

UNIVERSIDAD NACIONAL “HERMILIO VALDIZÁN”

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**



**“OBTENCIÓN DE UNA BEBIDA FERMENTADA A
BASE DE LACTOSUERO”**

Tesis para optar el título de:
INGENIERO AGROINDUSTRIAL

Tesistas:

**Bach. FRANCISCA NINFA TELLO GAMARRA
Bach. SHIRLEY MARIA VILLAVICENCIO SALVADOR**

Asesor:

Dr. SERGIO GRIMALDO MUÑOZ GARAY

HUANUCO – PERU

2019

DEDICATORIA

A Dios por llenarnos de bendiciones.

A nuestros padres por su apoyo incondicional en todo este tipo de formación profesional.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar a Dios por guiar nuestros caminos y permitirnos seguir nuestros estudios logrando culminar la carrera universitaria.

Al Dr. Sergio Grimaldo Muñoz Garay por su asesoramiento y las facilidades brindadas en esta etapa de nuestra formación profesional.

A nuestros queridos padres y familiares, por su paciencia, confianza, apoyo incondicional y sabios consejos que han permitido que logremos culminar el presente trabajo de tesis.

A nuestros maestros catedráticos de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, de la Universidad Nacional Hermilio Valdizán por sus conocimientos impartidos los pondremos en práctica en el día a día de nuestra labor profesional.

A todas aquellas personas que contribuyeron en la realización de nuestra tesis; y a todos nuestros amigos por los gratos momentos vividos que han sido parte de nuestra vida y nuestros crecimientos, durante los años de permanencia en la Universidad Nacional Hermilio Valdizán.

RESUMEN

El lactosuero representa 90% del volumen total de la leche, y contiene la mayor parte de los componentes solubles en agua, como carbohidratos, minerales, vitaminas hidrosolubles y proteínas solubles. Se utiliza como alimento para animales, como fertilizante, o generalmente es desechado al medio ambiente como consecuencia de la ausencia de métodos económicamente viables que permitan su utilización, lo que ocasiona contaminación ambiental. La investigación tuvo como objetivo determinar la concentración adecuada de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) y de azúcar en la obtención de una bebida fermentada a base de lactosuero. Las concentraciones de levadura fueron: 5, 10, 15 y 20 g/L y las de azúcar: 23, 25 y 27 °Brix. Para la elección de las concentraciones más idóneas se realizaron evaluaciones sensoriales y fisicoquímicas. Se llegó a la conclusión que, a partir de lactosuero dulce con la adición de azúcar hasta alcanzar 23 ° Brix y con la adición de 0,125 % de *Saccharomyces Cerevisiae*, respecto a la cantidad de lactosuero, se logra obtener una bebida fermentada con buenas características sensoriales y con las siguientes características fisicoquímicas: 12,17 °Brix, pH 3,28; acidez total 4,19 g/L ac. tartárico; acidez volátil 0,75 g/L de ac. acético; grados alcohólicos 11 %Vol.; sulfatos 0,60 g/L; cloruros 0,20 g/L; extracto seco total 17 g/L; estos resultados se encuentran de dentro de lo especificado por la Norma Técnica Peruana 212.014.

Palabras clave: alcohol, bebida láctea, *Saccharomyces cerevisiae*.

SUMMARY

The whey represents 90% of the total volume of milk, and contains most of the water-soluble components, such as carbohydrates, minerals, water-soluble vitamins and soluble proteins. It is used as animal feed, as a fertilizer, or is generally discarded into the environment as a result of the absence of economically viable methods that allow its use, which causes environmental pollution. The objective of the investigation was to determine the appropriate concentration of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) and sugar in obtaining a fermented beverage based on whey. The concentrations of yeast were: 5, 10, 15 and 20 g / L and those of sugar: 23, 25 and 27 ° Brix. Sensory and physicochemical evaluations were carried out to choose the most suitable concentrations. It was concluded that, from sweet whey with the addition of sugar to 23 ° Brix and with the addition of 0.125% of *Saccharomyces Cerevisiae*, with respect to the amount of whey, it is possible to obtain a fermented beverage with good sensory characteristics and with the following physicochemical characteristics: 12.17 Brix, pH 3.28; total acidity 4.19 g / L ac. tartaric; volatile acidity 0.75 g / L of ac. acetic; alcoholic grades 11% Vol .; sulfates 0.60 g / L; chlorides 0.20 g / L; total dry extract 17 g / L; These results are within what is specified by Peruvian Technical Standard 212.014.

Keywords: alcohol, milk drink, *Saccharomyces cerevisiae*.

ÍNDICE

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
RESUMEN	iv
SUMARY	v
I. INTRODUCCIÓN	01
II. MARCO TEÓRICO	03
2.1 FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	03
2.1.1. Lactosuero	03
2.1.2. Bebidas fermentadas	11
2.1.3 Levaduras	23
2.2. ANTECEDENTES	34
2.3. HIPÓTESIS	31
2.3.1 Hipótesis general	31
2.3.2. Hipótesis específicas	31
2.4. VARIABLES Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	31
2.4.1. Variable independiente	31
2.4.2. Variable dependiente	31
2.4.3. Operacionalización de variables	31
III. MATERIALES Y MÉTODOS	33
3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN	33
3.2. TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN	33
3.2.1. Tipo de Investigación	33
3.2.2 Nivel de Investigación.	33
3.3. POBLACIÓN, MUESTRA Y UNIDAD DE ANÁLISIS	33
3.3.1. Población	33
3.3.2. Muestra	33
3.3.3. Unidad de análisis	34
3.4. TRATAMIENTOS EN ESTUDIO	34
3.4.1. Evaluación de la concentración de levadura en la obtención bebida fermentada a base de lactosuero	34
3.4.2. Evaluación de la concentración de azúcar (°Brix) en la obtención bebida fermentada a base de lactosuero.	34
3.5. PRUEBA DE HIPÓTESIS	35
3.5.1. Diseño de la investigación	36
3.5.2. Datos registrados	37
3.5.3. Técnicas e instrumentos de recolección y procesamiento de la información	37
3.6. MATERIALES Y EQUIPOS	38
3.6.1. Materia prima	38
3.6.2. Insumos	38

3.6.3.	Equipo y materiales	38
3.6.4.	Reactivos.	39
3.7.	CONDUCCIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	39
3.7.1.	Caracterización físico químico del lactosuero dulce de queso	39
3.7.2.	Evaluación sensorial y fisicoquímica de la concentración adecuada de levadura en la obtención de la bebida fermentada a base de lactosuero	40
3.7.3.	Evaluación sensorial y fisicoquímica de la concentración adecuada de azúcar (° Brix) en la obtención de la bebida fermentada a base de lactosuero	44
IV.	RESULTADOS	46
4.1.	CARACTERIZACIÓN FÍSICO QUÍMICO DEL LACTOSUERO	46
4.2.	EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE LEVADURA EN LA ELABORACIÓN DE BEBIDA FERMENTADA A BASE DE LACTOSUERO	47
4.3.	EVALUACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE AZÚCAR (°Brix) EN LA ELABORACIÓN DE BEBIDA FERMENTADA A BASE DE LACTOSUERO	50
V.	DISCUSIÓN	55
5.1.	DE LA CARACTERIZACIÓN FÍSICO QUÍMICO DEL LACTOSUERO DULCE	55
5.2.	EVALUACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE LEVADURA EN LA ELABORACIÓN DE BEBIDA FERMENTADA A BASE DE LACTOSUERO	57
5.3.	EVALUACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE AZÚCAR EN LA ELABORACIÓN DE BEBIDA FERMENTADA A BASE DE LACTOSUERO	58
VI.	CONCLUSIONES	61
VII.	RECOMENDACIONES	62
VIII.	LITERATURA CITADA	62
	ANEXOS	64

I. INTRODUCCIÓN

En el proceso de obtención de quesos al líquido que se separa de la leche cuando ésta se coagula es denominada lactosuero, este líquido está constituido por todos los componentes de la leche que no se integran en la coagulación de la caseína. Aproximadamente, de 10 litros de leche de vaca se puede producir de 1 kg de queso cerca de 8 litros de lactosuero. Esto representa cerca del 90% del volumen de la leche que contiene la mayor parte de los compuestos hidrosolubles de ésta, el 95% de lactosa (azúcar de la leche), el 25% de las proteínas y el 8% de la materia grasa; Sin embargo, su composición varía dependiendo del origen de la leche y del tipo de queso elaborado, pero en general el contenido aproximado es de 93.1% de agua, 4,9% de lactosa, 0,9% de proteína cruda, 0,6% de cenizas (minerales), 0,3% de grasa, 0,2% de ácido láctico y vitaminas hidrosolubles. Cerca del 70 % de la proteína cruda que se encuentra en el suero corresponde a un valor nutritivo superior al de la caseína (Carrillo, 2002; Kirk y Sawyer, 2005). La composición porcentual reportada, indican el enorme desperdicio de nutrientes presentes en el suero de leche, debido a que gran parte de éste es descartado y vertido en ríos y suelos causando problemas de contaminación (Vijay, 2012 y Elpidia, 2013).

El importante valor nutricional del suero, motiva a las prácticas agroindustriales, ambientales y de salud pública a la continua búsqueda de tecnologías que permitan el aprovechamiento de este subproducto para su reutilización en la fortificación y/o enriquecimiento de alimentos y en la elaboración de nuevos productos. (Hernández, 2013).

El suero lácteo es tratado actualmente por medio de varias tecnologías gracias a las cuales se obtienen concentrados de proteína de suero con un 40% a 80% de proteínas, y aislados de proteínas de suero con porcentajes proteínicos mayores al 80%, lo que permite el amplio uso de estos productos, principalmente, en la industria alimentaria. Una de las aplicaciones más comunes, dadas las propiedades de las proteínas que lo componen, es como sustituto de otros ingredientes y componentes usados en esta industria.

La provincia de dos de mayo región Huánuco, por sus características climatológicas y sociales, cuenta con medianos establos ganaderos dedicados a la producción de carne y leche. De la producción acumulada de leche en esta provincia, se estima que el 90 % se destina para la elaboración de queso fresco y el lactosuero remanente de la producción es desechada generalmente a los desagüaderos que terminan en las vertientes de ríos aledaños, lo que representa pérdidas económicas, pérdidas nutricionales y contaminación ambiental, como se describió anteriormente. De aquí que es necesario la búsqueda de tecnologías adaptables a la zona que permitan su aprovechamiento agroindustrial.

La tecnología especializada para obtener bebidas fermentadas está bastante difundida y en la región Huánuco es significativo el consumo de bebidas alcohólicas. En tal sentido, con la investigación buscamos obtener una bebida fermentada tipo vino a base de lactosuero, estableciendo sensorial y fisicoquímicamente sus parámetros básicos como: concentración de azúcar y levadura, para que el producto final pueda ser propuesta para su comercialización. De esta manera se buscó contribuir al aprovechamiento del lactosuero, disminuyendo la contaminación y generando una propuesta de valor agregado a la producción láctea de las personas dedicados en esta actividad en nuestra región.

Los objetivos planteados fueron:

- Determinar la concentración adecuada de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) para la obtención de una bebida fermentada a base de lactosuero.
- Determinar la concentración de azúcar (sacarosa) para la obtención de una bebida fermentada a base de lactosuero.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1.1. Lactosuero

Según Valencia y Ramírez (2009), el lactosuero es la sustancia líquida obtenida por la separación del coágulo de leche en la elaboración del queso, y es considerado como un efluente (descarga de líquido empleado en los procesos industriales).

El lactosuero es el líquido remanente que resulta de la coagulación de las proteínas caseicas de la leche durante la elaboración de queso. Representa el 90% del volumen total de la leche, y contiene la mayor parte de los componentes solubles en agua, tales como carbohidratos, minerales, vitaminas hidrosolubles y proteínas solubles (Hernández-Ledesma *et al.*, 2008). El Lactosuero conserva el 50 % del total de los sólidos de la leche y el 20 % de las proteínas (Smithers, 2008).

Según las propiedades fisicoquímicas, un lactosuero puede ser clasificado como ácido o dulce dependiendo de cuál haya sido el proceso que se haya llevado para la elaboración del queso (Miranda *et al.*, 2009).

Un suero ácido es proveniente de la fabricación de quesos frescos de pasta blanda, obtenidos a partir de leche de vaca y/o de cabra. En estos sueros, la lactosa se ha transformado en ácido láctico, son ricos en calcio, fósforo y el pH es menor a 4,5. El suero ácido es muy mineralizado pues contiene más del 80 % de los minerales de la leche de partida; el ácido láctico secuestra el calcio del complejo de paracaseinato cálcico, produciendo lactato cálcico. Un lactosuero dulce, en cambio proviene de la fabricación de quesos de pasta cocida/prensada y quesos provenientes de leche de vaca y/o de oveja. Este suero es pobre en ácido láctico, en calcio, fósforo y el pH es mayor a 6,0. (Callejas *et al.*, 2012).

Parzanese (2008) menciona que, de los dos tipos de suero, el dulce posee mejores aptitudes para el procesamiento y obtención de subproductos de mayor valor agregado. Este presenta aproximadamente 95 % de lactosa, 25 % de proteínas y 8 % de la materia grasa que contiene la leche.

Se estima que anualmente se generan a nivel mundial 118×10^6 t de lactosuero, lo que equivale a 7×10^6 t de sólidos (Cruz *et al.*, 2009). Los avances tecnológicos han permitido que se utilice aproximadamente el 50 % del lactosuero producido, el cual se transforma principalmente en suero en polvo, aislado de proteína de suero, bioetanol, biopolímeros, hidrógeno, metano, electricidad y probióticos (Yadav *et al.*, 2015). El el lactosuero remanente se utiliza como alimento para animales, como fertilizante, o es desechado al medio ambiente (Jauregi y Welderufael, 2010). Esto último es consecuencia de la ausencia de métodos económicamente viables que permitan su utilización, lo que ocasiona contaminación ambiental debido a su alta (45000-60000 ppm) demanda biológica de oxígeno (Arora *et al.*, 2013). Esta condición ha hecho que el lactosuero sea considerado como uno de los efluentes de mayor importancia en los países en vías de desarrollo (Bainotti *et al.*, 1987).

2.1.1.1. Composición química del lactosuero

Todos los componentes de la leche que no se retienen en el queso forman parte del lactosuero. La composición del suero de leche aporta con un valor significativo de proteínas, aproximadamente de 0,85 a 1 gramo de suero en 100 g y con un alto valor biológico por parte del organismo humano. Contiene de las vitaminas liposolubles a la vitamina A, con un contenido de 16 mg en 100 g de suero de leche; seguido de las vitaminas hidrosolubles del complejo B como el ácido pantoténico (B5) con un contenido de 0,383 mg, cianocobalamina (B12) con 0,277 mg, riboflavina (B2) con 0,158 mg, niacina (B3) con 0,074 mg, tiamina (B1) con 0,036 mg, piridoxina (B6) con 0,031 mg y 0,10 mg de ácido ascórbico (vitamina C) en 100 g de lactosuero. Además, proporciona bajo contenido en grasa con un contenido de 0,36 g en 100 g de lactosuero y bajo contenido calórico de 27 kcal, siendo aproximadamente la mitad del que proporciona la leche (61 kcal). Tiene sales minerales de gran biodisponibilidad para el organismo en el que se destaca el contenido de potasio, lo que favorece a la eliminación de líquidos y toxinas. Con respecto al potasio, contiene 161 mg del mineral en 100 g de suero de leche, seguido de calcio con 47 mg, sodio 54 mg, fósforo 46 mg, magnesio 8 mg, zinc 0,13 mg y hierro con 0,06 mg (Sevilla, 2003).

Dada su composición química, el lactosuero está considerado como un subproducto altamente nutritivo (Dragone *et al.*, 2009). Esta composición depende de la etapa de lactancia, especie, alimentación y raza del animal, así como de la estación del año (El-Hatmi *et al.*, 2007) y principalmente de las técnicas de procesamiento empleadas durante la elaboración del queso del cual proviene (ver Tabla 1).

Tabla 1. Composición química del lactosuero % P/V

Componente	Dulce	Ácido
Agua	93	93
Grasa	0,3	0,1
Proteína	0,8	0,6
Lactosa	4,9	4,3
Ceniza	0,56	0,46
Ácido láctico	0,2 – 0,3	0,7 – 0,8

Fuente: Dragone *et al.* (2009)

Existen dos tipos de suero, el que se origina cuando la fracción de caseína de la leche se separa mediante acción enzimática del resto de las proteínas lácteas, se denomina 'suero dulce'; por otro lado, el 'suero ácido' se obtiene tras la coagulación ácida de las caseínas a un pH<5. Las principales diferencias entre los dos tipos de lactosuero radican en el contenido de minerales, acidez y la composición química de la fracción proteica (Panesar *et al.*, 2007). La lactosa es el principal componente sólido del lactosuero, éste contiene entre 45 y 50 g/L, lo cual representa el 50% del total de los sólidos; las proteínas se encuentran entre 6 a 8 g/L, contiene 0,5 g· g/L de ácido láctico, y cantidades apreciables de ácido cítrico, compuestos nitrogenados no proteicos (urea y ácido úrico) y vitaminas del grupo B (Dragone *et al.*, 2009). A pesar de sus propiedades nutritivas, en algunos países se le considera un contaminante ambiental (Rathi *et al.*, 2015) ya que en ocasiones es vertido al suelo y/o ríos, afectando seriamente la disponibilidad de oxígeno (Liang *et al.*, 2006). En cuanto al impacto ecológico, se estima que por cada 1000 litros de lactosuero se genera una demanda bioquímica de oxígeno (DBO) de 35 kg y una demanda química

de oxígeno (DQO) de 68 kg, lo que es equivalente a la fuerza contaminante de las aguas negras producidas por 450 personas en un día (Liang *et al.*, 2006).

Proteínas del suero

Las proteínas del suero son completas, ya que contienen todos los aminoácidos esenciales, además de ser la fuente más rica conocida de aminoácidos ramificados, como la isoleucina y valina en especial leucina que compone casi la tercera parte de los músculos del esqueleto en el cuerpo humano y desempeña un papel muy importante en la síntesis de proteínas. El suero de la leche es rico en aminoácidos que son de fácil digestión y absorción, lo cual es ventajoso cuando hay demanda proteica en el organismo (Theran, 2012). Los alimentos proteicos de alto valor biológico contienen aminoácidos esenciales, aminoácidos ramificados y leucina, que se asocian a la pérdida de peso, reducción de grasa corporal, aumento de la síntesis de proteínas musculares, reducción de la secreción de insulina y nivel de triglicéridos plasmáticos (Conti *et al.*, 2012).

Estudios han indicado que la proteína de suero de leche puede ayudar a reducir el riesgo y mejorar el resultado de tratamientos de la enfermedad en ciertos tipos de cáncer. También, mejora la función inmune y reduce la presión arterial (Theran, 2012). Los alimentos enriquecidos con lactosuero aumentan la calidad sensorial de los productos y sus niveles de proteínas son recomendables para la alimentación infantil (Camejo *et al.*, 2006).

Las proteínas contenidas en el lactosuero tienen el justo balance de los aminoácidos esenciales y no esenciales para un rendimiento óptimo. La proteína del suero de leche aumenta el rendimiento y la potencia de los atletas, ya que contiene un alto nivel de aminoácidos de cadena ramificada lo que previene las rupturas musculares. Las proteínas no sólo son necesarias para el crecimiento y la reparación muscular; se necesitan también para varias funciones del cuerpo humano, desde la producción de hormonas hasta la función del sistema inmune (Sangrange, 2010).

Lactosa

La lactosa es un disacárido que se compone de galactosa beta (1-4) glucosa; Es el glúcido dominante de la leche que actúa como glúcido estructural del sistema nervioso; la lactosa es un isómero que contiene una estructura cíclica, por lo que designa dos anómeros denominados y del mismo disacárido. Existe un equilibrio entre los isómeros y las formas anhidras e hidratadas. Se ha dicho que la lactosa se encuentra en forma en la leche humana, lo que contribuye una ventaja desde el punto de vista nutritivo. Por poseer un grupo aldehído libre es un azúcar reductor. Los azúcares reductores interactúan con los grupos aminos que son suministradores de proteína a través de la reacción de Maillard. El poder edulcorante de la lactosa es bajo en relación con la sacarosa, fructosa y glucosa; Presenta del 20 a 30 % del poder edulcorante de la sacarosa. Es interesante resaltar que el poder reductor de la lactosa es considerablemente más débil que el de la glucosa; 70 partes de glucosa reducen al licor de fehling lo mismo que 100 de lactosa (Alais, 2003). La lactosa tiene una solubilidad de 21,6 g por 100 g de agua a 25 C. Además, es menos soluble que la sacarosa y glucosa. La solubilidad de la lactosa disminuye si la solución contiene sacarosa (Huginin, 1999).

Entre sus características, la lactosa, es una buena fuente de energía para el cuerpo, contiene bajo poder cariogénico, es recomendable para diabéticos, por su lenta y gradual absorción en el organismo en una porción de 35 a 50 g/día; además, tiene la capacidad de fijar aromas y de adsorber pigmentos, es soluble en agua, de baja higroscopicidad, tiene una rotación específica de 55 y por último, eleva la estabilidad química, física y microbiológica ante la humedad. La lactosa también, mejora la solubilidad y disponibilidad del mineral calcio, al aumentar la concentración de ácido láctico y disminuir el pH en el tracto intestinal; participa en el transporte de la lactosa formando complejos solubles con el calcio. También, se considera que la mayoría de las personas intolerantes a la lactosa pueden consumirla en pequeñas cantidades aproximadamente 12 g/día (Posada *et al.*, 2011). La lactosa constituye la parte esencial del extracto seco de los sueros, en los que se encuentra en un porcentaje del 70 al 75 %. En la transformación experimental del suero tras la separación de la cuajada de la caseína y materia grasa en quesería, la lactosa se encuentra en proporción de 40 a 50 g/L (Alais, 2003). La lactosa ha sido un componente despreciado de la

leche de vaca, por no tener aplicación para su consumo al natural. Hoy en día, la situación ha evolucionado, ya que se ha adquirido el conocimiento de métodos de recuperación y de las amplias posibilidades de utilización de los lactosueros. Aislada de la leche, la lactosa tiene varias aplicaciones, ya sea formando parte de productos dietéticos como soporte y diluyente de diversas drogas en farmacia o como componente de los medios de cultivo de mohos y actinomicetos en la industria de los antibióticos como es el caso de la penicilina. La concentración de lactosa en el lactosuero se reduce al ser transformada en ácido láctico durante la fermentación. Este fenómeno reduce los riesgos de intolerancia y adicionalmente, el efecto acidificante del ácido láctico evita el uso de acidulantes artificiales. Las cuales tendrán menor contenido de lactosa, mayor concentración de aminoácidos libres, mejor digestibilidad de sus proteínas y reducido contenido alergénico (Conti *et al.*, 2012).

Sales minerales

El suero de leche contiene minerales entre los cuales tiene cantidades de potasio, en una proporción de 3 a 1 respecto al sodio, lo que favorece a la eliminación de líquidos y toxinas. También, se destaca por su elevado contenido de calcio, fósforo, magnesio y oligoelementos como el zinc, hierro y cobre; formando todos ellos sales de gran biodisponibilidad para el buen funcionamiento del organismo. El calcio es un elemento principal de los huesos. Es imprescindible para llevar a cabo muchas funciones del cuerpo, como funciones metabólicas, actividades enzimáticas, hormonales, en el transporte de oxígeno, la coagulación de la sangre, el funcionamiento de los nervios y músculos; para que junto con el fósforo cumplan estas distintas actividades en el organismo. El magnesio interviene en la correcta asimilación del calcio y además participa en el correcto funcionamiento del músculo cardíaco. El fósforo mejora la capacidad de concentración, la memoria y puede fortalecer el sistema nervioso. El zinc, el hierro y el cobre actúan de forma sinérgica como potentes antioxidantes, protegiendo las membranas celulares, mejorando el sistema inmunitario y favoreciendo el proceso digestivo (Sevilla, 2013).

La absorción de calcio al igual que la del fósforo se realiza en el duodeno; se relaciona con la absorción del fósforo y los otros minerales importantes

constituyentes de los huesos. La vitamina D es esencial para la absorción adecuada del calcio y del fósforo. La función principal del fósforo en el cuerpo es la de combinarse con el calcio para formar fosfato cálcico, que es el elemento esencial para constituir huesos y dientes. El hueso es la mayor reserva de calcio y fósforo en el cuerpo humano. El fósforo y el calcio se encuentran en igual proporción en el organismo, de tal manera que, la abundancia o carencia de uno afecta a la absorción del otro. Más bien, el problema lo tenemos con el exceso de fósforo que se produce, esto va a dificultar la absorción del calcio, que en un futuro va a ser más difícil de conseguir. Existe cierta competencia entre la absorción de calcio y magnesio, así cuando disminuyen los aportes de calcio, aumenta la absorción de magnesio (Latham, 2002).

El potasio es el tercer mineral más abundante en nuestro cuerpo, por detrás del calcio y el fósforo. Este mineral es responsable junto con el sodio de la regulación de los niveles de agua en el organismo, actuando como electrólito o catión, lo que garantiza que la célula se mantenga hidratada para la producción de impulsos eléctricos en el sistema nervioso. El potasio, regula la presión celular y el balance de agua en el organismo y disminuye los efectos negativos del exceso de sodio. Está implicado en el funcionamiento del sistema nervioso, en la contracción muscular y el mantenimiento de los músculos; funciones similares a las del sodio. Por medio de estos procesos, el potasio y el sodio también colaboran en el mantenimiento de un nivel razonable de acidez en el medio interno. A diferencia, del sodio que está distribuido en todos los tejidos y fluidos corporales principalmente extracelulares, el potasio está distribuido a nivel intracelular. En el caso de una persona deportista el potasio se excreta a través del sudor, una señal de su carencia es tener los músculos rígidos, la carencia de sodio y potasio es uno de los factores importantes en la hipertensión arterial, por lo que es necesario mantener en equilibrio los niveles de estos iones en el organismo (Higuero, 2007).

2.1.1.2. Usos del lactosuero

El Lactosuero es una fuente de proteína de alta calidad económicamente accesible (Luhovyy *et al.*, 2007). El 50 % del lacto suero producido a nivel mundial es tratado y transformado en productos alimenticios. El 45 % es utilizado directamente en forma líquida, 30% se deshidrata para su

uso como polvo, 15 % se industrializa para extraer lactosa y con el resto se elabora concentrado proteico de lactosuero en polvo (Panesar *et al.*, 2007). En países como Nueva Zelanda y Japón, esta materia prima se utiliza en la elaboración de fórmulas lácteas, pastas dentífricas, alimentos nutracéuticos, pomadas antifúngicas y en la industria cosmetológica (Baró *et al.*, 2001). Además, se emplea en la elaboración de productos lácteos, cárnicos, panadería, bebidas, postres, confitería, productos farmacéuticos, formulaciones infantiles y alimentos dietéticos, entre otros (Elpidia, 2013). Uno de los usos más comunes del LS es como ingrediente en la producción de bebidas (Baccouche *et al.*, 2013; Varghese *et al.*, 2014). Éstas se caracterizan por proporcionar energía, regular la temperatura del cuerpo, evitar la deshidratación y calmar la sed (Shaikh *et al.*, 2001). Como se mencionó, el lacto suero es una fuente barata de proteína y, por lo tanto, la elaboración de bebidas a base de este, a escala comercial, tiene ventajas económicas (Shaikh *et al.*, 2001). Se ha mencionado que esta materia prima, altamente nutritiva, podría sustituir a la leche (Almeida *et al.*, 2009). Otro uso común que se le da a este subproducto en la industria alimentaria, es para la producción de requesón o queso ricotta (Cujano-Guambo, 2016).

De acuerdo a Alais (2003) el lactosuero es utilizado para la elaboración de bebidas y las clasifican en:

- Bebidas límpidas, dulces, aromatizadas, no alcohólicas, gaseosas o no, obtenidas a partir del lactosuero desproteinizado. Puede reducirse la adición de azúcar mediante hidrólisis de la lactosa con excepción de algunos éxitos locales, como en el caso de la “Rivella” suiza y holandesa, este tipo de bebidas esta poco desarrollado.
- Bebidas proteinizadas, en forma de leche, tras homogenización con la nata, o en forma de mezclas de zumo e frutas o de legumbres. Están poco extendidas
- Bebidas alcohólicas: en cervecería se ensaya la introducción del lactosuero hidrolizado en el mosto. Puede hacerse un vino de lactosuero, con o sin adición de azúcar, con o sin adición de aromas.

2.1.2. Bebidas fermentadas

Nielsen *et al.*, (2003) La fermentación alcohólica, es un proceso anaeróbico realizado por levaduras y algunas clases de bacterias. Los procesos catabólicos inician luego de que los azúcares son transformados en glucosa-6-fosfato (G6P) o fructosa-6-fosfato (F6P). A partir de allí se desarrolla la glucólisis y el metabolismo del piruvato. Luego de la glicolisis, en las levaduras, el piruvato se descarboxila a aldehído para la generación de etanol, sin la intervención de Acetil-CoA. El etanol es el producto principal del metabolismo fermentativo de las levaduras, sin embargo, se generan metabolitos secundarios.

Gonzales (2011) señala, para hacer una bebida alcohólica fermentada, a diferencia de hacer vino de uva, deberán considerarse ciertos atributos para elegir la materia prima más adecuada. El fruto o la materia prima a utilizarse, debe tener suficiente azúcar (carbohidrato) para producir alcohol, acidez justa para asegurar el desarrollo de la levadura y aromático para conservar su atractivo aun en la dilución.

2.1.2.1. Definiciones generales relacionadas con el producto obtenido

Según NTP (2008), una bebida alcohólica es producto apto para el consumo humano, obtenido por procesos de fermentación principalmente alcohólica de la materia prima agrícola que sirve como base, utilizando levadura del género *Saccharomyces*, sometida o no a destilación naturales susceptibles de ser añejadas, que pueden presentarse en mezclas de bebidas alcohólicas y pueden estar adicionales de ingredientes y aditivos permitido por el organismo de control correspondiente, y con una graduación alcohólica mayor de 0,5 a 55% Alc. Vol. Se clasifica en: bebidas alcohólicas fermentadas, bebidas alcohólicas destiladas, bebidas alcohólicas preparadas y licores.

- **Bebidas alcohólicas fermentadas:** producto destinado al consumo humano resultante de la fermentación principalmente alcohólica de materia primas de origen agrícola. Se les puede adicionar ingredientes y aditivos permitido por el organismo de control correspondiente.
- **Bebidas alcohólicas destiladas:** producto obtenido por destilación de mostos fermentados elaborado a partir de materias primas agrícola en las que la totalidad o una parte de sus azucares fermentables, hayan sufrido

como principal fermentación, la alcohólica, siempre y cuando el destilado no haya sido rectificado totalmente, por lo que el producto deberá contener las sustancias secundarias de cada bebida, estas bebidas son susceptibles de ser añejadas. Saborizadas o adicionadas de ingredientes y aditivos permitido por el organismo de control correspondiente.

- **Bebidas alcohólicas preparadas:** productos a base de bebidas alcohólicas destiladas, fermentadas, macerados, licores o mezclas de ellos y que pueden adicionarse con otros ingredientes y aditivos permitido por el organismo correspondiente.
- **Licor:** bebida alcohólica que se obtiene por destilación de bebidas fermentadas o mostos fermentados, por mezcla de alcohol etílico rectificado o aguardiente con sustancias de origen vegetal o con extractos obtenido por infusiones, percolaciones o maceraciones de los citados productos o con sus sustancias aromatizantes; edulcorados o no, a la eventualmente se le puede añadir ingredientes y aditivos permitidos por el organismo de control correspondiente. En su denominación, por lo general se hace referencia, a la materia prima que le otorga sus características de aroma y sabor, por ejemplo: licor de cacao, licor de menta, entre otros, también se puede denominar por un nombre específico.

Clasificación de los vinos

Según la NTP (2011) mencionan que la clasificación de los vinos puede darse por su color, contenido de azúcares reductores y técnica de elaboración. A continuación, mencionamos su clasificación por el contenido de azúcares reductores:

- Seco. - cuando el vino contiene un máximo de 4 g/L de azúcar.
- Semiseco. - cuando el contenido de azúcar en el vino es mayor que lo especificado en el punto anterior, hasta un máximo de 90 g/L.
- Dulce. - cuando el vino tiene un contenido de azúcar mayor de 90 g/L

En la industria el proceso fermentativo alcanza un rendimiento del 87-93%, sin embargo, el rendimiento experimental a nivel laboratorio varía entre 90 y 95% del teórico (Boudarel, 1984).

2.1.2.1. Factores que influyen en la fermentación alcohólica

Existen factores físicos y químicos que inciden positiva o negativamente en la fermentación alcohólica, ya sea actuando sobre el desarrollo de la levadura o el proceso fermentativo (Navarre, 1994).

- **Temperatura**

A mayor temperatura la fermentación alcohólica transcurre más rápidamente, sin embargo, es menos pura. Se produce menos etanol y más cantidad de compuestos secundarios que a menudo no conllevan a la mejora de la calidad del vino. Por otro lado, las levaduras tienen a los 30 °C su temperatura óptima de desarrollo. Por encima de los 35 °C la actividad decrece rápidamente y en torno al 45°C mueren. Por debajo de 10 °C la mayor parte de las levaduras silvestres son inactivas (Navarre, 1994). Madrid (1991) y Alvarez (1991), la temperatura ideal para la fermentación y reproducción de levaduras oscila entre 22 a 27 °C y se reproducen con mayor rapidez cuando la temperatura es 25 °C. A temperaturas mayores de 30 °C pierden la capacidad para desdoblar los azúcares y a 40°C dejan de crecer y reproducirse. En una fermentación alcohólica no se deben superar valores de 32 °C ya que se corren riesgos como: inactivación de las levaduras, pérdida de alcohol por evaporación con merma de grado alcohólico e iniciación de fermentaciones indeseables. Suárez (1997), cuando se fermenta a temperaturas bajas, el proceso es lento pero el grado alcohólico alcanzado es mayor que a temperaturas elevadas y tiende a frenar la pérdida por volatilización de una fracción importante de compuestos aromáticos. Merchan y Castillo (1999) mencionan que, en el crecimiento de microorganismos a 25 °C, la levadura se desarrolla a 25,5 % más que a 30 °C. El consumo de sólidos solubles, sacarosa y grado alcohólico a 25 °C es de 42,8 %, 71,0 % y 7,3 °GL mientras que a 30 °C es 36,8 %, 63,8 % y 6,0 °GL. Ward (1991) indica que los mostos blancos se inoculan y fermentan generalmente entre 10 y 15 °C. La menor temperatura de fermentación da lugar a vinos más frescos, el riesgo de infección bacteriana y la producción de ácidos volátiles es reducida. Un aspecto interesante del uso de bajas temperaturas en la vinificación es el hecho de que se reduce el crecimiento de bacterias del ácido láctico y del ácido acético y por lo tanto se hace más fácil el control de la fermentación alcohólica. Sin embargo, la temperatura óptima de la *S. cerevisiae* es de 25 °C. La temperatura a la que se lleva a cabo la fermentación alcohólica afecta: (i) al crecimiento de

las levaduras y por tanto a la duración de la fermentación, (ii) a la contribución que las diferentes especies de levaduras tienen en la fermentación y (iii) al metabolismo de las levaduras, que es el que determina la composición química y organoléptica del vino (Fleet y Heard, 1993). Entre 15 y 35°C se sabe que disminuye la duración de la fase de latencia y aumenta la velocidad de fermentación al incrementar la temperatura, aumentando también la velocidad de consumo de azúcar y nitrógeno, además al modificarse el metabolismo de las levaduras, también varía la composición del vino final. Así, las temperaturas más elevadas favorecen una mayor producción de la mayoría de los productos de la fermentación gliceropirúvica a costa de una menor producción de etanol. Aun así, los compuestos cuya formación está más influenciada por la temperatura son los alcoholes superiores, los ácidos grasos de cadena corta y sus ésteres, ya que tienen su máximo de producción a los 20°C. (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2000). Por tanto, las bajas temperaturas de fermentación están justificadas cuando se desea una concentración elevada de estos compuestos, como es el caso de las vinificaciones en blanco. La temperatura de fermentación también afecta a la dinámica poblacional de las levaduras que llevan a cabo el proceso. Varios autores han mencionado que especies como *Kloeckeraapiculata* o *Candida stellata* pueden mantener altos niveles de población (107-108 ufc/ml) a lo largo de fermentaciones a bajas temperaturas (10-15°C), llegando en algunos casos a poder reemplazar a *Saccharomyces* como especie dominante (Fleet y Heard, 1988).

▪ pH

Aleixandre (1998), el crecimiento de la levadura y la velocidad de fermentación no se ve afectado por la variación del pH entre 3,5 y 6,0 en el medio, pero a valores de 3,05 a 3,5 se logra alcanzar un mayor rendimiento de acuerdo a la formación del producto y crecimiento de la levadura. Ramirez y Pedroza (2001), en la levadura ***Saccharomyces Cerevisiae***, el crecimiento se da más rápido que en las bacterias a bajos valores de pH, evitando la contaminación. Si se utiliza sacarosa como fuente de carbono, el sistema es más sensible al pH que al utilizar glucosa, ya que la inversión de la sacarosa se acelera a pH bajos. De Rosa (1998) menciona que el pH es una característica de importancia, por diferentes motivos. Organolépticamente el pH influye fuertemente sobre la

sensación de acidez, dado que depende más de la concentración hidrogeniónica (fuerza acida) que de la cantidad de ácidos contenidos. Sobre la formación de fosfato férrico y por consiguiente quiebra fosfática, tiene fuerte influencia el pH, y el rango óptimo para el pleno desarrollo de este fenómeno se sitúa sobre el valor de 3,3. A valores sensiblemente inferiores o superiores el enturbiamiento no aparece. Con respecto a la acidez, el contenido de componentes para la generación de ácidos no solo debe soportar la fase inicial de crecimiento de las levaduras, sino que tiene que ser suficiente para mantener toda la fase de reproducción y mantenimiento de las células. Posible razón por la que se generaron los sobresaltos de acidez en un proceso de fermentación (Acosta, 2012).

▪ **Ácidos orgánicos**

El ácido acético es el principal ácido volátil del vino, su formación se debe a la acción de las levaduras durante la fermentación alcohólica, pero también se debe a ataques bacterianos por parte de bacterias acéticas o lácticas. Las características organolépticas negativas de este ácido, lo convierten en un producto poco deseable, y en concentraciones elevadas se considera un defecto del vino (coloquialmente conocido como vino picado). La producción de ácido acético por *Saccharomyces* suele variar entre 100-200 mg/l, dependiendo de la cepa utilizada, la temperatura de fermentación y la composición del mosto. De hecho, está descrito que la producción de ácido acético depende principalmente de la concentración de azúcar en el medio, y que es independiente de la cantidad que sea fermentada, es decir, que cuanto mayor sea la concentración de glucosa en el medio, mayor será la producción de ácido acético (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2000). Los ácidos orgánicos, por tanto, al ser los principales responsables de la acidez total del vino, tienen una demostrada contribución a las características organolépticas finales del vino, así como a la estabilidad biológica y fisicoquímica posterior del mismo. Además, los ácidos orgánicos son importantes para las levaduras porque pueden (Jennings, 1995):

- ser utilizados como fuente de carbono
- contribuir al potencial osmótico intracelular
- contribuir al equilibrio de cargas intracelular

- intervenir en el control del pH intracelular

Se ha demostrado que la presencia de ciertos minerales en el mosto reacciona con los ácidos, generando sales, que en cierta medida amortiguan el desarrollo de la acidez (Cramer *et al.*, 2002).

- **Grado alcohólico**

Mercedes (2006) menciona que, el etanol es claramente inhibitorio para las levaduras. El crecimiento de las células se detiene a concentraciones relativamente bajas de etanol y la fermentación a concentraciones relativamente altas de etanol. La disminución de velocidad de producción de etanol está relacionada con la disminución en el número de células viables. La inhibición del desarrollo celular por el etanol es no competitiva y puede ser descrita por una función lineal o exponencial de la concentración de etanol. Las cepas altamente tolerantes son aquellas que almacenan menos lípidos comparadas con otras. La membrana citoplasmática es sensible al contacto con etanol, ya que el etanol es anfipático. La composición lipídica de la membrana citoplasmática puede ser importante para la tolerancia al etanol. Según Acosta (2012), menciona que en la producción de hidromiel se obtuvo un grado alcohólico promedio de 9%, con un buen desarrollo de producción luego del quinto día de proceso. Resultados que no se detallan, mostraron como transcurridos 19 e incluso 25 días de proceso, no se generó una cantidad de etanol significativamente mayor como para incrementar el tiempo de proceso por encima de los 15 días establecidos inicialmente.

- **Aireación**

Lopez y Guell (1995), la velocidad de fermentación depende de las condiciones de aireación, desarrollando la fermentación más rápida cuando las levaduras están mejor aireadas. La utilización del oxígeno solo tiene lugar al comienzo de la fermentación. Una vez iniciada esta, no necesita oxigenación o de lo contrario se desviaría el proceso alcohólico y comenzaría la metabolización de los azúcares por vía respiratoria, produciendo mayor cantidad de células. La fermentación con agitación es ligeramente más rápida que la fermentación sin agitación. A pesar de ello los niveles finales de etanol y azúcar obtenidos son

similares en ambas condiciones de operación, observándose un ligero aumento en el grado alcohólico y el azúcar residual en la fermentación sin agitación.

- **Otros factores**

Aleixandre (1998), indica que el dióxido de azufre (SO₂) influye positivamente en la fermentación alcohólica, puesto que se une al acetaldehído impidiendo que éste participe en reacciones de pardeamiento. Inhibe algunas de las reacciones indeseables de oxidación, así como algunos microorganismos tales como las bacterias del ácido láctico, acético y algunas levaduras que, de estar presentes, podrían provocar características anormales en los vinos. Asimismo, actúa como estimulante de la actividad de las levaduras vínicas y tiene como consecuencia la aceleración de la velocidad de fermentación.

Por un lado, la acumulación de los propios productos de la fermentación alcohólica pueden ralentizarla. Por otro lado, esos mismos compuestos junto a otros presentes en el mosto de forma natural (taninos) o artificial (pesticidas, SO₂, etc.) pueden actuar como inhibidores del crecimiento de las levaduras. (Navarre, 1994).

- **Los nutrientes**

Por un lado, están los azúcares, que son fuente de carbono y de energía para las levaduras y que deben encontrarse en concentración superior a 20 g/L para que la fermentación alcohólica, transcurra a su velocidad máxima. Por otro están las sustancias nitrogenadas, las sales y los factores de crecimiento (vitaminas) que normalmente se hallan en el mosto en concentración suficiente para el desarrollo de las levaduras. Sin embargo, en casos de vendimias atacadas de podredumbre en las que los mohos han consumido parte de estos nutrientes, puede ser necesario adicionar al mosto complejos vitamínicos y sales de amonio. (Navarre, 1994).

2.1.2.2. Proceso de elaboración de bebida fermentada de lactosuero

En la Figura 1, se presenta el diagrama de flujo para el proceso de elaboración de bebida fermentada de lactosuero y cuyas operaciones de describen a continuación:

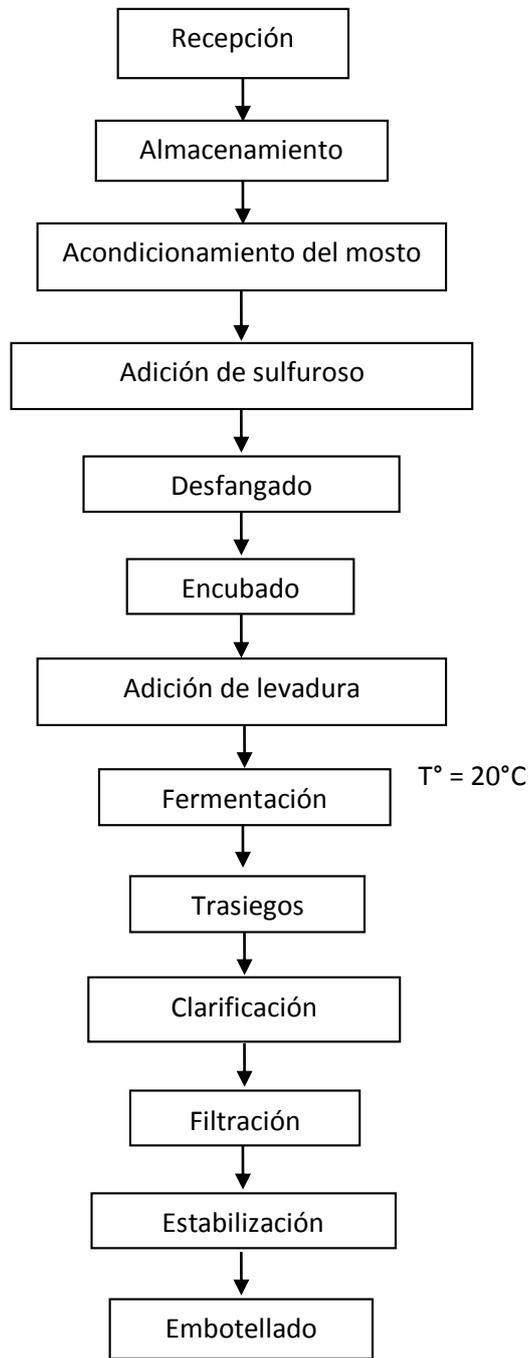


Figura 1. Diagrama de flujo de proceso de elaboración de bebida fermentada de lactosuero

Fuente: Alais (2003)

- **Recepción**

Esta etapa del proceso contempla evaluación organoléptica de la materia prima e insumos, revisión de los documentos correspondientes de los productos a recepcionar con la finalidad de garantizar la calidad de los mismos.

- **Almacenamiento**

Esta etapa del proceso está basada en el almacenamiento de lactosuero a temperatura de refrigeración, menor de 8 °C.

- **Acondicionamiento del mosto**

Négre y Francot (1980) mencionan; que el mosto es el jugo azucarado procedente del interior de la uva, otra fruta o materia prima y luego prensar. El estrujado permite airear la vendimia, para un rápido desarrollo de las levaduras y comienzo de la fermentación.

La dilución del mosto, se da cuando este es muy denso, para evitar la saturación del medio y permitir el proceso aerobio de las levaduras al inicio de la fermentación. (Hatta, 2011). Caso contrario, la corrección de la cantidad de azúcar, se tiene que realizar ya que de este depende el grado alcohólico final del vino. La cantidad de azúcar disminuye con la dilución por lo tanto es necesario añadir una concentración de azúcar. (Hatta, 2011). Este enriquecimiento se da por varias razones, ya que el cuerpo del vino depende de su contenido de alcohol, el vino con poco alcohol sabe flojo e insulso, pero no a vino, por ello se debe enriquecer como mínimo hasta alcanzar un contenido de alcohol de 9 -10 % para obtener mejor sabor. También por la capacidad de conservación, ya que el alcohol tiene la propiedad de inhibir el desarrollo de microorganismos nocivos o de destruirlos del todo, por ello el vino con poco alcohol se conservan mal. Lo mismo se dice de los vinos de baja acidez o incluso neutros del todo, en los que faltan así mismo los ácidos protectores. (Vogel, 2003).

- **Adición de sulfuroso**

Consiste en la adición de una proporción de anhídrido sulfuros (SO₂) al mosto, con el objeto de conseguir fermentaciones sanas y de calidad.

– **Desfangado**

Esta operación tiene por objeto separar del mosto todas las partes solidas que lo acompañan; estas partes solidas están representadas por proteínas precipitadas y otros. la dosis no debe pasar de 20 g/HL de anhídrido sulfuroso.

La adición del anhídrido sulfuro se va a traducir en una inmovilización del mosto, la acción de la gravedad a va permitir que las partes solidas se disponen en el fondo. El Desfangado debe durar 24 horas como mínimo.

El efecto beneficioso del desfangado se demuestra con la superioridad gustativa de la bebida de mosto desfangado.

– **Encubado**

Consiste en poner el mosto en las cubas de fermentación.

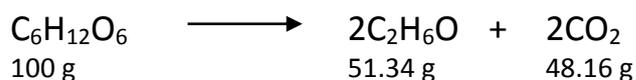
– **Adición de levadura**

Para la utilización de la levadura seca se tiene que seguir los siguientes pasos; disolver la levadura en un poco de agua hervida entibiada (30°C) con un poco de azúcar, dejándola reposar por 15 minutos. Para la preparación del pie de cuba, se realiza con una cantidad mínima del mosto a fermentar (aproximadamente el 5% del total), en el cual se siembra la levadura activa, dejándolo reposar en un sitio abrigado (25-30°C) hasta que se vea producción de gas (burbujeo). (Hatta, 2011). De la misma manera Vogel (2003) afirma, para que la levadura puede desarrollar su acción óptima, hay que adaptarla previamente (estárter), luego se vierte en el depósito en el que se va a producir la fermentación principal.

– **Fermentación**

Es el proceso por el cual el azúcar del mosto se transforma, principalmente, en alcohol y gas carbónico, por acción de las levaduras alcohólicas.

Según Gay Lussac:



Esto es válido para el 90% del azúcar

Además del alcohol y el anhídrido carbónico se forma en otros productos como:

- Glicerina (su presencia hace que los vinos sean más dulces)
- Ácido succínico
- Alcoholes superiores (amílico e isoamílico)
- Ácidos volátiles (ácido acético)
- Aldehídos

– **Trasiegos**

Es la operación que consiste en separar la bebida fermentada de sus “heces” (depósitos o sedimentos). Estos depósitos están constituidos por: Sales y levaduras. El primer trasiego se realiza con aireación y debe hacerse 8 a 10 días terminada la fermentación. El segundo trasiego se realiza a 1 ½ a 2 meses después de primero.

– **Clarificación**

Consiste en incorporar a la bebida una sustancia insoluble de origen orgánico o mineral susceptible de formar en la masa líquida un precipitado de naturaleza coloidal que fije y arrastre al fondo de los depósitos de partículas en suspensión de la bebida fermentada.

Factores que influyen en la clarificación:

- Cantidad y naturaleza del clarificante
- Presencia y cantidad de ciertos componentes en el vino como por Ejemplo, Taninos, Fe, etc.
- Acidez del vino
- Temperatura
- Presencia de coloides protectores (gomas y pectinas)

Tipos de clarificantes:

Orgánicos: Taninos, gelatina, caseína, albumina de huevo, sangre.

Inorgánicos: bentonita

– **Filtración**

Consiste en hacer pasar la bebida fermentada a través de un medio o capa filtrante que permite solo el paso del líquido reteniendo las partículas sólidas.

Tipos de filtros más utilizados son:

Filtros de profundidad

- Tiene un gran espesor.
- Entramado de fibras distribuidas al azar.

- Los espacios libres del filtro no tienen dimensiones constantes ni definidas.
- El líquido a filtrar recorre caminos laberintos en donde las partículas quedan retenidas.
- Las partículas gruesas quedan retenidas por tamizajes en la superficie
- Las partículas finas y colorantes son retenidas por adsorción en la matriz filtrante.
- La separación de sólidos no es al 100%.

Dentro de estos filtros tenemos:

- Filtro de tierras
- Filtros de placas

Filtros de superficies:

- Tiene un pequeño espesor
- Tiene estructura continua
- La matriz está constituida por canalillos de forma y dimensiones regulares.
- Las partículas son retenidas solamente por tamizaje en la superficie del filtro.
- Separación de sólidos al 100%

Dentro de estos filtros tenemos: Filtro de membranas

– Estabilización

Consiste en la adición de anhídrido sulfuroso con el fin de evitar los procesos de oxidativos y el desarrollo de lavaduras (fermentación) y de bacterias contaminantes (bacterias) en la bebida fermentada. La dosis del anhídrido sulfuroso va a depender del grado alcohólico y de la cantidad de azúcar en el vino.

– Embotellado

Consiste en poner la bebida en las botellas. Se utilizan botellas oscuras y corchos de alcornoque.

La bebida para poder ser envasada debe reunir las siguientes condiciones:

- Estar completamente limpio
- Ser de buena composición, sin olor, ni gusto anormal

Los métodos de llenado de las botellas son:

- Llenado siguiendo el sistema de vasos comunicantes
- Llenado por dosificación mediante pistones
- Llenado al vacío

2.1.3. Levaduras

Son hongos unicelulares pertenecientes en su mayor parte al grupo de los Ascomicetos, es decir, al grupo de hongos capaces de formar esporas contenidas en el interior de un asca. Entre las diversas características bioquímicas utilizadas en la clasificación de las levaduras podemos citar (Quesada y Cenis, 1995; Suárez, 1997):

- El tipo de azúcares que pueden fermentar.
- El rendimiento en alcohol, las hay que para producir 1 grado de alcohol consumen de 17 a 18 g de azúcar, otras en cambio con menor rendimiento metabolizan de 21 a 22 g.
- Su poder alcohológeno, o grado máximo de alcohol que pueden alcanzar, algunas detienen su actividad a los 5% Vol mientras que otras llegan a 17 o 18% Vol.
- Productos secundarios de la fermentación.
- Resistencia al anhídrido sulfuroso.
- Capacidad para asimilar diferentes sustancias nitrogenadas.

Los ácidos grasos son los principales componentes de los fosfolípidos de las membranas de las células (Swan y Watson, 1997). La membrana plasmática es el primer elemento de contacto entre la célula y su entorno, por lo que se considera que juega un papel esencial en la respuesta adaptativa de *S. cerevisiae*. Así, pequeñas alteraciones en la membrana pueden originar cambios importantes en las actividades de muchas funciones esenciales dependientes de la membrana, como el transporte, la permeabilidad de los iones, etc. que pueden afectar a la viabilidad, capacidad de fermentación y tolerancia al etanol de las levaduras. El oxígeno tiene una gran influencia en la composición de ácidos grasos, debido a que la ausencia de oxígeno como ocurre en condiciones de anaerobiosis, impide la síntesis de ácidos grasos insaturados y esteroides. Así, la inhibición de la biosíntesis de estos compuestos, trae como consecuencia, una clara disminución del crecimiento celular, la viabilidad y la actividad fermentativa (Torija, 2002).

2.1.3.1. Clasificación de las levaduras

Las levaduras pertenecen al reino fungi y dentro de él a la división eumicota que agrupa a los denominados hongos verdaderos. Dentro de esta división las levaduras se incluyen en dos de las cinco subdivisiones de los eumicetos, la ascomycotina representada por las levaduras capaces de producir ascosporas, llamadas por ello esporógenas, y la deuteromycotina representada por las levaduras incapaces de formar esporas llamadas por ello asporógenas o no esporógenas. Los géneros de levaduras esporógenas, englobados todos ellos en la familia *Saccharomycetaceae*, se distribuyen en tres subfamilias. (Mesas y Alegre, 1999).

2.1.3.2. Especies de mayor relevancia enológica

Manteniendo la distinción hecha entre levaduras esporógenas y asporógenas (Navarre, 1994), a continuación se detallan algunas de las especies con mayor relevancia enológica. Entre las levaduras esporógenas denominadas frecuentemente de segunda fase por aparecer en un estado avanzado de la fermentación alcohólica y producir gran cantidad de etanol destacan:

- ***Saccharomyces cerevisiae*** (*S. ellipsoideus*) es una de las más importantes en enología ya que es la responsable de la fermentación de la mayor parte de los azúcares del mosto. Su poder alcohológeno es elevado (17° GL) y es bastante resistente al SO₂ (250 mg/L).
- ***Saccharomyces bayanus*** (*S. oviformis*), semejante a la anterior resiste también 250 mg de SO₂/L, pero su poder alcohológeno es mayor pudiendo superar los 18 ° GL. Es la levadura típica de las etapas finales de la fermentación y a menudo la responsable de re fermentaciones de vinos embotellados.
- ***Saccharomyces acidifaciens*** (*S. baillii*), con un poder alcohológeno de tan solo 10 ° GL, su principal característica es su elevada resistencia al SO₂ (250 a 400 mg/L) lo que le permite iniciar la fermentación en mostos muy sulfitados, comportándose en estos casos como levadura de primera fase.

- ***Torulaspota rosei*** (*S. rosei*) tiene un poder alcohológico de 8 a 14° GL y su principal característica es su capacidad para fermentar lentamente los azúcares con lo que los niveles de acidez volátil producidos son menores.

Entre las levaduras asporógenas, generalmente de primera fase, que se caracterizan por aparecer al principio de la fermentación alcohólica y producir gran cantidad de compuestos secundarios enriquecedores del sabor y aroma del vino, destacan:

- ***Kloeckera apiculata***, es la forma imperfecta o haploide de *Hanseniaspora uvarum*. Junto con *S.cerevisiae* es la levadura más frecuentemente encontrada en los mostos. Su poder alcohológico es muy bajo (4 – 5 °) y también lo es su rendimiento en alcohol (21 a 22 g de azúcar/1° de alcohol). Produce mucha acidez volátil por lo que no es deseable en las fermentaciones. Se la elimina fácilmente con el sulfitado dada su baja resistencia al SO₂.
- ***Candida stellata*** (*Torulopsis stellata*, *T. bacillaris*) tiene un poder alcohológico de 10 a 11 ° GL y se caracteriza fundamentalmente por aparecer con más frecuencia en mostos de uvas atacadas de podredumbre.

2.1.3.3. Utilización de las levaduras en vinificación

Se pueden emplear o bien levaduras autóctonas, preparando lo que se ha dado en llamar un pie de cuba, o bien levaduras comerciales. En el primer caso se parte de una fracción pequeña de la propia vendimia, en el segundo caso se suele recurrir al empleo de las denominadas levaduras secas activas. Bajo el aspecto de polvos secos, que a menudo deben ser rehidratados en agua tibia antes de su utilización, las levaduras secas activas son levaduras deshidratadas generalmente pertenecientes a las especies *S. cerevisiae* y *S. bayanus*. En ocasiones la conjunción de un sulfitado excesivo y bajas temperaturas retardan el inicio de la fermentación (Mesas y Alegre,1999).

La inoculación con levaduras secas activas, favorece un inicio más rápido de fermentación (normalmente se reduce la fase de latencia) y un consumo total de los azúcares fermentables, reduciendo los posibles problemas de re

fermentación. Además permite un mayor control microbiológico, lo que no es posible en fermentaciones espontáneas (Longo et al., 1992). Mercedes (2006) menciona que la fermentación puede ser conducida como un proceso natural o por el uso de un cultivo puro. En el primer caso las levaduras presentes en el jugo de fruta inician y completan la fermentación. En el caso de usar cultivos selectos de *S. cerevisiae*, las cuales se inoculan en número entre 10⁶ a 10⁷ UFC/mL, éstas son especialmente tolerantes a altas concentraciones de azúcar, etanol y SO₂. Torija *et al.*, (2003), el uso de cultivos puros da como resultado una fermentación más limpia, rápida y predecible; y se reducen los riesgos de contaminación.

Dickinson *et al.*, (2003), la levadura *Saccharomyces cerevisiae* es la especie de mayor uso en la industria vinícola, se describe como un anaerobio facultativo, crece en condiciones aeróbicas y anaeróbicas, es la glucosa su fuente de carbón preferido. Cuando se emplea fuentes de carbono diferentes a la glucosa se requiere una gluconeogénesis, esto reduce el rendimiento del proceso, que en condiciones normales de consumo de glucosa se estima entre 85 y 90% de la conversión de sustrato.

2.1.3.4. Productos secundarios de la fermentación

Peynaud (1989) señala, durante la fermentación alcohólica además de etanol y dióxido de carbono se produce cierta cantidad de otros compuestos, que en gran medida contribuyen al sabor y aroma final del vino. Los más significativos son los siguientes:

- **Glicerol.** - Cuantitativamente es el segundo componente mayoritario del vino después del etanol. Se encuentra en cantidades de 6 a 10 g/L y a él se atribuyen los caracteres de suavidad y aterciopelado del vino. Se genera a partir de la fosfodihidroxiacetona por reducción y defosforilación de la misma.
- **Acetaldehído.**- Aparece durante la fermentación alcohólica por descarboxilación del ácido pirúvico, aunque también puede proceder de la oxidación del etanol. En exceso provoca en el vino la denominada maderización o gusto oxidado.

- **Ácido succínico.** - Presente siempre en el vino, transmite a éste el típico sabor entre salado y amargo que caracteriza a las bebidas fermentadas. Procede de la carboxilación del ácido pirúvico y posteriores reacciones redox
- **Ácido láctico.** - Procede de la hidrogenación del pirúvico, aunque puede tener su origen en intervenciones bacterianas.
- **Acetoína, diacetilo y 2-3 butanodiol.**- Son los metabolitos del ciclo diacetilacetoinico. Siempre presentes en el vino, en exceso transmiten sabores lácteos y amargos no deseables. Tienen su origen en la condensación y descarboxilación de dos moléculas de ácido pirúvico.
- **Otros compuestos.** - Con origen en los azúcares se forman diversos ácidos cuantitativamente minoritarios como cítrico, propiónico, fumárico y fórmico. Con origen en las sustancias nitrogenadas se forman alcoholes superiores como isoamílico e isopropílico que proceden de la desaminación y descarboxilación de los aminoácidos. Por combinación entre ácidos y alcoholes se generan ésteres con fuerte repercusión en el buqué final del vino, siendo el acetato de etilo el que tiene una repercusión mayor.

2.2. ANTECEDENTES

Rodríguez-Villacis (2016) en la investigación “Desarrollo de una bebida fermentada de suero con la adición de jugo de Aloe vera y pulpa de fruta”, tuvo como objetivo desarrollar una bebida fermentada de lactosuero hipocalórica con la adición de jugo de Aloe vera, pulpa de guanábana y cultivos probióticos. Como materias primas se utilizaron: suero lácteo dulce, pulpa de guanábana (*Annona muricata* L), jugo de aloe (Aloe vera B), edulcorante artificial de la firma Splenda y los cultivos probióticos: *Bifidobacterium sp.*, *S. thermophilus*, *L. acidophilus* y *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*. Para la elaboración de la bebida láctea el suero se mezcló con pulpa de guanábana y jugo de aloe en las proporciones: pulpa de guanábana 10, 15 y 20 % y el jugo de aloe 5, 10 y 15 %, la mezcla se estandarizó al 8 % de sólidos totales lácteos con leche en polvo descremada y fue inoculada con los cultivos lácteos al 4 % y la fermentación se realizó a 42 ± 1 oC. A las formulaciones desarrolladas se les controlaron acidez y aceptabilidad. La mejor formulación de la bebida fermentada hipocalórica fue la de 15 % de pulpa de

guanábana y de 10 % jugo de aloe, con una calificación de “me gusta”. La vida de almacenamiento a 4 °C puede ser hasta de 21 días.

Montesdeoca *et al.* (2015), realizaron la investigación titulada “Procedimiento para la producción de una bebida láctea fermentada utilizando lactosuero”. El objetivo del trabajo fue diseñar una bebida láctea fermentada utilizando suero como sustituto parcial de la leche y diferentes estabilizadores comerciales. Se utilizó un diseño experimental con tres réplicas para cada tratamiento, donde se manipularon dos factores de estudio: A. Porcentaje de suero lactum (10, 20 y 30 %) en combinación con leche entera y B. Tipos de estabilizadores, Obsigel 8AGT, Obsigel 955B y CC-729, todo a una dosis del 0,1%). Sus propiedades se compararon con un yogur endulzado naturalmente usando una unidad experimental de 500 mL. Los tratamientos fueron analizados físico-químicos: sinéresis, pH, acidez, ° brix y consistencia después del envasado del producto. Los productos también se sometieron a una evaluación organoléptica con 30 jueces no capacitados donde se calificaron los siguientes atributos: textura, aroma, sabor y calidad general. Los resultados mostraron que el mejor tratamiento fue a3b3 (30% de suero + 0.1% CC-729), 4.17 pH, 0.67% de acidez, 3.13 cm³ de consistencia y 15.23 ° Brix. Todos los tratamientos sensoriales fueron estadísticamente iguales con muy buena aceptación. Debido a su mayor relevancia en las pruebas físicoquímicas, el estabilizador CC-729 Descalzi (0,1%) mostró que mantiene las características de la bebida de leche fermentada.

Miranda *et al.* (2014), en la investigación “Elaboración de una bebida fermentada a partir del suero de leche que incorpora *lactobacillus acidophilus* y *streptococcus thermophilus*”, elaboraron una bebida fermentada a partir del suero de queso en el Combinado Lácteo. Realizaron a escala de planta piloto 5 corridas experimentales de 200 litros con cada una de las variantes experimentales prefijadas (Variante 1: Sorbato de potasio: 0,0% vs. Variante 2: Sorbato de potasio: 0,03 %) para establecer las principales características físico-químicas, sensoriales, nutricionales, microbiológicas y durabilidad de la bebida fermentada a las 24 horas de haber sido inoculada. Se determinó la curva de acidez titulable mediante un análisis de regresión simple empleando la ecuación $Y = a + b \cdot x$ ($Y =$ acidez; $x =$ tiempo). Se encontró una correlación significativa (r

= 0.95; $p < 0.05$) entre la acidez del producto y el tiempo de fermentación. Los indicadores físico-químicos, microbiológicos y sensoriales obtenidos avalan un producto de buena calidad e inocuo. Se obtuvo una acidez titulable como ácido láctico del 0.63%, un contenido de sólidos totales del 19,43 %, y una viscosidad de 26 segundos. La composición nutrimental de la bebida fermentada fue como sigue: Proteína bruta: 1.22%; Carbohidratos: 17,53 %; Energía alimentaria: 77,52 Kcal; respectivamente. El conteo de bacterias ácido-lácticas viables fue de 1.2×10^7 ufc. mL⁻¹. Las pruebas de consumidores determinaron una puntuación media de 6 (correspondiente a “Me gusta mucho”). El uso de sorbato de potasio como preservante prolongó la vida de anaquel de la bebida de 7 días a 28 días. Miranda

Londoño *et al.* (2008), en la investigación “Bebida fermentada de suero de queso fresco inoculada con *Lactobacillus casei*”, tuvieron como objetivo desarrollar una bebida fermentada de suero de queso fresco inoculada con *Lactobacillus casei*, a la cual se le evaluó la viabilidad del microorganismo, utilizando medios de cultivo selectivos, bajo condiciones anaeróbicas y, luego, se procedió a verificar su resistencia a los ácidos gástricos y sales biliares, simulando así, las condiciones del tracto gastrointestinal de los humanos. Para verificar la supervivencia durante el período de almacenamiento (21 días), la cepa, se caracterizó morfológica y bioquímicamente. Adicionalmente, se llevó a cabo la prueba de aceptabilidad, evaluando la bebida con 80 jueces. Se realizaron análisis físico-químicos, microbiológicos y sensoriales, a la materia prima y al producto elaborado, acorde a las normas vigentes en Colombia. La bebida fue saborizada con pulpa de maracuyá (*Passiflora edulis*). Se obtuvieron recuentos de viabilidad a pH 2,0, en agar MRS de $5,38 \cdot 10^7$ ufc·g⁻¹ y $1,3 \cdot 10^6$ ufc·g⁻¹ y en agar M17 de $6,96 \cdot 10^7$ ufc·g⁻¹ y de $1,16 \cdot 10^6$ ufc·g⁻¹, en los días 1 y 21, respectivamente. A pH 7,0, en agar MRS, se registraron valores de $3,37 \cdot 10^7$ ufc·g⁻¹ y $1,56 \cdot 10^6$ ufc·g⁻¹ y en agar M17 de $8,85 \cdot 10^7$ ufc·g⁻¹ y de $1,82 \cdot 10^6$ ufc·g⁻¹, en los días 1 y 21, respectivamente. La bebida desarrollada, tuvo una aceptación de “me gusta”, y presentó una vida de anaquel de hasta 21 días.

Molero-Méndez *et al.* (2017), en la investigación “Formulación de una bebida probiótica fermentada a base de lactosuero”, tuvieron como objetivo formular bebidas probióticas utilizando lactosuero como sustrato, con el fin de aprovechar

el valor nutritivo del mismo y contribuir a minimizar la contaminación ambiental que es generada cuando este subproducto es desechado a los afluentes. La materia prima empleada fue obtenida de la fabricación de queso artesanal mediante acción enzimática de cuajo en leche. Se ensayaron cuatro tratamientos, combinando dos tipos de estabilizante y dos tipos de cultivos microbianos, *Lactobacillus acidophilus* y un cultivo comercial para yogurt. Se determinó el carácter probiótico de las cuatro formulaciones mediante el recuento de microorganismos probióticos en placa. Determinaron que sólo el tipo de cultivo microbiano afectó significativamente en el recuento final de microorganismos. Las formulaciones ensayadas con el cultivo de *L. acidophilus* tuvieron un recuento de 10^7 ufc/mL. Las formulaciones ensayadas con cultivo mixto de *L. acidophilus* más el cultivo comercial para yogurt tuvieron un recuento final de 10^8 ufc/mL. Las cuatro formulaciones cumplen con lo establecido en los estándares nacionales e internacionales exigidos para alimentos probióticos.

Benites *et al.* (2017) en la investigación titulada “Aprovechamiento de lactosuero en la elaboración de lactofermentos agrícolas: Caracterización fisicoquímica, microbiológica y toxicológica”, caracterizaron biofertilizantes hechos con suero de leche dulce natural, cepas comerciales, bacterias de ácido láctico certificadas (LAB) y levaduras solas y en mezclas en fermentaciones de 5 y 30 días de maduración se realizó evaluando la disminución del pH, la producción de ácidos orgánicos y el aumento de la capacidad de amortiguación, contenido de microorganismos viables y fitotoxicidad. La inoculación favoreció las características fisicoquímicas de los lactofermentos a los 5 días de maduración. Se obtuvieron lactofermentos con pH entre 4 y 4,3, ácidos orgánicos a $2,85 \text{ g L}^{-1}$ y capacidad de amortiguación de $7,83 \text{ meq NaOH mL}^{-1}$. Se observó una disminución del 18% de fitotoxicidad asociada con la fermentación del suero. El mejor iniciador a granel se obtuvo con cepas comerciales BAL- *Sacharomices cereviseae* a los 5 y 30 días, lo que demuestra que es posible obtener lactofermentos con cepas comerciales en pocos días de fermentación.

2.3. HIPÓTESIS

2.3.1. Hipótesis general

- Las concentraciones adecuadas de levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*) y azúcar permiten obtener una bebida fermentada con buenas con características sensoriales y físico químicas.

2.3.2. Hipótesis específicas

- A medida que determinemos la concentración adecuada de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) en la en la obtención de bebida fermentada a base de lactosuero se obtendrá un producto con buenas con características sensoriales y físico químicas.
- A medida que determinemos adecuadamente la concentración adecuada de azúcar (° Brix) en la obtención de bebida fermentada a base de lactosuero se obtendrá un producto con buenas con características sensoriales y físico químicas.

2.4. VARIABLES Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

2.4.1. Variable independiente

X_j: Concentraciones de levadura a utilizarse en la elaboración bebida fermentada a base de lactosuero.

X_i: Concentraciones de azúcar (° Brix) a utilizarse en la elaboración bebida fermentada a base de lactosuero.

2.4.2. Variable dependiente

Y_i: Características sensoriales de la bebida fermentada a base de lactosuero.

Y_j: Características físico químicas de la bebida fermentada a base de lactosuero.

2.4.3. Operacionalización de variables

En la Tabla 2, se muestra la operacionalización de variables para la investigación.

Tabla 2. Operacionalización de variables

Variables	Dimensión	Indicador
Independiente		
X _i : Concentraciones de levadura (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) a utilizarse en la obtención de la bebida fermentada a base de lactosuero.	gramos/litro (g/L)	X ₁ = 0,50 g/L X ₂ = 1,0 g/L X ₃ = 1,5 g/L X ₄ = 2,0 g/L
X _j : Concentraciones de azúcar (grados brix) a utilizarse en la obtención de la bebida fermentada a base de lactosuero.	° Brix	X ₁ = 23 ° Brix X ₂ = 25 ° Brix X ₃ = 27 ° Brix.
Dependiente		
Y _i : Características sensoriales de la bebida fermentada a base de lactosuero.	Características sensoriales.	Sabor, color, olor y aceptabilidad
Y _j : Características físico química de la bebida fermentada a base de lactosuero.	Características físicoquímicas	- ° Brix -pH -Sulfatos -Acidez total -Acidez volátil -Grado alcohólico -Extracto seco total -Cloruros

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

La investigación fue realizada en la planta de productos alimentarios, laboratorio de bromatología, laboratorio de análisis por instrumentación y laboratorio de evaluación sensorial de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Facultad de Ciencias Agrarias y en el laboratorio de química (laboratorio central) de la Universidad Nacional Hermilio Valdizán entre los meses de febrero a julio de 2019.

3.2. TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN

3.2.1. Tipo de Investigación

La investigación fue de tipo aplicada, porque existiendo la tecnología para la elaboración de bebida fermentada a base de lactosuero, se buscó determinar parámetros específicos: concentración de levadura y concentración de azúcar expresada en grados brix para que el producto resultante presente buenas características sensoriales y fisicoquímicas.

3.2.2. Nivel de Investigación

La investigación fue de nivel experimental porque intencionalmente se manipuló las variables independientes; midiendo sus efectos en la variable dependiente.

3.3. POBLACIÓN, MUESTRA Y UNIDAD DE ANÁLISIS

3.3.1. Población

La población para efectos de la presente investigación fue representada por la bebida fermentada obtenido a base de lactosuero por cada una de los nueve tratamientos.

3.3.2. Muestra

Las muestras fueron la cantidad total de bebida fermentada a base de lactosuero, elaborado según los tratamientos y repeticiones correspondientes hasta obtener el producto deseado.

3.3.3. Unidad de análisis

La unidad de análisis estuvo comprendida por la bebida fermentada embotellada (750 mL) obtenido a base de lactosuero, según tratamiento de estudio y protocolos de análisis.

3.4. TRATAMIENTOS EN ESTUDIO

3.4.1. Evaluación de la concentración de levadura en la obtención bebida fermentada a base de lactosuero

En la Tabla 3, se presenta los tratamientos para determinar la concentración adecuada de levadura, *Saccharomyces cerevisiae*, en la obtención de bebida fermentada a base de lactosuero.

Tabla 3. Tratamientos para la determinación de la concentración adecuada de levadura en la obtención de bebida fermentada a base de lactosuero

Tratamientos	Descripción
T ₁	0,05 % de levadura adicionada
T ₂	0,10 % de levadura adicionada
T ₃	0,15 % de levadura adicionada
T ₄	0,20 % de levadura adicionada

3.4.2. Evaluación de la concentración de azúcar (°Brix) en la obtención bebida fermentada a base de lactosuero

En la Tabla 4, se presenta los tratamientos para determinar la concentración adecuada de azúcar (sacarosa) en la obtención de bebida fermentada a base de lactosuero.

Tabla 4. Tratamientos para la determinación de la concentración adecuada de azúcar adicionada en la obtención de bebida fermentada a base de lactosuero

Tratamientos	Descripción
T ₁	Azúcar adicionada hasta obtener 23 ° Brix
T ₂	Azúcar adicionada hasta obtener 25 ° Brix
T ₃	Azúcar adicionada hasta obtener 27 ° Brix

3.5. PRUEBA DE HIPÓTESIS

Evaluación de la concentración de levadura en la obtención bebida fermentada a base de lactosuero.

Hipótesis nula

Ho: Las diferentes concentraciones de levadura en la bebida fermentada a base de lactosuero otorgan iguales características sensoriales y fisicoquímicos al producto obtenido.

$$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \tau_3 = \tau_4 = 0$$

Hipótesis de investigación

H₁ = Al menos una de las concentraciones de levadura en la bebida fermentada a base de lactosuero otorga diferentes características sensoriales y/o fisicoquímicos al producto obtenido.

$$H_1: \text{Al menos un } \tau_i \neq 0$$

Evaluación de la concentración de azúcar en la obtención bebida fermentada a base de lactosuero.

Hipótesis nula

Ho: Las diferentes concentraciones de azúcar adicionada en la bebida fermentada a base de lactosuero otorgan iguales características sensoriales y fisicoquímicos al producto obtenido.

$$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \tau_3 = 0$$

Hipótesis de investigación

H₁: Al menos una de las concentraciones de azúcar adicionada en la bebida fermentada a base de lactosuero otorga diferentes características sensoriales y/o fisicoquímicas al producto obtenido.

$$H_1: \text{Al menos un } \tau_i \neq 0$$

3.5.1. Diseño de la investigación

La evaluación sensorial que se efectuó a los diferentes tratamientos fueron a través de la prueba de Friedman a un nivel de significación $\alpha = 5\%$ y su correspondiente prueba de clasificación de tratamientos.

Para la evaluación de las características fisicoquímicas y determinar si existen diferencias significativas entre tratamientos, se utilizó el ANVA correspondiente a un Diseño Completamente al Azar (DCA). La comparación de tratamientos, se realizó a través de la prueba de Tukey con un nivel de significación $\alpha = 5\%$.

El modelo matemático correspondiente a un DCA tiene la ecuación siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Característica físicoquímica en la j-ésima repetición del i-ésimo tratamiento.

μ = Efecto de la media general.

τ_i = Efecto del i-ésimo tratamiento.

ε_{ij} = Efecto del error experimental

3.5.2. Datos registrados

Se registraron la cantidad de materia prima en estudio (lactosuero), los datos que se generaron antes, durante y después de cada uno de los análisis físicoquímicos, así como los procedimientos y métodos para cada prueba analítica. Para la caracterización de la materia prima se registró su pH, acidez (expresado en ácido láctico), sólidos solubles (grados Brix) humedad, materia seca y contenido de ceniza.

Para la determinación de la composición físicoquímico de la bebida fermentada a base de lactosuero se registró el contenido de sulfatos, cloruros, acidez volátil, acidez total, grado alcohólico y extracto seco total.

3.5.3. Técnicas e instrumentos de recolección y procesamiento de la información.

La técnica del análisis documental

Las recolecciones de datos fueron de fuentes documentales, fichas textuales y de resumen; recurriendo como fuentes a libros especializados, documentos oficiales, literatura y artículos de investigación publicados y registrados en internet.

Instrumento de recolección de información

Los instrumentos de recolección de información empleada en la sala de procesos alimentarios y laboratorios fueron cuaderno de apuntes, cámara fotográfica de celular.

Procesamiento de la información

Los datos obtenidos mediante la aplicación de las técnicas específicas e instrumentales, fueron incorporados a programas computarizados; tales como los aplicativos de MS Office y SPSS y con precisiones porcentuales y prelações u ordenamientos de mayor a menor, los promedios serán presentados como informaciones en forma de figuras (gráficos) y tablas.

3.6. MATERIALES Y EQUIPOS

3.6.1. Materia prima

Lactosuero dulce de queso fresco proveniente de la localidad de Huánuco pampa, provincia de Dos de Mayo, departamento de Huánuco.

3.6.2. Insumos

Azúcar blanca, levadura liofilizada, metabisulfito de potasio, bentonita granulada, bicarbonato de sodio y ácido cítrico.

3.6.3. Equipos y materiales

- Alcoholímetro según Gay-Lussac %Vol.
- Termómetro manual
- Estufa
- Mufla
- Refractómetro
- pHmetro digital o potenciómetro
- Balanza analítica
- Balanza gramera de mesa
- Balanza comercial de pie
- Equipo de titulación
- Cocinillas eléctricas
- Materiales de vidrio (placas petri, matraces de 50, 100 , 250 mL, probetas de 25, 50 y 100 mL; pipetas de 5, 10, 25, 50 y 100 mL; fiolas de 10, 25, 50, 100 mL; bureta de 50 mL, embudos, baguetas, vasos precipitados de 50, 100, 250, 500 mL y otros).
- Crisoles
- Guantes
- Pisas
- Cocina
- Utensilios (vasijas, ollas, espátulas, jarras, colador, cucharas, y otros)

- Envases descartables (250 mL)
- Papel filtro rápido
- Papel toalla secadoras
- Corchos
- Botellas de vidrio de 750 ml de capacidad.

3.6.4. Reactivos.

- Solución de hidróxido de sodio 0,1N
- Fenolftaleína
- Buffer de pH 1 y 4,5
- Agua destilada

3.7. CONDUCCIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

En la Figura 2, se presenta la secuencia de actividades realizadas durante la conducción y ejecución del presente trabajo de investigación.

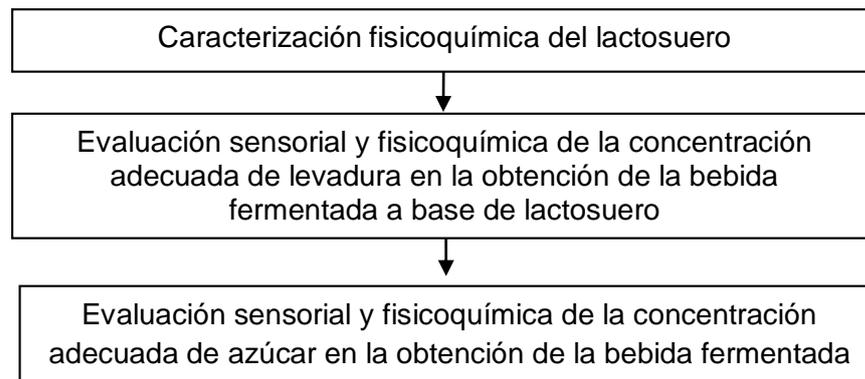


Figura 2. Esquema de actividades ejecutadas en la investigación

3.7.1. Caracterización fisicoquímica del lactosuero dulce de queso

El análisis fisicoquímico efectuado a la materia prima (lactosuero dulce de queso) fueron los siguientes:

- **Humedad:** Por el método AOAC 930.04 - 2012
- **Proteína:** por el método de Kjeldahl (Pearson 2000)
- **Grasa:** Fue determinada por el método de Soxhlet, utilizando como solvente el hexano, mediante el método de la AOAC (1990).

- **Fibra:** A la muestra proveniente desecada, se agregó ácido sulfúrico concentrado, hasta que se disuelva toda la materia degradable, la materia no degradable (fibra) se determina por una diferencia de peso después del secado del mismo, mediante el método propuesto de la AOAC (1997).
- **Carbohidratos:** por diferencia (Hart – Fisher 1991)
- **Ceniza:** Por el método AOAC 930.05 – 2012
- **Sólidos solubles (°Brix):** mediante un refractómetro (modelo RHB 80, Rango 0-80% °Brix), de acuerdo al método de la AOAC (1990).
- **pH:** Por el método de potenciometría (AOAC 1997)
- **Acidez total** (ac. Láctico g/100 mL): NTP 211 0.40 – 2012,
- **Temperatura:** se realizó a través de un termómetro digital.
- **Densidad:** se determinó por pesada, método señalado por, Vogt (1986)
- **Lactosa (%):** Se midió el porcentaje de lactosa por espectrofotometría basado en la ley de Beer, donde se comparó los valores de absorbancia de la muestra patrón con los valores de la muestra problema en una curva patrón.

3.7.2. Evaluación sensorial y fisicoquímica de la concentración adecuada de levadura en la obtención de la bebida fermentada a base de lactosuero

En esta fase del estudio, para la obtención de bebida fermentada a base de lactosuero se utilizó azúcar blanca hasta obtener un mosto de 26 °Brix y se evaluó cuatro concentraciones de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) 0,50; 1,0; 1,5; y 2,0 g/L, en función del mosto.

El diagrama de flujo para la obtención de bebida fermentada a base de lactosuero que se utilizó en el estudio se presenta en la Figura 3, cuyas operaciones se describen a continuación:

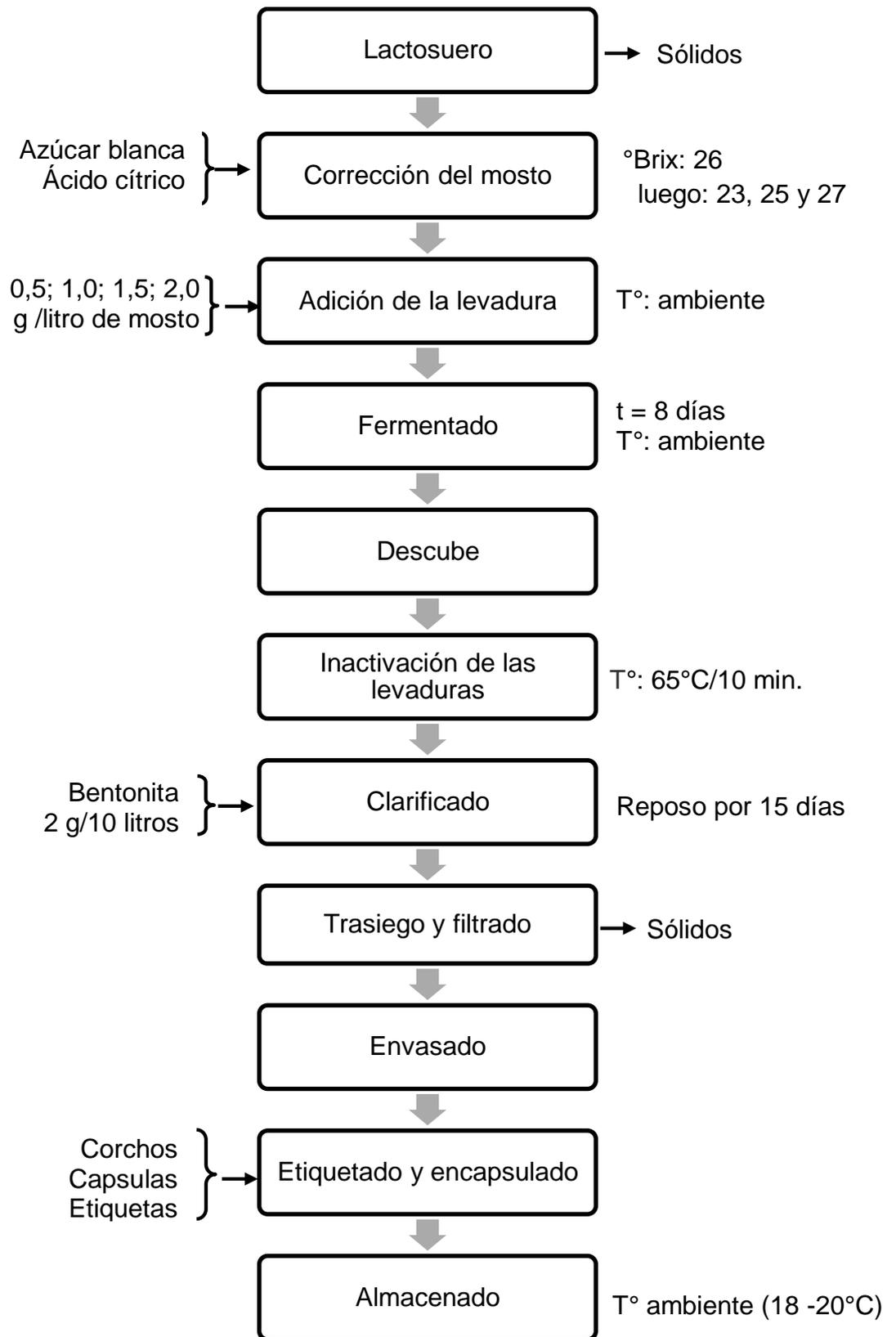


Figura 3. Diagrama de flujo para la obtención de bebida fermentada a base de lactosuero

- **Lactosuero**

La materia prima (lactosuero) fue tamizado con la ayuda de una tela adecuada con el fin de eliminar materias extrañas y restos de la elaboración de queso fresco y recolectados en envases que cumplían las condiciones higiénico sanitarias exigidas por la legislación vigente; los mismos que realizo en la planta de procesos alimentarios de la EPIA de la UNHEVAL.

- **Corrección del mosto**

Esta operación consistió en mezclar el azúcar con el lactosuero hasta obtener los grados brix deseado 26 °Brix; también, se ajustó el pH a 3.5 a la misma temperatura (ambiente).

- **Adición de la levadura**

La adición de la levadura fue según los tratamientos propuestos en el estudio: 0,05; 0,10; 0,15; 0,20 % con respecto al mosto. La levadura se activó en un litro de mosto, el cual se llevó a una temperatura de 30 °C por 15 min, luego se agitó suavemente y se dejó otros 15 min. Finalmente se adicionó toda la solución al mosto preparado.

- **Fermentado**

Esta etapa del estudio consistió en la conversión del azúcar presente en el mosto en alcohol etílico por acción de la levadura presente en el medio. La temperatura de fermentación fue entre 20 a 28 °C, (temperatura ambiente), el mismo que fue anaeróbica para la cual se hermetizo el recipiente de fermentación y se adecuó para la eliminación de CO₂ producido.

- **Descube**

Consistió en la separación de los residuos del producto fermentado, como los sólidos precipitados al fondo del recipiente de fermentación.

- **Inactivación de las levaduras**

Esta operación consistió en efectuar un tratamiento térmico al mosto a 45 °C por 10 minutos. Luego del enfriado a temperatura ambiente se adiciono metabisulfito de potasio en una concentración 0,08 g/L de fermento. Luego se hermetizo el envase conteniendo el producto en proceso y se puso en reposo por un periodo de 15 días para su posterior clarificación.

- **Clarificado**

Esta tapa consistió en tamizar el producto fermentado empleando un colador con algodón inodoro posteriormente se añadió bentonita 2 gramos por cada 10 litros de producto para precipitar los sólidos presentes, luego se dejó en reposo por unos 15 días.

- **Trasiego y filtrado**

Esta operación consiste se separa el producto liquido clarificado del sólido precipitado en el recipiente para luego pasarlo por el filtro prensa, a fin de que el producto obtenga mejor brillo.

- **Envasado**

Previo al envasado los envases (botellas), se desinfectó con detergente y una solución de NaOH de al 0,1 % en agua, luego las botellas se sumergieron en agua caliente 85 °C – 90 °C; seguidamente se llenó las botellas con bebida fermentada a base de lactosuero, empleando embudos y finalmente se colocaron los cortos como tapas.

- **Etiquetado y encapsulado**

Esta etapa consistió en poner las etiquetas y la capsulas correspondientes los cuales les brinda mejor presentación e identificación del producto final.

- **Almacenado**

Se almacenaron a temperatura ambiente y oscuro poniendo las botellas en forma horizontal, de manera que no se deje espacio de oxigenación hasta su evaluación respectiva.

3.7.3. Evaluación sensorial y fisicoquímica de la concentración adecuada de azúcar (° Brix) en la obtención de la bebida fermentada a base de lactosuero

Para esta segunda etapa de la investigación, se utilizó la concentración más idónea de levadura determinada en la primera etapa, y con ella se evaluó tres concentraciones de azúcar del mosto inicial de lactosuero, las mismas que fueron 23, 25 y 27 °Brix. Similarmente, para encontrar la concentración adecuada de azúcar adicionada, se realizaron evaluaciones de atributos sensoriales y características fisicoquímicas, de acuerdo a las metodologías descritas para la primera etapa de la investigación.

Evaluación sensorial

La evaluación sensorial, en las dos etapas de la investigación para la obtención de la bebida fermentada a base de lactosuero: olor, sabor, transparencia y aceptabilidad, se efectuó empleado la ficha de evaluación sensorial (anexo 1) con 15 panelistas semi entrenados y los datos registrados fueron analizados estadísticamente a través de la prueba no paramétrica de Friedman a un nivel de significación $\alpha = 5 \%$.

Evaluación fisicoquímica

Para determinar la concentración adecuada de levadura y azúcar en la obtención de la bebida fermentada a base de lactosuero, según tratamientos, se evaluaron las características fisicoquímicas siguientes: ° Brix, pH, sulfatos, acidez total, acidez volátil, grado alcohólico, extracto seco total y cloruros. El ° Brix y el pH, se evaluaron durante el tiempo de fermentación; mientras que el resto de las propiedades solo se evaluaron en el momento final de la obtención de los grados brix final deseado. Las metodologías para la determinación de las propiedades fueron:

- **Sólidos solubles (°Brix):** mediante un refractómetro (modelo RHB 80, Rango 0 – 80 % °Brix), de acuerdo al método de la AOAC (1990).
- **pH:** Por el método de potenciómetro (AOAC, 1997)
- **Acidez total** (ac. Láctico g/100 mL): NTP 211 0.40 – 2012,
- **Acidez volátil** (ac. Acético g/100mL): NTP 211 0.40 – 2012

- **Ceniza:** Por el método AOAC 930.05 – 2012
- **Temperatura:** se realizó a través de un termómetro digital.
- **Grado alcohólico** (% Alc.Vol.): Medida de la densidad del destilado, a través del alcoholómetro (Castro, 2012).
- **Extracto seco:** se utilizó el método recomendado por la AOAC 14.006(1997).

IV. RESULTADOS

4.1. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL LACTOSUERO

En la Tabla 5, se muestra los resultados del análisis físicoquímico del lactosuero proveniente de la localidad de Huánuco Pampa, provincia de Dos de Mayo región Huánuco.

Tabla 5. Composición físico química del lactosuero en base a 100 g de muestra.

Componentes	Cantidad
Humedad (g)	93,66
Proteína (g)	0,78
Grasa (g)	0,65
Carbohidratos (g)	4,89
Ceniza (g)	0,02
Lactosa (g)	3,83
pH	6,68
Acidez (% expresado en ácido láctico)	0,38
Sólidos solubles (grados Brix)	7,10
Densidad (g/mL) a 20 °C	1,013
Sólidos totales (g)	6,34

Como se puede observar en la Tabla 5, el lactosuero utilizado para la investigación está compuesta principalmente de agua en un 93,66 %. Se destaca una presencia significativa de azúcar (7,1 %), la misma que será importante en el proceso de fermentación para la obtención de la bebida. El pH determinado mostró una tendencia a la neutralidad alcanzando un valor de promedio de 6,68. Se evidencia también en el lactosuero, contenidos muy pequeños de proteínas 0,78 % y de cenizas 0,02 %. Con respecto a la lactosa cuyo porcentaje fue de 3,83 %, se encuentra dentro de los sólidos totales (6,34 %) y forma parte también de los sólidos solubles (7,1 °Brix).

4.2. EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE LEVADURA EN LA ELABORACIÓN DE BEBIDA FERMENTADA A BASE DE LACTOSUERO

En Tabla 6, se presentan los resultados de las cuatro concentraciones de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*): 0,05; 0,1; 0,15 y 0,2 % con respecto al mosto, utilizadas en la elaboración de la bebida fermentada a partir del lactosuero, partiendo de un mosto con 26 °Brix. Se trató de que los grados brix al final de la fermentación estén en promedio a 12 ° Brix; es así que los días de fermentación variaron entre 13 y 22 dependiendo de la concentración de levadura. Después de la fermentación se realizó el descube, luego 02 dos trasiegos a los 7 y 14 días después del descube, se clarificaron con la bentonita y adicionó el metabisulfito de potasio para frenar la fermentación, se filtró y finalmente se envasó en botellas de vidrio 760 mL. La medición del pH, acidez total, acidez volátil y °GL se realizó de la bebida fermentada obtenida y embotellada, según tratamiento.

Tabla 6. Evaluación fisicoquímica de las cuatro concentraciones de (*Saccharomyces cerevisiae*) para la obtención de la bebida fermentada de lactosuero.

	Concentración de levadura			
	T ₁ (0,05 %)	T ₂ (0,1 %)	T ₃ (0,15 %)	T ₄ (0,2 %)
Días de fermentación	22	18	15	13
Grados brix*	12,07 ± 0,37 ^a	11,83 ± 0,23 ^a	12,17 ± 0,15 ^a	11,83 ± 0,21 ^a
pH	3,24 ± 0,01 ^a	3,21 ± 0,04 ^a	3,15 ± 0,03 ^a	3,12 ± 0,10 ^a
Acidez total (g/l) de Ácido Tartárico	4,32 ± 0,02 ^b	4,35 ± 0,07 ^b	4,45 ± 0,087 ^b	4,74 ± 0,13 ^a
Acidez volátil (g/l) de Ácido Acético	0,70 ± 0,03 ^a	0,68 ± 0,06 ^a	0,52 ± 0,04 ^b	0,42 ± 0,09 ^b
Grados Alcohol % Vol. a 20 °C	11,77 ± 0,35 ^{ab}	11,13 ± 0,31 ^b	11,15 ± 0,30 ^b	12,13± 0,08 ^a

En cada fila las medias con diferente letra son significativamente diferentes Prueba de Tukey (P<0,05).

En la mayoría de las propiedades determinadas no existen diferencias estadísticas, de igual forma los grados alcohólicos (°GL) de la bebida fermentada a base de lacto suero alcanzó 11,77; 11,13; 11,15 y 12, 13° GL valores están dentro del estándar correcto, según la norma INEN 360. Jean, R. – Gayon, E. (1980).

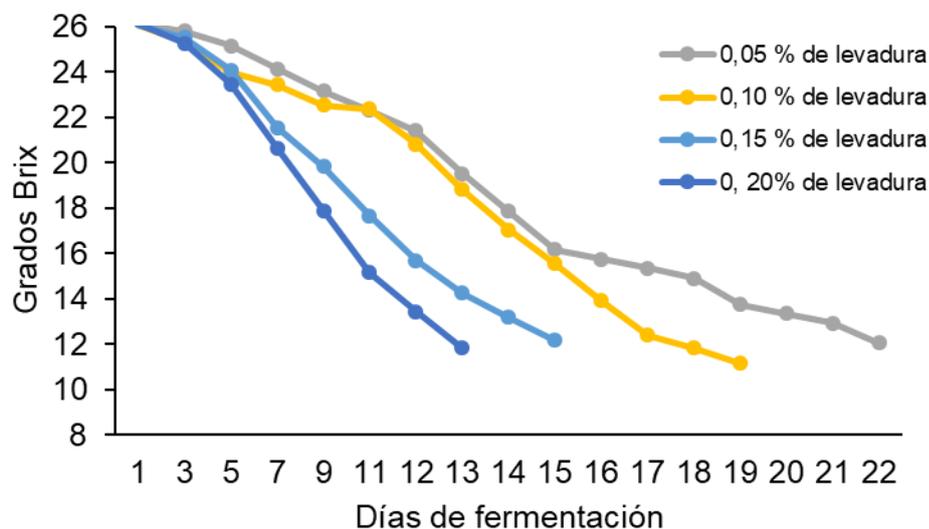


Figura 4. Variación de los grados brix durante la fermentación de la bebida fermentada a basa de lactosuero según concentraciones de levadura.

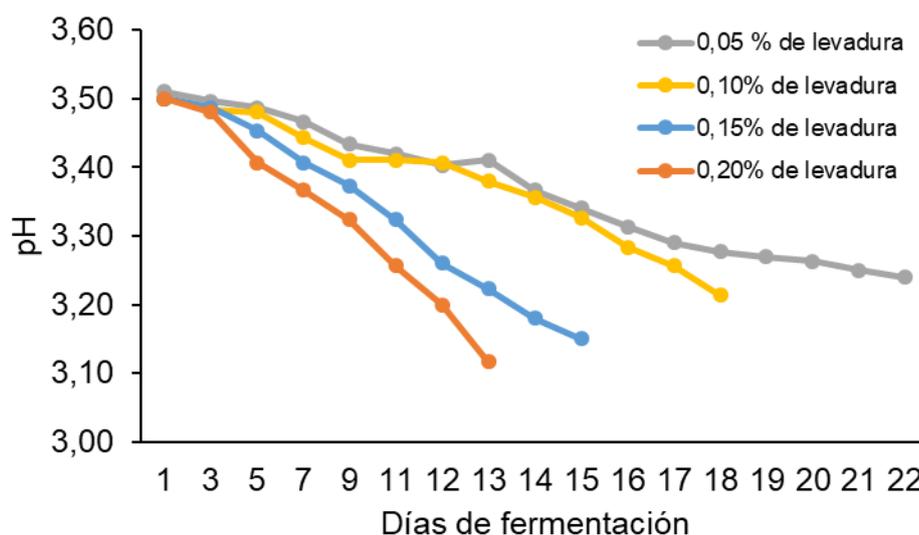


Figura 5. Variación del pH durante la fermentación de la bebida fermentada a base de lactosuero según concentraciones de levadura.

En las figuras 4 y 5, se muestra la variación de los grados brix y del pH durante el periodo de fermentación del mosto para la bebida fermentada. Los resultados estadísticos de la evaluación fisicoquímica de la bebida fermentada a base de lactosuero con cuatro concentraciones de (*Saccharomyces cerevisiae*) se muestra en el anexo 2 y 2a.

Por otro lado, los resultados de la evaluación sensorial se muestran con detalle en el anexo 3a, 3b, 3c y 3d. En la Tabla 7, se muestra el resumen de los atributos evaluados.

Tabla 7. Evaluación sensorial de la bebida fermentada a base de lactosuero elaborado con cuatro concentraciones de (*Saccharomyces cerevisiae*).

Tratamientos	Olor	Sabor	Transparencia	Aceptabilidad
T1: 0,05 % de levadura	5,87 ^a	5,27 ^b	4,80 ^b	5,53 ^a
T2: 0,10 % de levadura	5,67 ^a	5,93 ^a	5,47 ^a	5,67 ^a
T3: 0,15 % de levadura	5,60 ^a	5,67 ^a	5,60 ^a	5,40 ^a
T4: 0,20 % de levadura	4,87 ^b	4,60 ^c	5,73 ^a	4,87 ^b

Medias seguidas de diferentes letras minúsculas en columnas son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de Friedman (P<0.05).

La evaluación sensorial muestra que para las concentraciones de 0,05 a 0,15 %, los panelistas no encontraron diferencias en el olor y la aceptabilidad en la bebida fermentada obtenida. Asimismo, entre las concentraciones de 0,10 y 0,15 %, para todos los atributos evaluados, los jueces no percibieron diferencias, lo cual estadísticamente se establece igualdad entre estos tratamientos y se marca diferencias significativas con las otras dos concentraciones de los extremos: 0,05 y 0,20 %; por lo tanto, en el rango de concentración de 0,10 a 0,15 % resultan como las más adecuadas para continuar en la segunda etapa de la investigación.

En el perfil de la Figura 6, hay una tendencia de las concentraciones 0,10 y 0,15 %, hacia el valor mayor de la escala hedónica, evidenciándose la mayor calificación para estos dos tratamientos.

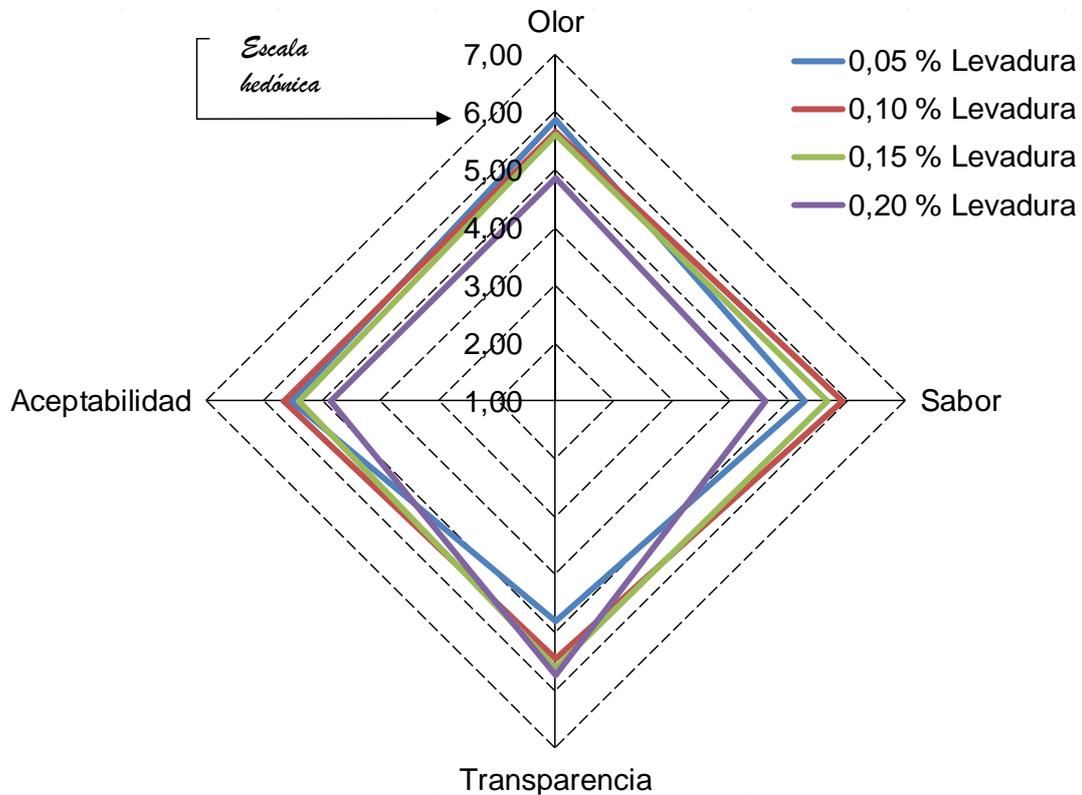


Figura 6. Perfil sensorial de la bebida fermentada a partir de lactosuero según concentración de levadura

4.3. EVALUACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE AZÚCAR (°Brix) EN LA ELABORACIÓN DE BEBIDA FERMENTADA A BASE DE LACTOSUERO

En la evaluación de la concentración de levadura resultó que concentraciones entre 0,10 y 0,15 % de *Saccharomyces cerevisiae* son las más adecuadas para la obtención de la bebida fermentada a base de lactosuero. Es por ello, que se tomó una concentración promedio de este rango, igual a 0,125 %, para continuar con la investigación. Esta segunda etapa, consistió en evaluar las concentraciones de azúcar a adicionarse al lactosuero hasta alcanzar los 23, 25 y 27 ° Brix, luego proceder con la fermentación hasta obtener la bebida final.

En el anexo 4, se presentan los resultados estadísticos de las evaluaciones fisicoquímicas en cuanto a grados Brix, pH, acidez total, acidez volátil y grados alcohólicos, sulfatos, cloruros y extracto total; mientras, que en la Tabla 8, se muestra el resumen de las propiedades analizadas expresadas en promedios con su respectiva desviación estándar.

Tabla 8. Evaluación fisicoquímica de las tres concentraciones de azúcar (sacarosa) para la obtención de la bebida fermentada de lactosuero.

	Concentración de azúcar		
	T ₁ (23 °Brix)	T ₂ (25 °Brix)	T ₃ (27 °Brix)
Días de fermentación	16	15	14
Grados brix*	12,17 ± 0,06 ^a	12,00 ± 0,20 ^a	12,03 ± 0,21 ^a
pH	3,28 ± 0,07 ^a	3,17 ± 0,07 ^a	3,22 ± 0,08 ^a
Acidez total (g/l) de Ácido Tartárico	4,19 ± 0,15 ^b	3,98 ± 0,13 ^b	4,04 ± 0,16 ^a
Acidez volátil (g/l) de Ácido Acético	0,75 ± 0,05 ^a	0,68 ± 0,04 ^a	0,66 ± 0,02 ^a
Grados Alcohol % Vol. a 20 °C	11,00 ± 0,20 ^b	11,33 ± 0,31 ^{ab}	12,03 ± 0,35 ^a
Sulfatos sulfato de potasio (g/L)	0,60 ± 0,01 ^a	0,60 ± 0,01 ^a	0,53 ± 0,02 ^b
Cloruros cloruro de sodio (g/L)	0,20 ± 0,02 ^a	0,20 ± 0,02 ^a	0,17 ± 0,02 ^a
Extracto seco total a 100 °C (g/L)	17,00 ± 0,10 ^a	17,12 ± 0,13 ^a	17,40 ± 0,05 ^a

En cada fila las medias con diferente letra son significativamente diferentes Prueba de Tukey (P<0,05).

No se evidencian diferencias estadísticas en cuanto a los valores de los análisis fisicoquímicas medidas, excepto para los grados alcohólicos, donde la dilución con 27° Brix alcanza al final de la evaluación 12,03 ± 0,21 °GL, diferenciándose estadísticamente de las diluciones de 25 y 23 ° Brix con 11,00 ± 0,2 y 11,33 ± 0,31, respectivamente.

En las Figuras 7 y 8, se grafica las curvas de variación de los ° Brix y del pH durante los días de fermentación de la bebida a base de lactosuero, en ambas gráficas se evidencia una tendencia decreciente de las curvas, siendo más marcada las de 27 ° Brix.

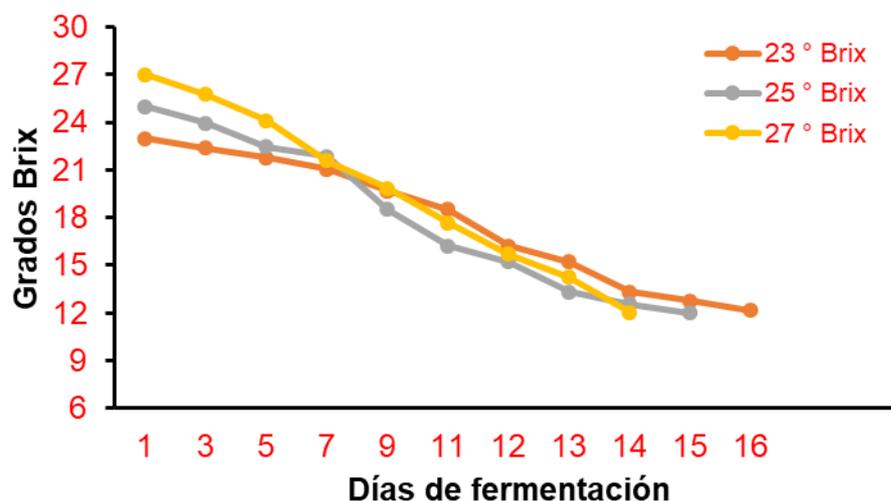


Figura 7. Variación de los grados brix durante la fermentación de la bebida fermentada a base de lactosuero según concentraciones de azúcar adicionada.

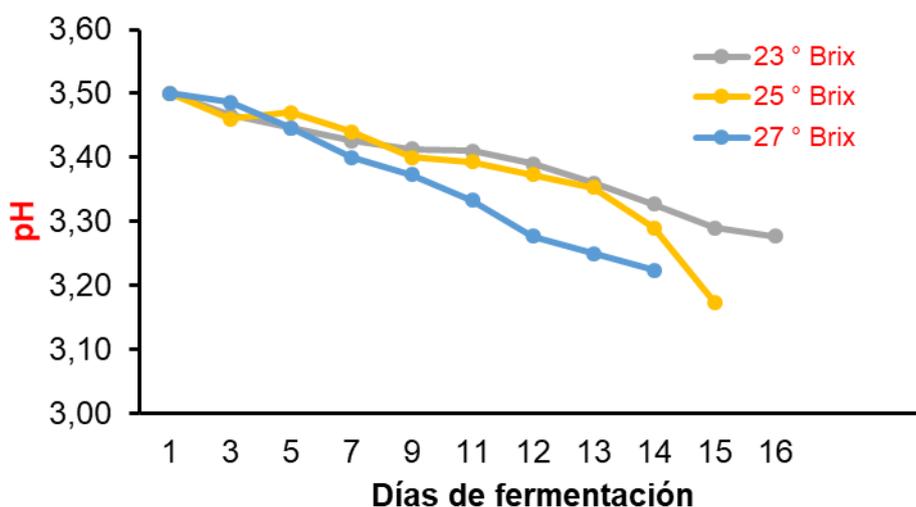


Figura 8. Variación del pH durante la fermentación bebida fermentada a base de lactosuero según concentraciones de azúcar adicionada.

Por otro lado, para esta segunda etapa de la investigación, los resultados de la evaluación sensorial, de la bebida fermentada a base de lactosuero, se muestran en el anexo 3; mientras que en la Tabla 9, se presenta el resumen de las características evaluadas.

Tabla 9. Evaluación sensorial de la bebida fermentada a base de lactosuero elaborado con tres concentraciones de azúcar (° Brix)

Tratamientos	Olor	Sabor	Transparencia	Aceptabilidad
T1: 23 ° Brix	4,93 ^a	5,53 ^a	4,73 ^a	5,13 ^a
T2: 25 ° Brix	4,60 ^a	5,13 ^b	4,80 ^a	4,60 ^b
T3: 27 ° Brix	4,80 ^a	4,73 ^c	5,07 ^a	4,53 ^b

Medias seguidas de diferentes letras minúsculas en columnas son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de Friedman ($P < 0.05$).

En la Tabla 9, con respecto al olor y a la transparencia de la bebida fermentada obtenida no se encontraron diferencias entre las tres concentraciones (° Brix). En cuanto al atributo sabor y aceptabilidad, el mejor tratamiento resultó la concentración inicial de 23 °Brix, diferenciándose significativamente de las concentraciones 25 y 27 °Brix; por lo tanto, para esta segunda etapa de la investigación termina siendo el más adecuado, sensorialmente, la concentración de 23 °Brix.

En la Figura 9, la gráfica radial del T1: 23 °Brix, se ubica en la parte extrema superior de la escala hedónica de cada atributo sensorial evaluado, entre las líneas de 5 y 6 (bueno y muy bueno según la escala hedónica) para los atributos sabor y aceptabilidad de la bebida, y cercanas a “bueno” para los atributos olor y transparencia. Se percibe también, que a mayor concentración de azúcar adicionada al lactosuero, se logra que el producto final sea más transparente.

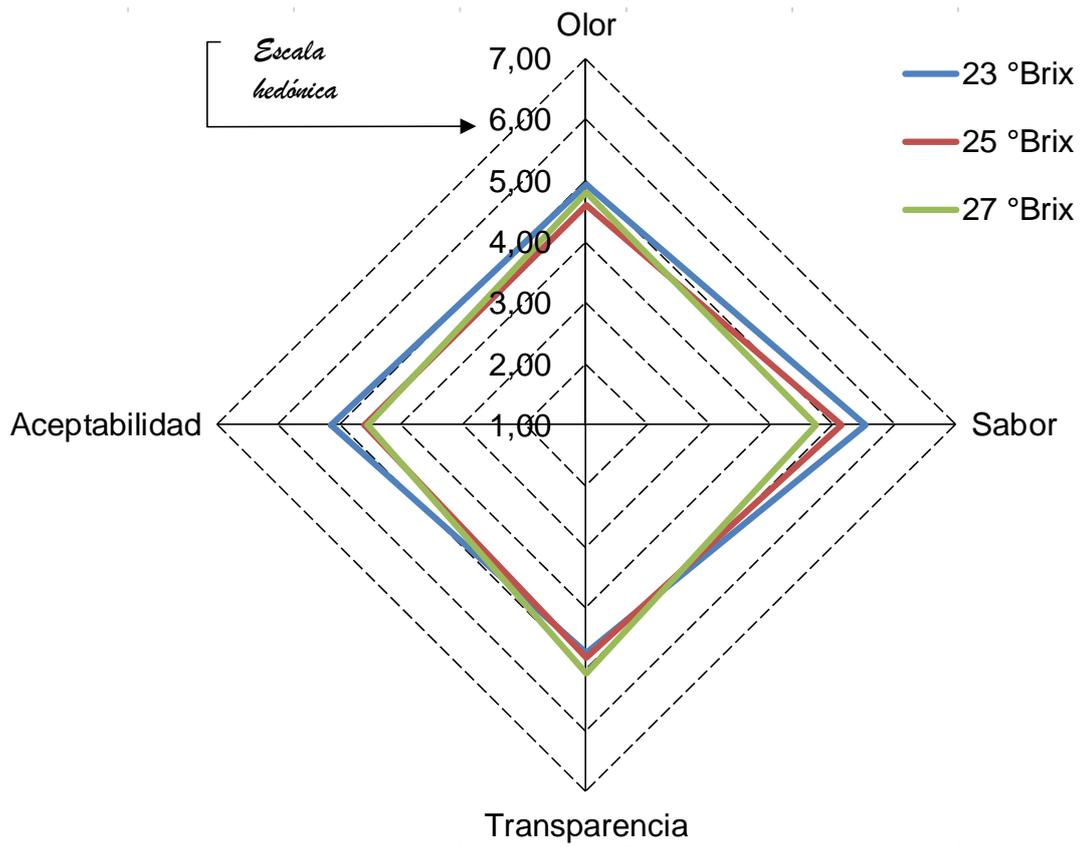


Figura 9. Perfil sensorial de la bebida fermentada a partir de lactosuero según concentración de azúcar adicionada (° Brix)

V. DISCUSIÓN

5.1. DE LA CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL LACTOSUERO DULCE

De acuerdo a la Tabla 5, los componentes del lactosuero dulce de la provincia de Huánuco, presenta un contenido de agua de 93,66 % y materia seca 6,34 %, al respecto Guerrero *et al.* (2012), señala que el contenido de agua y materia seca en lactosuero dulce es de 93 - 95% y 5 - 7% respectivamente; también, Alias (2003) menciona que el contenido de agua del suero dulce de quesería puede variar de 94 a 95 % pero normalmente representa el 94% del suero, por lo que el resultado obtenido entre estos parámetros se encuentra dentro de lo especificado por el autor.

Los resultados obtenidos en pH, acidez y sólidos solubles fueron 6,68; 0,38 % y 7,10 °Brix respectivamente. Mateo (2012), reporto que el lactosuero dulce tiene un pH 6,5; acidez igual a 0,08% y sólidos solubles 6,28 ° Brix; mientras que Alais (2003) menciona que el suero dulce de quesería tiene un pH menor que la leche y que puede variar entre 5,8 y 6,2; debido a la fermentación parcial de la lactosa presente en la leche. Morales (1988) el suero dulce de quesería posee una acidez de 0.18 - 0.22 % de ácido láctico y si la acidez es superior a 0,22 % puede deberse a la acción de contaminantes microbiológicos que se puede dar en la coagulación de la leche.

Con respecto a la densidad determinada de 1,012 g/cm³ a 15 °C, Ulloa y Lappe (1993) menciona que la densidad del suero dulce de quesería puede fluctuar entre 1,010 a 1,015 g/cm³ a una temperatura de 15 °C; su variación con la temperatura es 0,0002 g/cm³ por cada grado de temperatura.

Grasa 0.2%, Santos (1987) la grasa del suero dulce de quesería está formado por varios compuestos que hacen de ella una sustancia compleja y es la responsable de ciertas características especiales con respecto a la calidad. La grasa interviene directamente en la economía, nutrición, sabor y algunas propiedades físicas. La cantidad presente en el suero dulce de quesería varía de 0,2 a 0,5 % dependiendo de muchos factores entre ellos de la coagulación.

Carbohidrato 4,8%, Alias (2003) los glúcidos del suero dulce de quesería están compuestos esencialmente por lactosa y algunos otros azúcares en pequeñas

cantidades, como la glucosa y galactosa en 0,1%. La lactosa es el componente cuantitativamente más importante de los sólidos no grasos. Suero dulce de quesería contiene alrededor de un 5 % de este disacárido.

Ceniza 0,35 %, Ulloa y Lappe (1993) el suero dulce de quesería presenta cantidades similares de minerales que la leche entera, fluctuando esto de 0,3 a 0,35 % de ceniza.

En cuanto al contenido de proteína del suero dulce, se encontró en un promedio de 0,8 g/100g; Madrid (1999) indica que los valores de proteína difieren alrededor del 0,8 - 1 %. Así también, Wayne (1994) en la elaboración de una bebida con suero de leche de queso fresco, presenta que el contenido de proteína es de 1 %, valor similar al obtenido por este; según estudios para la elaboración de una bebida fermentada a base de suero fue de 0,74 % (Arazo *et al*, 2010), siendo este un resultado similar al que se obtuvo en el presente estudio con 0,77 % de proteína. Según las características físico-químicas de diferentes sueros dulces de queso de leche de vaca, realizadas en un estudio por Rodríguez *et al* (2011), la media del porcentaje de proteína fue de 0,70 %, siendo un resultado similar al obtenido en la investigación realizada en el cual se obtuvo en cuanto a proteína de sueros dulces una media de 0,97 %.

Alvarado; Guerra (2010) muestra resultados con respecto al contenido de lactosa en los sueros ácidos, indicando que la lactosa es menor 2 unidades porcentuales (ud) en sueros ácidos, con respecto a los sueros dulces. En el presente estudio, el suero del queso fresco presentó (4,3 %), seguido del Port Salut (3,87 %) y del semi maduro (3,47 %) lo que demostró que los sueros dulces contienen mayor cantidad de lactosa con respecto al suero ácido de queso mozzarella (2,72 %). El mismo autor indica que, en todos los tipos de suero, la lactosa constituye la mayor parte de los sólidos (70 - 75 %), sin embargo, el resto de los sólidos son fuente de proteína, grasa, vitaminas y minerales. Callejas *et al*. (2012) menciona que en el suero ácido, la lactosa se ha transformado en ácido láctico, por lo que contiene los menores contenidos de lactosa, con respecto a los de sueros dulces. Según las características físico-químicas de diferentes sueros dulces de queso de leche de vaca realizadas en un estudio por Rodríguez *et al*. (2011), la media del porcentaje de lactosa fue de 4,68 %, siendo un resultado similar a los obtenidos en la investigación que tuvo un promedio de 3,88 %. En la elaboración

de una bebida a base de suero de leche de queso fresco, Wayne (1994), observó que los niveles de lactosa en este estudio fueron de 4,40 % y el resultado obtenido en esta investigación para queso fresco tiene un valor similar de 4,3 %. También Sevilla (2013) menciona que el lactosuero contiene entre 2,50 a 5,14 g de lactosa; rango que cumple con los valores caracterizados en este estudio. Fresno *et al.* (1996) indica que el valor nutritivo tanto de quesos como de sueros está determinado por la composición de la leche de partida, siendo el principal factor de variación la alimentación de los animales.

El consumo de alimentos enriquecidos o elaborados a base de proteínas del lactosuero puede modificar o influenciar positivamente la salud de los consumidores, ya que presentan múltiples funciones biológicas y fisiológicas que ayudan a mantener estable los sistemas digestivo, óseo, inmunológico, nervioso, cardiovascular y muscular (Baró *et al.*, 2001).

5.2. EVALUACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE LEVADURA EN LA ELABORACIÓN DE BEBIDA FERMENTADA A BASE DE LACTOSUERO

Los resultados de la Tabla 6, indican que a mayor porcentaje de levadura menor es el tiempo de fermentación; sin embargo relacionando a la parte sensorial (Tabla 7) un excesivo porcentaje produce una tendencia a la disminución en calificación de los atributos sensoriales, nuestros resultados señalaron que el mejor porcentaje de *Saccharomyces cerevisiae* para la elaboración de la bebida fermentada fue entre 0,10 y 0,15 % (1 y 1,5 g/L). Arrollo y Coox (2018) utilizaron una concentración de 3 g/L de *Saccharomyces cerevisiae* y López y Prado (2015) en el rango de 6,16 y 6,18 g/L, en ambas investigaciones para la obtención de alcohol, como producto final, a partir de lactosuero, logrando obtener después del destilado concentraciones de alcohol superiores al 22 %. En nuestra investigación se buscó obtener alcohol pero en una concentración cercana a la de una bebida tipo vino, de aquí que los grados de alcohol obtenidos nos permite tener la confianza que nuestros resultados son bastante fiables. En términos generales la evaluación fisicoquímica no presenta diferenciación estadística con los cuatros porcentajes estudiados y en cuanto a la evaluación sensorial con porcentajes de levadura entre 0,05 y 0, 20 % se obtienen promedios oscilantes al valor de 5, que en la escala hedónica utilizada

equivale a bueno, por lo que, dependiendo de las necesidades de producción en cuanto a tiempo, se podría utilizar concentraciones en todo este rango. En el caso de elaboración de bebidas fermentadas, la calidad organoléptica, es un factor determinante en la calidad final del producto elaborado, como lo mencionan los estudios de Barrios (2010). En la Tabla 6, también, se muestra que las características fisicoquímicas permiten afirmar que la calidad de la bebida fermentada obtenida se encuentra dentro de los parámetros establecidos por las especificaciones de las normas técnicas peruanas 212.014 (2002), por su proximidad 12 °GL se clasifica dentro de los vinos comunes y por el contenido de azúcares cercano a 12° Brix como un vino semi seco, asimismo la acidez volátil, acidez total y el pH se encuentra dentro de los requisitos establecidos de acuerdo a la norma García y Xirau (2005).

Por otro lado, López y Prado (2015) señalan que en la obtención de alcohol a partir de lactosuero pueden diferir los resultados fisicoquímicos obtenidos, debido a diferentes factores como la cantidad de lactosuero empleado para la fermentación, la no utilización de una enzima capaz de desdoblar la lactosa para que el fermento pueda actuar de una forma más eficaz, etc., obteniendo así rendimiento de alcohol más bajos, por otra parte en un estudio realizado por Padín y Díaz (2009) señalan que el desdoblamiento de la lactosa en dos monosacáridos es un factor importante para aquellas levaduras que no son capaces de fermentarla como disacárido, es por ello que mediante la utilización de la enzima lactasa o la utilización de levaduras como *Kluyveromyces marxianus*, la cual es la más idónea para la obtención de alcohol a partir del lactosuero debido a que puede fermentar lactosa por sí misma, desdoblan y facilitan el proceso de fermentación obteniéndose mejores resultados en comparación con los obtenidos sin este tipo de enzimas o levaduras específicas.

5.3. EVALUACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE AZÚCAR EN LA ELABORACIÓN DE BEBIDA FERMENTADA A BASE DE LACTOSUERO

En la Norma técnica peruana (NTP) 212.014; las características fisicoquímicas para vinos y similares es como sigue: sulfatos expresado como sulfato de potasio (g/L) es como máximo 1; acidez total (g/L), mínimo 3 y máximo 7; grado alcohólico (%Vol.) a 20°C, mínimo 10; extracto seco total a 100 °C (g/L),

mínimo 16 y Cloruros expresado como cloruro de sodio (g/L), máximo 0,250. En ese sentido los parámetros fisicoquímicos de la bebida fermentada a base de lactosuero dulce (Tabla 8) se encuentran dentro de lo establecido por la normatividad en mención.

En la Figura 7, se encontró que el pH tendieron a disminuir esto podría estar relacionado a lo que menciona Flanzky (2003), que la disminución del pH en el medio es debido a los subproductos producidos en el proceso de fermentación, estos subproductos son principalmente ácidos orgánicos como ácido málico, tartárico y/o láctico, también señala que la capacidad de las levaduras de adecuar el pH del mosto está entre 3,20 y 3,55 y así crea un ambiente más apropiado para su desarrollo. Lo antes mencionado justifica que todos los tratamientos hayan logrado estabilizarse en ese rango, subiendo o bajando el pH según su necesidad. La mayoría de los tratamientos mostraron una tendencia a disminuir el pH que pudo estar relacionado con el aumento de alcohol en el medio, los ácidos orgánicos y los metabolitos, afectando el pH (Flanzky 2003).

En general, también hubo una disminución significativa del ° Brix a través del tiempo (Figura 8). Lo anterior pudo estar relacionado con el hecho que las levaduras, en ausencia de oxígeno, dividen las moléculas de azúcar en dos partes; gas carbónico y alcohol etílico, aumentando el alcohol presente en el medio y disminuyendo el azúcar (Jean-Prost y Medori, 2001).

El proceso fermentativo se controló determinando: el consumo de azúcar, expresado en la reducción de los grados Brix iniciales hasta aproximadamente 12 °Brix. El valor idóneo de los grados Brix iniciales resultó sensorialmente 23 °Brix, concentraciones mayores otorgan al producto final características con más sabor a azúcar; aun cuando se entiende que en la fermentación las levaduras actuaron más en la azúcar adicionada, los panelistas buscaron en la bebida obtenida ciertas características de sabor pertenecientes al suero de leche, de aquí que la menor concentración inicial de azúcar en el lactosuero resultó como la más idónea. Aun, cuando con la evaluación sensorial se determinó a la concentración inicial de 23 ° Brix como la más idónea para la obtención de la bebida fermentada a base de lactosuero, para las concentraciones de 25 y 27 °Brix los panelistas también lo valoraron con calificaron cercanos a 5, bueno en la escala hedónica utilizada, lo que indican que, aunque no sean adiciones de

azúcar óptimas al lactosuero, se logra obtener bebidas con buenos atributos sensoriales.

Bajo las condiciones de proceso con las tres concentraciones de azúcar se obtuvieron bebidas fermentadas (tipo vino) con un contenido alcohólico entre 11,00 a 12,03 ° GL, con una acidez total entre 3,98 a 4,19 g/L de ácido tartárico y una acidez volátil entre 0,66 a 0,75 g/L de ácido acético, valores en el rango normal para vinos en la Norma técnica peruana (NTP) 212.014.

VI. CONCLUSIONES

De acuerdo a los objetivos planteados y a resultados obtenidos se llega a las siguientes conclusiones:

- La concentración idónea de *Saccharomyces Cerevisiae* para la obtención de bebidas fermentadas a partir de lacto suero está en el rango de 0,10 a 0,15 % (1 a 1,5 g/L de lactosuero) siendo el promedio 0,125 % con la que se trabajó en la investigación.
- La adición de azúcar (sacarosa) hasta alcanzar los 23 °Brix, es la más idónea para la obtención de bebidas fermentadas a partir de lacto suero con buenas características sensoriales y propiedades fisicoquímicas dentro de la normatividad.
- A partir de lactosuero dulce con la adición de azúcar hasta alcanzar 23 ° Brix y con la adición de 0,125 % de levadura *Saccharomyces Cerevisiae*, respecto a la cantidad de lactosuero, se logró obtener una bebida fermentada con buenas características sensoriales y con las siguientes características fisicoquímicas: 12,17 °Brix, pH 3,28; acidez total 4,19 g/L ac. tartárico; acidez volátil 0,75 g/L de ac. acético; grados alcohólicos 11 %Vol.; sulfatos 0,60 g/L; cloruros 0,20 g/L; extracto seco total 17 g/L; estos resultados se encuentran de dentro de lo especificado por la NTP 212.014.

VII. RECOMENDACIONES

De acuerdo a los resultados y discusión de la investigación planteamos las siguientes recomendaciones.

- El lactosuero utilizado contiene alrededor del 3,8 % de lactosa, y la *Saccharomyces Cerevisiae* no desdobla este tipo de azúcar, por lo que se hace necesario la utilización de enzimas específicas para ser aprovechada en la fermentación de la bebida. En ese sentido, se recomienda investigaciones sobre el uso de enzimas lactasas para el aprovechamiento del lactosuero.
- Realizar investigaciones similares utilizando jugos de frutas con propiedades funcionales para enriquecer funcionalmente el producto final.

VIII. LITERATURA CITADA

- Acosta, R. C. (2012). Evaluación de la fermentación alcohólica para la producción de Hidromiel. Facultad de Ingeniería, Departamento de Ingeniería Química y Ambiental. Universidad nacional de Colombia. Bogotá, Colombia.
- Alais, Ch. (2003). Ciencia de la leche Principios de la Técnica Lechera. Barcelona, España: Reverte S.A, Recuperado de <http://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=bW_ULacGBZMC&oi=fnd&pg=PR5&dq=lactosa+del+suero+de+leche&ots=QLpb_5hx&sig=Abs0Ejy8tLMXYKf81X8adgsolSw#v=onepage&q&f=false>
- Aleixandre, J.L. (1998). Revista alimentaria. Factores que intervienen en la composición de un vino. Noviembre de 1998. Almeida KE, Tamime AY, Oliveira MN (2009) Influence of total solids contents of milk whey on the acidifying profile and viability of various lactic acid bacteria. Food Sci. Technol.-LWT 42: 672-678.
- Alvarado, C.C, Guerra, M. (2010). Lactosuero como Fuente de Péptidos Bioactivos. Anales Venezolanos de Nutrición. Volumen 23 (1): 42-49
- Alvarez, J. (1991). La Viña, la vid y el vino. México: Editorial Trillas.
- Arazo, M, Casales, Y, Duarte, C, Hernández, A. (2010). Evaluación de Estabilizadores para la Elaboración de una Bebida Fermentada de Suero. Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Volumen 20. Número 3 Recuperado de <<http://revistas.mes.edu.cu/greenstone/collect/repo/import/repo/20120830/08644497200303.pdf>>
- Arora S, Shendurse AM, Sharma V, Wadhwa BK, Singh AK (2013) Assessment of stability of binary sweetener blend (aspartame x acesulfame-K) during storage in whey lemon beverage. J. Food Sci. Technol. 50: 770-776.
- Arroyo, M.E; Coox, J.S. (2015) Dosificación de lactasa en la fermentación con *Saccharomyces cerevisiae* para la obtención de alcohol utilizando lactosuero. Tesis para la obtención del título de ingeniero Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López. Disponible en <http://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/887/1/TTA16.pdf>
- Baccouche A, Ennouri M, Felfoul I, Attia H (2013) A physical stability study of wheybased prickly pear beverages. Food Hydrocoll. 33: 234-244.
- Bainotti AE, Basilio JC, Carrasco de Mendoza MS (1987) Optimización de condiciones para la producción discontinua de proteína unicelular utilizando suero de leche. Rev. Argent. Microbiol. 19: 1-7.
- Benítez, A; Pérez, E; Morales, Y; Muñoz, J; Díaz, R; y Morales, P. (2017). Aprovechamiento de lactosuero en la elaboración de lactofermentos agrícolas: Caracterización fisicoquímica, microbiológica y toxicológica. Ciencias de la Química y Agronomía. Handbook T-I.-©ECORFAN, Texcoco de Mora, México.

- Baró L, Jiménez JJ, Martínez-Férez A, Bouza Y (2001) Bioactive milk peptides and proteins. *Ars Pharm.* 42: 135-145.
- Boudarel, M. (1984). Se concederá una contribución al estudio de una fermentación alcohólica del zumo de remolacha con *Saccharomyces cerevisiae*. Francia: Universidad de Dijon.
- Brito, H. (2015). Aprovechamiento del suero de leche como bebida energizante para minimizar el impacto ambiental. *European Scientific Journal*. September Edition. Vol. 11, Num. 26. ISSN 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857- 7431. Consultado en: <http://eujournal.org/index.php/esj/article/viewFile/6245/6014>
- Callejas, H.J, Prieto, G.F, Reyes, C.V, Marmolejo, S.Y, Méndez, M.A. (2012). Caracterización Fisicoquímica de un Lactosuero: Potencialidad de Recuperación de fósforo. Universidad de Guanajuato. Volumen 22. Número 1
- Camejo, J, Rodríguez, T, García A, Bencomo, E, Boumba, A.M, Seivanes, A, Fernández, A. (2006). Producto Untable Enriquecido con Proteínas. Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia. Ciencia y Tecnología de Alimentos. Volumen 16. Número 3. Recuperado de <<http://revistas.mes.edu.cu/greenstone/collect/repo/import/repo/20090319-u/08644497163049.pdf> >
- 2.Carrillo, J. (2002). Tratamiento y reutilización del suero de leche. *Revista Conversus*, Instituto Politécnico Nacional, México. Núm. 10. Pp. 22-25. ISSN 1405-2822. E ISSN-L1665-2665. Consultado en: http://www.cedicyt.ipn.mx/RevConversus/Documents/Revistas/conversus_10.pdf
- Conti, P.J, Ceriani, M.J, A. Marcela, Esteban, N.E. (2012). Perfil Proteico y Peptídico de una Base Fluida para Bebidas Funcionales obtenida por Fermentación de Lactosuero. *Información Tecnológica*. Volumen 23. Número 2. Buenos Aires, Argentina
- Cramer, A., Vlassides, S., Bloque, D. (2002). "Modelo cinético para la fermentación del vino limitado en nitrógeno. " *Biotechnología y bioingeniería*, 77, 49-60.
- Cruz AG, Anderson deSS, Macchione MM, Teixeira AM, Schmidt FL (2009) Milk drink using whey butter cheese (queijo manteiga) and acerola juice as a potential source of vitamin C. *Food Bioproc. Technol.* 2: 368-373
- Cujano-Guambo DC (2016) Determinación de la temperatura y tiempo adecuado para la obtención de requesón deshidratado. Tesis. Universidad Nacional de Chimborazo. Ecuador. 134 pp.
- De Rosa, T. (1998). *Tecnología de vinos blancos*. España: Ediciones MP.
- Dickinson, J., Schweiser, M. (2003). *El metabolismo y la fisiología molecular de Saccharomyces cerevisiae*. Londres, España

- Dragone G, Mussatto SI, Oliveira JM, Teixeira JA (2009) Characterisation of volatile compounds in an alcoholic beverage produced by whey fermentation. *Food Chem.* 112: 929-935.
- El-Hatmi H, Girarde JM, Gaillard JL, Yahyaoui MH, Attia H (2007) Characterisation of whey proteins of camel (*Camelus dromedarius*) milk and colostrums. *Small Rum. Res.* 70: 267-271.
- Elpidia, E. (2013). Suero lácteo, generalidades y potencial uso como fuente de calcio de alta biodisponibilidad *Revista chilena de Nutrición*. Santiago, Chile. Vol. 40 Núm. 4. ISSN 07177518. ID=46929416011. Consultado en: <http://www.scielo.cl/pdf/rchnut/v40n4/art11.pdf>
- Flanzy C. 2003. *Enología. Fundamentos científicos y tecnológicos*. 2a Edición. Paris, Francia. Editorial MUNDI-PRENSA. 797 p.
- Fleet, G. H. y Heard, G. M. (1993). El crecimiento de la levadura durante la fermentación. En: *Vino Microbiología y Biotecnología*. Harwood Academic Publishers, Suiza, 27-54.
- Fresno, J.M, Tornadijo, M.E, Carballo, J, González, P. (1996). Characterization and Biochemical Changes during the Ripening of a Spanish Craft Goats Milk Cheese. *Food Chemical*, 55: 225-230
- Gonzáles, M.R. (2011). *Elaboración artesanal de vino de frutas*. Carolina del Norte, Estados Unidos: Lulu Enterprises.
- Guerrero W, Gomez C, Castro J, González C, Santos E. (2012). Caracterización fisicoquímica del lactosuero en el valle de Tulancingo
- Hatta, S. B. (2011). *Elaboración de vinos y vinagres*. Universidad Nacional Agraria la Molina. Facultad de Industrias Alimentarias. Lima, Perú.
- Hernández, R. (2013). Caracterización fisicoquímica de un producto tipo cajeta elaborado a partir del suero dulce de quesería. Universidad de Veracruz. Facultad de Ciencias Químicas, Campus Xalapa, Ingeniería en Alimentos. Pp 8-17 (Tesis en prensa). Consultado en: <http://cdigital.uv.mx/handle/123456789/33720>
- Hernández-Ledesma B, Recio I, Amigo L (2008) β -Lactoglobulin as source of bioactive peptides. *Amino Acids* 35: 257-265.
- Higuero, J.F. (2007). El fósforo I: Funciones Principales. Recuperado de <http://www.fuerzaycontrol.com/nutricion/nutrientes/minerales-nutrientes-nutricion/elfosforo-i-funcionesprincipales/>
- Huginin, G.A. (1999). El Lactosuero. Aplicaciones de Productos de Lactosuero en Estados Unidos y Posibles Aplicaciones en México y otros Países Latinoamericanos. *Procesos al día*. Industria Alimentaria. Publicado en EBSCO

- Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual [INDECOPI], (2008). Norma Técnica Peruana [NTP] 210.019: Bebidas alcohólicas. Definiciones. Lima, Perú.
- Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual [INDECOPI], (2011). Norma Técnica Peruana [NTP] 212.014: Bebidas alcohólicas Vitivinícolas. Vinos. Requisitos. Tercera edición. Lima, Perú.
- Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual [INDECOPI], (2011). Norma Técnica Peruana [NTP] 212.014: Bebidas alcohólicas vitivinícolas. Vinos. Requisitos. Lima, Perú.
- Jauregi P, Welderufael, FT (2010) Added-value protein products from whey. *Nutrafoods* 9: 13-23.
- Jean-Prost P; P. Medori. 2001. *Apicultura. Conocimiento de la abeja. Manejo de colmena.* 3ª Edición. Madrid, España. Editorial Mundi-Prensa. 741 p.
- Jennings, D. H. (1995). *La fisiología de la nutrición de hongos.* Cambridge University Press, Cambridge.
- Kirk, R. y Sawyer, R. (2005). *Composición y análisis de alimentos de Pearson,* Editorial CECSA, México. Pp.583-632. ISBN 9789682616402 (libro).
- Latham, C.M. (2002). *Minerales. Nutrición Humana en el Mundo en Desarrollo.* Departamento de Agricultura. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Colección FAO: Alimentación y Nutrición N° 29. Capítulo 10, Italia, Roma Recuperado de <<http://www.fao.org/docrep/006/w0073s/w0073s0e.htm>>
- Liang M, Chen VYT, Chen HL, Chen W (2006) A simple and direct isolation of whey components from raw milk by gel filtration chromatography and structural characterization by Fourier transform Raman spectroscopy. *Talanta* 69: 1269-1277.
- Londoño, M.M.; Sepúlveda, J.U; Hernández, A; Parra, J.E. (2008). Bebida fermentada de suero de queso fresco inoculada con *Lactobacillus casei*. *Revista Facultad Nacional de Agronomía - Medellín* [en línea]. 2008, 61(1), 4409-4421 [fecha de Consulta 5 de febrero de 2020]. ISSN: 0304-2847. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=179914077017>
- Lopez, F. y Guell, C. (1995). *Revista de alimentación, equipos y tecnología.* Marzo de 1995. López, J.J. y Prado, J.L. (2015). Uso de lacto suero en sinergia con *Saccharomyces cerevisiae* como materia prima para la producción de etanol a escala piloto. UNAN-Managua, Julio 2014-Agosto 2015.
- Luhovyy BL, Akhavan T, Anderson GH (2007) Whey proteins in the regulation of food intake and satiety. *J. Am. Coll. Nutr.* 26: 704-712.

- Madrid, A.V. (1999a). Tecnología Quesera. Segunda Edición. Capítulo 8, Suero de queserías AMV Ediciones Mundi-Prensa
- Mateo L. (2012). Elaboración y evaluación de una bebida tipo yogurth a base de lactosuero dulce fermentada con estreptococcus salivarius ssp. thermophilus y lactobacillus casei ssp. casei
- Mercedes, F.M. (2006). Estudio de proceso tecnológico para la elaboración de una bebida alcohólica a partir del jugo de naranja (tesis de doctorado). Facultad de Ciencias de la Alimentación de la Universidad Politécnica de Valencia. España.
- Merchan, C. y Castillo, A. (1999). Manejo y funcionamiento del biorreactor Bioflo 3000 Bench Fermentor en tres fermentaciones alcohólicas a 25°C. (tesis de grado) Facultad de Ingeniería de producción Agroindustrial de la Universidad de la Sabana. Bogotá, Colombia.
- Mesas, J.M. y Alegre, M. T., (1999). El papel de los microorganismos en la elaboración del vino. Ciencia tecnologica Alimentaria, 2(4), p 174-183.
- Miranda, O, Ponce P.I, Fonseca P.L, Espinosa C.M, Díaz L.R, Cedeño A.C. (2009). Características Físicoquímicas de Sueros de Queso Dulce y Ácido Producidos en el Combinado de Quesos Bayamo. Instituto de Investigaciones Agropecuarias Jorge Dimitro Bayamo Granma. Revista Club de Alimentos. Recuperado de <http://www.revicubalimenta.nut.sld.cu/Vol_19_1/Articulo_1_19_1_21_25.pdf>
- Miranda, O; Fonseca, P.L; Ponce, I; Cedeño, C; Rivero, L.S; Martí, L. (2014). Elaboración de una bebida fermentada a partir del suero de leche que incorpora lactobacillus acidophilus y streptococcus thermophilus. Revista Cubana de Alimentación y Nutrición RNPS: 2221. ISSN: 1561-2929 Volumen 24. Número 1 (Enero – Junio del 2014):7-16
- Molero-Méndez, M; Castro-Albornoz, G; Briñez-Zambrano, W. (2017). Formulación de una bebida probiótica fermentada a base de lactosuero. Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XXVII, N° 4, 205 - 210, 2017
- Morales J. (1988). Lo que siempre quiso saber sobre el yogur. Cuadernos de Nutrición.
- Montesdeoca, R; Benítez, I; Guevara, R. y Guevara, G. (2017). Procedimiento para la producción de una bebida láctea fermentada utilizando lactosuero. Rev Chil Nutr Vol. 44, N°1, 2017.
- Navarre, C. (1994). La enología. Universidad de Rioja. París: Lavoisier
- Négre, E. y Francot, P. (1980). Manual práctico de vinificación y conservación de los vinos. Barcelona, España: Tercera Edición.
- Nielsen, J., Villadsen, J. (2003). Los principios de ingeniería biorreacción. Nueva York.:Edición Segunda, 339-308

- Padín, C y Díaz M. (2009). Fermentación alcohólica del lactosuero por *Kluyveromyces marxianus* y solventes orgánicos como extractantes. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=199414957008>
- Panesar PS, Kennedy JF, Gandhi DN, Bunko K (2007) Bioutilisation of whey for lactic acid production. *Food Chem.* 105: 1-14.
- Parzanese, M. (2008). Procesamiento de Lactosuero. *Tecnología para Industria Alimentaria. Alimentos. MinAgri, Argentina*. Recuperado de <http://www.alimentosargentinos.gov.ar/contenido/sectores/tecnologia/Ficha_13_Lactosuero.pdf>
- Peynaud, E. 1989. *Enología práctica. Conocimiento y elaboración del vino*. Madrid: Mundi Prensa.
- Posada, K, Terán M.D, Ramírez-Navas J.S. (2011). Empleo de Lactosuero y sus Componentes en la Elaboración de Postres y Productos de Confitería. Grupo de Investigación Ingeniería de Procesos Agroalimentarios y Biotecnológicos. Escuela de Ingeniería de Alimentos. *La Alimentación Latinoamericana* Número 292. Universidad del Valle. Cali, Colombia
- Quesada, M. P. y Cenis, J. L. (1995). Identificación de levaduras vínicas. Métodos basados en el estudio del ADN. *VitiVincultura* 7(8), 52-55.
- Ramirez, N.G. y Pedroza, F. J. (2001) Desarrollo de una fermentación alcohólica a pH regulado y temperatura de 25°C en el bioreactor Bioflo 3000 M1227 y estudio inicial de fermentaciones en sistema continuo (tesis de grado). Facultad de Ingeniería de producción agroindustrial de la Universidad Sabana. Bogotá, Colombia.
- Rathi M, Upadhyay N, Dabur RS, Goyal A (2015) Formulation and physico-chemical analysis of whey-soymilk dahi. *J. Food Sci. Technol.* 52: 968-975.
- Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donèche, B. y Lonvaud, A. (2000) *Manual de Enología, La Microbiología del vino y vinificación*. Wiley & Sons Ltd.: West Sussex, Inglaterra.
- Rodríguez-Villacis DH. (2016). Desarrollo de una bebida fermentada de suero con la adición de jugo de Aloe vera y pulpa de fruta. *Tecnología Química*, vol. XXXVII, núm. 1, enero, 2017, pp. 46-57 Universidad de Oriente Santiago de Cuba, Cuba
- Rodríguez, O, Perea, C.A, Padrón, F.M, Nuñez, M. (2011). Evaluación del Comportamiento de Cepas Probióticas en Suero Dulce de Quesería. Instituto de Investigaciones para la Industria Alimentaria. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*. Volumen 21. Número 1. Cuba, la Habana

- Sangrange, V. (2001). Suero para Crecer. El Uso de Proteínas de Suero en Bebidas Isotónicas y Nutricionales. Ingredientes al Día. Industria Alimentaria. Recuperado de <www.industriaalimentaria.com>
- Shaikh SY, Rathi SD, Pawar VD, Agarkar BS (2001) Studies on development of a process for preparation of fermented carbonated whey beverage. Eur. Food Res. Technol. 38: 519-521.
- Sevilla, A. (2003). La Leche y el Queso. Suero de Leche. Capítulo 1. Recuperado de <<http://dscape.epoch.edu.ec/bitstream/123456789/818/1/27T0157.pdf>>
- Smithers GW (2008) Whey and whey proteins- from 'gutter-to-gold'. Int. Dairy J. 18. 695-704.
- Suárez, J. A. (1997). Levaduras vínicas. Funcionalidad y uso en bodega. Madrid: Mundi-Prensa.
- Swan T. M. y Watson, K. (1997) De la membrana de ácido graso de la composición y la membrana fluidez como parámetros de tolerancia al estrés en la levadura. Poder. J. Microbiol. 43, 70-77.
- Theran, L.J. (2012). Las Proteínas del Suero de la Leche. Quisoma Centro Bioenergético Recuperado de <<http://qisomamedicina.blogspot.com/2012/07/las-proteinassdel-suero-de-la-leche.html>>
- Torija, M. M. (2002) Ecología de levaduras: Selección y adaptación a fermentaciones vínicas. (tesis doctoral). Universitat Rovira i Virgili, Tarragona, España.
- Ulloa, M; Lappe, P. (1993). Primer Estudio Microbiano y Estructural Con Microscopía Electrónica De Barrido, De Los Búlgaros Microbiogelgas Utilizadas En México Para Fermentar Leche. UNAM. México, D.F.
- Valencia D. E. Ramírez C. M. (2009) La industria de la leche y la contaminación del agua, Maestría en Ingeniería, Instituto Tecnológico de Puebla, México.
- Varghese KS, Radhakrishna K, Bawa AS (2014) Moisture sorption characteristics of freeze dried whey- grape beverage mix. J. Food Sci. Technol. 51: 2734-2740.
- Vijay, K. (2012). Advances in Membrane Processing for Production of Novel Dairy Ingredients. Innovative Trends Dairy Food Products Formulation. Centre of Advanced Faculty Training of the National Dairy Research Institute, Karnal (Haryana), India. Vol. 83 Núm. 1. Pp.232. Consultado en: <http://www.dairyprocessingcaft.com/wpcontent/uploads/2013/03/Innovative-Trends-in-Dairy-and-Food-Products-Formulation-2012.pdf>
- Vogel, W. (2003) Elaboración casera de vinos. Vinos de uvas, manzanas y bayas. Zaragoza, España: Acribia.
- Ward, O. (1991). Biotecnología de la fermentación. Principios, procesos y productos. Zaragoza. España: Acribia.

- Wayne, H. (1994). Aprovechamiento de los Sueros en la Industria Láctea. Memorias del V Congreso Panamericano de la leche Medellín: COLANTA
- Yadav JSS, Yan S, Pilli S, Kumar L, Tyagi RD, Surampalli RY (2015) Cheese whey: A potential resource to transform into bioprotein, functional/nutritional proteins and bioactive peptides. *Biotechnol. Adv.* 33: 756-774.

Anexo 1

FICHA DE EVALUACIÓN SENSORIAL

PRODUCTO :.....
 HORA :.....
 FECHA :.....
 LUGAR :.....

Por favor maque con el símbolo “x” el puntaje correspondiente a cada atributo, indicando de acuerdo a la escala de Excelente a Pésimo según las muestras que se presentan.

ESCALA DE CALIFICACIÓN	CODIGO 1542				CODIGO 5642				CODIGO 1245				CODIGO 4256			
	SABOR	OLOR	TANSP ARENCI	ACEPTA BILIDAD												
7. Excelente																
6. Muy bueno																
5. Bueno																
4. Ni bueno ni malo																
3. Malo																
2. Muy malo																
1. Pésimo																

COMENTARIO:.....

ANEXO 2

Evaluación de las concentraciones de levadura en la elaboración de la bebida fermentada de lactosuero

Días de fermentación	22			18			15			13		
Grados Brix	11,66			12,1			12			11,9		
	12,2			11,7			12,3			12		
	12,36	12,07	0,367	11,7	11,83	0,231	12,2	12,17	0,2	11,6	11,83	0,2
pH	3,24			3,25			3,18			3		
	3,25			3,17			3,12			3,15	3,12	
	3,26	3,25	0,010	3,22	3,21	0,040	3,15	3,15	0,030	3,2	3,12	0,104
Acidez Total	4,30			4,28			4,40			4,88		
	4,32			4,42			4,40			4,64		
	4,34	4,32	0,020	4,34	4,35	0,070	4,55	4,45	0,087	4,70	4,74	0,125
Acidez volátil	0,70			0,66			0,51			0,52		
	0,68			0,63			0,48			0,40		
	0,73	0,70	0,025	0,75	0,68	0,062	0,56	0,52	0,040	0,35	0,42	0,087
Grados alcohol	11,40			11,40			11,10			12,15		
	12,10			11,20			10,95			12,20		
	11,80	11,77	0,351	10,80	11,13	0,306	11,40	11,15	0,229	12,05	12,13	0,076

°Brix

HSD Tukey^a

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	
2,00	3	11,8333	
4,00	3	11,8333	
1,00	3	12,0733	
3,00	3	12,1667	
Sig.			,421

pH

HSD Tukey^a

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	
4,00	3	3,1167	
3,00	3	3,1500	
2,00	3	3,2133	
1,00	3	3,2500	
Sig.			,086

AcTotal

HSD Tukey^a

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
1,00	3	4,3200	
2,00	3	4,3467	
3,00	3	4,4500	
4,00	3		4,7400
Sig.		,304	1,000

AcVolatil

HSD Tukey^a

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
4,00	3	,4233	
3,00	3	,5167	
2,00	3		,6800
1,00	3		,7033
Sig.		,283	,960

°GL

HSD Tukey^a

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
2,00	3	11,1333	
3,00	3	11,1500	
1,00	3	11,7667	11,7667
4,00	3		12,1333
Sig.		,071	,377

ANEXO 2a

Días	0,05 % de levadura					0,10 % de levadura					0,15 % de levadura					0,20 % de levadura				
	R1	R2	R3	Prom	SD	R1	R2	R3	Prom	SD	R1	R2	R3	Prom	SD	R1	R2	R3	Prom	SD
1	26,11	26,09	26,13	26,11	0,02	26,2	25,97	26,05	26,07	0,12	26	26,1	26,2	26,10	0,10	26,1	26,2	26,15	26,15	0,05
3	26,01	25,58	25,86	25,82	0,22	25,8	25,3	25	25,37	0,40	25,1	25,5	26	25,53	0,45	24,9	25,3	25,6	25,27	0,35
5	25,44	25,04	24,96	25,15	0,26	23,4	24,2	24,3	23,97	0,49	22,9	24,1	25,3	24,10	1,20	23,2	23	24,2	23,47	0,64
7	24,6	24	23,84	24,15	0,40	23,1	24	23,2	23,43	0,49	20	21,9	22,8	21,57	1,43	18,7	21,3	22	20,67	1,74
9	23,15	23,33	22,96	23,15	0,19	22,2	22,8	22,6	22,53	0,31	19,1	19,2	21,2	19,83	1,18	16,3	19	18,4	17,90	1,42
11	22,95	22,3	21,73	22,33	0,61	22	21,9	23,2	22,37	0,72	17,8	17,2	18	17,67	0,42	14,7	15,8	15	15,17	0,57
12	21,86	21,44	20,96	21,42	0,45	21,3	20	21,2	20,83	0,72	15	15,9	16,2	15,70	0,62	13,5	13,2	13,6	13,43	0,21
13	20,16	19,68	18,76	19,53	0,71	19,5	18,5	18,5	18,83	0,58	14,2	14,6	14	14,27	0,31	11,9	12	11,6	11,83	0,21
14	18,92	17,98	16,66	17,85	1,14	18,2	16,1	16,8	17,03	1,07	13,1	13,5	13	13,20	0,26	11	10,85	11,3	11,05	0,229
15	16,66	16,34	15,55	16,18	0,57	16,2	15,6	14,9	15,57	0,65	12	12,3	12,2	12,17	0,15					
16	16,12	15,76	15,35	15,74	0,39	14,3	13,7	13,8	13,93	0,32	11,2	10,98	11,3	11,16	0,164					
17	15,46	15,37	15,25	15,36	0,11	12,7	12,2	12,3	12,40	0,26										
18	14,98	15,03	14,7	14,90	0,18	12,1	11,7	11,7	11,83	0,23										
19	13,76	13,483	14,05	13,76	0,28	11,5	10,9	11,1	11,17	0,31										
20	13,08	13,25	13,7	13,34	0,32															
21	12,8	13	13,01	12,94	0,12															
22	11,66	12,2	12,36	12,07	0,37															
23	10,98	11,05	11,22	11,08	0,12															

pH

Días	0,10% de levadura					0,10% de levadura					0,15% de levadura					0,20% de levadura				
	R1	R2	R3	Prom	SD	R1	R2	R3	Prom	SD	R1	R2	R3	Prom	SD	R1	R2	R3	Prom	SD
1	3,53	3,5	3,5	3,51	0,02	3,5	3,5	3,5	3,50	0,00	3,5	3,5	3,5	3,50	0,00	3,5	3,5	3,5	3,50	0,00
3	3,52	3,49	3,48	3,50	0,02	3,5	3,47	3,48	3,48	0,02	3,5	3,49	3,47	3,49	0,02	3,48	3,47	3,49	3,48	0,01
5	3,5	3,48	3,48	3,49	0,01	3,45	3,52	3,47	3,48	0,04	3,48	3,42	3,46	3,45	0,03	3,42	3,41	3,39	3,41	0,02
7	3,45	3,48	3,47	3,47	0,02	3,4	3,45	3,48	3,44	0,04	3,45	3,38	3,39	3,41	0,04	3,36	3,38	3,36	3,37	0,01
9	3,4	3,45	3,45	3,43	0,03	3,41	3,42	3,4	3,41	0,01	3,39	3,36	3,37	3,37	0,02	3,3	3,34	3,33	3,32	0,02
11	3,39	3,43	3,44	3,42	0,03	3,39	3,43	3,41	3,41	0,02	3,34	3,3	3,33	3,32	0,02	3,2	3,29	3,28	3,26	0,05
12	3,37	3,41	3,43	3,40	0,03	3,39	3,41	3,42	3,41	0,02	3,27	3,24	3,27	3,26	0,02	3,15	3,2	3,25	3,20	0,05
13	3,35	3,4	3,41	3,41	0,03	3,38	3,37	3,39	3,38	0,01	3,23	3,19	3,25	3,22	0,03	3	3,15	3,2	3,12	0,10
14	3,33	3,38	3,39	3,37	0,03	3,32	3,35	3,4	3,36	0,04	3,21	3,16	3,17	3,18	0,03	3	3,14	3,2	3,11	0,10
15	3,31	3,35	3,36	3,34	0,03	3,29	3,32	3,37	3,33	0,04	3,18	3,12	3,15	3,15	0,03					
16	3,3	3,33	3,31	3,31	0,02	3,27	3,29	3,29	3,28	0,01	3,17	3,12	3,14	3,14	0,03					
17	3,28	3,29	3,3	3,29	0,01	3,25	3,26	3,26	3,26	0,01										
18	3,28	3,28	3,27	3,28	0,01	3,25	3,17	3,22	3,21	0,04										
19	3,27	3,27	3,27	3,27	0,00	3,25	3,17	3,22	3,22	0,04										
20	3,26	3,27	3,26	3,26	0,01															
21	3,25	3,26	3,26	3,25	0,01															
22	3,24	3,25	3,26	3,24	0,01															
23	3,24	3,24	3,25	3,24	0,01															

ANEXO 3a

Evaluación sensorial del atributo OLOR de la bebida fermentada a partir de lactosuero con diferentes concentraciones de levadura.

TRATAMIENTOS	PANELISTAS															MEDIAS
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	
T ₁	6	7	5	6	6	6	6	7	6	6	6	6	6	4	5	5,87
T ₂	5	6	5	7	5	6	5	7	5	6	5	5	6	6	6	5,67
T ₃	5	6	6	5	5	6	7	6	5	6	5	5	6	5	6	5,60
T ₄	5	6	5	5	6	4	5	5	4	4	5	5	5	4	5	4,87

Rangos	PANELISTAS															R _i
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	
T ₁	4	4	2	3	3,5	3	3	3,5	4	3	4	4	3	1,5	1,5	47,00
T ₂	2	2	2	4	1,5	3	1,5	3,5	2,5	3	2	2	3	4	3,5	39,50
T ₃	2	2	4	1,5	1,5	3	4	2	2,5	3	2	2	3	3	3,5	39,00
T ₄	2	2	2	1,5	3,5	1	1,5	1	1	1	2	2	1	1,5	1,5	24,50

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	Las distribuciones de 0.05 % Levadura, 0.10 % Levadura, 0.15 % Levadura and 0.20 % Levadura son las mismas.	Análisis de varianza de dos vías por rangos de Friedman para muestras relacionadas	,002	Rechazar la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,05.

Estadísticos de prueba^a

N	15
Chi-cuadrado	14,615
gl	3
Sig. asintótica	,002

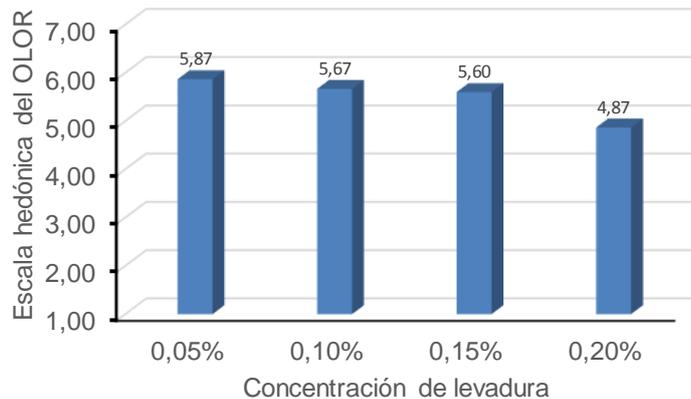
a. Prueba de Friedman

Olor

Duncan^{a,b}

Tratamientos	N	Subconjunto	
		1	2
T4: 0.20 % levadura	15	1,6333	
T3 : 0.15 % levadura	15		2,6000
T2: 0.10 % levadura	15		2,6333
T1:0.05 % levadura	15		3,1333
Sig.		1,000	,148

TRATAMIENTOS	Media	Rango
0,05%	5,87	3,13
0,10%	5,67	2,63
0,15%	5,60	2,60
0,20%	4,87	1,63



ANEXO 3b

Evaluación sensorial del atributo SABOR de la bebida fermentada a partir de lactosuero con diferentes concentraciones de levadura.

TRATAMIENTOS	PANELISTAS															MEDIAS
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	
T ₁	5	6	5	5	5	6	5	6	5	6	6	5	4	5	5	5,27
T ₂	6	5	7	6	6	6	6	6	5	7	6	6	5	6	6	5,93
T ₃	6	5	6	6	6	5	6	6	5	6	6	6	5	5	6	5,67
T ₄	4	4	5	5	6	4	5	5	4	4	5	5	5	4	4	4,60

Rangos	PANELISTAS															R _i	
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15		
T ₁	2	4	1,5	1,5	1	3,5	1,5	3	3	2,5	3	1,5	1	2,5	2	33,50	2,23
T ₂	3,5	2,5	4	3,5	3	3,5	3,5	3	3	4	3	3,5	3	4	3,5	50,50	3,37
T ₃	3,5	2,5	3	3,5	3	2	3,5	3	3	2,5	3	3,5	3	2,5	3,5	45,00	3,00
T ₄	1	1	1,5	1,5	3	1	1,5	1	1	1	1	1,5	3	1	1	21,00	1,40

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	Las distribuciones de 0.05 % Levadura, 0.10 % Levadura, 0.15 % Levadura and 0.20 % Levadura son las mismas.	Análisis de varianza de dos vías por rangos de Friedman para muestras relacionadas	,000	Rechazar la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,05.

Estadísticos de prueba^a

N	15
Chi-cuadrado	26,333
gl	3
Sig. asintótica	,000

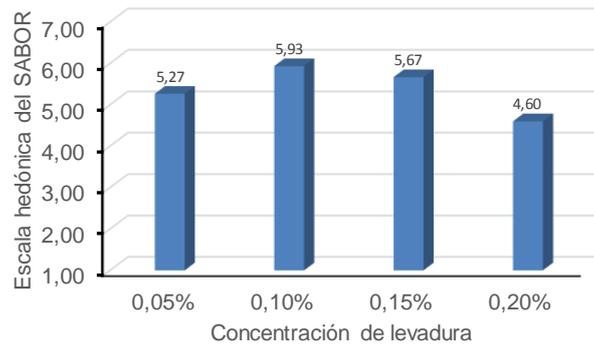
a. Prueba de Friedman

Sabor

Duncan^{a,b}

Tratamientos	N	Subconjunto		
		1	2	3
T4: 0.20 % levadura	15	1,4000		
T1: 0.05 % levadura	15		2,2333	
T3 : 0.15 % levadura	15			3,0000
T2: 0.10 % levadura	15			3,3667
Sig.		1,000	1,000	,194

TRATAMIENTOS	Media	Rango
0,05%	5,27	2,23
0,10%	5,93	3,37
0,15%	5,67	3,00
0,20%	4,60	1,40



ANEXO 3c

Evaluación sensorial del atributo TRANSPARENCIA de la bebida fermentada a partir de lactosuero con diferentes concentraciones de levadura

TRATAMIENTOS	PANELISTAS															MEDIAS
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	
T ₁	5	4	5	5	5	4	5	5	5	5	5	5	4	5	5	4,80
T ₂	6	6	5	5	5	6	6	5	6	5	6	5	6	5	5	5,47
T ₃	5	5	5	6	5	6	5	6	6	6	6	6	6	5	6	5,60
T ₄	6	6	5	6	6	5	5	6	7	6	6	5	6	6	5	5,73

Rangos	PANELISTAS															R _i	
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15		
T ₁	1,5	1	2,5	1,5	2	1	2	1,5	1	1,5	1	2	1	2	2	23,50	1,57
T ₂	3,5	3,5	2,5	1,5	2	3,5	4	1,5	2,5	1,5	3	2	3	2	2	38,00	2,53
T ₃	1,5	2	2,5	3,5	2	3,5	2	3,5	2,5	3,5	3	4	3	2	4	42,50	2,83
T ₄	3,5	3,5	2,5	3,5	4	2	2	3,5	4	3,5	3	2	3	4	2	46,00	3,07

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	Las distribuciones de 0.05 % Levadura, 0.10 % Levadura, 0.15 % Levadura and 0.20 % Levadura son las mismas.	Análisis de varianza de dos vías por rangos de Friedman para muestras relacionadas	,001	Rechazar la hipótesis nula.

Estadísticos de prueba^a

N	15
Chi-cuadrado	17,436
gl	3
Sig. asintótica	,001

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,05.

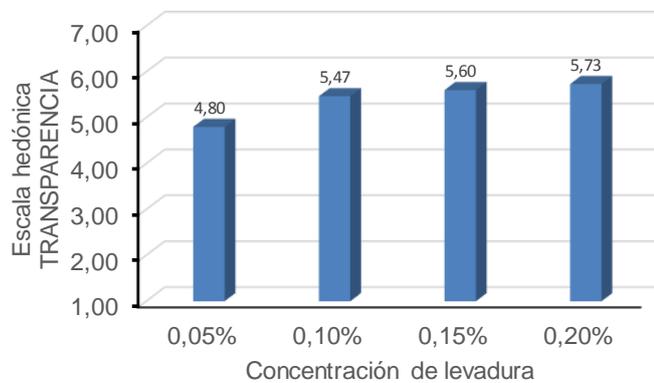
a. Prueba de Friedman

Transparencia

Duncan^{a,b}

Tratamientos	N	Subconjunto	
		1	2
T1: 0.05 % levadura	15	1,5667	
T2: 0.10 % levadura	15		2,5333
T3 : 0.15 % levadura	15		2,8333
T4: 0.20 % levadura	15		3,0667
Sig.		1,000	,115

TRATAMIENTOS	Media	Rango
0,05%	4,80	1,57
0,10%	5,47	2,53
0,15%	5,60	2,83
0,20%	5,73	3,07



ANEXO 3c

Evaluación sensorial del atributo ACEPTABILIDAD de la bebida fermentada a partir de lactosuero con diferentes concentraciones de levadura

TRATAMIENTOS	PANELISTAS															MEDIAS
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	
T ₁	6	5	5	6	6	5	5	6	6	5	6	5	5	6	6	5,53
T ₂	5	6	5	6	6	5	5	7	6	6	5	6	6	5	6	5,67
T ₃	6	5	5	6	6	6	5	5	6	6	5	5	5	5	5	5,40
T ₄	5	5	5	4	5	5	5	5	5	5	5	4	5	5	5	4,87

Rangos	PANELISTAS															R _i	
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15		
T ₁	3,5	2	2,5	3	3	2	2,5	3	3	1,5	4	2,5	2	4	3,5	42,00	2,80
T ₂	1,5	4	2,5	3	3	2	2,5	4	3	3,5	2	4	4	2	3,5	44,50	2,97
T ₃	3,5	2	2,5	3	3	4	2,5	1,5	3	3,5	2	2,5	2	2	1,5	38,50	2,57
T ₄	1,5	2	2,5	1	1	2	2,5	1,5	1	1,5	2	1	2	2	1,5	25,00	1,67

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	Las distribuciones de 0.05 % Levadura, 0.10 % Levadura, 0.15 % Levadura and 0.20 % Levadura son las mismas.	Análisis de varianza de dos vías por rangos de Friedman para muestras relacionadas	,002	Rechazar la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,05.

Estadísticos de prueba^a

N	15
Chi-cuadrado	15,100
gl	3
Sig. asintótica	,002

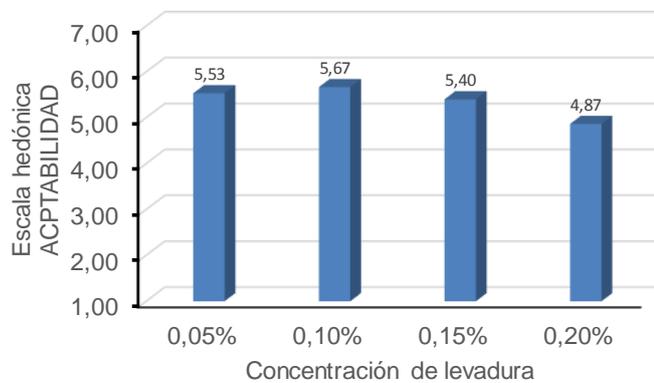
a. Prueba de Friedman

Aceptabilidad

Duncan^{a,b}

Tratamientos	N	Subconjunto	
		1	2
T4: 0.20 % levadura	15	1,6667	
T3 : 0.15 % levadura	15		2,5667
T1:0.05 % levadura	15		2,8000
T2: 0.10 % levadura	15		2,9667
Sig.		1,000	,228

TRATAMIENTOS	Media	Rango
0,05%	5,53	2,80
0,10%	5,67	2,97
0,15%	5,40	2,57
0,20%	4,87	1,67



ANEXO 4

Evaluación de las concentraciones de levadura en la elaboración de la bebida fermentada de lactosuero

Diás de fermentación	16				15			14	
----------------------	----	--	--	--	----	--	--	----	--

Grados Brix	12,20			12,00			12,20		
	12,20			11,80			11,80		
	12,10	12,17	0,058	12,20	12,00	0,2	12,10	12,03	0,2
pH	3,30			3,15			3,30		
	3,33			3,25			3,22		
	3,20	3,28	0,068	3,12	3,17	0,068	3,15	3,22	0,075
Acidez Total	4,02			3,85			3,90		
	4,25			4,10			4,21		
	4,30	4,19	0,149	4,00	3,98	0,126	4,02	4,04	0,156
Acidez volátil	0,74			0,72			0,66		
	0,80			0,64			0,65		
	0,70	0,75	0,050	0,68	0,68	0,040	0,68	0,66	0,015
Grados alcohol	11,20			11,40			12,40		
	11,00			11,60			12,00		
	10,80	11,00	0,200	11,00	11,33	0,306	11,70	12,03	0,351
Sulfatos (Sulfato de potasio g/L)	0,61			0,61			0,53		
	0,60			0,60			0,55		
	0,60	0,60	0,006	0,60	0,60	0,006	0,52	0,53	0,015
Cloruros (Cloruro de sodio g/L)	0,20			0,21			0,19		
	0,19			0,18			0,16		
	0,22	0,20	0,015	0,20	0,20	0,015	0,17	0,17	0,015
Extracto seco total (g/L a 100 °C)	17,10			17,10			17,35		
	16,90			17,25			17,40		
	17,00	17,00	0,100	17,00	17,12	0,126	17,45	17,40	0,050

ANOVA

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
*Brix	Entre grupos	,047	2	,023	,808	,489
	Dentro de grupos	,173	6	,029		
	Total	,220	8			
pH	Entre grupos	,016	2	,008	1,613	,275
	Dentro de grupos	,030	6	,005		
	Total	,046	8			
AcTotal	Entre grupos	,068	2	,034	1,626	,273
	Dentro de grupos	,125	6	,021		
	Total	,193	8			
AcVolatil	Entre grupos	,012	2	,006	4,008	,078
	Dentro de grupos	,009	6	,001		
	Total	,020	8			
*GL	Entre grupos	1,669	2	,834	9,753	,013
	Dentro de grupos	,513	6	,086		
	Total	2,182	8			
Sulfatos	Entre grupos	,010	2	,005	49,000	,000
	Dentro de grupos	,001	6	,000		
	Total	,010	8			
Cloruros	Entre grupos	,001	2	,001	3,190	,114
	Dentro de grupos	,001	6	,000		
	Total	,003	8			
ExtractoSeco	Entre grupos	,254	2	,127	13,441	,006
	Dentro de grupos	,057	6	,009		
	Total	,311	8			

°BrixHSD Tukey^a

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	
25 °Brix	3	12,0000	
27 °Brix	3	12,0333	
23 °Brix	3	12,1667	
Sig.			,495

pHHSD Tukey^a

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	
25 °Brix	3	3,1733	
27 °Brix	3	3,2233	
23 °Brix	3	3,2767	
Sig.			,249

AcTotalHSD Tukey^a

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	
25 °Brix	3	3,9833	
27 °Brix	3	4,0433	
23 °Brix	3	4,1900	
Sig.			,263

AcVolatilHSD Tukey^a

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	
27 °Brix	3	,6633	
25 °Brix	3	,6800	
23 °Brix	3	,7467	
Sig.			,082

°GLHSD Tukey^a

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
23 °Brix	3	11,0000	
25 °Brix	3	11,3333	11,3333
27 °Brix	3		12,0333
Sig.		,401	,059

SulfatosHSD Tukey^a

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
27 °Brix	3	,5333	
23 °Brix	3		,6033
25 °Brix	3		,6033
Sig.		1,000	1,000

ExtractoSecoHSD Tukey^a

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
23 °Brix	3	17,0000	
25 °Brix	3	17,1167	
27 °Brix	3		17,4000
Sig.		,368	1,000

ClorurosHSD Tukey^a

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	
3,00	3	,1733	
2,00	3	,1967	
1,00	3	,2033	
Sig.			,115

ANEXO 4a

Evaluación fisicoquímica de la bebida fermentada a base de lactosuero en tres diluciones expresadas en grados brix

GRADOS BRUX

Días	23 ° Brix					25 ° Brix					27 ° Brix				
	R1	R2	R3	Prom	SD	R1	R2	R3	Prom	SD	R1	R2	R3	Prom	SD
1	23	23	23	23,00	0,00	25	25	25	25,00	0,00	27	27	27	27,00	0,00
3	22,6	22,5	22,1	22,40	0,26	23,5	24,1	24,3	23,97	0,42	25,2	26,1	26	25,77	0,49
5	21,7	22,2	21,4	21,77	0,40	22,5	22,9	22	22,47	0,45	22,9	24,1	25,3	24,10	1,20
7	21,3	21,3	20,6	21,07	0,40	21,4	21,9	22,3	21,87	0,45	20	21,9	22,8	21,57	1,43
9	18,9	20,3	19,9	19,70	0,72	18,5	18,9	18,2	18,53	0,35	19,1	19,2	21,2	19,83	1,18
11	18,3	19,1	18,2	18,53	0,49	16,4	16,3	16	16,23	0,21	17,8	17,2	18	17,67	0,42
12	16,2	16,5	16	16,23	0,25	14,9	15,2	15,5	15,20	0,30	15	15,9	16,2	15,70	0,62
13	14,7	15,4	15,5	15,20	0,44	13,2	13	13,8	13,33	0,42	14,2	14,6	14	14,27	0,31
14	13	13,2	13,8	13,33	0,42	12,5	12,4	12,8	12,57	0,21	12,20	11,80	12,10	12,03	0,21
15	12,5	12,8	12,95	12,75	0,23	12,00	11,80	12,20	12,00	0,20					
16	12,20	12,20	12,10	12,17	0,06										

pH

Días	23 ° Brix					25 ° Brix					27 ° Brix				
	R1	R2	R3	Prom	SD	R1	R2	R3	Prom	SD	R1	R2	R3	Prom	SD
1	3,5	3,5	3,5	3,50	0,00	3,5	3,5	3,5	3,50	0,00	3,5	3,5	3,5	3,50	0,00
3	3,47	3,45	3,48	3,47	0,02	3,4	3,48	3,5	3,46	0,05	3,52	3,47	3,47	3,49	0,03
5	3,44	3,43	3,47	3,45	0,02	3,45	3,5	3,46	3,47	0,03	3,47	3,41	3,46	3,45	0,03
7	3,44	3,43	3,41	3,43	0,02	3,42	3,43	3,47	3,44	0,03	3,43	3,38	3,39	3,40	0,03
9	3,42	3,41	3,41	3,41	0,01	3,39	3,4	3,41	3,40	0,01	3,39	3,36	3,37	3,37	0,02
11	3,43	3,41	3,39	3,41	0,02	3,4	3,41	3,37	3,39	0,02	3,34	3,33	3,33	3,33	0,01
12	3,42	3,39	3,36	3,39	0,03	3,38	3,39	3,35	3,37	0,02	3,27	3,29	3,27	3,28	0,01
13	3,36	3,37	3,35	3,36	0,01	3,36	3,35	3,35	3,35	0,01	3,23	3,27	3,25	3,25	0,02
14	3,33	3,35	3,3	3,33	0,03	3,3	3,27	3,3	3,29	0,02	3,30	3,22	3,15	3,22	0,08
15	3,32	3,33	3,22	3,29	0,06	3,15	3,25	3,12	3,17	0,07					
16	3,30	3,33	3,20	3,28	0,07										

ANEXO 5a

Evaluación sensorial del atributo OLOR de la bebida fermentada a partir de lactosuero con diferentes concentraciones de azúcar (° Brix)

TRATAMIENTOS	PANELISTAS															MEDIAS
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	
T ₁	5	5	4	5	5	5	4	5	5	5	4	6	6	5	5	4,93
T ₂	5	4	4	5	5	5	5	5	4	4	5	5	5	4	4	4,60
T ₃	5	5	4	5	5	5	5	4	5	5	4	5	5	6	4	4,80

Rangos	PANELISTAS															R _i	
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15		
T ₁	2	2,5	2	2	2	2	1	2,5	2,5	2,5	1,5	3	3	2	3	33,50	2,23
T ₂	2	1	2	2	2	2	2,5	2,5	1	1	3	1,5	1,5	1	1,5	26,50	1,77
T ₃	2	2,5	2	2	2	2	2,5	1	2,5	2,5	1,5	1,5	1,5	3	1,5	30,00	2,00

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	Las distribuciones de 23 °Brix, 25 °Brix and 27 °Brix son las mismas.	Análisis de varianza de dos vías por rangos de Friedman para muestras relacionadas	,206	Retener la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,05.

Estadísticos de prueba^a

N	15
Chi-cuadrado	3,161
gl	2
Sig. asintótica	,206

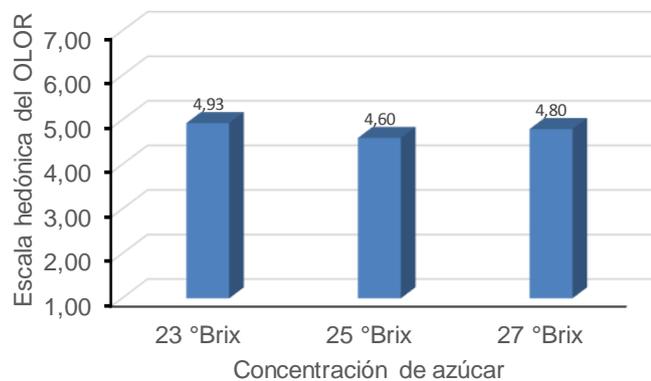
a. Prueba de Friedman

Olor

Duncan^{a,b}

Tratamientos	N	Subconjunto
		1
2,00	15	1,7667
3,00	15	2,0000
1,00	15	2,2333
Sig.		,096

TRATAMIENTOS	Media	Rango
23 °Brix	4,93	2,23
25 °Brix	4,60	1,77
27 °Brix	4,80	2,00



ANEXO 5b

Evaluación sensorial del atributo SABOR de la bebida fermentada a partir de lactosuero con diferentes concentraciones de azúcar (° Brix)

TRATAMIENTOS	PANELISTAS															MEDIAS
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	
T ₁	5	6	5	6	6	5	6	5	6	5	6	6	6	5	5	5,53
T ₂	5	4	5	5	5	6	5	5	6	4	5	5	6	5	6	5,13
T ₃	5	5	5	5	5	5	5	4	5	4	4	5	5	5	4	4,73

Rangos	PANELISTAS															R _i	
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15		
T ₁	2	3	2	3	3	1,5	3	2,5	2,5	3	3	3	2,5	2	2	38,00	2,53
T ₂	2	1	2	1,5	1,5	3	1,5	2,5	2,5	1,5	2	1,5	2,5	2	3	30,00	2,00
T ₃	2	2	2	1,5	1,5	1,5	1,5	1	1	1,5	1	1,5	1	2	1	22,00	1,47

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	Las distribuciones de 23 °Brix, 25 ° Brix and 27 °Brix son las mismas.	Análisis de varianza de dos vías por rangos de Friedman para muestras relacionadas	,001	Rechazar la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,05.

Estadísticos de prueba^a

N	15
Chi-cuadrado	13,128
gl	2
Sig. asintótica	,001

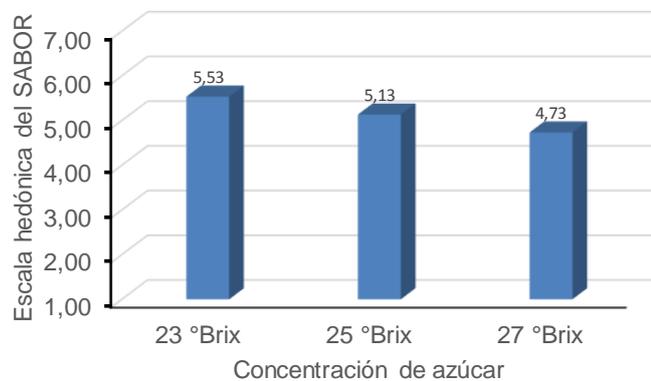
a. Prueba de Friedman

Sabor

Duncan^{a,b}

Tratamientos	N	Subconjunto		
		1	2	3
3,00	15	1,4667		
2,00	15		2,0000	
1,00	15			2,5333
Sig.		1,000	1,000	1,000

TRATAMIENTOS	Media	Rango
23 °Brix	5,53	2,53
25 °Brix	5,13	2,00
27 °Brix	4,73	1,47



ANEXO 5c

Evaluación sensorial del atributo TRANSPARENCIA de la bebida fermentada a partir de lactosuero con diferentes concentraciones de azúcar (° Brix)

TRATAMIENTOS	PANELISTAS															MEDIAS
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	
T ₁	4	4	5	5	5	4	5	5	5	5	5	5	5	5	4	4,73
T ₂	5	4	4	5	5	5	5	5	5	4	5	5	5	5	5	4,80
T ₃	6	5	5	5	5	6	5	5	5	4	5	5	5	5	5	5,07

Rangos	PANELISTAS															R _i	
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15		
T ₁	1	1,5	2,5	2	2	1	2	2	2	3	2	2	2	2	1	28,00	1,87
T ₂	2	1,5	1	2	2	2	2	2	2	1,5	2	2	2	2	2,5	28,50	1,90
T ₃	3	3	2,5	2	2	3	2	2	2	1,5	2	2	2	2	2,5	33,50	2,23

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	Las distribuciones de 23 °Brix, 25 ° Brix and 27 °Brix son las mismas.	Análisis de varianza de dos vías por rangos de Friedman para muestras relacionadas	,157	Retener la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,05.

Estadísticos de prueba^a

N	15
Chi-cuadrado	3,700
gl	2
Sig. asintótica	,157

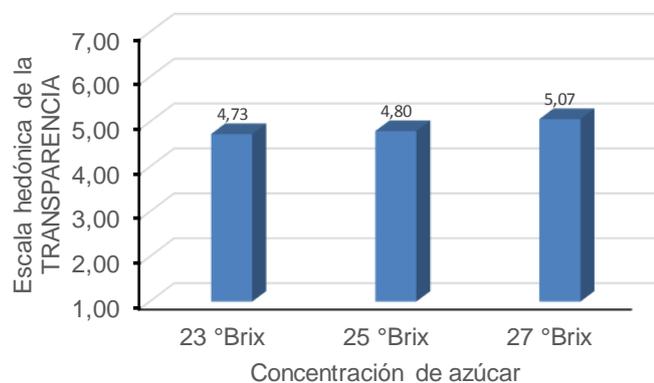
a. Prueba de Friedman

Transparencia

Duncan^{a,b}

Tratamientos	N	Subconjunto 1
1,00	15	1,8667
2,00	15	1,9000
3,00	15	2,2333
Sig.		,100

TRATAMIENTOS	Media	Rango
23 °Brix	4,73	1,87
25 °Brix	4,80	1,90
27 °Brix	5,07	2,23



ANEXO 5d

Evaluación sensorial del atributo ACEPTABILIDAD de la bebida fermentada a partir de lactosuero con diferentes concentraciones de azúcar (° Brix)

TRATAMIENTOS	PANELISTAS															MEDIAS
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	
T ₁	5	5	5	6	5	4	5	6	5	5	5	6	5	5	5	5,13
T ₂	4	4	5	5	5	4	5	5	5	4	5	5	4	5	4	4,60
T ₃	5	4	5	5	4	4	5	5	5	4	5	4	4	5	4	4,53

Rangos	PANELISTAS															R _i	
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15		
T ₁	2,5	3	2	3	2,5	2	2	3	2	3	2	3	3	2	3	38,00	2,53
T ₂	1	1,5	2	1,5	2,5	2	2	1,5	2	1,5	2	2	1,5	2	1,5	26,50	1,77
T ₃	2,5	1,5	2	1,5	1	2	2	1,5	2	1,5	2	1	1,5	2	1,5	25,50	1,70

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	Las distribuciones de 23 °Brix, 25 °Brix and 27 °Brix son las mismas.	Análisis de varianza de dos vías por rangos de Friedman para muestras relacionadas	,001	Rechazar la hipótesis nula.

Estadísticos de prueba^a

N	15
Chi-cuadrado	13,786
gl	2
Sig. asintótica	,001

a. Prueba de Friedman

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,05.

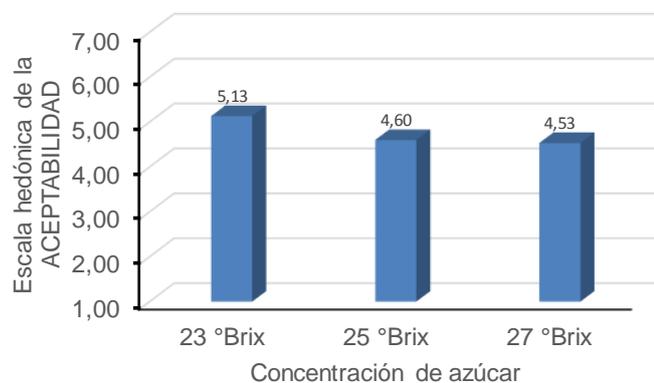
Aceptabilidad

Duncan^{a,b}

Tratamientos	N	Subconjunto	
		1	2
3,00	15	1,7000	
2,00	15	1,7667	
1,00	15		2,5333
Sig.		,728	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

TRATAMIENTOS	Media	Rango
23 °Brix	5,13	2,53
25 °Brix	4,60	1,77
27 °Brix	4,53	1,70



Anexo 7

Determinación de lactosa en el lactosuero

Tabla 10. Lectura de la absorbancia de las diferentes concentraciones de lactosa pura.

Solución	Concentración de la solución (mg/ml)	Absorbancia (490nm)
Tubo n° 0 (Blanco)	0	0
Tubo n° 1	0,01	0,0595
Tubo n° 2	0,02	0,1355
Tubo n° 3	0,04	0,3455
Tubo n° 4	0,06	0,469
Tubo n° 5	0,08	0,6565

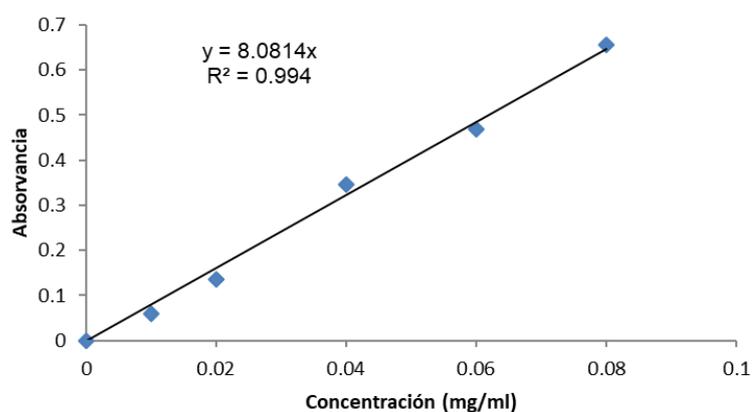


Figura 10. Curva estándar para calcular la concentración de la solución problema a partir de las mediciones de la absorbancia.

Tabla 11. Lectura de la absorbancia de las diferentes concentraciones de suero de queso fresco sin deslactosar.

Solución	Concentración de la solución (mg/ml)	Absorbancia (490nm)		
		M.P ₁	M.P ₂	\bar{x}
Tubo n° 0 (Blanco)	0	0	0	0
Tubo n° 1	0.050	0,3195	0,299	0,30925
Tubo n° 2	0.025	0,178	0,1655	0,17175
Tubo n° 3	0.020	0,142	0,1325	0,13725
Tubo n° 4	0.014	0,087	0,0815	0,08425

De acuerdo a la ecuación de la figura 10, calculamos la concentración de lactosa presente en la muestra problema.

$$y = 8,081x$$

Para:
 $y_1 = 0,30925$

Donde:

Y = Valor de la absorbancia de la solución

X = Concentración de la solución en mg/ml

Luego:

$$x = 0,0383$$

Por lo tanto, la concentración promedio de lactosa presente en el suero de queso fresco es **3,83 %**

Panel fotográfico



Figura 11. Recolección de la leche para la obtención de lactosuero



Figura 12. Preparación de los tratamientos



Figura 13. Obtención de la bebida fermentada