites, etc.; y la bebida fermentada láctica es ácida que también es apetecida por los niños y que se refleja en la predilección que tienen por consumir frutos verdes (grosellas, mangos) combinados con sal.

En la Tabla No. 12 se analiza por qué los niños prefieren las bebidas de color verde y naranja, contestando las variables de aceptabilidad que se propuso para el producto.

**TABLA No. 12 ANÁLISIS DE ENCUESTAS. SEGUNDA PREGUNTA ¿POR QUÉ LO PREFIERE?**

VARIABLES	VERDE	NARANJA	% VERDE	% NARANJA
Gusto más marcado	21	14	60	40
Más dulce	22	13	63	37
Sabor más agradable	18	17	51	49
Color más agradable	19	16	54	46
Olor más agradable	20	15	57	43
Aspecto más agradable	21	14	60	40



**GRÁFICO No. 2 EVALUACIÓN DE LAS VARIABLES DE ACEPTABILIDAD PARA LA BEBIDA DE COLOR VERDE Y LA BEBIDA DE COLOR NARANJA**

Como se puede observar en el Gráfico No. 2, las variables (atributos de calidad) que se plantearon para este análisis tienen diferente puntaje, la bebida de color verde tiene mayor valoración que la naranja, esto confirma por qué la bebida de color verde tuvo mayor aceptabilidad.

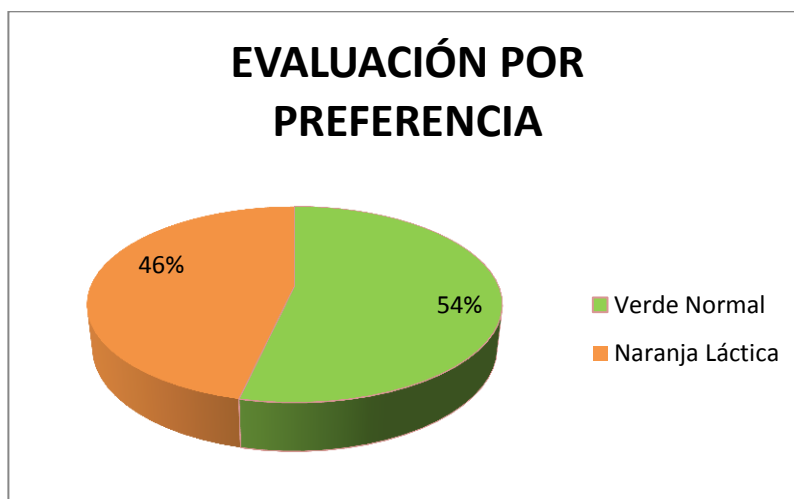
La diferencia de aceptabilidad de las bebidas no se debe a la cantidad de lactosuero ni avena, ya que ambas tienen las mismas proporciones; lo que sí influye es el tratamiento

aplicado a una de ellas, la fermentación láctica con los microorganismos (*Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii subsp.bulgaricus*) que le dan el sabor, aroma, y consistencia característico.

### ENCUESTA A ADULTOS:

**TABLA No.13 ANÁLISIS DE ENCUESTAS. PRIMERA PREGUNTA: SÍRVASE DEGUSTAR LAS MUESTRAS QUE SE PRESENTAN, CADA UNA IDENTIFICADA POR COLORES, VERDE, NARANJA, Y ROSADA; Y ORDÉNELAS SEGÚN SU PREFERENCIA, COLOCANDO EN EL PRIMER LUGAR LA(AS) MUESTRA(AS) QUE MÁS LE AGRADE, Y EN EL ÚLTIMO, LA(AS) MUESTRA(AS) QUE MENOS LE AGRADE**

MUESTRA POR COLORES	TIPO DE BEBIDA	TOTAL	%
Verde	Normal	15	54
Naranja	Láctica	13	46
Rosada	Alcohólica	0	00
<b>TOTAL DE ENCUESTADOS</b>		<b>28</b>	<b>100</b>



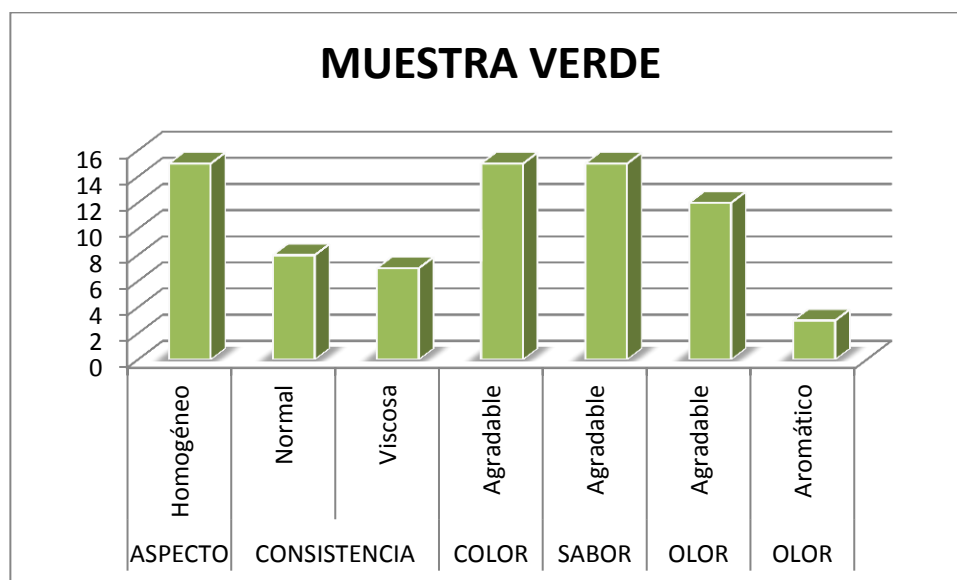
**GRÁFICO No. 3 EVALUACIÓN DE LAS MUESTRAS SEGÚN LA PREFERENCIA POR LOS ADULTOS**

En la Tabla No. 13 y Gráfico No. 3 se establece que la bebida preferida por los estudiantes del cuarto nivel de la Escuela de Biotecnología ambiental de la ESPOCH es la de color verde (70% de suero de leche, 30% de avena y otros como azúcar, leche

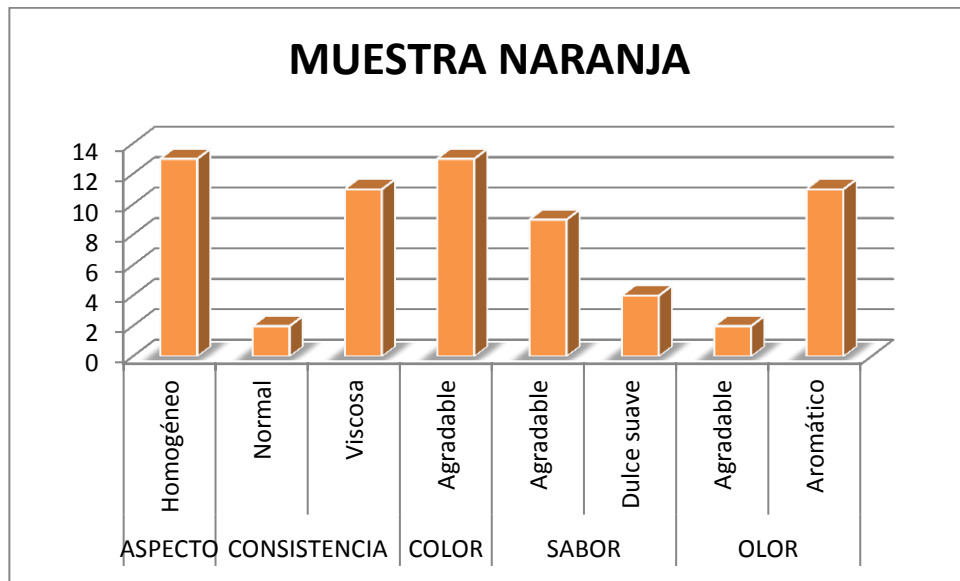
descremada, gelatina sin sabor, canela, vainilla y sorbato de potasio) correspondiente a la bebida láctea sin fermentar coincidiendo con los mismos resultados obtenidos con los niños.

**TABLA No. 14 ANÁLISIS DE ENCUESTAS. SEGUNDA PREGUNTA: LA(AS) MUESTRAS QUE FUERON DE SU PREFERENCIA EVALÚELA SEGÚN SUS ATRIBUTOS DE CALIDAD**

ATRIBUTOS DE CALIDAD	INDICADORES	MUESTRA VERDE	MUESTRA NARANJA
ASPECTO	Homogéneo	15	13
CONSISTENCIA	Normal	8	2
	Viscosa	7	11
COLOR	Agradable	15	13
SABOR	Agradable	15	9
	Dulce suave	0	4
OLOR	Agradable	12	2
	Aromático	3	11



**GRÁFICO No. 4 EVALUACIÓN DE LA MUESTRA DE COLOR VERDE POR ATRIBUTOS DE CALIDAD**



**GRÁFICO No. 5 EVALUACIÓN DE LA MUESTRA COLOR NARANJA POR ATRIBUTOS DE CALIDAD**

En la Tabla No. 14 y Gráficos No. 4 y 5 se destaca la evaluación de los atributos de calidad (aspecto, consistencia, color, sabor, olor) para la muestra de color verde y la muestra de color naranja, según valoración los indicadores escogidos en mayor porcentaje para la bebida normal o no fermentada fueron: aspecto homogéneo, consistencia viscosa, color agradable, sabor agradable y olor agradable, mientras que para la bebida fermentada láctica los indicadores fueron aspecto homogéneo, consistencia viscosa, color agradable, sabor agradable y olor aromático, englobando de esta manera las características propias del producto. De acuerdo a dichos atributos de calidad mencionados la bebida normal (no fermentada) presenta un mayor porcentaje o nivel en comparación con la bebida láctica (fermentada).

### 3.4 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS DE LAS BEBIDAS LÁCTEAS CON MAYOR ACEPTABILIDAD

TABLA No. 15 RESULTADOS DE LA CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE LAS BEBIDAS CON MAYOR ACEPTABILIDAD

PARÁMETROS	BEBIDA SIN FERMENTAR	REQUISITOS NTE INEN 2564:2011	BEBIDA FERMENTADA CON <i>S. thermophilus</i> y <i>L. bulgaricus</i> .	REQUISITOS NTE INEN 2395:2011
<b>FÍSICO-QUÍMICOS /100mL de bebida</b>				
Humedad	84,33%		84,79%	
Grasa (láctea)	1,51%	Max 3,0%	1,25%	Min 2,5%
Ceniza	0,55%		0,54%	
Fibra	0,20%		0,12%	
Proteína (láctea)*	2,55%	Min 1,6%	3,47%	Min 2,7%
Azúcares reductores*	0,56%		0,25%	
Azúcares totales*	9,14%		8,54%	
<b>MICROBIOLÓGICOS*</b>				
Aerobios mesófilos UFC/mL	2x10 <sup>3</sup>	30 000	---	10
Coliformes totales NMP/mL	<1	<1	<1	<1
Coliformes fecales y <i>E.coli</i> NMP/mL	<1	<1	<1	<1
Mohos y levaduras UPC/mL	---		1x10 <sup>2</sup>	200

Parámetros físico químicos obtenidos CESTTA.

\* Laboratorio de alimentos y de microbiología de la Facultad de Ciencias.

De acuerdo a los resultados que se establecen en la Tabla No. 15 de cada una de las bebidas se tiene que:

Como son bebidas, el porcentaje de humedad es alta para cada una de estas, la cantidad de sólidos aumenta de acuerdo a la cantidad de suero que contenga la bebida, esto se debe a que el suero contiene sólidos y mientras mayor sea el porcentaje empleado en la bebida, mayor será la cantidad de sólidos y por ende la densidad de la bebida aumenta ya que este se relaciona con la cantidad de sólidos que contenga la bebida.

La bebida fermentada posee un alto contenido de proteína (3,47%) en comparación con la bebida no fermentada (2,55%), lo cual indica que la bebida fermentada es más nutritiva. La norma NTE INEN 2564:2011 para bebidas lácteas, establece como valor máximo de materia grasa lácteas 3% y como valor mínimo de proteína láctea 1,6%; lo cual en la Tabla No. 15 se observan los % obtenidos de estos parámetros los mismos que se encuentran dentro de los límites establecidos como máximos y mínimos. TAMINE Y ROBINSON, 1991 señalan que la presencia de los microorganismos ácido lácticos cuya población se incrementó durante la etapa de incubación, puede ser considerada como una fuente importante de grasa y proteína en la bebida. La concentración de compuestos nitrogenados solubles liberados por el *L. bulgaricus* es de unos 90 mg/L y el *S. thermophilus* es de 320 mg/L durante el proceso de fermentación; esta afirmación se acopla con los resultados de proteína obtenidos para la bebida láctea fermentada siendo este (3,47%).

Los azúcares presentes guardan relación lógica con los valores de sólidos solubles. Los azúcares reductores calculados en la bebida están representados por el contenido de azúcar invertido adicionado en las formulaciones, lactosa no fermentada, glucosa producto de la hidrólisis de otros azúcares. STREER, (1991) resalta que es posible la hidrólisis enzimática ya que algunas levaduras y numerosas bacterias poseen una lactasa que pueden provocarla. La evolución más frecuente, y a la vez, más importante, es su transformación en ácido láctico, llevada a cabo por las bacterias lácticas. Los % de azúcares reductores difieren para las dos bebidas, teniéndose así un menor porcentaje



para la bebida láctea (0,25%) en consecuencia de haber sufrido una fermentación por acción de los microorganismos añadidos, en este proceso la lactosa (azúcar reductor existente en el suero en mayor concentración) se ha convertido en ácido láctico, resultados que coinciden con lo anunciado por LARRAÑAGA., I., (1999) “la lactosa es un muy sensible a la acción microbiana; numerosas bacterias la transforman. Las bacterias lácticas pueden atacarla, provocando la hidrólisis en sus dos monosacáridos constituyentes; las hexosas liberadas se convierten en ácido láctico, de manera que esta reacción es de enorme interés para producir ciertos derivados lácteos” (bebida fermentada).

El análisis microbiológico de los alimentos no tiene carácter preventivo, sino que es una inspección que permite valorar la carga microbiana, para establecer si el alimento es o no apto para el consumo, tomando en cuenta lo manifestado se realizó el análisis microbiológico de las bebidas elaboradas, encontrándose microorganismos (Aerobios mesófilos, coliformes totales, coliformes fecales y *E. coli*, mohos y levaduras) dentro de los límites permisibles establecidos en la normas técnicas NTE INEN 2564:2011 para bebidas lácteas y NTE INEN 2395:2011 para leches fermentadas.

### **3.5 ANÁLISIS DEL VALOR NUTRITIVO ENTRE LAS TRES BEBIDAS LÁCTEAS**

Mediante los porcentajes de humedad, fibra, ceniza, grasa obtenidos en el Laboratorio CESTTA (Anexos No. 7, 8 y 9) y porcentaje de proteína obtenido por la tesista en el Laboratorio de Alimentos de la Facultad de Ciencias se determinó el % de extracto libre no nitrogenado, a las tres bebidas lácteas (no fermentada, fermentada láctica y fermentada alcohólica) de acuerdo a lo especificado en la norma.

Analizando dichos parámetros se determinó que la bebida fermentada con fermentos lácticos posee gran % de proteína superando a las demás bebidas esto hace que la bebida tenga un buen aporte nutricional, la misma que aporta un valor calórico de 616 KJ (147 Kcal), en sí esta bebida viene a ser un producto con características funcionales.

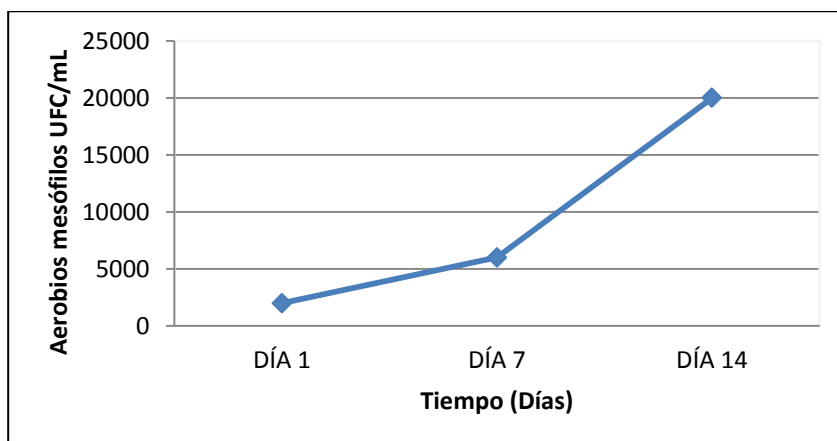
### 3.6 VIDA DE ANAQUEL

Se determinó la estabilidad de las bebidas elaboradas a base de suero de leche dulce y avena, mediante análisis físico-químicos, organolépticos y microbiológicos.

**TABLA No. 16 VIDA DE ANAQUEL DE LA BEBIDA LÁCTEA SIN FERMENTAR**

DÍAS	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO		
	Aerobios mesófilos	Coliformes totales	Observaciones
DÍA 1	$2 \times 10^3$	<1	Apariencia y sabor normal
DÍA 7	$6 \times 10^3$	<1	Apariencia y sabor normal
DÍA 14	$2 \times 10^4$	<1	Apariencia y sabor normal
DÍA 21	-	-	Separación de fases y olor desagradable (agrio) extraño

FUENTE: TESIS GENDA STEFANIA VEGA MONTERO



**GRÁFICO No. 6 COMPORTAMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS AEROBIOS MESÓFILOS EN EL TIEMPO DE VIDA ÚTIL DE LA BEBIDA NO FERMENTADA A PARTIR DE SUERO DULCE Y AVENA MOLIDA**

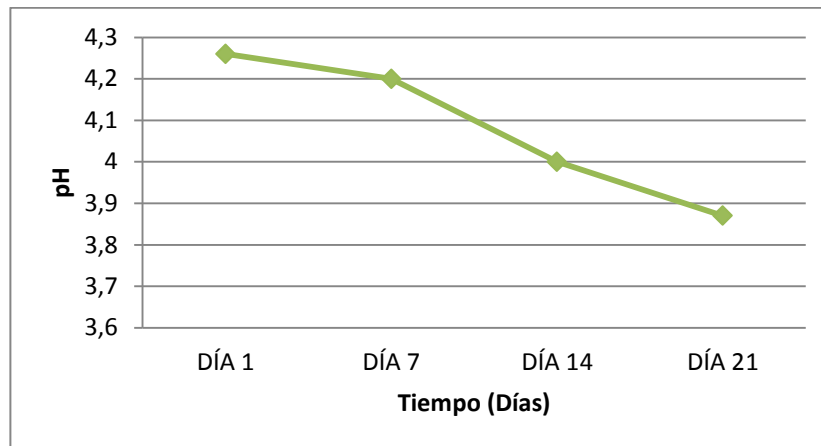
La Tabla No. 16 muestra los resultados de las evaluaciones realizadas cada 7 días a la bebida láctea sin fermentar donde los parámetros a evaluar en el estudio de estabilidad fue el recuento de Aerobios mesófilos y Coliformes totales, aparte de esto se utilizó un análisis organoléptico.

En el Gráfico No. 6 se observa como asciende el crecimiento de los microorganismos Aerobios mesófilos a medida que pasan los días; los valores encontrados tanto de Aerobios mesófilos y Coliformes totales se encuentran dentro los valores de referencia establecidos en la norma para bebidas lácteas NTE INEN 2564:2011.

**TABLA No. 17 VIDA DE ANAQUEL DE LA BEBIDA FERMENTADA CON *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii subsp.bulgaricus***

DÍAS	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO				Observaciones
	pH	Acidez	Bacterias ácido lácticas	Mohos y levaduras	
DÍA 1	4,36	0,61	$5 \times 10^8$	$1 \times 10^2$	Apariencia y sabor normal
DÍA 7	4,20	0,72	$6 \times 10^8$	$1 \times 10^2$	Apariencia y sabor normal
DÍA 14	4,00	0,94	$8 \times 10^8$	$1 \times 10^2$	Apariencia y sabor normal
DÍA 21	3,87	1,28	$9 \times 10^8$	$2 \times 10^2$	Apariencia y sabor levemente ácido

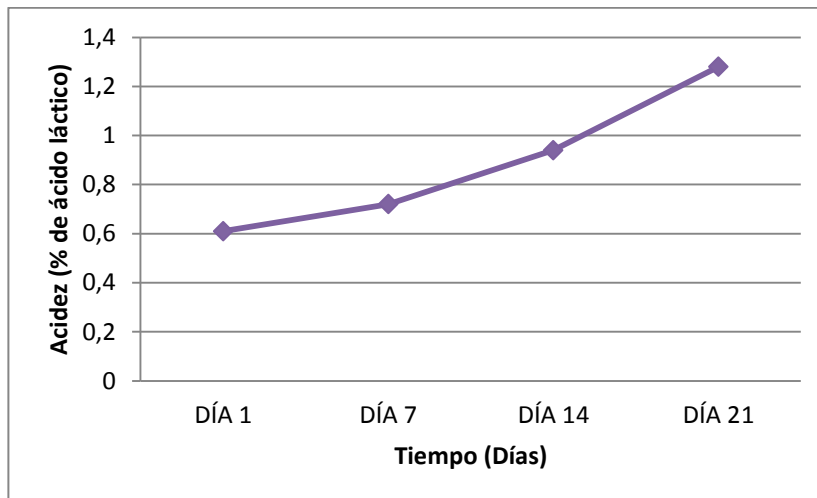
FUENTE: TESISTA GENDA STEFANIA VEGA MONTERO



**GRÁFICO No. 7 COMPORTAMIENTO DEL pH EN EL TIEMPO DE VIDA ÚTIL DE LA BEBIDA FERMENTADA CON *Streptococcus thermophilus* Y *Lactobacillus delbrueckii subsp.bulgaricus* A PARTIR DE SUERO DULCE Y AVENA MOLIDA**

En la Tabla No. 17 y Gráfica No. 7 se ilustran los valores de pH encontrados a través del tiempo en la bebida fermentada láctica, en la ecuación se aprecia una pendiente decreciente que indica la caída del pH en la medida que avanza el tiempo, partiendo de un pH de 4,26 hasta bajar a 3,87. Estos niveles de pH se ajustan aun en el rango establecido para yogures tradicionales (3,2- 4,6). TAMINE Y ROBINSON, (1991).

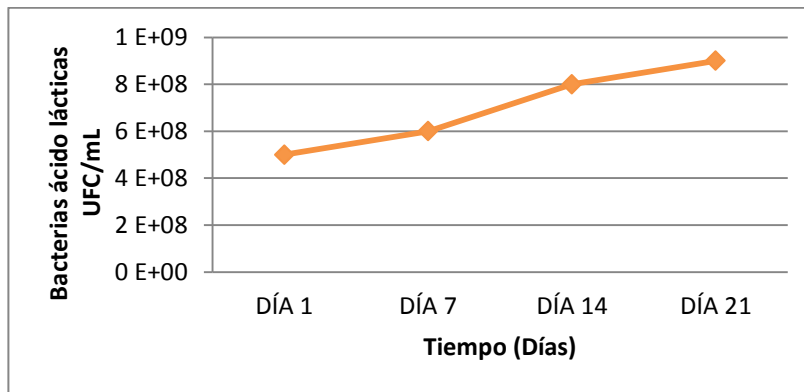
En la bebida con fermentación láctica se destaca una diferencia ligeramente inferior en el componente espeso. Aún con el paso del tiempo no se detectaron casos en que se desarrollaran defectos por olores y sabores extraños, la bebida no presentó problemas por segregación de líquidos y como se esquematiza (Tabla No. 17) se mantuvo en el tiempo la uniformidad de la fase, es decir en la bebida no se percibió granulosidad, pegajosidad al tacto.



**GRÁFICO No. 8** COMPORTAMIENTO DE LA ACIDEZ EN EL TIEMPO DE VIDA ÚTIL DE LA BEBIDA FERMENTADA CON *Streptococcus thermophilus* Y *Lactobacillus delbrueckii subsp.bulgaricus* A PARTIR DE SUERO DULCE Y AVENA MOLIDA

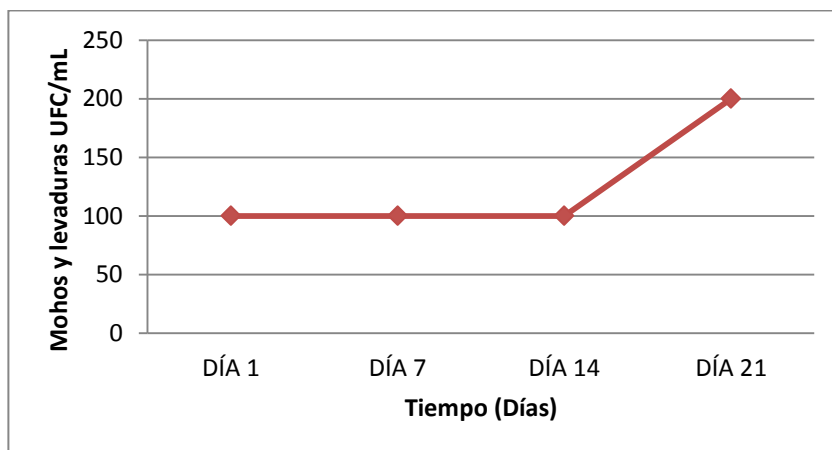
El comportamiento que asume esta variable en el tiempo se presenta en forma inversa al anterior. La pendiente de la curva indica un aumento de la acidez en el tiempo, siendo el rango de crecimiento de la acidez superior a descenso del pH.

En la Gráfica No. 8 se observa el incremento de la acidez de 0,61% hasta 1,28% de ácido láctico. El valor mínimo establecido para bebidas fermentadas como el yogurt es de 0,6% de ácido láctico (CODEX STAN 243-2003). Así mismo, encajan con los valores obtenidos por SEPÚLVEDA, J. FLÓREZ, L. Y PEÑA, CL. 2002, en una bebida fermentada a partir de lactosuero de queso fresco tratada con CMC 28FG donde el incremento de la acidez va de 0,66% hasta 1,8% de ácido láctico. Esto indica un término en la vida útil del producto. La gran mayoría de bebidas lácteas fermentadas comerciales ofrecen sólo 25-30 días de período de vida útil, la fecha de vencimiento se otorga días antes de producirse cambios drásticos en las características bioquímicas de los productos.



**GRÁFICO No. 9 COMPORTAMIENTO DE LAS BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS EN EL TIEMPO DE VIDA ÚTIL DE LA BEBIDA FERMENTADA CON *Streptococcus thermophilus* Y *Lactobacillus delbrueckii subsp.bulgaricus*. A PARTIR DE SUERO DULCE Y AVENA MOLIDA**

En la Gráfica No. 9 se aprecian los resultados de viabilidad, que se refieren al número de microorganismos presentes y vivos en la bebida, durante los diferentes días. Se mantiene la población de bacterias lácticas de  $5 \times 10^8$ -  $9 \times 10^8$ , durante los 21 días de almacenamiento. Según norma para leches fermentadas (NTE INEN 2395:2011) el yogurt deben contener  $10^7$  bacterias por mililitro como mínimo, valor que es levemente inferior al encontrado en este trabajo. El producto muestra cualidades probióticas debido a que la proporción de microorganismos es mayor a  $1 \times 10^7$  UFC/mL.



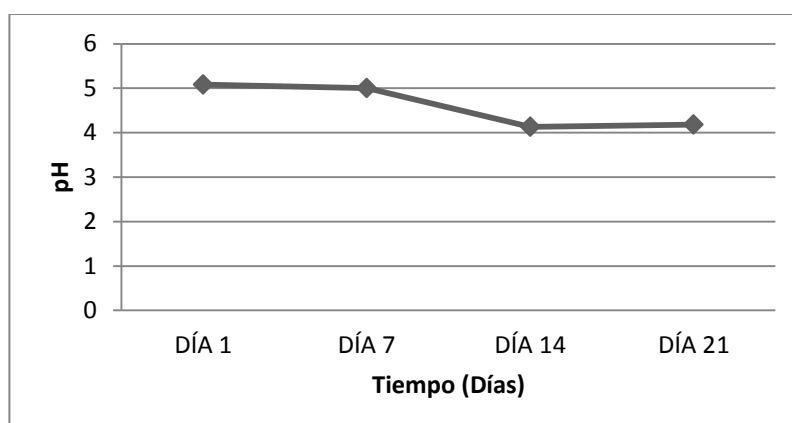
**GRÁFICO No. 10 COMPORTAMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS MOHOS Y LEVADURAS EN EL TIEMPO DE VIDA ÚTIL DE LA BEBIDA FERMENTADA CON *Streptococcus thermophilus* Y *Lactobacillus delbrueckii subsp.bulgaricus* A PARTIR DE SUERO DULCE Y AVENA MOLIDA**

En la Gráfica No. 10 se observa el comportamiento de los microorganismos Mohos y levaduras presentes en la bebida fermentada, estas permanecen en  $1 \times 10^2$  UFC/mL hasta los 14 días mientras que a los 21 días ascienden a  $2 \times 10^2$  UFC/mL. Los valores mínimos permisibles es de 200 y como máximo 500 UFC/mL; los resultados de dicho estudio coinciden y se encuentran dentro de estos límites propuestos por la norma para leches fermentadas (NTE INEN 2395:2011).

**TABLA No. 18 VIDA DE ANAQUEL DE LA BEBIDA FERMENTADA CON *Sacharomyces cerevisiae***

DÍAS	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO		
	pH	Mohos y levaduras	Observaciones
DÍA 1	5,08	Ausencia	Apariencia y sabor normal
DÍA 7	5,00	Ausencia	Apariencia y sabor normal
DÍA 14	4,13	Ausencia	Apariencia y sabor normal
DÍA 21	4,18	$1 \times 10^2$	Más alcohólica

FUENTE: TESIS GENDA STEFANIA VEGA MONTERO



**GRÁFICO No. 11 COMPORTAMIENTO DEL pH EN EL TIEMPO DE VIDA ÚTIL DE LA BEBIDA FERMENTADA CON *Sacharomyces cerevisiae* A PARTIR DE SUERO DULCE Y AVENA MOLIDA**

En la Gráfica No. 11 se muestra como el pH va descendiendo a medida que pasan los días, empezando desde 5,08 hasta 4,18. Además en la Tabla No. 18 se establecen los resultados de Mohos y levaduras las cuales se encuentran ausentes hasta el día 14, las propiedades organolépticas del producto no cambian a excepción del sabor.

En sí luego de haber realizado la estabilidad a cada una de las bebidas, conservando las pruebas a temperatura de refrigeración, se tiene que las bebidas necesitan ser consumidas hasta los 21 días posteriores a su elaboración, a excepción de la bebida sin fermentar.

### 3.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

#### 3.7.1 ANÁLISIS DE COMPARACIÓN DE ACEPTABILIDAD DE LAS BEBIDAS ENTRE NIÑOS Y ADULTOS

La Tabla No. 19 muestra la aceptabilidad de las bebidas (fermentada láctica y sin fermentar) tanto en niños como en adultos, resultados reportados según las encuestas establecidas.

**TABLA No.19      PREFERENCIA DE LAS BEBIDAS LÁCTEAS EN NIÑOS Y ADULTOS**

<b>MUESTRA POR COLOR</b>	<b>TIPO DE BEBIDA</b>	<b>NIÑOS</b>	<b>ADULTOS</b>	<b>TOTAL</b>
Naranja	Láctica	17	13	33
Verde	Sin fermentar	18	15	30
<b>TOTAL</b>		<b>35</b>	<b>28</b>	<b>63</b>

Para este análisis se aplicó el método estadístico de comparación entre dos poblaciones (PRUEBA Z) y la prueba para independencia (PRUEBA  $X^2$  ji cuadrado).



## PRUEBA Z:

### PRESENTACIÓN DE LA HIPÓTESIS

Hipótesis:

Hipótesis nula:  $P_1 = P_2$

Hipótesis alternativa:  $P_1 < P_2$

**Hipótesis nula:** No existe diferencia significativa entre la preferencia de las bebidas normal y láctica por niños y adultos.

**Hipótesis alternativa:** Existe diferencia significativa entre la preferencia de las bebidas normal y láctica por niños y adultos.

$$Z = \frac{P_1 - P_2}{\sqrt{\frac{P_1(1-P_1)}{n_1} + \frac{P_2(1-P_2)}{n_2}}}$$

$$Z = \frac{\frac{18}{35} - \frac{15}{28}}{\sqrt{\frac{\frac{18}{35}(\frac{17}{35})}{35} + \frac{\frac{15}{28}(\frac{13}{28})}{28}}}$$

$$Z = 0,169$$

Es una gráfica de dos colas (0,025), comparando con la tabla de valores de Z (Anexo No. 12) se obtiene  $Z_{(0,025)} = \pm 1,96$ , este valor cae sobre la cola de aceptación de la hipótesis. Esto indica que no existe diferencia significativa entre la preferencia de las bebidas normal y láctica entre niños y adultos.

PRUEBA  $X^2$  ji cuadrado: mediante este análisis se determinó que no existe dependencia de preferencia entre la edad de los encuestados y el tipo de bebida, es decir la preferencia a las bebidas no depende de la edad ni del tipo de bebida.

En sí la prueba de preferencia tiene una naturaleza efectiva, hecho que la convierte en una herramienta vital en el desarrollo de nuevos productos pues ayuda a prever la reacción del posible consumidor.

### 3.7.2 ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DEL PROXIMAL OBTENIDOS EN CADA UNA DE LAS BEBIDAS LÁCTEAS (normal, láctica, alcohólica)

**TABLA No. 20 COMPARACIÓN DE PARÁMETROS DEL ANÁLISIS PROXIMAL ENTRE LAS TRES BEBIDAS LÁCTEAS**

TIPO DE BEBIDAS	ANÁLISIS *				
	% Grasa	% Proteína	% Cenizas	% Humedad	% Fibra
B <sub>1</sub>	1,51±0,01 <sup>a</sup>	2,55±0,01 <sup>b</sup>	0,64±0,01 <sup>a</sup>	82,3±0,02 <sup>c</sup>	0,32±0,01 <sup>a</sup>
B <sub>2</sub>	1,24±0,006 <sup>b</sup>	3,47±0,006 <sup>a</sup>	0,59±0,01 <sup>b</sup>	83,4±1,16 <sup>b</sup>	0,15±0,03 <sup>b</sup>
B <sub>3</sub>	0,80±0,006 <sup>c</sup>	0,80±0,006 <sup>c</sup>	0,43±0,006 <sup>c</sup>	91,31±0,29 <sup>a</sup>	0,11±0,01 <sup>c</sup>

diferencias significativas a p<0.01

a, b, c. Promedio con letras iguales en una misma columna no difieren estadísticamente.

B<sub>1</sub>: Bebida sin fermentar (normal), B<sub>2</sub>: Bebida fermentada láctica, B<sub>3</sub>: Bebida fermentada alcohólica.

\* Valores de las medias ± Desviación Estándar. N=3.

En la Tabla No. 20 se muestra los tres tipos de bebidas lácteas elaboradas a base de suero de leche y avena molida, y los cinco parámetros determinados en el análisis proximal.

Utilizando el análisis de Tukey se obtuvo que el % de grasa, % de proteína, % de cenizas, % de humedad y % de fibra en las tres bebidas son estadísticamente diferentes debido a que las letras de la misma columna son diferentes.

Cabe indicar que los % de grasa son los obtenidos en el Laboratorio CESTTA, y los % de humedad, cenizas fibra y proteína son resultados obtenidos por la tesista.

## CAPÍTULO IV

### 4. CONCLUSIONES

1. El desarrollo de una bebida a partir del lactosuero de la industria quesera, es una gran alternativa que permitirá obtener un alimento de alto contenido nutricional, de fácil digestión, y con un costo más accesible para diversos sectores del mercado con limitaciones económicas, esto directamente relacionado con la ampliación tecnológica en el proceso de obtención de productos lácteos para la Quesera “El Salinerito”.
2. Se establecieron tres formulaciones con diferentes proporciones de lactosuero dulce y avena molida; elaborándose así dos bebidas fermentadas y una sin fermentar. La bebida no fermentada contiene el 70% de lactosuero y 30% de avena al igual que la bebida fermentada con *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii subsp.bulgaricus*, y la bebida fermentada con *Sacharomyces cerevisiae* contiene 60% de lactosuero y 40% de avena.
3. En la elaboración de las bebidas lácteas la utilización del lactosuero y avena complementan el contenido de nutrientes, destacando que se puede emplear hasta un 70% del contenido de lactosuero en la bebida y este no causa diferencia significativa en sus propiedades organolépticas y cumple con la norma empleada.
4. De acuerdo a los tratamientos y microorganismos que se utilizaron en la preparación de las bebidas fermentadas, se tomaron en cuentas ciertas variables tales como temperatura y tiempo de incubación, pH, °Brix y almacenamiento.

Estas condiciones son específicas para cada microorganismo ya que de esta manera permiten su potencial desarrollo.

5. Las encuestas de aceptabilidad aplicadas a 63 personas de diferente edad, sexo y condición social, indicaron que el 46% mostró preferencia por la bebida no fermentada, la gran mayoría atribuía su gusto al sabor que le confiere la avena, destacaban cualidades como homogeneidad en el aspecto, consistencia viscosa, sabor agradable no hostigante, olor y color agradable. Con el 40% de aceptabilidad está la bebida fermentada con *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii subsp.bulgaricus*, la misma que tiene características similares al yogurt, mientras que las características que presenta la bebida fermentada alcohólica no resultaron ser del agrado de la mayoría.
6. Se hace evidente que el empleo de cultivos mixtos contribuye a lograr el desarrollo adecuado de las propiedades en tiempos de proceso razonables, por lo que se puede concluir que la composición del cultivo y el sustrato disponible en el medio de fermentación son variables importantes en el establecimiento de procesos productivos adecuados para el desarrollo de bebidas fermentadas con microorganismos con actividad probiótica.
7. Los productos cumplen con los requerimientos microbiológicos establecidos en la norma NTE INEN 2564 para bebidas lácteas, ya que fueron elaborados siguiendo las Buenas prácticas de manufactura (BPM) garantizando la calidad e inocuidad de los mismos.
8. La presencia de los microorganismos ácido lácticos (fermento láctico YO-MIX™ 300 LYO 10 DCU) cuya población se incrementó durante la etapa de incubación, es considerada como una fuente importante de grasa y proteína en la bebida fermentada.
9. Se propone 21 días como el término de la vida útil para las dos formulaciones a temperatura de refrigeración 4°C, mientras que la bebida no fermentada demostró

ser desagradable a los 21 días esto se debe a que no se utilizó la cantidad adecuada de conservante, los cambios en las características que definían las bebidas en un principio eran notorios.

## CAPÍTULO V

### 5. RECOMENDACIONES

1. Es importante ampliar los estudios acerca del uso del lactosuero ya que por su gran aporte de nutrientes ofrece importantes beneficios nutricionales, los mismos que podemos aprovechar de diferentes maneras.
2. La materia prima a utilizarse debe ser inocua, el lactosuero antes de ser utilizado para la preparación de la bebida debe ser pasteurizado HTST para eliminar así la carga microbiológica que posee y obtener productos inocuos y de calidad.
3. El lactosuero a emplear sea filtrado lo más posible para evitar que haya mayor cantidad de asentamiento de sólidos en la bebida afectando al tiempo de vida del producto.
4. Utilizar suero fresco para la elaboración de bebidas proteicas con la finalidad de no alterar el pH y no obtener un producto ácido.
5. No almacenar el producto por más de 21 días debido a que esto permite la proliferación de microorganismos que reducen la calidad de los productos.
6. Mantener el producto a una temperatura adecuada para su correcta conservación, manteniendo la cadena de frío, se recomienda para este tipo de producto una temperatura de menos 4 °C
7. Determinar la vida útil aplicando la cinética química (ecuación de Arrhenius)

## CAPÍTULO VI

### 6. RESUMEN

Elaboración y evaluación nutricional de una bebida a base de suero de leche y avena (*Avena sativa*) para PRODUCCOOP “El Salinerito”. El presente trabajo de investigación se realizó en la Facultad de Ciencias-Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Para su efecto se realizó tres formulaciones cada una de estas con proporciones diferentes de suero de leche dulce y avena molida Quaker (A 70%-30%, B 70%-30%, C 60%-40%) y otros ingredientes (leche UHT, azúcar, esencia de vainilla, canela, gelatina sin sabor, fermento láctico YO-MIX<sup>TM</sup>, levadura activa seca) respectivamente, se utilizó un tamaño de unidad experimental de 1,5 litros de bebida las mismas que fueron analizadas bajo un diseño completamente al azar (DCA). Además se efectuó el análisis físico-químico, microbiológico de la materia prima y producto final, se estableció condiciones óptimas de fermentación, se determinó la aceptabilidad de las bebidas, y se evaluó el valor nutricional en base a la norma NTE INEN 2564:2011. Para el análisis de datos obtenidos, se utilizaron los test ANOVA, PRUEBA Z y Tukey al 99%.

Según los test de degustación aplicados a niños y adultos la bebida sin fermentar tuvo mayor aceptación; cuyo valor nutricional comprende el 1,51% de grasa, 84,33% de humedad, 0,55% de cenizas, 0,20% de fibra y el 2,65% de proteína, la bebida fermentada con *S. thermophilus* y *L. bulgaricus* contiene el 1,77%, mientras que la bebida fermentada con *S. cerevisiae* contiene el 0,80%. Estas bebidas deben conservarse en refrigeración por un tiempo de 21 días.

En conclusión el desarrollo de una bebida a partir del lactosuero, es una gran alternativa que permitirá obtener un alimento de alto contenido nutricional, de fácil digestión, y con un costo más accesible, esto directamente relacionado con la ampliación tecnológica en el proceso de obtención de productos lácteos para la Quesera “El Salinerito”.

Se recomienda continuar con el estudio de la elaboración de las bebidas nutritivas a base de lactosuero, pero utilizando diferentes cereales y tipos de frutas especialmente aromáticas, para posesionarse en el mercado local, regional y nacional, lo que a su vez permitirá utilizar el lactosuero el cual es desechado en la mayoría de las industrias lácteas, siendo su único uso para la alimentación de ganado porcino.



## SUMMARY

Development and evaluation of a drink made of whey oat (sativa oat) to PRODUCCOOP "El Salinerito". This work was performed at the Faculty of Sciences - School of Biochemistry and Pharmacy at the Polytechnic School of Chimborazo.

We performed three formulations with different proportions of sweet whey and Quaker rolled oats (A 70% -30%, B 70% -30% C 60% -40% and other ingredients (UHT milk, sugar, vanilla, cinnamon, unflavored gelatin, lactic ferment YO-MIX mt, active dry yeast), respectively, we used an experimental unit size of 1.5 liters of drinking the same as was tested in a randomized design (CRD). It was also carried out physico-chemical, microbiological raw materials and final products were established optimal conditions of fermentation, we determined the acceptability of the beverages was evaluated on the basis of nutritional value NTE INEN standard 2564:2011. For analysis of data were performed ANOVA, Tukey TEST Z and 99%.

According to taste-test applied to children and adults drink unfermented had greater acceptance, which includes nutritional value of fat 1.57%, 84.33% moisture, 0.55% ash, 0.20% of 2.65% fiber and protein, the fermented beverage with *S. thermophilus* and *L. bulgaricus* contains 1.77%, while the fermented beverage with *S. cerevisiae* contains 0.80%, these drinks should be stored under refrigeration for a period of 21 days.

In conclusion, we developed a drink from whey, is a great alternative that will get a nutrient-rich food, easily digestible, and more affordable, is directly related to the expansion of technology in the process of obtaining products milk for cheese "El Salinerito".

It is recommended to continue with the study of the nutritional beverage based on whey, but using different types of cereals and fruits especially aromatic possession in the market for local, regional and national, which in turn will use the whey which is rejected in most dairies, it is currently only used for feeding pigs.

## CAPÍTULO VII

### 7. BIBLIOGRAFÍA

- 1.- **ALAIS., Ch.**, Ciencia de la Leche., 4ta ed., Barcelona- España., Reverté., 1985., 873 Pp.
- 2.- **ALVARADO., J.**, Principios de Ingeniería Aplicados en Alimentos., Ambato – Ecuador., Acribia., 1996., Pp. 48–51.
- 3.- **BADUI., D.**, Química de alimentos., 3a. ed., D.F-México., Alambra Mexicana., 1999., 648 Pp.
- 4.- **BROKS., G., y otros.**, Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg., Trad. del inglés por Pérez Gómez, José., 16. ed., D.F-México. El Manual Moderno., 1999., Pp. 899.
- 5.- **CASADO CIMANO., P.**, Guía para el análisis químico de la leche y los derivados lácteos., Madrid - España., Ediciones Ayala., 1992., 701 Pp.
- 6.- **DEZROSIER., N.**, Elementos de tecnología de alimentos., D.F-México., S.A de C.V., Pp. 454-455.
- 7.- **FUNCONQUERUCOM.,** Manual de Buenas Prácticas de Prácticas de Manufactura y Trazabilidad de las Queserías Rurales del Ecuador., Quito – Ecuador., Imprefepp., 2008., Pp. 23 – 161.

- 8.- **FRAZIER., W.,** Microbiología de los alimentos., 3a. ed., Zaragoza-España., AcribiaS.A., 1978., Pp. 128, 150-155, 325-331.
- 9.- **GALLEGOS., J.,** Manual de prácticas de Microbiología de alimentos., Riobamba-Ecuador., 2003., Pp. 33.
- 10.- **JÖRGENSEN., A.,** Microbiología de las Fermentaciones Industriales., 7ma. ed., Zaragoza-España., Acribia., 1959., Pp. 43-54.
- 11.- **KIRK., R., y otros.,** Composición y análisis de Alimentos de Pearson., 2da. ed., D.F-México., Continental., 1999., Pp. 284, 290, 296.
- 12.- **LARRAÑAGA., I., y otros.,** Control e higiene de los alimentos., Madrid-España., Mc Graw Hill., 1999., Pp. 252, 254, 259.
- 13.- **LINDEN., G., y otros.,** Bioquímica Agroindustrial: revalorización alimentaria de la producción agrícola., Zaragoza-España., Acribia., 1996., 454 Pp.
- 14.- **LUCERO., O.,** Técnicas de Laboratorio de Bromatología y Análisis de Alimentos., Riobamba- Ecuador., Xerox., 2005., Pp. 1- 55.
- 15.- **MADIGAN., M., y otros.,** Brock. Biología de los microorganismos. Traducido del inglés por Thomas D. Brock., 10a. ed., D.F-México., Pearson Educación, S.A., 2004., Pp. 400, 958-976.
- 16.- **MARQUEZ., R.,** Guía pedagógica para la impartición del bloque de contenidos de las bebidas sin alcohol en el C.f.g.m. De técnico en servicios en restauración., Madrid-España., Visión libros., 2009., Pp. 15-28.
- 17.- **MENA., A.,** Alternativas de utilización del suero. Curso control y procesamiento de productos lácteos., San Felipe – Venezuela., 1980., Pp. 58-69.

- 18.- **MENDOZA., E., y otros.,** Bromatología composición y propiedades de los alimentos., D. F-México., Mc Graw Hill., 2010., Pp. 99, 229-230,285.
- 19.- **RAY., B., y otros.,** Fundamentos de microbiología de los alimentos., 4a. ed., D. F-México., McGraw-Hill., 2010., Pp. 70.
- 20.- **SPREER., E., y otros.,** Libro de Lactología Industrial., D.F-México., El Manual Moderno., 1991., Pp. 432
- 21.- **TAMINE., A., y otros.,** Yogur ciencia y tecnológica., Zaragoza – España., Acribia., 1991., Pp. 22-34.
- 22.- **THIEMAN., W., y otros.,** Introducción a la Biotecnología., 2. Ed., España., Pearson Educación, S.A., 2010., Pp. 129-130.
- 23.- **WITTIG., E.,** Evaluación Sensorial. Una metodología actual para la tecnología de alimentos., D.F-México., El Manual Moderno., 2000., Pp. 85-87.
- 24.- **LONDOÑO., M., y otros.,** Bebida fermentada de suero de queso fresco inoculada con *Lactobacillus casei.*, Facultad Nacional Agronomía Medellín., # 61 v. 1., Medellin – Colombia., 2008., Pp. 4409-4421.
- 25.- **SEPÚLVEDA., J., y otros.,** Utilización de lactosuero de queso fresco en la elaboración de una bebida fermentada con adición de pulpa maracuyá (*passiflora edulis*) variedad púrpura y carbóximetil celulosa (CMC), enriquecida con vitaminas A y D., Facultad Nacional Agronomía Medellín., # 55 v. 2., Medellin – Colombia., 2002., Pp. 1633-1674.
- 26.- **ECUADOR INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (INEN),** Bebida láctea N° 2569., Quito – Ecuador., INEN., 2011., 6 Pp.

- 27.- ECUADOR INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (INEN).** Bebida de leches fermentadas N° 2608., Quito – Ecuador., INEN., 2012., 6 Pp.
- 28.- ECUADOR INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (INEN).** Suero de leche líquido N° 2594., Quito – Ecuador., INEN., 2011., Pp. 1-3.
- 29.- ECUADOR INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (INEN).** Coliformes fecales y totales NMP., N° 1529-6., 1529-8., Quito – Ecuador., INEN., 1990., 9 Pp.
- 30.- ECUADOR INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (INEN).** Rotulado N° 1334-1,2,3., Quito – Ecuador., INEN., 2011., 22 Pp.
- 31.- CHÓEZ., J.,** Elaboración de una bebida hidratante a base de lactosuero y enriquecida con vitaminas., Escuela Superior Politécnica del Litoral., Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción., Guayaquil-Ecuador., TESIS., 2010., Pp. 7-8, 12-15, 27.
- 32.- GONZALEZ., J.,** Elaboración y evaluación nutricional de una bebida proteica a base de lactosuero y chocho (*Lupinusmutabilis*) como suplemento alimenticio., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo Riobamba., Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica y Farmacia., Riobamba-Ecuador., TESIS., 2010., Pp. 9-11, 20-21.
- 33.- GUTIÉRREZ., E.,** Desarrollo de una bebida de suero dulce derivado de la fabricación de queso fresco, fermentada con cultivos *Lactobacillus helveticus* y *Sterptococcus salivarius var thermophilus* (TCC-20), adicionada con cultivos probióticos *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* LC-01., Universidad de Costa Rica., Facultad de Ciencias Agroalimentarias., Costa Rica., TESIS., 2006., Pp. 22, 42.

- 34.- YUMICASA., C.,** Desarrollo de bebidas nutritivas a partir de suero de leche y concentración de frutas nativas, (Tuna, Pitajaya, Uvilla)., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo Riobamba., Facultad de Ciencias Pecuarias., Riobamba- Ecuador., TESIS., 2010., Pp. 12-13.

#### **BIBLIOGRAFÍA DE INTERNET**

**35.- APLICACIONES PARA LAS PROTEÍNAS DE SUERO DE LECHE**

<http://www.mundohelado.com/materiasprimas/leche/proteinas-suero-leche.htm>  
2012-05-18

**36.- APROVECHAMIENTO INDUSTRIAL DEL SUERO DE QUESERÍA**

[http://www.portalechero.com/ver\\_items\\_descrip.asp?wVarItem=1906](http://www.portalechero.com/ver_items_descrip.asp?wVarItem=1906)  
2012-05-23

**37.- AEROBIOS MESOFILOS INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS**

[http://www.anmat.gov.ar/alimentos/Guia\\_de\\_interpretacion\\_resultados\\_microbiologicos.pdf](http://www.anmat.gov.ar/alimentos/Guia_de_interpretacion_resultados_microbiologicos.pdf)  
2012-05-23

**38.- AVENA**

<http://www.zonadiet.com/alimentacion/1-avena.htm>  
2012-05-20

**39.- AZÚCAR**

<http://www.euroresidentes.com/alimentos/azucar.htm>  
2012-05-20

**40.- BEBIDAS LÁCTEAS, TENDENCIAS Y RETOS**

<http://file:///F:/tesis/bebidas-lacteas-tendencias-y-retos.htm>  
2012-05-23

**41.- COLIFORMES TOTALES**

<http://www.scribd.com/doc/6655598/Placa-3M-Para-Coliformes-Totales-Instrucciones-de-Uso>

2012-05-20

**42.- CONSERVANTES**

<http://www.eufic.org>

2012-05-20

**43.- CARACTERÍSTICAS Y BENEFICIOS DE LA AVENA**

<http://www.botanical-online.com/avena.htm>

2012-05-21

**44.- ESTABILIZANTES**

<http://alnicolsa.tripod.com>

2012-05-25

**45.- ESTABILIZANTES Y SU CLASIFICACIÓN**

[http://www.saludalia.com/Saludalia/web\\_saludalia/vivir\\_sano/doc/nutricion/doc/edulcorantes.htm](http://www.saludalia.com/Saludalia/web_saludalia/vivir_sano/doc/nutricion/doc/edulcorantes.htm)

2012-05-23

**46.- ESTUDIO DE PRE-FACTIBILIDAD PARA LA INSTALACIÓN DE UNA PLANTA PROCESADORA DE BEBIDAS A BASE DE LACTOSUERO**

<http://pml.org.ni/Documentos/suero.pdf>

2012-05-23

**47.- EDULCORANTES**

[http://www.saludalia.com/Saludalia/web\\_saludalia/vivir\\_sano/doc/nutricion/doc/edulcorantes.htm](http://www.saludalia.com/Saludalia/web_saludalia/vivir_sano/doc/nutricion/doc/edulcorantes.htm)

2012-05-25

**48.- EVALUACIÓN DE SORBETES Y BEBIDAS ELABORADAS A BASE DE  
CONCENTRADO DE SUERO**

[http://www.ilustrados.com/tema/3039/Evaluacionsorbetesbebidaselaborada.ht  
ml](http://www.ilustrados.com/tema/3039/Evaluacionsorbetesbebidaselaborada.html)

2012-05-20

**49.- ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA HIDRATANTE A BASE DE  
LACTOSUERO Y ENRIQUECIDA CON VITAMINAS**

[http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/14850/1/Elaboracion%2  
0de%20una%20bebida%20hidratante%20a%20base%20de%20lactosuero.pdf](http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/14850/1/Elaboracion%20de%20una%20bebida%20hidratante%20a%20base%20de%20lactosuero.pdf)

2012-05-23

**50.- EFECTOS FAVORABLES PARA LA SALUD POR UTILIZACIÓN DE  
LACTOSUERO**

[http://www.pronat.com.mx/productos/pw\\_suero\\_de\\_leche.htm](http://www.pronat.com.mx/productos/pw_suero_de_leche.htm)

<http://www.niunadietamas.com>

2012-05-23

**51.- ELABORACIÓN DE BEBIDAS FERMENTADAS**

<http://www.rivella.fr> 2006

2012-05-23

**52.- EVALUACIÓN SENSORIAL Y ATRIBUTOS SENSORIALES**

[https://www.ucursos/medicina/2008/2/1/material\\_alumnos/previsualizar.php/m  
aterial=21441](https://www.ucursos/medicina/2008/2/1/material_alumnos/previsualizar.php/material=21441)

2012-05-24

**53.- EDULCORANTES**

[http://www.saludalia.com/Saludalia/web\\_saludalia/vivir\\_sano/doc/nutricion/do  
c/edulcorantes.htm](http://www.saludalia.com/Saludalia/web_saludalia/vivir_sano/doc/nutricion/doc/edulcorantes.htm)



2012-05-21

#### **54.- FERMENTACIÓN**

[http://www.profes.net/rep\\_documentos/ASELECTIVIDAD\\_2002/gas02lbicc6.pdf](http://www.profes.net/rep_documentos/ASELECTIVIDAD_2002/gas02lbicc6.pdf)

2012-05-20

#### **55.- FERMENTO LÁCTICO YO- MIX (Yogurt Cultures)**

<http://www.agrodirect.fr/images/File/YOMIX300.pdf>

2012-05-22

#### **56.- GELATINA**

<http://www.rousselot-rhc.com>

2012-05-25

#### **57.- PASTEURIZACIÓN**

[http://1.bp.blogspot.com/\\_vxL0TBRqOIY/SZ2sxfxA1WI/AAAAAAAAACU/qg\\_19YG-EDY/s1600-h/pausterizador.bmp](http://1.bp.blogspot.com/_vxL0TBRqOIY/SZ2sxfxA1WI/AAAAAAAAACU/qg_19YG-EDY/s1600-h/pausterizador.bmp)

2012-05-22

#### **58.- PLACAS PETRIFILM PARA EL RECuento DE MOHOS Y LEVADURAS**

<http://www.scribd.com/doc/6655611/Placas-3M-Para-Hongos-y-LevadurasInstrucciones-de-Uso>

2012-05-23

#### **59.- PLACAS PETRIFILM PARA EL RECuento DE AEROBIOS**

<http://www.microlabscr.com/resources/rta.pdf>

2012-05-22

**60.- PLACAS PETRIFILM PARA EL RECuento DE COLIFORMES  
TOTALES**

[http://www.microlabscr.com/resources/guia+coliformes+espa\\$C3\\$B1ol+PCC.  
pdf](http://www.microlabscr.com/resources/guia+coliformes+espa$C3$B1ol+PCC.pdf)

2012-05-22

**61.- PLACAS PETRIFILM PARA *Staphylococcus aureus***

[http://www.distribucionesbiotecnologicas.com.mx/files/guia\\_petrifilm\\_staph\\_e  
xpress.pdf](http://www.distribucionesbiotecnologicas.com.mx/files/guia_petrifilm_staph_express.pdf)

2012-05-22

**62.- PRUEBA Z**

<http://www.revistaseden.org/files/11-CAP%2011.pdf>

2012-05-22

**63.- PRUEBAS ESTADÍSTICAS**

[http://www.pucpr.edu/facultad/ejaviles/ED%20800%20PDF%20Files/ED%20  
800%20An%Elisis%20de%20Varianzas.pdf](http://www.pucpr.edu/facultad/ejaviles/ED%20800%20PDF%20Files/ED%20800%20An%Elisis%20de%20Varianzas.pdf)

2012-05-22

**64.- REFRIGERACIÓN**

<http://www.quiminet.com/articulos/congelacion-de-alimentos-2651233.htm>

2012-05-25

**65.- RECuento DE COLIFORMES TOTALESY *E. coli***

<http://es.scribd.com/doc/6655602/Placas-3M-Para-Coliformes-Totales-y-E>

2012-05-24

**66.-*Sacharomyces cerevisiae***

<http://nutricionysalud.org.es/levadura-de-cerveza-propiedades>

2012-05-25

**67.-SISTEMAS DE TRATAMIENTO POR CALOR ESTERILIZACIÓN**

<http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/sociedad-consumo/2003/09/26/8513.php>

2012-05-25

**68.- SORBATO DE POTASIO**

<http://www.foodchem.es/5-potassium-sorbate-1.html>

2012-05-25

**69.- VAINILLA**

<http://www.euroresidentes.com/Alimentos/especias/vainilla.htm>

2012-05-25



**2. Por qué lo prefiere?**

- Gusto más marcado        .....
- Más dulce                    .....
- Sabor más agradable     .....
- Color más agradable     .....
- Olor más agradable       .....
- Aspecto más agradable    .....

**GRACIAS POR SU COLABORACIÓN**

**ANEXO No. 2      MODELO DE LA ENCUESTA DE ACEPTABILIDAD APLICADA A LOS ADULTOS**

**ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE BIOQUIMICA Y FARMACIA**

***ENCUESTA DE ACEPTABILIDAD***

**La alimentación es una necesidad ineludible para todo ser humano, y en la actualidad, casi tan importante como el contenido nutricional, la calidad e inocuidad de un alimento, pero también lo es el hecho de que sea innovador y atractivo para el consumidor, sin restarle, por supuesto, su funcionalidad y beneficios.**

**Es por esto, que quiero enfocar mi aporte con la elaboración de estas bebidas a base de lactosuero y avena.**

**Necesitamos conocer el grado de aceptabilidad del producto, por lo que se solicita la colaboración de cada uno de ustedes, con una honesta respuesta a las preguntas planteadas.**

**Tipo:** Preferencia

**Nombre:** .....

**Método:** Ordenamiento

**Fecha:** .....

**Producto:** Bebidas a base de lactosuero y avena

**Hora:** .....

**Edad del encuestado/a:** .....

- 1. Sírvese degustar las muestras que se presentan, cada una identificada por colores, verde, naranja, y rosada; y ordénelas según su preferencia, colocando en el primer lugar la(as) muestra(as) que más le agrada, y en el último, la(as) muestra(as) que menos le agrada.**

<b>Escala de preferencia</b>	<b>Orden asignado a las muestras</b>
<b>Primero</b>	
<b>Segundo</b>	
<b>Tercero</b>	

2. La(as) muestras que fueron de su preferencia evalúela según sus atributos de calidad de acuerdo a la siguiente tabla:

<b>ATRIBUTOS DE CALIDAD</b>	<b>INDICADORES</b>	<b>EVALUACIÓN ASIGNADA A LAS MUESTRAS</b>		
		<b>Verde</b>	<b>Naranja</b>	<b>Rosada</b>
<b>ASPECTO</b>	Homogéneo			
	Heterogéneo			
<b>CONSISTENCIA</b>	Fluido			
	Normal			
	Viscosa			
<b>COLOR</b>	Agradable			
	Desagradable			
<b>SABOR</b>	Agradable			
	Desagradable			
	Dulce suave			
	Insípido			
<b>OLOR</b>	Débil			
	Inodoro			
	Extraño			
	Agradable			
	Desagradable			
	Aromático			

**GRACIAS POR SU COLABORACIÓN**

**ANEXO No. 3 DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD DE MICROORGANISMOS. AEROBIOS MESÓFILOS. MÉTODO DE RECuento: SIEMBRA EN PLACAS PETRIFILM**

- Prepare al menos una dilución de 1:10 de la muestra. Pese o pipetee la muestra en una funda o bolsa de Stomacher, botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril apropiado.
- Adicione la cantidad apropiada de uno de los siguientes diluyentes estériles: tampón Butterfield (tampón IDF fosfato, 0.0425 g/L de KH<sub>2</sub> PO<sub>4</sub> y con pH ajustado a 7.2); agua de peptona al 0.1%; diluyente de sal peptonada (método ISO6887); *buffer* de agua de peptona (método ISO 6579); solución salina (0.85 a 0.90%); caldo letheen libre de bisulfato o agua destilada.
- Mezcle u homogenice la muestra mediante los métodos usuales.
- Ajuste el pH de la muestra diluida entre 6.6 y 7.2:
  - Para productos ácidos: use solución 1N de NaOH.
  - Para productos básicos: use solución 1N de HCl.
- Coloque la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Levante la lámina semitransparente superior.
- Con la pipeta perpendicular a la Placa Petrifilm, coloque 1 ml de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior.
- Libere la película superior dejando que caiga sobre la dilución. No la deslice hacia abajo.
- Con el lado rugoso hacia abajo, coloque el dispersor o esparcidor sobre la película superior, cubriendo totalmente la muestra.
- Presione suavemente el dispersor o esparcidor para distribuir la muestra sobre el área circular. No gire ni deslice el dispersor. Recuerde distribuir la muestra antes de inocular una siguiente placa.
- Levante el dispersor o esparcidor. Espere por lo menos 1 minuto a que se solidifique el gel y proceda a la incubación.



- Incube las placas cara arriba en grupos de no más de 20 piezas. Puede ser necesario humectar el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente con agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad.
- Las Placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo de lupa con luz.
- Cuente las colonias rojizas para Aerobios mesófilos. Las Placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo de lupa con luz. Consulte la guía de interpretación para leer los resultados.

El tiempo de incubación y la temperatura varían según el método. El método utilizado es:

- **AOAC método oficial 986.33**

(Leche y productos lácteos)

Incubar 48 hrs. ( $\pm 3$  hrs.) a  $32\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

**Cálculos:**

$$C = n \times f$$

Dónde:

C= unidades propagadoras de Colonias de hongos por g ó mL, de producto.

n= Numero de colonias contadas en la placa

10= factor para convertir el inoculo a 1mL

f = factor de dilución.

**ANEXO No. 4 DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD DE MICROORGANISMOS. COLIFORMES TOTALES. MÉTODO DE RECuento: SIEMBRA EN PLACAS PETRIFILM**

- Prepare al menos una dilución de 1:10 de la muestra. Pese o pipetee la muestra en una funda o bolsa de Stomacher, botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril apropiado.
- Adicione la cantidad apropiada de uno de los siguientes diluyentes estériles tampón Butterfield (tampón IDF fosfato, 0.0425 g/L de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y con pH ajustado a 7.2); agua de peptona al 0.1%; diluyente de sal peptonada (método ISO6887); *buffer* de agua de peptona (método ISO 6579); solución salina (0.85 a 0.90%); caldo letheen libre de bisulfato o agua destilada.
- Mezcle u homogenice la muestra mediante los métodos usuales.
- Coloque la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Levante la lámina semitransparente superior.
- Con la pipeta perpendicular a la Placa Petrifilm, coloque 1 ml de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior.
- Libere la película superior dejando que caiga sobre la dilución. No la deslice hacia abajo.
- Con el lado rugoso hacia abajo, coloque el dispersor o esparcidor sobre la película superior, cubriendo totalmente la muestra.
- Presione suavemente el dispersor o esparcidor para distribuir la muestra sobre el área circular. No gire ni deslice el dispersor. Recuerde distribuir la muestra antes de inocular una siguiente placa.
- Levante el dispersor o esparcidor. Espere por lo menos 1 minuto a que se solidifique el gel y proceda a la incubación.
- Incube las placas cara arriba en grupos de no más de 20 piezas. Puede ser necesario humectar el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente con agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad.
- Las Placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo de lupa con luz.

- Cuento las colonias rojo con presencia de gas para Coliformes. Las Placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo de lupa con luz. Consulte la guía de interpretación para leer los resultados.

El tiempo de incubación y la temperatura varían según el método. El método utilizado es:

- **AOAC método oficial 986.33 y 989.10**

(Leche y productos lácteos)

Incubar 24 hrs. (+/- 2 hrs) a 32°C (+/- 1°C)

**Cálculos:**

$$C = n \times f$$

Dónde:

C= unidades propagadoras de Colonias de hongos por g ó mL, de producto.

n= Numero de colonias contadas en la placa

10= factor para convertir el inóculo a 1mL

f= factor de dilución.

**ANEXO No. 5 DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD DE MICROORGANISMOS. MOHOS Y LEVADURAS. MÉTODO DE RECuento: SIEMBRA EN PLACAS PETRIFILM**

- Prepare al menos una dilución de 1:10 de la muestra. Pese o pipetee la muestra en una funda o bolsa de Stomacher, botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril apropiado.
- Adicione la cantidad apropiada de uno de los siguientes diluyentes estériles: tampón Butterfield (tampón IDF fosfato, 0.0425 g/L de KH<sub>2</sub> PO<sub>4</sub> y con pH ajustado a 7.2); agua de peptona al 0.1%; diluyente de sal peptonada (método ISO6887); *buffer* de agua de peptona (método ISO 6579); solución salina (0.85 a 0.90%); caldo letheen libre de bisulfato o agua destilada.
- Mezcle u homogenice la muestra mediante los métodos usuales.
- Coloque la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Levante la lámina semitransparente superior.
- Con la pipeta perpendicular a la Placa Petrifilm, coloque 1 ml de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior.
- Libere la película superior dejando que caiga sobre la dilución. No la deslice hacia abajo.
- Sosteniendo la barra cruzada del dispersor para Mohos y Levaduras, colóquelo sobre la película superior, cubriendo totalmente la muestra.
- Presione suavemente el dispersor para distribuir la muestra. No gire ni deslice el dispersor.
- Levante el dispersor. Espere por lo menos 1 minuto para permitir que se solidifique el gel y proceda a la incubación.
- Incube las placas cara arriba en grupos de hasta 20 unidades a 20 °C-25 °C por 3-5 días. Algunos Mohos pueden crecer rápidamente, por lo que puede ser útil leer y contar las placas a los 3 días, ya que las colonias más pequeñas se verán más oscuras que los Mohos ya crecidos a los 5 días. Si las Placas presentan demasiado crecimiento al día 5, registre el resultado obtenido al día 3 como “estimado”.

- Puede ser necesario humectar el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente con agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad.
- Cuento las colonias verdes- azul. Las Placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo de lupa con luz. Consulte la guía de interpretación para leer los resultados.

El tiempo de incubación y las temperaturas varía según el método. El método más utilizado es:

- **AOAC Método oficial 997.02**

(En alimentos)

Incubar 5 días entre 21 °C y 25 °C.

**Cálculos:**

$$C = n \times f$$

Dónde:

C = UFC de coliformes /g o mL. de alimento

n = Número de colonias contadas en la placa Petri

f = Factor de dilución.

**ANEXO No. 6 DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD DE MICROORGANISMOS. *Staphylococcus aureus*. MÉTODO DE RECUENTO: SIEMBRA EN PLACAS PETRIFILM**

- Prepare al menos una dilución de 1:10 de la muestra. Pese o pipetee la muestra en una funda o bolsa de Stomacher, botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril apropiado.
- Adicione la cantidad apropiada de uno de los siguientes diluyentes estériles: tampón Butterfield (tampón IDF fosfato, 0.0425 g/L de KH<sub>2</sub> PO<sub>4</sub> y con pH ajustado a 7.2); agua de peptona al 0.1%; diluyente de sal peptonada (método ISO6887); *buffer* de agua de peptona (método ISO 6579); solución salina (0.85 a 0.90%); caldo letheen libre de bisulfato o agua destilada.
- Mezcle u homogenice la muestra mediante los métodos usuales.
- Coloque la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Levante la lámina semitransparente superior.
- Con la pipeta perpendicular a la Placa Petrifilm, coloque 1 ml de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior.
- Deslice cuidadosamente la película superior hacia abajo para evitar atrapar burbujas de aire. No deje caer la película superior.
- Aplique suavemente presión con el esparcidor para distribuir el inóculo sobre el área circular antes de que se forme el gel. Levante el esparcidor sin doblarlo o deslizarlo. Espere por lo menos un minuto para que se solidifique el gel.
- Incube las placas cara arriba en grupos de hasta 20 unidades. Puede ser necesario humectar el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente con agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad.
- Si no hay colonias presentes después de 24 ± 2 horas de incubación, el recuento es de cero y la prueba se considera terminada.
- Cunte las colonias rojo-violeta como *S. aureus*. Las Placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo de lupa con luz. Consulte la guía de interpretación para leer los resultados.

El tiempo de incubación y las temperaturas varía según el método. El método más utilizado es:

- **AOAC Método oficial 2003.08**

(En productos lácteos)

Incubar  $24 \pm 2$ h a  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  ó  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

**Cálculos:**

$$C = n \times f$$


Dónde:

C = UFC de *S. aureus*/mL. de alimento

n = Número de colonias contadas en la placa Petri

f = Factor de dilución.

**ANEXO No. 7 ANÁLISIS PROXIMAL DE LA BEBIDA LÁCTEA A BASE DE SUERO DE LECHE Y AVENA**

 <b>LABCESTTA</b> Tecnología & Soluciones SGC	<b>LABORATORIO DE ANÁLISIS AMBIENTAL E INSPECCIÓN</b>  Panamericana Sur Km. 1 ½ Teléf.: (03)2998232 ESPOCH FACULTAD DE CIENCIAS RIOBAMBA - ECUADOR
---	--

**INFORME DE ENSAYO No:** 0476  
**ST:** 12 – 0045 ANÁLISIS DE ALIMENTOS

**Nombre Peticionario:** COOPERATIVA DE PRODUCCION AGROPECUARIA “EL SALINERITO”  
**Atn.** Srita. Glenda Vega  
**Dirección:** CALLE José Dubach y vía a Simiatug

**FECHA:** 04 de Mayo del 2012  
**NUMERO DE MUESTRAS:** 1  
**FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN EN LAB:** 2012 / 04/ 24 – 17:10  
**FECHA DE MUESTREO:** 2012 / 04/ 24 – 16:30  
**FECHA DE ANÁLISIS:** 2012/ 04/ 24 – 2012 /05 / 03  
**TIPO DE MUESTRA:** Bebida Láctea a base de lactosuero y avena  
**CÓDIGO LAB-CESTTA:** LAB-Alm 092-12  
**CÓDIGO DE LA EMPRESA:** N.A  
**PUNTO DE MUESTREO:** N.A  
**ANÁLISIS SOLICITADO:** Grasa, Humedad, Ceniza, Proteína y Fibra  
**PERSONA QUE TOMA LA MUESTRA:** Srita. Glenda Vega  
**CONDICIONES AMBIENTALES DE ANÁLISIS:** T máx.:25.0 °C. T min.: 15 °C


**RESULTADOS ANALÍTICOS:**

PARÁMETRO	MÉTODO /NORMA	UNIDAD	RESULTADO	VALOR LIMITE PERMISIBLE
Grasa	PEE /LAB-CESTTA/102 AOAC/ Gravimétrico	%	1,51	Máx 3
Humedad	PEE/LAB-CESTTA/80 AOAC/ Gravimétrico	%	84,33	--
Cenizas	PEE /LAB-CESTTA/101 AOAC/ Gravimétrico	%	0,55	--
Fibra	PEE /LAB-CESTTA/103 AOAC/ Gravimétrico	%	0,20	--
Proteína	PEE /LAB-CESTTA/104 AOAC/ Volumétrico	%	2,68	Min 1,6

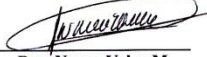
**OBSERVACIONES:**

- Muestra receptada en laboratorio.
- Ensayos comparados con norma INEN 2564
- Los datos están expresados en base fresca.

**RESPONSABLES DEL INFORME:**


  
**BQF. Ximena Carrión**  
 RESPONSABLE TÉCNICO

LABORATORIO DE ANALISIS AMBIENTAL  
 E INSPECCION  
 LAB - CESTTA  
 ESPOCH

  
**Dra. Nancy Veloz M**  
 JEFE DE LABORATORIO



**ANEXO No. 8 PROXIMAL DE LA BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA CON *Streptococcus thermophilus* Y *Lactobacillus delbrueckii subsp.bulgaricus* A BASE DE SUERO DE LECHE Y AVENA**

 <b>LABCESTTA</b> Tecnología & Soluciones SGC	<b>LABORATORIO DE ANÁLISIS AMBIENTAL E INSPECCIÓN</b>  Panamericana Sur Km. 1 ½ Telef.: (03)2998232 ESPOCH FACULTAD DE CIENCIAS RIOBAMBA - ECUADOR
---	--

**INFORME DE ENSAYO No:** 0476  
**ST:** 12 - 0045 ANÁLISIS DE ALIMENTOS

**Nombre Peticionario:** COOPERATIVA DE PRODUCCION AGROPECUARIA "EL SALINERITO"  
**Atn.** Srta. Glenda Vega  
**Dirección:** CALLE José Dubach y vía a Simiatug

**FECHA:** 04 de Mayo del 2012  
**NUMERO DE MUESTRAS:** 1  
**FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN EN LAB:** 2012 / 04 / 24 - 17:10  
**FECHA DE MUESTREO:** 2012 / 04 / 24 - 16:30  
**FECHA DE ANÁLISIS:** 2012 / 04 / 24 - 2012 / 05 / 03  
**TIPO DE MUESTRA:** Bebida Láctea a base de lactosuero y avena (Láctica)  
**CÓDIGO LAB-CESTTA:** LAB-Alm 093-12  
**CÓDIGO DE LA EMPRESA:** N.A  
**PUNTO DE MUESTREO:** N.A  
**ANÁLISIS SOLICITADO:** Grasa, Humedad, Ceniza, Proteína y Fibra  
**PERSONA QUE TOMA LA MUESTRA:** Srta. Glenda Vega  
**CONDICIONES AMBIENTALES DE ANÁLISIS:** T máx.:25.0 °C. T mín.: 15 °C

**RESULTADOS ANALÍTICOS:**

PARÁMETRO	MÉTODO /NORMA	UNIDAD	RESULTADO	VALOR LIMITE PERMISIBLE
Grasa	PEE /LAB-CESTTA/102 AOAC/ Gravimétrico	%	1,25	Máx 3
Humedad	PEE/LAB-CESTTA/80 AOAC/ Gravimétrico	%	84,79	--
Cenizas	PEE /LAB-CESTTA/101 AOAC/ Gravimétrico	%	0,54	--
Fibra	PEE /LAB-CESTTA/103 AOAC/ Gravimétrico	%	0,12	--
Proteína	PEE /LAB-CESTTA/104 AOAC/ Volumétrico	%	1,77	Min 1,6

**OBSERVACIONES:**

- Muestra receptada en laboratorio.
- Los datos están expresados en base fresca.
- Ensayos comparados con norma INEN 2564


**RESPONSABLES DEL INFORME:**

  
**BQF. Ximena Carrión**  
**RESPONSABLE TÉCNICO**

LABORATORIO DE ANALISIS AMBIENT:  
 E INSPECCION  
 LAB - CESTTA  
 ESPOCH

  
**Dra. Nancy Veloz M**  
**JEFE DE LABORATORIO**

**ANEXO No. 9 ANÁLISIS PROXIMAL DE LA BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA CON *Saccharomyces cerevisiae* A BASE DE SUERO DE LECHE Y AVENA**

 <b>LABCESTTA</b> Tecnología & Soluciones SGC	<b>LABORATORIO DE ANÁLISIS AMBIENTAL E INSPECCIÓN</b>  Panamericana Sur Km. 1 ½ Telef.: (03)2998232 ESPOCH FACULTAD DE CIENCIAS RIOBAMBA - ECUADOR
---	--

**INFORME DE ENSAYO No:** 0476  
**ST:** 12 - 0045 ANÁLISIS DE ALIMENTOS

**Nombre Peticionario:** COOPERATIVA DE PRODUCCION AGROPECUARIA "EL SALINERITO"  
**Atn. Dirección:** Srta. Glenda Vega  
 CALLE José Dubach y vía a Simiatug

**FECHA:** 04 de Mayo del 2012  
**NUMERO DE MUESTRAS:** 1  
**FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN EN LAB:** 2012 / 04/ 24 - 17:10  
**FECHA DE MUESTREO:** 2012 / 04/ 24 - 16:30  
**FECHA DE ANÁLISIS:** 2012/ 04/ 24 - 2012 /05 / 03  
**TIPO DE MUESTRA:** Bebida Láctea a base de lactosuero y avena (Alcohólica)  
**CÓDIGO LAB-CESTTA:** LAB-Alm 094-12  
**CÓDIGO DE LA EMPRESA:** N.A  
**PUNTO DE MUESTREO:** N.A  
**ANÁLISIS SOLICITADO:** Grasa, Humedad, Ceniza, Proteína y Fibra  
**PERSONA QUE TOMA LA MUESTRA:** Srta. Glenda Vega  
**CONDICIONES AMBIENTALES DE ANÁLISIS:** T máx.:25.0 °C. T mín.: 15 °C


**RESULTADOS ANALÍTICOS:**

PARÁMETRO	MÉTODO /NORMA	UNIDAD	RESULTADO	VALOR LIMITE PERMISIBLE
Grasa	PEE /LAB-CESTTA/102 AOAC/ Gravimétrico	%	0,80	Máx 3
Humedad	PEE/LAB-CESTTA/80 AOAC/ Gravimétrico	%	93,3	--
Cenizas	PEE /LAB-CESTTA/101 AOAC/ Gravimétrico	%	0,31	--
Fibra	PEE /LAB-CESTTA/103 AOAC/ Gravimétrico	%	0,10	--
Proteína	PEE /LAB-CESTTA/104 AOAC/ Volumétrico	%	0,80	Min 1,6

**OBSERVACIONES:**

- Muestra receptada en laboratorio.
- Ensayos comparados con norma INEN 2564
- Los datos están expresados en base fresca.

**RESPONSABLES DEL INFORME:**

  
 BQF. Ximena Carrión  
 RESPONSABLE TÉCNICO

LABORATORIO DE ANÁLISIS AMBIENTAL  
 E INSPECCION  
 LAB - CESTTA  
 ESPOCH

  
 Dra. Nancy Veloz M  
 JEFE DE LABORATORIO

## ANEXO No. 10 FICHA TÉCNICA DEL FERMENTO LÁCTICO YOMIX™ 300 LYO 10 DCU DANISCO

CULTURES DIVISION  
cultures@danisco.com  
www.danisco.com

Page 1 / 2

**DANISCO**

First you add knowledge...

### PRODUCT DESCRIPTION - PD 207175-4.0FR

No. de produit 50577

### YO-MIX™ 300 LYO 10 DCU

YO-MIX™ Yogurt Cultures

#### Description

Mélange défini de bactéries lactiques pour ensemencement direct dans le lait, les bases lactées et autres denrées alimentaires.

Culture lyophilisée sous forme de poudre.

#### Dosages d'utilisation

Produit	Dose
yaourt	10 - 20 DCU / 100 l de lait
Lait fermenté	10 - 20 DCU / 100 l de lait

yaourt 38 - 75 DCU / 100 gallons de lait de fabrication  
Lait fermenté 38 - 75 DCU / 100 gallons de lait de fabrication

Température: 33°C à 43°C

Les doses d'ensemencement préconisées sont données à titre indicatif.

#### Conseils d'utilisation

Désinfecter le sachet avec de l'eau chlorée ou un produit approprié avant ouverture (sécher avec une serviette en papier si nécessaire).

Après ouverture du sachet, ajouter directement la culture dans le lait de fabrication. Agiter environ 30 minutes à vitesse lente.

Température d'incubation recommandée : 35 - 45°C (95-113°F), selon le temps désiré par le producteur.

#### Composition

Streptococcus thermophilus  
Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus  
Support:  
Saccharose  
Maltodextrines

#### Propriétés

- La forme lyophilisée facilite le stockage et la manutention des cultures.

- YO-MIX™ 300 LYO 10 DCU est un mélange de souches sélectionnées pour l'ensemencement direct des laits de fabrication. Ces souches ont été spécialement choisies et associées pour répondre à vos besoins en termes d'acidification, de texture et de goût.

- YO-MIX™ 300 LYO 10 DCU assure une acidification rapide jusqu'à un pH 4.60 - 4.50, puis une acidification plus lente pour un pH moins élevé. Ces caractéristiques permettent un parfait contrôle du pH pour une qualité de production optimale.

#### Spécifications physiques/chimiques

##### Normes d'activité acidifiante

Milieu test :

Lait stérilisé reconstitué (10% matières sèches)

Chauffé 20 min à 110°C. Standardisé à un pH 6,60

Température :

42 °C

Taux d'ensemencement :

20 DCU / 100 l

Delta pH :

1.35

Temps pour atteindre le delta pH :

<= 3.5 heures

#### Spécifications microbiologiques

Normes bactériologiques (données standard et méthodes de référence)

Coliformes	< 10 / g [1]
Enterococci	< 20 / g [2]
Levures	< 10 / g [3]
Moisissures	< 10 / g [3]
Staphylococci coagulase positive	< 10 / g [4]
Listeria monocytogenes	neg. / 25 g [5]
Salmonella	neg. / 25 g [6]

[1] NF V08-015, IDF 73A-1985

[2] Gélose bile esculine azide de sodium / 48 h à 37 °C

[3] NF V08-022, IDF 94B-1991

[4] NF V08-057, IDF 145A-1997

[5] NF V08-055, IDF 143A-1990

[6] NF V08-052, IDF 93B-1995

Les informations contenues dans cette publication sont fondées sur nos travaux de recherche et développement et sont, dans l'état actuel de nos connaissances, fiables. Toutefois, les utilisateurs doivent effectuer leurs propres essais afin de déterminer si nos produits sont adaptés à leurs besoins spécifiques et de définir le statut juridique de l'usage qu'ils prévoient de faire de ces produits. Les déclarations contenues dans ce document ne constituent en aucune manière une garantie expresse ou implicite et la société n'assume aucune responsabilité concernant la contrefaçon éventuelle de brevets.



CULTURES DIVISION  
cultures@danisco.com  
www.danisco.com

Page 2 / 2

**DANISCO**

First you add knowledge...

**PRODUCT DESCRIPTION - PD 207175-4.0FR**

**No. de produit 50577**

**YO-MIX™ 300 LYO 10 DCU**

YO-MIX™ Yogurt Cultures

**Stockage**

18 mois à compter de la date de production à <= 4°C

**Conditionnement**

Sachet triple couche (polyéthylène, aluminium et polyester).

**Quantité**

Unité de vente : 1 carton de 50 sachets.

**Pureté et législation**

YO-MIX™ 300 LYO 10 DCU répond aux exigences de la législation européenne applicables aux denrées alimentaires.

Les autres réglementations locales doivent systématiquement être consultées quant au statut de ce produit ; la législation liée à l'utilisation dans l'industrie alimentaire pouvant varier d'un pays à l'autre.

**Sécurité et manutention**

Fiche de Données de Sécurité disponible sur demande.

**Statut Kashar**

KASHER O-U-D

**Statut Halal**

Certifié Halal AHA

**Allergènes**

Le tableau ci-dessous indique la présence des allergènes et produits dérivés suivants:

Oui	Non	Allergènes	Description des composants
	X	blé	
	X	autres céréales contenant du gluten	
	X	crustacés	
	X	œufs	
	X	poisson	
	X	arachides	
	X	soja	
	X	lait (lactose inclus)	
	X	fruits à coques	
	X	céleri	
	X	moutarde	
	X	graines de sésame	
	X	Sulfite et dioxyde de soufre (> 10 mg/kg)	
	X	lupin	
	X	mollusques	

Les réglementations d'étiquetage des allergènes doivent systématiquement être consultées ; la législation pouvant varier d'un pays à l'autre.

**Renseignements complémentaires**

certifié ISO 9001  
Certifié ISO 22000

**Statut OGM**

YO-MIX™ 300 LYO 10 DCU n'est pas composé d'organismes génétiquement modifiés, n'en contient pas ou n'en est pas issu selon les définitions établies par le Règlement 1829/2003 (CE) et le Règlement 1830/2003 (CE) et du Conseil du 22 Septembre 2003.

Les informations contenues dans cette publication sont fondées sur nos travaux de recherche et développement et sont, dans l'état actuel de nos connaissances, fiables. Toutefois, les utilisateurs doivent effectuer leurs propres essais afin de déterminer si nos produits sont adaptés à leurs besoins spécifiques et de définir le statut juridique de l'usage qu'ils prévoient de faire de ces produits. Les déclarations contenues dans ce document ne constituent en aucune manière une garantie expresse ou implicite et la société n'assume aucune responsabilité concernant la contrefaçon éventuelle de brevets.

**ANEXO No. 11 TÉCNICA PARA EL RECUENTO DE BACTERIAS LÁCTICAS EN LA BEBIDA FERMENTADA LÁCTICA**

**PROCEDIMIENTO ESPECIFICO DE ENSAYO**

**Enumeración de Bacterias Lácticas**

Método de Referencia Badis, A., D. Guetarni, B. Moussa-Boudjemaa, D.E. Henni, M.E. Tornadijo and M. Kihal, 2004. Identification of cultivable lactic acid bacteria isolated from Algerian raw goats milk and evaluation of their technological properties. Food Microbiol., 21: 343-359.

**a) OBJETO**

El objeto de este procedimiento específico de ensayo es establecer el procedimiento para determinar la enumeración de bacterias lácticas

**b) ALCANCE**

Este procedimiento se aplica a todos los análisis de enumeración de bacterias lácticas usando el medio MRS

**c) PROCEDIMIENTO**

1. Usando diferentes pipetas estériles, prepare diluciones decimales de 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup>, y las que se considere necesarias, del homogenizado del alimento, por transferencia de 10 ml de la dilución previa a 90 ml del diluyente. Evitar la formación de espumas
2. Agite vigorosamente todas las diluciones 25 veces en un arco de 30 cm en 7 segundos.
3. Pipetear 0.1ml de cada dilución en las cajas petri conteniendo MRS agar, apropiadamente identificadas, por duplicado. Agitar nuevamente las diluciones 25 veces en un arco de 30 cm en 7 segundos si estas permanecen más de 3 minutos en reposo antes de ser sembradas en la placa petri.
4. Extender las alícuotas de 0.1 mL sobre la superficie del medio, tan pronto como sea

posible. Dejar secar la superficie de las placas por 15 minutos. Esparcir las muestras en la superficie del agar usando una asa de Digralsky o una pata de conejo.

5. Invertir la cajas petri e incubar inmediatamente  $72 \pm 2$  h a  $35^{\circ}\text{C}$ , o  $120 \pm 2$  h a  $30^{\circ}\text{C}$

NOTA: Serie de diluciones decimales de orden 10

- a. Las muestras de alimento que se presume tienen alta carga bacteriana ( yogurt, leche, productos lácteos) deberán ser diluidas
- b. Cuando sea necesario diluir la muestra, dividir la muestra a ser analizada en dos partes
- c. Analizar la parte 1 sin diluir
- d. Diluir la parte 2 asépticamente, con pipeta estéril tomar 10 mL de muestra y añadir a 90 mL de diluyente estéril. Esta es la dilución 1:10 o  $10^{-1}$
- e. Invertir la botella con la dilución 30 veces para mezclar homogéneamente las bacterias presentes
- f. Asépticamente, con pipeta estéril tomar 10 mL de la dilución 1:10 y añadir a 90 mL de diluyente estéril. Esta es la dilución 1:100 o  $10^{-2}$
- g. Homogenizar nuevamente y repetir hasta la dilución deseada

**d) CALCULOS**

$$C = n \times 10 \times f$$

Dónde:

C= UFC de bacterias lácticas

n= número de UFC contadas en la caja petri

10= factor para convertir el inóculo sembrado a 1 mL

f= factor de dilución

Se reporta como recuento de bacterias lácticas.....UFC/g o mL



**ANEXO No. 13 TABLA DE CORRECCIÓN DE DATOS PARA EL CÁLCULO DEL GRADO ALCOHÓLICO**

**TABLA 2. Corrección del grado alcohólico medido para referirlo a 20°C**

Grado aparente señalado por el alcoholómetro

C°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
Grado real a 20°C																									
10	1,8	2,9	3,9	4,9	6,0	7,1	8,1	9,2	10,3	11,4	12,6	13,7	14,9	16,0	17,2	18,4	19,6	20,8	22,0	23,1	24,3	25,5	26,6	27,7	28,8
11	1,8	2,8	3,8	4,9	5,9	7,0	8,1	9,1	10,2	11,3	12,4	13,6	14,7	15,9	17,0	18,2	19,3	20,5	21,7	22,8	24,0	25,1	26,2	27,3	28,4
12	1,7	2,7	3,6	4,8	5,9	6,9	8,0	9,0	10,1	11,2	12,3	13,4	14,5	15,7	16,6	17,9	19,1	20,2	21,4	22,5	23,6	24,7	25,8	26,9	28,0
13	1,7	2,7	3,7	4,7	5,8	6,8	7,9	8,9	10,0	11,1	12,2	13,3	14,0	15,5	16,6	19,7	18,8	19,9	21,1	22,2	23,3	24,4	25,5	26,6	27,6
14	1,6	2,6	3,6	4,7	5,7	6,7	7,8	8,8	9,9	11,0	12,0	13,1	14,2	15,3	16,4	17,5	18,6	19,7	20,0	21,9	23,0	24,0	25,1	26,2	27,2
15	1,5	2,5	3,5	4,6	5,6	6,6	7,7	8,7	9,8	10,8	11,9	12,9	14,0	15,1	16,2	17,2	18,3	19,4	20,5	21,6	22,6	23,7	24,8	25,8	26,9
16	1,4	2,4	3,5	4,5	5,5	6,5	7,6	8,6	9,6	10,7	11,7	12,8	13,8	14,9	15,9	17,0	18,1	19,1	20,2	21,2	22,3	23,4	24,4	25,4	26,5
17	1,3	2,3	3,4	4,4	5,4	6,4	7,4	8,4	9,5	10,5	11,5	12,6	13,6	14,7	15,7	16,7	17,8	18,8	19,9	20,9	22,0	23,0	24,1	25,1	26,1
18	1,2	2,2	3,2	4,3	5,3	6,3	7,3	8,3	9,3	10,3	11,4	12,4	13,4	14,4	15,5	16,5	17,5	18,6	19,6	20,6	21,6	22,7	23,7	24,7	25,7
19	1,1	2,1	3,1	4,1	5,1	6,1	7,1	8,2	9,2	10,2	11,2	12,2	13,2	14,2	15,2	16,3	17,3	18,3	19,3	20,3	21,3	22,3	23,3	24,4	25,4
20	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0	13,0	14,0	15,0	16,0	17,0	18,0	19,0	20,0	21,0	22,0	23,0	24,0	25,0
21	0,9	1,9	2,9	3,9	4,9	5,9	6,6	7,8	8,8	9,8	10,8	11,8	12,8	13,8	14,8	15,7	16,7	17,7	18,7	19,7	20,7	21,7	22,7	23,6	24,6
22	0,7	1,7	2,7	3,7	4,7	5,7	6,7	7,7	8,7	9,6	10,6	11,6	12,6	13,5	14,5	15,5	16,5	17,4	18,4	19,4	20,4	21,3	22,3	23,3	24,3
23	0,6	1,6	2,6	3,6	4,6	5,5	6,5	7,5	8,5	9,4	10,4	11,4	12,3	13,3	14,3	15,2	16,2	17,2	18,1	19,1	20,1	21,0	22,0	22,9	23,9
24	0,5	1,5	2,4	3,4	4,4	5,4	6,3	7,3	8,3	9,2	10,2	11,2	12,1	13,1	14,0	15,0	15,9	16,9	17,8	18,8	19,7	20,7	21,6	22,6	23,6
25	0,3	1,3	2,3	3,3	4,2	5,2	6,2	7,1	8,1	9,0	10,0	10,9	11,9	12,8	13,8	14,7	15,6	16,6	17,5	18,5	19,4	20,3	21,3	22,2	23,2
26	0,2	1,1	2,1	3,1	4,1	5,0	6,0	6,9	7,9	8,8	9,8	10,7	11,7	12,6	13,5	14,4	15,4	16,3	17,2	18,1	19,1	20,0	20,9	21,9	22,8
27		1,0	1,9	2,9	3,9	4,8	5,8	6,7	7,7	8,6	9,6	10,5	11,4	12,3	13,3	14,2	15,1	16,0	16,9	17,8	18,8	19,7	20,6	21,5	22,5
28		0,8	1,8	2,7	3,7	4,6	5,6	6,5	7,5	8,4	9,3	10,3	11,2	12,1	13,0	13,9	14,8	15,7	16,6	17,5	18,4	19,3	20,3	21,2	22,1
29		0,6	1,6	2,5	3,5	4,4	5,4	6,3	7,3	8,2	9,1	10,0	10,9	11,8	12,7	13,6	14,5	15,4	16,3	17,2	18,1	19	19,9	20,8	21,8
30		0,5	1,4	2,4	3,3	4,2	5,2	6,1	7,0	8,0	8,9	9,8	10,7	11,6	12,5	13,4	14,2	15,1	16,0	16,9	17,8	18,7	19,6	20,5	21,4

Grado aparente señalado por el alcoholómetro

C°	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
Grado real a 20°C																									
10	29,9	31,0	32,0	33,1	34,1	35,1	36,1	37,1	38,1	39,1	40,1	41,1	42,0	43,0	44,0	44,9	45,9	46,9	47,8	48,8	49,8	50,7	51,7	52,7	53,7
11	29,5	30,6	31,6	32,6	33,7	34,7	35,7	36,7	37,7	38,7	39,7	40,6	41,6	42,6	43,6	44,6	45,6	46,5	47,5	48,4	49,4	50,4	51,4	52,3	53,3
12	29,1	30,1	31,2	32,2	33,3	34,3	35,3	36,3	37,3	38,3	39,3	40,2	41,2	42,2	43,2	44,2	45,1	46,1	47,1	48,1	49,1	50,0	51,0	52,0	52,9
13	28,7	29,7	30,8	31,8	32,6	33,9	34,9	35,9	36,9	37,9	38,8	39,8	40,8	41,8	42,8	43,8	44,7	45,7	46,7	47,7	48,7	49,6	50,6	51,6	52,6
14	28,3	29,3	30,4	31,4	32,4	33,4	34,5	35,5	36,5	37,4	38,4	39,4	40,4	41,4	42,4	43,4	44,4	45,3	46,3	47,3	48,3	49,3	50,2	51,2	52,2
15	27,9	28,9	30,0	31,0	32,0	33,0	34,0	35,0	36,0	37,0	38,0	39,0	40,0	41,0	42,0	43,0	44,0	44,9	45,9	46,9	47,9	48,9	49,9	50,9	51,8
16	27,5	28,6	29,6	30,6	31,6	32,6	33,6	34,6	35,6	36,6	37,6	38,6	39,6	40,6	41,6	42,6	43,6	44,6	45,5	46,5	47,5	48,5	49,5	50,5	51,5
17	27,1	28,2	29,2	30,2	31,2	32,2	33,2	34,2	35,2	36,2	37,2	38,2	39,2	40,2	41,2	42,2	43,2	44,2	45,2	46,2	47,1	48,1	49,1	50,1	51,1
18	26,8	27,8	28,8	29,8	30,8	31,8	32,8	33,8	34,8	35,8	36,8	37,8	38,8	39,8	40,8	41,8	42,8	43,8	44,8	45,8	46,8	47,8	48,8	49,7	50,7
19	26,4	27,4	28,4	29,4	30,4	31,4	32,4	33,4	34,4	35,4	36,4	37,4	38,4	39,4	40,4	41,4	42,4	43,4	44,4	45,4	46,4	47,4	48,4	49,4	50,4
20	26,0	27,0	28,0	29,0	30,0	31,0	32,0	33,0	34,0	35,0	36,0	37,0	38,0	39,0	40,0	41,0	42,0	43,0	44,0	45,0	46,0	47,0	48,0	49,0	50,0
21	25,6	26,6	27,6	28,6	29,6	30,6	31,6	32,6	33,6	34,6	35,6	36,6	37,6	38,6	39,6	40,6	41,6	42,6	43,6	44,6	45,6	46,6	47,6	48,6	49,6
22	25,3	26,2	27,2	28,2	29,2	30,2	31,2	32,2	33,2	34,2	35,2	36,2	37,2	38,2	39,2	40,2	41,2	42,2	43,2	44,2	45,2	46,2	47,2	48,2	49,3
23	24,9	25,9	26,8	27,6	28,6	29,6	30,6	31,6	32,6	33,6	34,6	35,6	36,6	37,6	38,6	39,6	40,6	41,6	42,6	43,6	44,6	45,6	46,6	47,6	48,6
24	24,5	24,5	26,5	27,4	28,4	29,4	30,4	31,4	32,4	33,4	34,4	35,4	36,4	37,4	38,4	39,4	40,4	41,4	42,4	43,4	44,4	45,4	46,4	47,4	48,4
25	24,1	25,1	26,1	27,0	28,0	29,0	30,0	31,0	32,0	33,0	34,0	35,0	36,0	37,0	38,0	39,0	40,0	41,0	42,0	43,1	44,1	45,1	46,1	47,0	48,1
26	23,8	24,7	25,7	26,7	27,6	28,6	29,6	30,6	31,6	32,6	33,6	34,6	35,6	36,6	37,6	38,6	39,6	40,6	41,7	42,7	43,7	44,7	45,7	46,7	47,7
27	23,4	24,4	25,3	26,3	27,2	28,2	29,2	30,2	31,2	32,2	33,2	34,2	35,2	36,2	37,2	38,2	39,2	40,2	41,3	42,3	43,3	44,3	45,3	46,3	47,4
28	23,0	24,0	24,9	25,9	26,8	27,8	28,8	29,8	30,8	31,8	32,8	33,6	34,8	35,8	36,8	37,8	38,8	39,8	40,9	41,9	42,9	43,9	44,9	46,0	47,0
29	22,7	23,6	24,6	25,5	26,5	27,4	28,4	29,4	30,4	31,4	32,4	33,4	34,4	35,4	36,4	37,4	38,4	39,4	40,5	41,5	42,5	43,5	44,5	45,6	46,6
30	22,3	23,2	24,2	25,1	26,1	27,0	28,0	29,0	30,0	31,0	31,9	33,0	34,0	35,0	36,0	37,0	38,0	39,0	40,1	41,1	42,1	43,1	44,1	45,2	46,2



Grado aparente señalado por el alcoholómetro

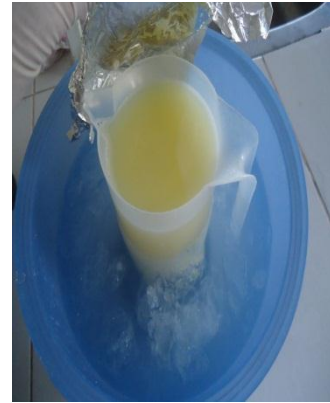
C°	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
Grado real a 20°C																									
10	54,6	55,6	56,6	57,6	58,5	59,5	60,5	61,5	62,4	63,4	64,4	65,4	66,3	67,3	68,3	69,3	70,3	71,2	72,2	73,2	74,2	75,1	76,1	77,1	78,1
11	54,3	55,3	56,2	57,2	58,2	59,2	60,1	61,1	62,1	63,1	64,1	65,0	66,0	67,0	68,0	69,0	69,9	70,9	71,9	72,9	73,8	74,8	75,8	76,8	77,8
12	53,9	54,9	55,9	56,9	57,8	58,8	59,8	60,8	61,8	62,7	63,7	64,7	65,7	66,7	67,7	68,6	69,6	70,6	71,6	72,6	73,5	74,5	75,5	76,5	77,5
13	53,6	54,5	55,5	56,5	57,5	58,5	59,5	60,4	61,4	62,4	63,4	64,4	65,4	66,3	67,3	68,3	69,3	70,3	71,3	72,2	73,2	74,2	75,2	76,2	77,2
14	53,2	54,2	55,2	56,1	57,1	58,1	59,1	60,1	61,1	62,1	63,1	64,0	65,0	66,0	67,0	68,0	69,0	70,0	70,9	71,9	72,9	74,1	74,9	75,9	76,9
15	52,8	53,8	54,8	55,8	56,8	57,8	58,8	59,7	60,7	61,7	62,7	63,7	64,7	65,7	66,7	67,7	68,6	69,6	70,6	71,6	72,6	73,9	74,6	75,6	76,5
16	52,5	53,5	54,4	55,4	56,4	57,4	58,4	59,4	60,4	61,4	62,4	63,4	64,4	65,3	66,3	67,3	68,3	69,3	70,3	71,3	72,3	73,6	74,3	75,2	76,2
17	52,1	53,1	54,1	55,1	56,1	57,1	58,1	59,1	60,0	61,0	62,0	63,0	64,0	65,0	66,0	67,0	68,0	69,0	70,0	71,0	72,0	73,3	73,9	74,9	75,9
18	51,7	52,7	53,7	54,7	55,7	56,7	57,7	58,7	59,7	60,7	61,7	62,7	63,7	64,7	65,7	66,7	67,7	68,7	69,7	70,6	71,6	73,0	73,6	74,6	75,6
19	51,4	52,4	53,4	54,4	55,4	56,4	57,4	58,4	59,3	60,3	61,3	62,3	63,3	64,3	65,3	66,3	67,3	68,3	69,3	70,3	71,3	72,6	73,3	74,3	75,3
20	51,0	52,0	53,0	54,0	55,0	56,0	57,0	58,0	59,0	60,0	61,0	62,0	63,0	64,0	65,0	66,0	67,0	68,0	69,0	70,0	71,0	72,3	73,0	74,0	75,0
21	50,6	51,6	52,6	53,6	54,6	55,6	56,6	57,6	58,6	59,7	60,7	61,7	62,7	63,7	64,7	65,7	66,7	67,7	68,7	69,7	70,7	72,0	72,7	73,7	74,7
22	50,3	51,3	52,3	53,3	54,3	55,3	56,3	57,3	58,3	59,3	60,3	61,3	62,3	63,3	64,3	65,3	66,3	67,3	68,3	69,3	70,4	71,7	72,4	73,4	74,4
23	49,9	50,9	51,9	52,9	53,9	54,9	55,9	56,9	57,9	58,9	60,0	61,0	62,0	63,0	64,0	65,0	66,0	67,0	68,0	69,0	70,0	71,0	72,0	73,0	74,1
24	49,5	50,5	51,5	52,5	53,6	54,6	55,6	56,6	57,6	58,6	59,6	60,5	61,6	62,6	63,6	64,6	65,7	66,7	67,7	68,7	69,7	70,7	71,7	72,7	73,7
25	49,1	50,2	51,2	52,2	53,2	54,2	55,2	56,2	57,2	58,2	59,3	60,3	61,3	62,3	63,3	64,3	65,3	66,3	67,3	68,4	69,4	70,4	71,4	72,4	73,4
26	48,8	49,8	50,8	51,8	52,8	53,8	54,8	55,9	56,9	57,9	58,9	59,9	60,9	61,9	63,0	64,0	65,0	66,0	67,0	68,0	69,0	70,1	71,7	72,1	73,1
27	48,4	49,4	50,4	51,4	52,5	53,5	54,5	55,5	56,5	57,5	58,5	59,5	60,6	61,6	62,6	63,6	64,6	65,7	66,7	67,7	68,7	69,7	70,7	71,8	72,8
28	48,0	49,0	50,0	51,1	52,1	53,1	54,1	55,1	56,2	57,2	58,2	59,2	60,2	61,2	62,3	63,3	64,3	65,3	66,3	67,4	68,4	69,4	70,4	71,4	72,5
29	47,6	48,7	49,7	50,7	51,7	52,7	53,8	54,8	55,8	56,8	57,8	58,9	59,9	60,9	61,9	62,9	64,0	65,0	66,0	67,0	68,0	69,1	70,1	71,1	72,1
30	47,3	48,3	49,3	50,3	51,3	52,4	53,4	54,4	55,4	56,5	57,5	58,5	59,5	60,5	61,6	62,6	63,6	64,6	65,7	66,7	67,7	68,7	69,8	70,8	71,8

Grado aparente señalado por el alcoholómetro

C°	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
Grado real a 20°C																									
10	79,0	80,0	81,0	81,9	82,9	83,9	84,8	85,8	86,8	87,7	88,7	89,6	90,6	91,5	92,5	93,4	94,3	95,2	96,1	97,1	98,0	98,9	99,7		
11	78,7	79,7	80,7	81,7	82,6	83,6	84,6	85,5	86,5	87,5	88,4	89,4	90,3	91,3	92,2	93,2	94,1	95,0	95,9	96,9	97,8	98,7	99,6		
12	78,4	79,4	80,4	81,4	82,3	83,3	84,3	85,3	86,2	87,2	88,2	89,1	90,1	91,0	92,0	92,9	93,9	94,8	95,7	96,7	97,6	98,5	99,4		
13	78,1	79,1	80,1	81,1	82,1	83,0	84,0	85,0	86,0	86,9	87,9	88,9	89,8	90,8	91,7	92,7	93,6	94,6	95,5	96,5	97,4	98,3	99,2		
14	77,8	78,8	79,8	80,8	81,8	82,7	83,7	84,7	85,7	86,7	87,6	88,6	89,6	90,5	91,5	92,5	93,4	94,4	95,3	96,3	97,2	98,1	99,1	100,0	
15	77,5	78,5	79,5	80,5	81,5	82,5	83,4	84,4	85,4	86,4	87,4	88,3	89,3	90,3	91,3	92,2	93,2	94,1	95,1	96,1	97,0	98,0	98,9	99,8	
16	77,2	78,2	79,2	80,2	81,2	82,2	83,2	84,1	85,1	86,1	87,1	88,1	89,1	90,0	91,0	92,0	93,0	93,9	94,9	95,9	96,8	97,8	98,7	99,7	
17	76,9	77,9	78,9	79,9	80,9	81,9	82,9	83,9	84,8	85,8	86,8	87,8	88,8	89,8	90,8	91,7	92,7	93,7	94,7	95,6	96,6	97,6	98,5	99,5	
18	76,6	77,6	78,6	79,6	80,6	81,6	82,6	83,6	84,6	85,6	86,6	87,5	88,5	89,5	90,5	91,5	92,5	93,5	94,4	95,4	96,4	97,4	98,4	99,3	
19	76,3	77,3	78,3	79,3	80,3	81,3	82,3	83,3	84,3	85,3	86,3	87,3	88,3	89,3	90,3	91,2	92,2	93,2	94,2	95,5	96,2	97,2	98,2	99,2	
20	76,0	77,0	78,0	79,0	80,0	81,0	82,0	83,0	84,0	85,0	86,0	87,0	88,0	89,0	90,0	91,0	92,0	93,0	94,0	95,0	96,0	97,0	98,0	99,0	100,0
21	75,7	76,7	77,7	78,7	79,7	80,7	81,7	82,7	83,7	84,7	85,7	86,7	87,7	88,7	89,7	90,7	91,8	92,8	93,8	94,8	95,8	96,8	97,8	98,8	99,8
22	75,4	76,4	77,4	78,4	79,4	80,4	81,4	82,4	83,4	84,4	85,4	86,5	87,5	88,5	89,5	90,5	91,5	92,5	93,5	94,6	95,6	96,6	97,6	98,6	99,7
23	75,1	76,1	77,1	78,1	79,1	80,1	81,1	82,1	83,1	84,1	85,2	86,2	87,2	88,2	89,2	90,2	91,3	92,3	93,3	94,3	95,4	96,4	97,4	98,5	99,5
24	74,7	75,8	76,8	77,8	78,8	79,8	80,8	81,8	82,8	83,9	84,9	85,9	86,9	87,9	89,0	90,0	91,0	92,0	93,1	94,1	95,1	96,2	97,2	98,3	99,3
25	74,4	75,4	76,5	77,5	78,5	79,5	80,5	81,5	82,6	83,6	84,6	85,6	86,6	87,7	88,7	89,7	90,8	91,8	92,8	93,9	94,9	96,0	97,0	98,1	99,2
26	74,1	75,1	76,1	77,2	78,2	79,2	80,2	81,2	82,3	83,3	84,3	85,3	86,4	87,4	88,4	89,5	90,5	91,6	92,6	93,7	94,7	95,8	96,6	97,9	99,0
27	73,8	74,8	75,8	76,9	77,9	78,9	79,9	80,9	82,0	83,0	84,0	85,1	86,1	87,1	88,2	89,2	90,2	91,3	92,4	93,4	94,5	95,6	96,6	97,7	98,8
28	73,5	74,5	75,5	76,5	77,6	78,6	79,6	80,6	81,7	82,7	83,7	84,8	85,8	86,6	87,9	88,9	90,0	91,0	92,1	93,2	94,3	95,3	96,4	97,5	98,6
29	73,2	74,2	75,2	76,2	77,3	78,3	79,3	80,3	81,4	82,4	83,4	84,5	85,5	86,6	87,6	88,7	89,7	90,8	91,9	92,9	94,0	95,1	96,2	97,3	98,5
30	72,8	73,9	74,2	75,9	76,9	78,8	79,0	80,0	81,0	82,1	83,1	84,2	85,2	86,3	87,3	88,4	89,5	90,5	91,6	92,7	93,8	94,9	96,0	97,1	98,3

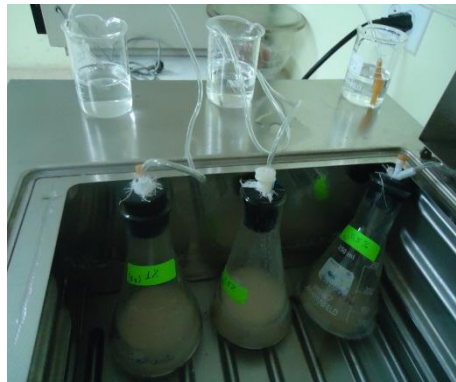
**ANEXO No. 14 FOTOGRAFÍAS DEL PROCESO DE ELABORACIÓN Y ANÁLISIS DEL PRODUCTO**

**ELABORACIÓN DEL PRODUCTO**



**BEBIDA FERMENTADA CON *Sacharomyces cerevisiae***





## ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DE LAS BEBIDAS

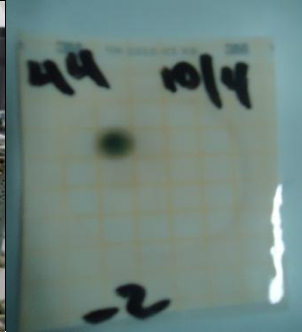




## ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO



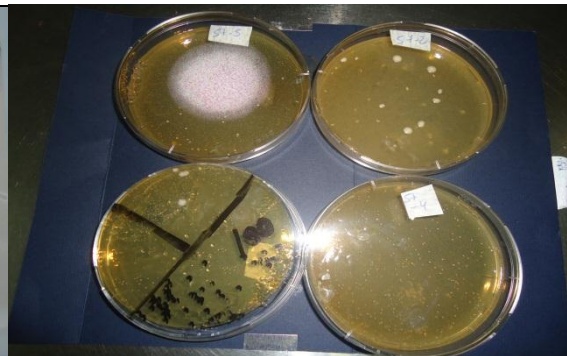
Coliformes totales



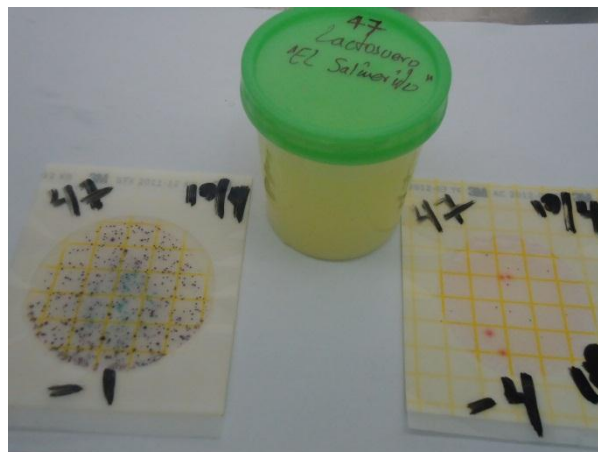
Mohos y levaduras



Aerobios mesófilos



*Staphylococcus aureus* Bacterias lácticas



**ANÁLISIS SENSORIAL (PRUEBA DE ACEPTABILIDAD)**



**ESPOCH- Facultad de Biotecnología  
Ambiental**



**ESCUELA Dr. Leonidas García**

ANEXO No. 15 ETIQUETA FINAL DEL PRODUCTO (BEBIDA NO FERMENTADA Y BEBIDA FERMENTADA LÁCTICA)

ETIQUETA DE LA BEBIDA SIN FERMENTAR

**Ingredientes:**  
Suero de leche, leche entera, azúcar, avena molida precocida, sabor artificial (esencia de vainilla), canela, estabilizante (gelatina sin sabor), preservante (Sorbato de potasio)  
CONTIENE LECHE, CONTIENE LACTOS, CONTIENE GLUTEN, CONTIENE LACTOSUERO.

**Manténgase en refrigeración**  
Tiempo máximo consumo: 21 días

Reg. San. En trámite  
NTE INEN 2564:2011

Fabricado por "El salnerito" S.A. Salinas de Guaranda Calle José Dubach y vía a Simiatug  
Bolívar - Ecuador

**Lacto Vena**  
**Nutritiva y Natural**  
**BEBIDA LÁCTEA A BASE DE LACTOSUERO Y AVENA**

Contenido Neto: 200 cm<sup>3</sup> Agítese antes de abrir

Información Nutricional	
Tamaño por porción	250 cm <sup>3</sup>
Porción por envase	1
Cantidad por porción	
Energía (Calorías)	572KJ(136kcal)
Energía de grasa (Calorías de grasa)	116KJ (27kcal)
% de valor diario	
Grasa total 3g	5%
Carbohidratos 22g	7%
Fibra dietética 0.41g	2%
Azúcares 9g	
Proteínas 5g	10%
Los porcentajes de valores diarios están basados en una dieta de 8380kj (2000 calorías)	
Lote: 001	PVP: \$ 0.54
ELAB. 2012 /06/ 29	
EXP. 2012 /07/ 20	

¡Mucho mejor!  
Ecuador

ETIQUETA DE LA BEBIDA FERMENTADA CON *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii subsp.bulgaricus*

**Ingredientes:**  
Suero de leche, leche entera, azúcar, avena molida precocida, sabor artificial (esencia de vainilla), fermento lacteo YO-MIX™300L YO 10 DCO, canela, estabilizante (gelatina sin sabor)  
CONTIENE LECHE, CONTIENE LACTOS, CONTIENE GLUTEN, CONTIENE LACTOSUERO.

**Manténgase en refrigeración**  
Tiempo máximo consumo: 21 días

Reg. San. En trámite  
NTE INEN 2564:2011

Fabricado por "El salnerito" S.A. Salinas de Guaranda Calle José Dubach y vía a Simiatug  
Bolívar - Ecuador

**Lacto Vena**  
**Nutritiva y Natural**  
**BEBIDA LÁCTICA A BASE DE LACTOSUERO Y AVENA**

Contenido Neto: 200 g Agítese antes de abrir

Información Nutricional	
Tamaño por porción	200 cm <sup>3</sup>
Porción por envase	1
Cantidad por porción	
Energía (Calorías)	615KJ(147kcal)
Energía de grasa (Calorías de grasa)	97KJ (23kcal)
% de valor diario	
Grasa total 3g	4%
Carbohidratos 24g	8%
Fibra dietética 0.25g	1%
Azúcares 8g	
Proteínas 7g	14%
Los porcentajes de valores diarios están basados en una dieta de 8380kj (2000 calorías)	
Lote: 001	PVP: \$ 0.54
ELAB. 2012 /06/ 29	
EXP. 2012 /07/ 20	

¡Mucho mejor!  
Ecuador



ANEXO No. 16 UBICACIÓN GEOGRÁFICA DE SALINAS DE GUARANDA – BOLIVAR

