



UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA

La Universidad Católica de Loja

ÁREA BIOLÓGICA Y BIOMÉDICA

TÍTULO DE INGENIERO EN ALIMENTOS

Desarrollo de bebidas saborizadas deslactosadas utilizando permeado de suero lácteo.

TRABAJO DE TITULACIÓN.

AUTORA: Moreno Arcos, Anabel

DIRECTOR: Arévalo Torres, Ricardo Javier, Mgtr.

LOJA-ECUADOR

2019



Esta versión digital, ha sido acreditada bajo la licencia Creative Commons 4.0, CC BY-NY-SA: Reconocimiento-No comercial-Compartir igual; la cual permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra, mientras se reconozca la autoría original, no se utilice con fines comerciales y se permiten obras derivadas, siempre que mantenga la misma licencia al ser divulgada. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>

2019

APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Magister.

Ricardo Javier Arévalo Torres.

DOCENTE DE LA TITULACIÓN

De mi consideración:

El presente trabajo de titulación: “Desarrollo de bebidas saborizadas deslactosadas utilizando permeado de suero lácteo” realizado por: Moreno Arcos Anabel, ha sido orientado y revisado durante su ejecución, por cuanto se aprueba la presentación del mismo.

Loja, Octubre de 2019

f)

DECLARATORIA DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **Moreno Arcos Anabel** declaro ser autor del presente trabajo de titulación: Desarrollo de bebidas saborizadas deslactosadas utilizando permeado de suero lácteo, de la Titulación de Ingeniero en Alimentos, siendo el Mgtr. Ricardo Javier Arévalo Torres, director del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales. Además, certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Adicionalmente declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 88 del Estatuto Orgánico de la Universidad Técnica Particular de Loja que en su parte pertinente textualmente dice: “Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado o trabajos de titulación que se realicen con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad”

f:

Autora: Moreno Arcos, Anabel

Cédula: 1718945031

DEDICATORIA

A Dios y a la Virgen María por guiarme por el camino correcto y concederme sabiduría para tomar las decisiones acertadas y aprender de los errores cometidos, por permitirme culminar con este propósito y por todas sus bendiciones a lo largo de mi vida.

A mi amada abuelita Violeta, quien me ha brindado su apoyo, consejos, compañía y amor infinito durante toda mi vida, por haberme formado con paciencia e inculcándome valores fundamentales para mi desarrollo personal.

A mi idolatrado tío Edwin Arcos quien ha cumplido con el mejor papel de padre, por ser mi mayor fortaleza, por educarme con todo su amor y enseñarme que, con dedicación, constancia y honestidad se pueden lograr nuestros objetivos, por ser la persona que más admiro en esta vida y que lo ha dado todo por mis ilusiones, este logro sin duda es tuyo también ya que sin tu apoyo jamás lo hubiera conseguido. Gracias papá, porque Padre es quien cría, educa, guía, acompaña, y forma a una persona y tu haz hecho eso y mucho más por mí, te amo infinitamente.

A mis queridos tíos Yovany y Oliver, quienes han sido pilares fundamentales en mi vida, que me han apoyado constantemente en cada etapa de mi vida, y han estado conmigo en los momentos buenos y malos, en especial a mi tío Yovany quien contribuyó a mi formación y me alienta a seguir pese a cualquier dificultad.

A mi querida hermana Dayanara, quien ha sido mi confidente y fiel compañera durante toda mi vida y que juntas hemos compartido momentos difíciles y maravillosos.

AGRADECIMIENTO

Manifiesto mis más sinceros agradecimientos:

A mi madre Ethel María por haberme dado la vida y apoyarme en el transcurso de mi formación.

A mi enamorado Alejandro Espinosa, quien me ha brindado su amor y apoyo incondicional durante todo el tiempo que hemos compartido juntos, además de compartir experiencias enriquecedoras, motivándome siempre a crecer como ser humano.

A mis amigas y compañeras María Isabel y Yomar por su apoyo, amistad sincera y por compartir momentos extraordinarios, durante este arduo camino de formación universitaria.

A mi tutor y maestro Mgtr. Ricardo Arévalo, quien a través de su conocimiento supo guiarme en el desarrollo de la presenta investigación, y sobre todo agradezco la paciencia y la confianza depositada en mi persona durante todo el tiempo en que se desarrolló la investigación.

Al Ing. Holger Jaramillo, por el apoyo brindado durante el desarrollo de actividades en el laboratorio, además de compartir sus conocimientos, sugerencias y consejos durante mi etapa académica.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Aprobación del director del trabajo de titulación	ii
Declaratoria de autoría y cesión de derechos	iii
Dedicatoria	iv
Agradecimiento	v
Índice de contenidos	vi
Índice de tablas	viii
Índice de figuras	ix
Lista de abreviaturas	x
Resumen	1
Abstract	2
Introducción	3
1. Revisión Bibliográfica	5
1.1. Suero lácteo	6
1.1.1. Permeado de suero	6
1.2. Lactosa	7
1.3. Hidrólisis de la lactosa	8
1.3.1. Hidrólisis enzimática	8
1.3.1.1. Hidrólisis con enzimas solubles o libres	9
1.3.1.2. Hidrólisis por sistemas inmovilizados	9
1.3.2. Hidrólisis ácida	9
1.4. Aplicaciones industriales del suero lácteo	10
1.4.1. Bebidas de suero a base de jugo de frutas	10
1.4.2. Bebidas lácteas	11
1.4.3. Bebidas refrescantes carbonatadas	11
1.4.4. Bebidas isotónicas	11
1.5. Bebidas de infusión	12
2. Materiales y Métodos	13
2.1. Esquema de la investigación	14
2.2. Materia prima	15
2.2.1. Permeado de suero lácteo	15
2.2.2. Mezcla de sales minerales	15

2.2.3.	Cedrón	15
2.2.4.	Aditivos químicos alimentarios	15
2.3.	Metodología	15
2.3.1.	Recepción del permeado de suero lácteo	15
2.3.2.	Caracterización físico-química de la materia prima	15
2.3.2.1.	Análisis de pH	15
2.3.2.2.	Análisis de acidez	16
2.3.2.3.	Análisis de la densidad	16
2.3.3.	Proceso de hidrólisis del permeado de suero de leche	16
2.3.4.	Elaboración de las bebidas deslactosadas a partir de permeado de suero	18
2.3.4.1.	Elaboración de bebida isotónica	19
2.3.4.2.	Elaboración de bebida infusión de cedrón	20
2.3.5.	Caracterización físico-química de las bebidas deslactosadas a base de permeado de suero	21
2.3.6.	Evaluación sensorial	22
2.3.6.1.	Preparación de la muestra	22
2.3.6.2.	Evaluación sensorial	23
2.3.7.	Análisis estadístico	23
3.	Resultados y discusión	24
3.1.	Caracterización físico-química de la materia prima	25
3.2.	Análisis de lactosa en permeado de suero deslactosado.	25
3.3.	Resultados bebida infusión de cedrón	26
3.4.	Resultado de turbidez y viscosidad de bebida de cedrón	27
3.5.	Formulación final de bebida de cedrón	28
3.6.	Resultados bebida isotónica	29
3.6.1.	Contenido de sales minerales de la bebida isotónica	29
3.6.2.	Formulación final de bebida isotónica	30
	CONCLUSIONES	31
	Recomendaciones	32
	Bibliografía	33
	Anexos	36

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Composición del suero dulce y ácido.....	6
Tabla 2: Condiciones óptimas de las enzimas	8
Tabla 3: Variaciones de permeado de suero en bebida isotónica	19
Tabla 4: Variación de permeado de suero al 50% en bebida infusión de cedrón	20
Tabla 5: Variación de permeado al 60% en bebida infusión de cedrón	20
Tabla 6: Variación de permeado de suero al 70% en bebida infusión de cedrón	21
Tabla 7: Análisis y métodos físico-químicos.....	22
Tabla 8: Caracterización físico-química del permeado de suero	25
Tabla 9: Contenido de lactosa en permeado de suero hidrolizado.....	26
Tabla 10: Evaluación sensorial de bebida de cedrón.....	26
Tabla 11: Turbidez bebida de cedrón.....	28
Tabla 12: Variación final de la bebida infusión de cedrón	28
Tabla 13: Evaluación sensorial de bebida Isotónica.....	29
Tabla 14: Contenido mineral de la bebida isotónica.....	30
Tabla 15: Variación final de bebida isotónica	30

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Esquema de la investigación	14
Figura 2: Hidrólisis enzimática del permeado de suero	16
Figura 3: Inactivación enzimática en el permeado de suero.....	17
Figura 4: Materia prima y aditivos químicos de dos bebidas a base de permeado de suero	18
Figura 5: Bebida isotónica a base de permeado de suero	20
Figura 6: Bebida infusión de cedrón a base de permeado de suero.....	21

LISTA DE ABREVIATURAS

CV:	Coeficiente de variación
CP:	Centipoise
Å	Angstrom
µm	Micrómetro
DQO:	Demanda química de oxígeno
NTU:	Unidad nefelométrica de turbidez
RPM:	Revoluciones por minuto
CMC:	Carboximetilcelulosa

RESUMEN

En la presente investigación se desarrolló dos bebidas deslactosadas a base de permeado de suero. Para ello se realizó el proceso de hidrólisis enzimática en el permeado de suero, mediante el uso de la enzima β -galactosidasa. Posteriormente, se procedió con la elaboración de una bebida isotónica y una bebida infusión de cedrón. Para la determinación de la fórmula final se ejecutó un análisis organoléptico, aplicando una prueba afectiva de grado de satisfacción, utilizando una escala hedónica verbal, en las que se obtuvo como resultado, que para la bebida infusión de cedrón la formulación con 50% permeado de suero y 0.1 % de estabilizante fue el mejor tratamiento, mientras que para la bebida isotónica la formulación con 60% de permeado de suero, alcanzó la calificación más alta, además de poseer un elevado contenido mineral.

PALABRAS CLAVES: permeado de suero, hidrólisis enzimática, bebidas deslactosadas

ABSTRACT

In the present investigation, it was elaborated two delactosed whey permeate beverages. For it, an enzymatic hydrolysis process has been performed using a β -galactosidase enzyme. Subsequently, it proceeded with the elaboration of an isotonic beverage and a cedron infusion beverage. For the determination of the final formula, an organoleptic analysis was carried out, applying an affective satisfaction test, using a verbal hedonic scale, obtaining as a result, that for the cedron infusión beverage, the formulation with 50% whey permeate and 0.1% of stabilizer was the best treatment, on the otherwise, for the isotonic beverage, the formulation with 60% of whey permeate, reach the highest qualification score, and had the highest mineral content.

KEYWORDS: Whey permeate, enzymatic hydrolysis, delactosed beverages.

INTRODUCCIÓN

La industria láctea genera importantes desechos líquidos, cuya eliminación demanda una gran inversión de capital (Panesar, Kennedy, Gandhi, & Bunko, 2007). En el Ecuador diariamente se genera 900.000 litros de suero de leche, obtenidos durante la producción de quesos. De los cuales únicamente el 10% del volumen total de este subproducto, es utilizado por la industria láctea (Mendoza & González, 2018). En la presente investigación se plantea la elaboración de dos bebidas deslactosadas a partir de permeado de suero como una alternativa de uso de este subproducto con alto valor generado por la industria quesera.

Considerando que este subproducto es provechoso y de suma importancia en la industria alimentaria y farmacéutica debido a los grandes volúmenes generados y a su composición nutricional, presentando varios nutrientes como proteínas (0.6 – 1.0 %), lactosa (4.5 – 5.1%), minerales y vitaminas (Baldasso, Barros, & Tessaro, 2011; Panesar et al., 2007).

Debido a esta elevada carga orgánica que presenta, requiere de una alta demanda química de oxígeno (DQO) entre 40000 a 60000 mg O_2 /L, por lo tanto, no puede ser desechado sin un tratamiento previo (M. González, Álvarez, Riera, & Álvarez, 2007). Además, su utilización se ve limitada debido al contenido de lactosa que presenta, el cual ocasiona problemas de salud a las personas que son intolerantes a este disacárido (Pessela et al., 2003), por ello, el uso del suero de leche deslactosado representa una solución a esta problemática.

El presente trabajo de titulación tuvo como objetivo desarrollar dos bebidas saborizadas a partir de permeado de suero deslactosado mediante el proceso de hidrólisis en uso de la enzima β -galactosidasa, realizándose los análisis sensoriales a las dos bebidas para la determinación de las formulaciones finales.

La metodología empleada en el presente estudio, se llevó a cabo mediante el proceso de hidrólisis enzimática en el permeado de suero, posteriormente, se realizaron las formulaciones iniciales de las dos bebidas y por último se efectuó el proceso de elaboración de la bebida isotónica y de la bebida infusión de cedrón.

Como resultado de la investigación se logró determinar que el mejor tratamiento para la hidrólisis de la lactosa en el permeado de suero fue el tratamiento 1 con la menor concentración de enzima. Para el caso de la bebida infusión de cedrón la formulación que presentó las condiciones más convenientes para una bebida de infusión fue la formulación (F1) con 50% permeado de suero y 0.1 % de estabilizante. En el caso de la bebida isotónica se determinó que la formulación 2 (F2) con 60% suero fue la que alcanzó la calificación más

alta en la evaluación sensorial, además de presentar un mayor contenido mineral en relación a las demás formulaciones.

La presente investigación se efectuó en 3 capítulos, en el primer capítulo se describe la revisión bibliográfica, la misma que abarca información sobre el suero de leche, obtención de permeado de suero, proceso de hidrólisis de la lactosa y las aplicaciones industriales del mismo. En el segundo capítulo se detalla la metodología empleada para la hidrólisis enzimática de la lactosa y el proceso de elaboración de dos bebidas deslactosadas a base de permeado de suero. En el tercer capítulo se discuten los resultados obtenidos respecto a los dos tratamientos de hidrólisis enzimática en el permeado de suero y respecto a cada una de las formulaciones de las bebidas. Finalmente, se especifican las conclusiones pertinentes y las recomendaciones para posteriores investigaciones.

1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1. Suero lácteo

El suero lácteo o lactosuero es un subproducto que se genera de las industrias lácteas, en particular la porción acuosa que se forma durante la coagulación de las proteínas de la leche en la fabricación de queso (Guimarães, Teixeira, & Domingues, 2010). Este efluente es un líquido que presenta un color amarillo verdoso y se lo puede considerar como leche libre de caseína y grasa; la precipitación de la caseína conduce a la formación de dos tipos de suero: el suero ácido que tiene un pH <5 y se produce después de la fermentación o la adición de ácidos orgánicos o minerales, y el suero dulce con un pH entre 6 y 7, que se obtiene a través de la adición de enzimas proteolíticas como la quimosina (Carvalho, Prazeres, & Rivas, 2013). En la tabla 1 se muestra la composición de estos dos tipos de suero. El suero de queso representa aproximadamente del 85 al 90% del volumen de la leche y retiene alrededor del 55% de sus nutrientes (Athanasiadis, Boskou, Kanellaki, Kiosseoglou, & Koutinas, 2002). De los cuales, alrededor del 100% de la lactosa y el 20% del total de proteínas de la leche, están presentes en el suero, siendo estos elementos responsables de una gran demanda de oxígeno biológico de este subproducto, provocando de esta manera que su descarga como material de desecho represente un grave problema ambiental para la industria láctea (Cruz, Sant'Ana, Macchione, Teixeira, & Schmidt, 2009). Por ello, se han buscado algunas alternativas para transformar los grandes volúmenes de suero lácteo en productos apropiados para su utilización como alimento, y de este modo aprovechar los nutrientes que posee este efluente (Djurić, Carić, Milanović, Tekić, & Panić, 2004).

Tabla 1: Composición del suero dulce y ácido.

Componentes	Suero dulce (%)	Suero ácido (%)
Agua	88.26 – 86.44	87.88 – 86.64
Sólidos totales	6.2 – 6.8	6.2 – 6.8
Lactosa	4.5 – 5.1	4.3 – 4.5
Proteína	0.6 – 1.0	0.6 – 0.8
Calcio	0.04 – 0.06	0.12 – 0.16
Fosfato	0.1 – 0.3	0.2 – 0.4
Lactato	0.2	0.6
Cloruro	0.1	0.1

Fuente: Panesar et al. (2007)

Elaboración: La autora

1.1.1. Permeado de suero

El permeado de suero es un subproducto obtenido mediante el sometimiento del suero de queso a un proceso de separación de membrana denominado ultrafiltración, en el cual se retiene únicamente las macromoléculas como las proteínas o partículas mayores de aproximadamente 10-200 Å (alrededor 0.001-0.02 µm); por lo tanto en el proceso las proteínas

del suero son retenidas en la membrana, mientras que las moléculas más pequeñas, como la lactosa y las sales, fluyen a través de esta, de manera que logran formar parte del permeado del suero (Barile et al., 2009; Cheryan, 1998).

Para que este proceso sea eficiente debe tomarse en cuenta que la membrana porosa sea adecuada, es decir, presente una alta permeabilidad, buena hidrofiliidad y excelente resistencia química a las corrientes de alimentación (Yan, Li, Xiang, & Xianda, 2006). Para lograr este propósito, es necesario que las membranas muestren una alta porosidad superficial y una buena estructura de poros, de tal manera que lo más conveniente es el empleo de una membrana asimétrica (Yan et al., 2006).

En su mayoría estas membranas de ultrafiltración son elaboradas a base de polímeros hidrófobos como polisulfona, polietersulfona, polipropileno, polietileno y fluoruro de polivinilideno, debido a que estos materiales presentan excelente resistencia química, estabilidad térmica y buenas propiedades mecánicas; sin embargo, las membranas hidrófobas son fácilmente susceptibles de ensuciamiento, lo que provoca una disminución severa en la corriente de permeado con el tiempo de operación (Reddy, Mohan, Bhattacharya, Shah, & Ghosh, 2003). Comúnmente se considera que las membranas con superficie hidrófila son menos susceptibles de ensuciarse y, frecuentemente, son reversibles, de tal manera que la mejor opción de membrana debe combinar las propiedades de los polímeros hidrófobos con las propiedades de los materiales hidrófilos para conseguir un proceso más eficiente de separación (Reddy et al., 2003).

1.2. Lactosa

La lactosa es el principal carbohidrato de la leche de mamíferos, se considera como un disacárido reductor, que se compone de glucosa y galactosa unidos por un enlace glicosídico (Fox, 2009). Este disacárido presenta ciertas limitantes como: escasa solubilidad en el agua, problemas de cristalización, bajo nivel de dulzor y problemas relacionados con la nutrición (intolerancia a la lactosa) (Fox, 2009).

La deficiente absorción de la lactosa se debe al deterioro de la actividad de la enzima lactasa; circunstancia que permite que la lactosa llegue al intestino grueso, lugar en donde, la flora intestinal proporciona una salida para la digestión de este disacárido a través del rompimiento de los ácidos grasos de la cadena interna de la lactosa y el gas, principalmente hidrogeno, dióxido de carbono y metano (Misselwitz et al., 2013). Provocando una serie de eventos que conducen a síntomas clínicos como: hinchazón, calambres, formación de gases que distienden los intestinos (flatulencia) y diarrea (Schaafsma, 2008).

1.3. Hidrólisis de la lactosa

El proceso de hidrólisis de la lactosa en el suero lácteo y otros productos derivadas de la leche, se lo puede realizar empleando dos procedimientos: hidrólisis enzimática e hidrólisis ácida (Das, Roy, Bhattacharjee, Chakraborty, & Bhattacharjee, 2015).

1.3.1. Hidrólisis enzimática

La hidrólisis enzimática de la lactosa a sus monosacáridos constituyentes (glucosa y galactosa) es catalizada por la enzima β -galactosidasa (lactasa, EC 3.2.1.23), la cual se puede encontrar en plantas, animales y microorganismos; sin embargo, en la industria se emplean únicamente las enzimas de origen microbiano para llevar a cabo el proceso de hidrólisis (Das et al., 2015). Las β -galactosidasas industriales de origen microbiano se derivan de levaduras tales como *Kluyveromyces lactis* y *Kluyveromyces marxianus* (conocidas también como *Kluyveromyces fragilis* y *Saccharomyces fragilis*) y de mohos como *Aspergillus niger* y *Aspergillus oryzae* (Gennari et al., 2019). Siendo, las enzimas β -galactosidasas producidas por levaduras, las más utilizadas para el tratamiento de la leche, suero de leche dulce y productos lácteos con un pH neutro, esto en visto de que el pH óptimo que opera la enzima es de entre 6,6 y 7,0 (Dagbagli & Goksungur, 2008). En la tabla 2 se indican las condiciones óptimas de las enzimas comerciales más usadas.

La importancia de la enzima lactasa a nivel industrial está relacionada con el uso de la leche, el suero y derivados lácteos para disminuir su contenido de lactosa, y de esta manera dar solución a problemas como: la intolerancia a la lactosa, baja solubilidad y escaso poder endulzante (Mozumder, Akhtaruzzaman, Bakr, & Zohra, 2012). Fundamentalmente, existen dos formas de utilizar la enzima lactasa: mediante la enzima soluble y la forma inmovilizada (Haider & Husain, 2009).

Tabla 2: Condiciones óptimas de las enzimas

Fuente de enzima	pH	Temperatura (°C)	Cofactores
Moho (<i>Aspergillus niger</i>)	3.0 - 4.0	55 - 60	-
Moho (<i>A. oryzae</i>)	5.0	50 - 55	-
Levadura (<i>K. fragilis</i>)	6.6	37	Mn^{2+} , Mg^{2+} , K^+
Levadura (<i>K. lactis</i>)	6.9 - 7.3	35	Mn^{2+} , Na^+

Fuente: Jurado, Camacho, Luzón, and Vicaria (2002)

Elaboración: La autora

1.3.1.1. Hidrólisis con enzimas solubles o libres

Este método se aplica para procesos de lotes, y se utiliza una enzima de un solo uso para la hidrólisis de la lactosa, para esto, es necesario considerar factores como: la concentración de sustrato, el pH de operación, la temperatura máxima y el tiempo de contacto permisible, la actividad de la enzima y el costo (Harju, Kallioinen, & Tossavainen, 2012). Este proceso de hidrólisis de la lactosa es sencillo y no requiere de equipos especiales en las plantas de procesamiento de productos lácteos (Harju et al., 2012).

1.3.1.2. Hidrólisis por sistemas inmovilizados

El método de inmovilización de enzima se emplea para funcionamientos continuos y además brinda la posibilidad de reutilizar las enzimas, lo cual, lo hace un método económicamente rentable (Haider & Husain, 2009). Este proceso, en comparación con el método de enzima soluble tiene algunas ventajas como: fácil separación de la mezcla de reacción, estabilidad operativa y de largo plazo y sistemas de reacción de enzimas múltiples (Das et al., 2015). Este sistema es altamente eficiente, debido a las condiciones moderadas de operación, pH de 5 a 6,8 que es el rango en el que actúan las lactasas fúngicas que son las enzimas que se usan frecuentemente en este proceso, sin embargo para prevenir el crecimiento microbiano durante el procesamiento de suero y permeado, se puede operar a pH óptimos bajos de 3.5 a 5.5; todas estas condiciones se prestan para reducir la desnaturalización enzimática (Das et al., 2015). Los efectos estabilizadores de la matriz de apoyo incrementan la termoestabilidad de la enzima inmovilizada, y evita los grandes cambios conformacionales característicos de la desnaturalización térmica (Das et al., 2015).

1.3.2. Hidrólisis ácida

Este método es factible únicamente para corrientes libres de proteínas, es decir cuando la leche o el suero han pasado por un proceso de ultrafiltración, esto en vista de que provoca la desnaturalización de las mismas; el ajuste de pH puede efectuarse de dos maneras: a través de la adición directa de ácido, o mediante el tratamiento del permeado con una resina de intercambio iónico (Harju et al., 2012). En el caso de la adición directa de ácido, el pH se ajusta a 1,2 y la temperatura a 150°C, obteniéndose una conversión del 80% (Siso, 1996). El producto hidrolizado es de color marrón y antes de ser usado requiere de procesos de neutralización, desmineralización y decoloración, por lo tanto, este proceso no es aplicado significativamente de forma comercial (Harju et al., 2012). Mientras que, para el caso de las resinas de intercambio iónico, estas operan particularmente a ciertas condiciones, de pH 1,2 y temperaturas de 90 a 98°C, dando como resultado un color dorado de la mezcla de la reacción neutralizada, lo cual es un inconveniente, ya que esto conlleva aplicar procesos de

eliminación de color, y por lo tanto aumentan los costos de procesamiento; a nivel industrial, estos procesos se usan únicamente para soluciones de lactosa pura (Harju et al., 2012).

1.4. Aplicaciones industriales del suero lácteo

La composición química del suero lácteo lo convierte en una materia prima favorable con muchas formas de utilización en la industria alimentaria, para la elaboración de diversos productos, como: bebidas, confitería, postres, salsas, sopas, alimentos para deportistas y alimentos para bebés (Anand, Som Nath, & Chenchiah, 2013). Además, se puede elaborar una variedad de productos como concentrado de proteína de suero, suero en polvo, suero desproteínizado, suero desmineralizado no higroscópico, suero reducido de lactosa, lactosa, suero desmineralizado y proteína de suero aislada, los mismos que pueden ser empleados como ingredientes en la fabricación de varios alimentos, aplicaciones clínicas y farmacéuticas (Anand et al., 2013).

En la actualidad, los productos a partir de suero lácteo, que tienen mayor aceptación en el mercado, son las bebidas refrescantes, esto en vista de su excelente calidad nutricional y aceptable sabor, además de los bajos costos de producción (Uribe, Valencia, Monzón, & Suescún, 2008). Las bebidas a base de suero continúan recibiendo un gran interés, reflejándose esto en el crecimiento de la concientización respecto al potencial de estos productos en el mercado (Sakhale, Pawar, & Ranveer, 2012). Generalmente para el desarrollo de bebidas, se utiliza mayormente el suero dulce, esto debido a que el suero ácido presenta limitaciones debido a su sabor ácido y alto contenido de sal (Carvalho et al., 2013).

Acorde a Jelen (2009) el término "bebida de suero de leche" hace referencia primordialmente a un producto tradicional bebible cuyo componente principal es el suero líquido, o por lo menos un componente significativo. Frecuentemente estas bebidas de suero son una alternativa muy conveniente para el uso del suero lácteo, resultante de la fabricación de queso.

Existe una variedad de bebidas a base de suero lácteo, a continuación, se detallan los principales tipos de bebidas elaboradas a partir de este subproducto.

1.4.1. Bebidas de suero a base de jugo de frutas

Estas bebidas se obtienen a partir de la mezcla de jugo de frutas y suero lácteo sin procesar o procesado, como el suero desproteínizado y el permeado de suero, siendo estos tipos de bebidas los más comunes que se producen, los sabores que se utilizan en dichas bebidas habitualmente son los cítricos (principalmente naranja, limón y toronja), además de algunas combinaciones de mango, fresa, pera, frambuesa, manzana y mezclas de jugos de frutas exóticas, ya que permiten enmascarar de manera eficiente el olor y sabor del suero lácteo (Chavan, Shraddha, Kumar, & Nalawade, 2015).

1.4.2. Bebidas lácteas

El término bebida láctea se define como “el producto obtenido a partir de leche, leche reconstituida y/o derivados de leche, reconstituidos o no, con adición de ingredientes no lácteos y suero de leche; se permite el uso de aromatizantes” (INEN, 2011a).

Las bebidas lácteas que se formulan con suero de queso han alcanzado gran popularidad a nivel mundial en el mercado de productos lácteos, debido a que se elaboran empleando tecnologías simples; además de tener una gran aceptación por parte de los consumidores de distintos grupos de edad (da Silveira et al., 2015). Recientemente, se ha dado un aumento en el consumo de estas bebidas lácteas, de las cuales, las bebidas a base de suero forman un segmento de productos lácteos que requieren una caracterización sensorial, física y química para el control de calidad y el desarrollo de diversos productos (Pescuma, Hébert, Mozzi, & de Valdez, 2008). La producción de bebidas mediante fermentaciones lácticas que pueden facilitar perfiles sensoriales deseables, ya se considera como una opción para adicionar valor al lactosuero (Pescuma et al., 2008). Las fermentaciones lácticas del suero emplean organismos indicadores convencionales o cepas probióticas, mientras tanto en las fermentaciones alcohólicas se usa generalmente cepas de levadura *Kluyveromyces* (Gallardo, Kelly, & Delahunty, 2005).

1.4.3. Bebidas refrescantes carbonatadas

Actualmente el mercado presenta una gran diversidad de bebidas refrescantes, de las cuales gran parte son carbonatadas (Mena, 2002). El producto más conocido que representa a este tipo de bebidas es (Rivella) fabricada en Suiza desde el año 1950 y que en la actualidad es consumida en Canadá y Holanda, es una bebida de suero lácteo, pasteurizada, carbonatada, que posee un sabor de fruta agridulce y tiene un pH de aproximadamente 3,7 (Parra 2009). Generalmente el proceso de elaboración de estas bebidas, se basa en la fermentación de suero desproteinizado con bacterias del ácido láctico, filtración, concentración, dilución, carbonatado y pasteurización (Chavan et al., 2015).

1.4.4. Bebidas isotónicas

Las bebidas isotónicas son conocidas también como bebidas rehidratantes o bebidas para deportistas, ya que sacian la sed y se utilizan en deportes y actividades relacionadas, para rehidratar, aumentar la energía y reponer los electrolitos que se pierden al sudar; estas bebidas contienen carbohidratos simples, minerales, electrolitos (por ejemplo, sodio, potasio, calcio, magnesio) y en algunas ocasiones, vitaminas o nutrientes adicionales (Gironés, Villano, Moreno, & García, 2013). Se pueden clasificar en función del contenido de carbohidratos que poseen: concentración baja de carbohidratos (<10%) o una concentración alta de carbohidratos (>10%); las bebidas con mayor contenido se comercializan para reponer

carbohidratos en lugar que para su consumo en general, a diferencia, las bebidas de concentraciones bajas, son más populares ya que se caracterizan por ser refrescantes, permitiendo ser consumidas antes y durante el ejercicio (Coombes & Hamilton, 2000).

Aunque las bebidas para deportistas se consideran como un grupo definido de bebidas funcionales, entre las bebidas sin alcohol, la categoría de las bebidas energéticas con frecuencia se confunde con las bebidas para deportistas, pese a su gran diferencia (Amendola, Iannilli, Restuccia, Santini, & Vinci, 2004). Las bebidas energéticas se comercializan por su efecto estimulante mental, principalmente, estas bebidas contienen elevados niveles de sustancias, como la cafeína, taurina y glucuronolactona; a diferencia de las bebidas para deportistas que no tienen un efecto estimulante, y a pesar de que algunas contienen cafeína, los niveles utilizados son bajos, en su lugar, estas bebidas han sido creadas específicamente para las personas que realizan actividad física (Amendola et al., 2004).

1.5. Bebidas de infusión

El término “infusión” se refiere de manera general, a la preparación de extractos acuosos, obtenidos a partir de hojas, flores, raíces, cortezas, semillas o frutos de ciertas hierbas y plantas; produciéndose a partir de metodologías muy sencillas como, ebullición, maceración u otros procesos químicos, el proceso comúnmente utilizado es el de ebullición, que consiste en verter el agua hirviendo sobre la materia prima durante un tiempo reducido para evitar que sus características se alteren; sin embargo, las infusiones actuales para aplicaciones de bebidas frecuentemente se realizan en condiciones de temperatura ambiente, utilizando como medio de extracción el etanol (Ashurst, 2005; Pertuz et al., 2018). El proceso de infusión se lo puede realizar utilizando plantas frescas o plantas deshidratadas, tomando como referencia que en el caso de las plantas deshidratadas son mucho más concentradas, ya que han perdido gran parte del contenido de humedad, en relación a las plantas frescas (Pertuz et al., 2018). La capacidad que poseen ciertas plantas para la fabricación de bebidas frías es muy importante, si se considera el sabor agradable que poseen y los grandes beneficios que se consiguen al elegir las como bebidas cotidianas (Vera, 2012).

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Esquema de la investigación

La investigación se llevó a cabo mediante diferentes etapas que se detallan en la **Figura 1**.

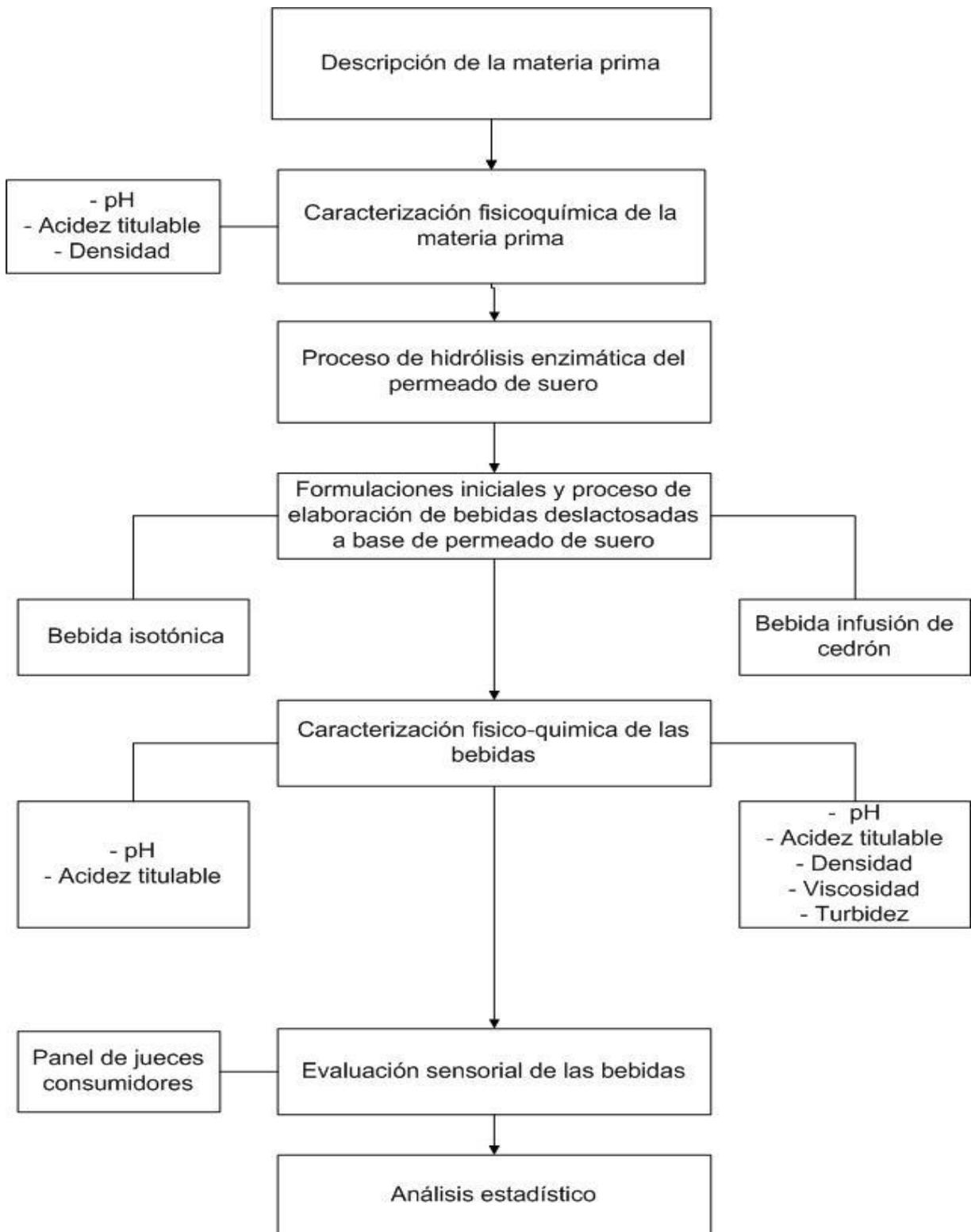


Figura 1: Esquema de la investigación

Fuente: La autora

Elaboración: La autora

2.2. Materia prima

2.2.1. Permeado de suero lácteo

El permeado de suero dulce utilizado para la elaboración de las bebidas deslactosadas fue procedente de una empresa dedica al procesamiento de lácteos ubicada en la provincia de Pichincha de Ecuador.

2.2.2. Mezcla de sales minerales

Se empleó una pre-mezcla de sales minerales para bebidas isotónicas, compuesta por: Citrato de sodio, cloruro de sodio y fosfato monopotásico. La ficha técnica se muestra en el anexo 1.

2.2.3. Cedrón

Para realizar la infusión se utilizó hojas deshidratadas de cedrón, que fueron adquiridas en el mercado local.

2.2.4. Aditivos químicos alimentarios

Para la elaboración de las bebidas a base de permeado de suero se utilizó ácido cítrico como regulador de acidez, citrato de sodio como sal emulsionante, cloruro de magnesio y CMC como estabilizantes, sucralosa y stevia como edulcorantes, Sorbato de potasio y benzoato de sodio como conservantes, EDTA como antioxidante y saborizante de lima-limón; cada uno de estos aditivos fueron usados según los límites establecidos en la norma general para los aditivos alimentarios (FAO, 1995).

2.3. Metodología

2.3.1. Recepción del permeado de suero lácteo

El permeado de suero fue recolectado el mismo día de su producción y seguidamente se almacenó en refrigeración a una temperatura de 4°C para su posterior procesamiento. La ficha técnica se muestra en el anexo 2.

2.3.2. Caracterización físico-química de la materia prima

Para la determinación del grado de la calidad del permeado de suero de leche se le realizó una caracterización físico-química. Todos los análisis se realizaron por triplicado y los resultados son presentados con su promedio \pm desviación estándar. A continuación, se detallan los métodos empleados:

2.3.2.1. Análisis de pH

La medición de pH se efectuó mediante el método AOAC 981.12, para el efecto se usó el potenciómetro Mettler Toledo, el cual fue calibrado con las soluciones tampón de referencia. Se introdujo directamente el electrodo del potenciómetro en la muestra, la cual estuvo a una temperatura ambiente de 23°C.

2.3.2.2. *Análisis de acidez*

La determinación de la acidez se realizó mediante la valoración de 10 mL de muestra con una solución de hidróxido de sodio al 0,1N usando como indicador fenolftaleína hasta que la reacción alcance un color ligeramente rosado, siguiendo el método descrito por la AOAC 947.05. Los resultados fueron expresados en porcentaje de ácido láctico.

2.3.2.3. *Análisis de la densidad*

El análisis de la densidad se desarrolló por medición directa, en uso del densímetro digital portátil (Densito 30PX, Mettler Toledo, Suiza), los resultados fueron expresados en g/cm^3 con una precisión de $\pm 0,001 \text{ g}/\text{cm}^3$.

2.3.3. **Proceso de hidrólisis del permeado de suero de leche**

El proceso de hidrólisis enzimática en el permeado de suero UHT, se efectuó por lotes, en esta técnica se controló tres parámetros claves: temperatura, concentración de enzima y pH, para ello, al permeado de suero se le realizaron los análisis físico-químicos mencionados anteriormente, posterior a esto, se ajustó el pH, hasta alcanzar un valor de 6,7 (Das et al., 2015), seguidamente se sometió a tratamiento térmico hasta alcanzar una temperatura de 40°C e inmediatamente se agregó la enzima de uso industrial β -galactosidasa (lactasa, EC 3.2.1.23) a una concentración de 0,36 mL/L para el primer tratamiento y 1.46 mL/L para el segundo tratamiento. Luego se procedió a colocar el permeado de suero en frascos de vidrio auto-clavables previamente esterilizados, los mismos que se mantuvieron en un equipo de baño María con agitador magnético (Ika Werke, Alemania) para obtener la temperatura deseada y además conseguir uniformidad en la mezcla de reacción. Este procedimiento se llevó a cabo durante un periodo de 4 horas para el primer tratamiento y 1 hora para el segundo tratamiento, con el fin de alcanzar el tiempo requerido para la hidrólisis máximo de la lactosa en condiciones óptimas en modo libre (Figura 2).

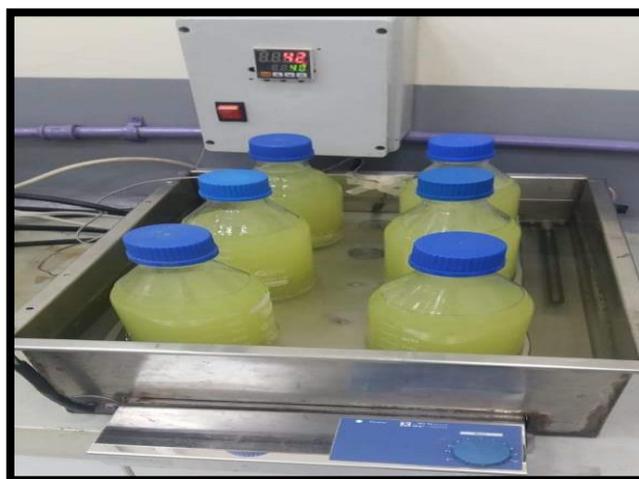


Figura 2: Hidrólisis enzimática del permeado de suero
Fuente: La autora
Elaboración: La autora

Transcurrido el tiempo de hidrólisis, los frascos de vidrio que contienen el permeado de suero, fueron sumergidos en agua hirviendo a una temperatura de 93°C durante 10 minutos para detener la reacción de hidrólisis inactivando la enzima (Das et al., 2015). En la **Figura 3** se muestra este proceso. Finalmente, las muestras fueron almacenadas en refrigeración a 4°C, para ser enviadas a un laboratorio acreditado (Multianálityca Cía.Ltda) para determinar la cantidad de lactosa presente en el producto hidrolizado, mediante el método de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC). Las condiciones de concentración de enzima y tiempo de hidrólisis se emplearon de acuerdo a la ficha técnica que se muestra en el anexo 3.



Figura 3: Inactivación enzimática en el permeado de suero
Fuente: La autora
Elaboración: La autora

2.3.4. Elaboración de las bebidas deslactosadas a partir de permeado de suero

En la **Figura 4** se muestra el proceso de elaboración de las bebidas deslactosadas a base de permeado de suero: isotónica e infusión de cedrón.

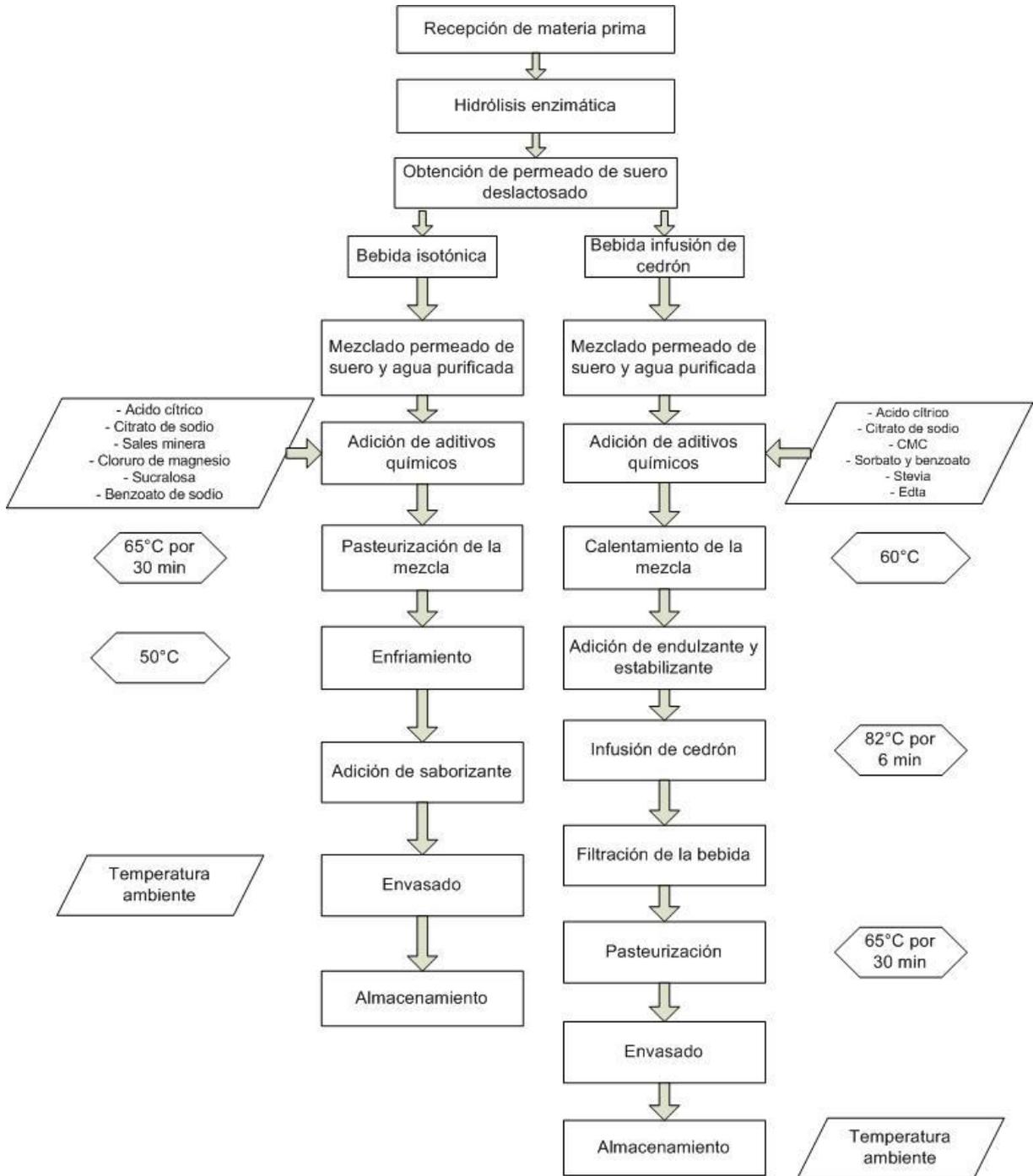


Figura 4: Materia prima y aditivos químicos de dos bebidas a base de permeado de suero

Fuente: La autora

Elaboración: La autora

2.3.4.1. *Elaboración de bebida isotónica*

Se define como bebida isotónica a base de permeado de suero lácteo al producto rehidratante obtenido a partir de la mezcla de permeado de suero, agua purificada, mezcla de sales minerales, con la adición de aditivos químicos como: ácido cítrico, citrato de sodio, cloruro de magnesio, sucralosa, saborizante y benzoato de potasio. En la presente investigación no se especificará los porcentajes de aditivos empleados, que no se incluyan como variables de estudio para la elaboración de la bebida, por motivos de resguardo de la fórmula, desarrollada para una empresa privada productora de lácteos.

2.3.4.1.1. *Formulaciones iniciales para bebida isotónica*

Para la obtención de estas bebidas se partió de tres fórmulas aplicadas en pruebas preliminares, en las que se manejó como variable la cantidad de permeado de suero a tres porcentajes diferentes. Las variaciones de permeado de suero se muestran en la tabla 3.

Tabla 3: Variaciones de permeado de suero en bebida isotónica

Variable	Cantidad (%)		
	Formulación 1	Formulación 2	Formulación 3
Permeado de suero	50	60	70

Fuente: La autora

Elaboración: La autora

2.3.4.1.2. *Proceso de elaboración de la bebida isotónica*

La bebida fue elaborada a partir de permeado de suero deslactosado detallado en el apartado 2.3.3. Inicialmente se mezcló el permeado de suero deslactosado con el agua purificada, se colocaron los siguientes aditivos alimentarios: regulador de acidez, sal emulsionante, mezcla de sales minerales, estabilizante, conservante y edulcorante, seguidamente la mezcla se sometió a pasteurización a 65°C por 30 minutos, se dejó enfriar hasta alcanzar una temperatura de 50°C, luego se adicionó el saborizante y se procedió a envasaren frascos de vidrio para finalmente almacenar el producto a temperatura ambiente y realizar los análisis sensoriales y físico-químicos correspondientes. En la **Figura 5** se muestra la bebida isotónica.



Figura 5: Bebida isotónica a base de permeado de suero

Fuente: La autora

Elaboración: La autora

2.3.4.2. *Elaboración de bebida infusión de cedrón*

Se define como infusión de cedrón a base de permeado de suero lácteo al producto obtenido a partir de la mezcla de permeado de suero, agua purificada, hojas deshidratadas de cedrón, y aditivos químicos como: ácido cítrico, citrato de sodio, CMC, sorbato de potasio, benzoato, stevia y EDTA. En la presente investigación no se especificará los porcentajes de aditivos empleados, que no se incluyan como variables de estudio para la elaboración de la bebida, por motivos de resguardo de la fórmula, desarrollada para una empresa privada productora de lácteos

2.3.4.2.1. *Formulaciones iniciales para bebida infusión de cedrón*

Para la obtención de estas bebidas se partió de nueve formulas aplicadas en pruebas preliminares, en las que se manejó dos variables (cantidad de permeado de suero y cantidad de estabilizante (CMC), cada una con tres porcentajes diferentes, las mismas que se muestran en las tablas 4, 5 y 6.

Tabla 4: Variación de permeado de suero al 50% en bebida infusión de cedrón

Variable	Cantidad (%)		
	Formulación 1	Formulación 2	Formulación 3
Permeado de suero	50	50	50
Estabilizante (CMC)	0.10	0.05	0.15

Fuente: La autora

Elaboración: La autora

Tabla 5: Variación de permeado al 60% en bebida infusión de cedrón

Variable	Cantidad (%)		
	Formulación 4	Formulación 5	Formulación 6
Permeado de suero	60	60	60
Estabilizante (CMC)	0.10	0.05	0.15

Fuente: La autora

Elaboración: La autora

Tabla 6: Variación de permeado de suero al 70% en bebida infusión de cedrón

Variable	Cantidad (%)		
	Formulación 7	Formulación 8	Formulación 9
Permeado de suero	70	70	70
Estabilizante (CMC)	0.10	0.05	0.15

Fuente: La autora

Elaboración: La autora

2.3.4.2.2. *Proceso de elaboración de bebida infusión de cedrón*

Primeramente se realizó la mezcla del permeado de suero deslactosado con el agua purificada, luego se procedió a agregar los siguientes aditivos químicos: regulador de acidez, citrato de sodio, estabilizante, conservantes y antioxidante, luego se calentó la mezcla hasta llegar a una temperatura de 60°C y se agregó a esta temperatura el edulcorante y el estabilizante para su correcta disolución, posteriormente se procedió a realizar la infusión de cedrón, colocando las hojas deshidratadas en un lienzo esterilizado durante 6 minutos a una temperatura de 82°C. Transcurrido el tiempo se retiró el lienzo y se filtró la bebida para eliminar los residuos de las hojas, finalmente se realizó un tratamiento térmico a 65°C por 30 minutos, la mezcla pasteurizada se envasó en frascos de vidrio estériles y se almacenó a temperatura ambiente. En la **Figura 6** se indica la bebida infusión de cedrón a base de permeado de suero.



Figura 6: Bebida infusión de cedrón a base de permeado de suero

Fuente: La autora

Elaboración: La autora

2.3.5. **Caracterización físico-química de las bebidas deslactosadas a base de permeado de suero**

Para la determinación del grado de la calidad de las bebidas se le realizó una caracterización físico-química. Todos los análisis se realizaron por triplicado y los resultados son presentados con su promedio \pm desviación estándar. A continuación, en la tabla 7 se detallan los métodos empleados:

Tabla 7: Análisis y métodos físico-químicos

Análisis	Método
pH	AOAC 981.12
Acidez titulable	AOAC 947.05

Fuente: La autora

Elaboración: La autora

En el caso de la bebida infusión de cedrón se realizaron análisis de densidad, viscosidad y turbidez, a continuación, se detalla el procedimiento de cada uno de los análisis:

- El análisis de la densidad se realizó por medición directa, en uso del densímetro digital portátil (Densito 30PX, Mettler Toledo, Suiza), los resultados fueron expresados en g/cm^3 con una precisión de $\pm 0,001 \text{ g/cm}^3$.
- La viscosidad se determinó mediante la metodología descrita por García, Chambers, Matta, and Clark (2005); usando un viscosímetro (Brookfield DV-I Prime), con un husillo S61 a 30 rpm, para determinar el tiempo de agitación de la muestra, se realizó un análisis previo en el cual se sometió 600mL de la bebida a tres periodos de tiempo de agitación (15, 30 y 45 segundos) y se fue contralando la influencia de estos periodos de tiempo sobre la temperatura y la viscosidad, buscando encontrar la condición de tiempo que logre estabilizar estos parámetros. Para cada tiempo se realizó 10 mediciones de temperatura y viscosidad, determinándose que, a 45 segundos de agitación a 30 rpm, la temperatura de la muestra se mantuvo constante a $18,7 \pm 0,2^\circ\text{C}$.
- Para la determinación de la turbidez en la bebida, se utilizó un turbidímetro (Hach 2100N IS), que fue previamente calibrado utilizando las diferentes soluciones estándar de formazina. Las mediciones de turbidez se realizaron de manera directa, colocando en la cubeta de muestra 25mL de bebida a temperatura ambiente de $21,3^\circ\text{C}$ y finalmente fue ubicada en el soporte de cubetas de muestra para la lectura directa. Los resultados fueron expresados en NTU, con una precisión de $\pm 2\%$ de la lectura.

2.3.6. Evaluación sensorial

2.3.6.1. Preparación de la muestra

La valoración de las bebidas (isotónica e infusión de cedrón) se la realizó al día siguiente en el que fueron elaboradas para garantizar la frescura e inocuidad de estas, se suministró 50mL de los productos a una temperatura de 23°C en vasos codificados con números aleatorios, el orden en que fueron evaluadas cada una de las muestras fue aleatoria. Los jueces consumidores tuvieron a su disposición agua para descartar algún posible sabor residual que pudiera dejar las muestras valoradas.

2.3.6.2. Evaluación sensorial

La evaluación sensorial de todos los tratamientos se realizó con un panel de jueces consumidores habituales de los productos a valorar, conformado por 30 personas, para el caso se aplicó una prueba afectiva de grado de satisfacción, utilizando una escala hedónica verbal (anexo 4), en la que se evaluaron tres atributos: color, apariencia general (partículas en suspensión, turbiedad) y sabor, tanto para bebida isotónica como para la infusión de cedrón. Para determinar el grado de satisfacción de las dos bebidas por parte de los jueces hacia estos productos, se empleó una escala de siete puntos, donde: 1 corresponde a me disgusta muchísimo; 2 me disgusta mucho; 3 me disgusta ligeramente; 4 ni me gusta, ni me disgusta; 5 me gusta ligeramente; 6 me gusta mucho y 7 me gusta muchísimo.

2.3.7. Análisis estadístico

Los datos obtenidos en la evaluación sensorial y caracterización físico-química de las bebidas fueron analizados mediante el programa Minitab versión 16, utilizando un análisis de varianza ANOVA unidireccional, seguido de un test de rango múltiple Tukey para determinar si existe o no diferencia significativa entre los tratamientos, con un nivel de confianza del 95%.

3. Resultados y discusión

3.1. Caracterización físico-química de la materia prima

La determinación de la calidad del permeado de suero lácteo se lo realizó, mediante análisis físico-químicos, evaluándose la acidez, pH y densidad. Los resultados obtenidos en conjunto del contenido de lactosa se presentan en la tabla 8.

Tabla 8: Caracterización físico-química del permeado de suero

Análisis físico-químico	Resultado
Acidez titulable (% ácido láctico)	0.0084 ± 0.0009
pH	6.8
Densidad (g/cm^3)	1.022
Lactosa (%)	4.25

Fuente: Investigación.

Elaboración: La autora

Los resultados alcanzados indicaron que el permeado de suero dulce obtuvo un pH de 6.8, encontrándose este resultado acorde a los parámetros mencionados por Siso (1996) quien indica que el pH del suero dulce de leche se debe encontrar en un rango de 6 a 7; para el caso de la acidez, en la investigación se obtuvo un resultado de 0.0084% de ácido láctico (**anexo 5**), de esta manera los valores determinados se encuentran dentro de la normativa (INEN 2011b), en la cual se indica que la acidez en suero lácteo puede encontrarse hasta un valor de 0,16% de ácido láctico. La densidad del permeado de suero analizado fue de 1.022 g/cm^3 , valor que resulta muy similar al reportado por Hernández, García, Cruz, Santillán, and Marzo (2012), el cual indica una densidad promedio de 1.026 g/cm^3 en el suero lácteo. Respecto a la cantidad de lactosa presente en el permeado de suero de leche es de 4.25%, valor se encuentra dentro del rango establecido por la Norma de suero de leche líquido (INEN, 2011b), la misma que indica que la cantidad máxima de lactosa en el suero de leche debe ser de un 5%.

3.2. Análisis de lactosa en permeado de suero deslactosado.

Con la finalidad de poder destinar el permeado de suero a la elaboración de productos deslactosados, se realizó una hidrólisis enzimática, para lo cual, con el fin de definir las condiciones a trabajar, se decidió ejecutar dos tratamientos diferentes en función de la ficha técnica de la enzima utilizada, en los cuales se varió concentración (0.36 y 1.46 mL/L) de enzima y tiempo de reacción (4 y 1 h), manteniendo una temperatura constante de. El contenido de lactosa de las muestras hidrolizadas se analizó mediante cromatografía líquida, los resultados obtenidos se muestran a continuación en la tabla 9.

Tabla 9: Contenido de lactosa en permeado de suero hidrolizado.

Tratamientos		Contenido de lactosa (%)
T1	Enzima (0.36 mL/L)	0.00
	Tiempo reacción(4 h)	
T2	Enzima (1.46 mL/L)	0.00
	Tiempo reacción(1h)	

Fuente: Laboratorio acreditado Multianalytica S.A

Elaboración: La autora

Los dos tratamientos realizados, obtuvieron un contenido de lactosa de 0% resultado que se muestra en el anexo 6, encontrándose los valores dentro del rango establecido en la norma INEN de Bebidas de suero (INEN, 2012), en la cual se indica que la cantidad máxima de lactosa que puede contener un producto bajo en lactosa es de 0.85%, por consiguiente, se demostró que se puede procesar el permeado de suero mediante cualquiera de estos tratamientos. En la presente investigación por motivos de reducir el gasto de enzima, se decidió hacer uso del tratamiento número 1, utilizándose 0.36 mL/L de enzima, un tiempo de reacción de 4 horas, y a una temperatura de 40°C.

3.3. Resultados bebida infusión de cedrón

En función de poder determinar la influencia del contenido de suero y la cantidad de estabilizante sobre el color, sabor y apariencia general de la bebida refrescante deslactosada a base de permeado de suero, se realizó una prueba afectiva de grado de satisfacción empleando una escala hedónica de 7 niveles, además se ejecutó un análisis de varianza conjunto a una prueba residual fisher para establecer la diferencia entre las 9 formulaciones (anexo 7), los resultados obtenidos se muestran en la tabla 10.

Tabla 10: Evaluación sensorial de bebida de cedrón.

Formulación	Atributo organoléptico											
	Color				Apariencia general				Sabor			
F1	5.43	±	1.10	a	5.20	±	1.16	a	4.83	±	0.95	a
F2	5.40	±	1.10	a	5.37	±	0.89	a	5.17	±	1.44	a
F3	5.23	±	1.04	ab	4.53	±	1.33	b	5.00	±	1.11	a
F4	5.37	±	1.50	a	5.20	±	1.37	a	4.73	±	1.14	a
F5	4.63	±	1.19	c	5.13	±	1.38	ab	4.93	±	1.51	a
F6	4.77	±	0.94	bc	4.57	±	1.33	b	4.80	±	1.30	a
F7	5.43	±	1.38	a	4.97	±	1.33	ab	4.80	±	1.03	a
F8	5.00	±	0.95	abc	4.90	±	1.06	ab	4.83	±	1.23	a
F9	4.70	±	1.09	bc	4.77	±	1.19	ab	4.87	±	1.11	a

Los valores expresados representan la media con la desviación estándar de la evaluación de 30 consumidores habituales.

Las medias que no comparten una letra en una misma columna, son significativamente diferentes

F1: suero 50%, estabilizante 0.1%; F2: suero 50%, estabilizante al 0.05%; F3: suero 50%, estabilizante 0.15%

F4: suero 60%, estabilizante 0.1%; F5: suero 60%, estabilizante al 0.05%; F6: suero 60%, estabilizante 0.15%

F7: suero 70%, estabilizante 0.1%; F8: suero 70%, estabilizante al 0.05%; F9: suero 70%, estabilizante 0.15%

Fuente: La autora

Elaboración: La autora

En la tabla 10 se puede observar que respecto al atributo color, las formulaciones F1, F2, F4, y F7, obtuvieron las mejores puntuaciones, encontrándose dentro de la escala hedónica con la calificación de “me gusta ligeramente”, las formulaciones F3 y F8 son significativamente iguales a las 4 mejores puntuaciones, sin embargo, también comparten un grado de similitud con las formulaciones F6, F8 Y F9, las cuales tienen las puntuaciones más bajas conjunto a la formulación F5. En el caso de las formulas F3, F6 y F9 también se puede observar que presentan puntuaciones bajas debido a su alto contenido de estabilizante, en las evaluaciones realizadas los catadores detallaron que estas tres formulaciones presentan un color muy fuerte, acorde Gutiérrez (2017) quien menciona que los estabilizantes influyen significativamente en el color de una bebida, brindando tonalidades más intensas, debido a que los estabilizantes por su propiedad de retención de agua, producen partículas coloidales muy hidratadas que intensifican el color de los alimentos a los que se aplica. No obstante, los catadores mencionaron que las demás formulaciones presentan un color apropiado, en referencia a la tonalidad que debe tener una infusión de cedrón.

Respecto al atributo de apariencia general se puede observar que las formulaciones F1, F2, F3 obtuvieron las puntuaciones más altas, sin embargo, no presentan diferencia significativa con las formulaciones F5, F7, F8, F9. Las formulaciones F3, F6 y F9 presentaron las calificaciones más bajas, acorde a las evaluaciones realizadas los catadores describieron que estas fórmulas presentan una viscosidad muy alta, por lo cual se asocia que las puntuaciones bajas se deben al contenido alto de estabilizante, lo que provocó una viscosidad mayor a lo que debería tener una bebida refrescante.

En el caso del atributo sabor, la formulación F2 obtuvo la puntuación más alta, no obstante, no se presentó diferencia significativa entre ninguna de las formulaciones realizadas, todas las muestras se encontraron dentro de la escala hedónica con las calificaciones de “me gusta ligeramente” y “ni me gusta, ni me disgusta”. En las evaluaciones realizadas, los catadores mencionaron que las formulaciones F1, F6, F7 y F9 presentaron un sabor astringente, esta variación en el sabor se puede presentar por una sobre-extracción en la infusión del cedrón, presentándose en la bebida un alto contenido de taninos, sustancias presentes en las hierbas aromáticas y que producen sabores astringentes (Lee & Chambers, 2007; Wernert, Wagner, Gurni, Carballo, & Ricco, 2009).

3.4. Resultado de turbidez y viscosidad de bebida de cedrón

Para determinar si existe diferencia significativa entre las nueve formulaciones, respecto a las variables de turbidez y viscosidad, se realizó un análisis de varianza que se muestra en el anexo 8.

Tabla 11: Turbidez bebida de cedrón

Tratamientos	Turbidez (NTU)				Viscosidad (cP)				
F1	35,16	±	0,55	g	4,73	±	0,42	bc	
F2	38,06	±	0,83	f	3,00	±	0,20	ef	
F3	77,83	±	0,72	a	5,07	±	0,61	b	
F4	71,23	±	0,47	b	3,87	±	0,70	cde	
F5	47,86	±	0,83	e	2,60	±	0,35	f	
F6	58,66	±	1,00	d	7,07	±	0,23	a	
F7	65,26	±	0,40	c	4,33	±	0,12	bcd	
F8	69,86	±	0,51	b	3,33	±	0,46	def	
F9	67,03	±	0,83	c	4,53	±	0,23	bc	

Los valores expresados representan la media con la desviación estándar de las medidas de turbidez y viscosidad

Las medias que no comparten una letra en una misma columna, son significativamente diferentes

F1: suero 50%, estabilizante 0.1%; F2: suero 50%, estabilizante al 0.05%; F3: suero 50%, estabilizante 0.15%

F4: suero 60%, estabilizante 0.1%; F5: suero 60%, estabilizante al 0.05%; F6: suero 60%, estabilizante 0.15%

F7: suero 70%, estabilizante 0.1%; F8: suero 70%, estabilizante al 0.05%; F9: suero 70%, estabilizante 0.15%

Fuente: La autora

Elaboración: La autora

En la tabla 11 se puede apreciar que las 9 formulaciones son significativamente diferentes respecto a la variable turbidez, encontrándose que la formulación 1 con 50% de suero y 0.1% de estabilizante fue la mejor formulación, debido a que obtuvo una menor turbidez, siendo esto ideal respecto al tipo de bebida que se realizó, la turbidez determinada en esta formulación se encuentra cercana a la turbidez reportada por Carhuamaca Vilchez (2013), quien reportó una turbidez de 47 NTU en una bebida de suero deslactosada.

Respecto a la viscosidad, en la tabla 10 se puede observar que formulación 6 obtuvo la viscosidad más alta, siendo significativamente diferente a las demás formulaciones, como se indica en el anexo 8, sin embargo, en referencia a los análisis organolépticos y análisis de turbidez realizados, se determinó que las formulación F1, con una viscosidad de 4,73 cP a 21.3°C, se encuentra dentro de un parámetro idóneo para el tipo de bebida desarrollada, encontrándose esta viscosidad dentro del parámetro reportado por P. González, Camacho, Guadix, Luzón, and González (2009), quienes reportaron una viscosidad de 4.74 cP a 25°C en una solución de proteína de suero concentrada con un 0.15% de concentración másica .

3.5. Formulación final de bebida de cedrón

Una vez realizados los análisis organolépticos, de turbidez y de viscosidad de las diferentes formulaciones de bebida de cedrón, se pudo determinar que la formulación 1 (F1), presentó los parámetros idóneos para una bebida de infusión. La variación final de la bebida infusión de cedrón a base de permeado de suero, se encuentra en la tabla 12.

Tabla 12: Variación final de la bebida infusión de cedrón

Variable	Cantidad %
	Formulación 1
Permeado de suero	50
Estabilizante (CMC)	0.10

Fuente: La autora

Elaboración: La autora

3.6. Resultados bebida isotónica

Con la finalidad de poder determinar la influencia del contenido de permeado de suero, en el color, apariencia general y sabor de una bebida isotónica a base de permeado de suero deslactosado, se realizó una evaluación sensorial, mediante una prueba afectiva de grado de satisfacción empleando una escala hedónica de 7 niveles, además se efectuó un análisis de varianza para establecer la diferencia entre las 3 formulaciones (anexo 9). Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 13.

Tabla 13: Evaluación sensorial de bebida Isotónica

Formulación	Atributo organoléptico											
	Color				Apariencia general				Sabor			
F1	5.53	±	0.99	a	5.90	±	1.25	a	4.97	±	1.22	a
F2	5.17	±	0.94	ab	5.77	±	0.86	a	4.70	±	1.26	a
F3	4.93	±	1.22	b	5.63	±	1.03	a	4.00	±	1.44	b

Los valores expresados representan la media con la desviación estándar de la evaluación de 30 consumidores habituales.

Las medias que no comparten una letra en una misma columna, son significativamente diferentes

F1: suero 50%; F2: suero 60%; F3: suero 70%

Fuente: La autora

Elaboración: La autora

En cuenta al análisis organoléptico realizado, se puede evidenciar que, para el atributo de color, la formulación 1 obtuvo la mayor puntuación, encontrándose dentro de la escala hedónica con la calificación de “me gusta ligeramente” y “me gusta mucho”, respecto a las demás formulaciones, la formulación 2 es significativamente igual a la formulación 1, sin embargo, se encuentra solamente dentro de la calificación de “me gusta ligeramente”.

Respecto al atributo de apariencia general, la formulación F1 obtuvo la mejor puntuación, sin embargo, no existe diferencia significativa entre ninguna de las formulaciones, las tres formulaciones se encuentran dentro de la escala hedónica entre las calificaciones de “me gusta ligeramente” y “me gusta mucho”

Para el atributo de sabor, las formulaciones F1 y F2, se encuentran como las mejores puntuadas, siendo estas significativamente similares entre ellas, dentro de la escala hedónica las formulaciones F1 y F2 se encuentran con la calificación de “me gusta ligeramente” a diferencia de la F3, la cual tiene una calificación de “ni me gusta, ni me disgusta”, encontrándose con una diferencia significativa respecto a las demás formulaciones.

3.6.1. Contenido de sales minerales de la bebida isotónica

El contenido mineral de las bebidas isotónicas a base de permeado de suero a diferentes concentraciones de permeado se muestra a continuación en la tabla 14.

Tabla 14: Contenido mineral de la bebida isotónica

Mineral	Suero 50%	Suero 60%	Suero 70%
	mg/L	mg/L	mg/L
cloruros	359,8	359,8	359,8
sodio	562,5	595,8	629,2
potasio	753,8	883,0	1012,1
Magnesio	19,1	22,9	26,7
Calcio	137,0	164,3	191,7

Fuente: La autora

Elaboración: La autora

En la tabla 14 se puede observar que el permeado de suero es una fuente alta de minerales, ocasionando a medida de su aumento en la bebida un mayor contenido de sodio, potasio, magnesio y calcio, en vista de eso se puede observar que la formulación con mayor concentración mineral es la bebida con 70% de permeado de suero. Las tres formulaciones se encuentran dentro de los parámetros de una bebida isotónica, ya que acorde se menciona en la normativa técnica colombiana (INCONTEC, 1995), para que una bebida sea considerada como isotónica debe cumplir como límite mínimo un contenido de sodio de 230 mg/L, de cloruro de 355 mg/L, de potasio de 98 mg/L. Se puede apreciar que la bebida isotónica a base de permeado de suero, es una fuente alta de potasio, considerando que aporta entre 753 a 1012 mg/L lo que representa entre un 21.45 a 28.83 % de lo recomendado por la OMS (2013), la cual promueve el consumo de este mineral mediante los alimentos con la finalidad de disminuir la tensión arterial y la posibilidad de enfermedades cardiovasculares, accidente cerebro vascular y cardiopatía coronaria (OMS, 2013).

3.6.2. Formulación final de bebida isotónica

Respecto al análisis organolépticos realizados se puede apreciar que las formulaciones 1 y 2, presentan puntuaciones altas siendo significativamente semejantes, sin embargo, se escoge la formulación 2, debido a que contiene un mayor porcentaje de suero lácteo, contribuyendo con un mayor contenido mineral a la bebida final. En la tabla 15 se puede observar la variación final de bebida isotónica a base de permeado de suero.

Tabla 15: Variación final de bebida isotónica

Variable	Cantidad (%)
	Formulación 2
Permeado de suero	60

Fuente: La autora

Elaboración: La autora

CONCLUSIONES

- Se estandarizó la formulación y el proceso para la elaboración de las bebidas deslactosadas a base de permeado de suero.
- Se realizó el proceso de hidrólisis enzimática en el permeado de suero y el tratamiento seleccionado para el desarrollo del mismo, fue el que contenía la menor concentración de enzima.
- La bebida infusión de cedrón a base de permeado de suero que mostró los mejores parámetros de turbidez, viscosidad y organolépticos fue la formulación 1, la cual contiene 50% de permeado de suero y 0.10% de estabilizante (CMC). Mientras que para la bebida isotónica final se seleccionó la formulación 2, siendo esta la que presentó un mayor contenido sales minerales y un perfil sensorial de “me gusta ligeramente”.

RECOMENDACIONES

- Aplicar un proceso de optimización de tiempo, temperatura y concentración de enzima para el proceso de hidrólisis de la lactosa.
- Realizar análisis de vida útil para determinar el periodo tiempo en que el alimento mantenga una calidad aceptable para su consumo.
- Hacer un análisis nutricional específico de las dos bebidas deslactosadas a base de permeado de suero.
- Probar con otros tipos de saborizantes para el caso de la bebida isotónica y para la bebida de infusión utilizar otras hierbas aromáticas, con el fin de ofrecer otras alternativas de sabores al consumidor.
- Realizar un análisis de costos para las dos bebidas deslactosadas a base de permeado de suero.

BIBLIOGRAFÍA

- Amendola, C., Iannilli, I., Restuccia, D., Santini, I., & Vinci, G. (2004). Multivariate statistical analysis comparing sport and energy drinks. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 5(2), 263-267.
- Anand, S., Som Nath, K., & Chenchaiyah, M. (2013). Whey and whey products. *Milk and Dairy Products in Human Nutrition: Production, Composition and Health*, 477-497.
- Ashurst, P. R. (2005). *Chemistry and technology of soft drinks and fruit juices*: Wiley Online Library.
- Athanasiadis, I., Boskou, D., Kanellaki, M., Kiosseoglou, V., & Koutinas, A. (2002). Whey liquid waste of the dairy industry as raw material for potable alcohol production by kefir granules. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(25), 7231-7234.
- Baldasso, C., Barros, T., & Tessaro, I. (2011). Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration. *Desalination*, 278(1-3), 381-386.
- Barile, D., Tao, N., Lebrilla, C. B., Coisson, J.-D., Arlorio, M., & German, J. B. (2009). Permeate from cheese whey ultrafiltration is a source of milk oligosaccharides. *International Dairy Journal*, 19(9), 524-530.
- Carhuamaca Vilchez, Z. (2013). Estudio de la reducción del contenido de lactosa del lactosuero producido por las industrias lácteas utilizando mucílago nopal (*Opuntia ficus indica*).
- Carvalho, F., Prazeres, A. R., & Rivas, J. (2013). Cheese whey wastewater: Characterization and treatment. *Science of the total environment*, 445, 385-396.
- Coombes, J. S., & Hamilton, K. L. (2000). The effectiveness of commercially available sports drinks. *Sports Medicine*, 29(3), 181-209.
- Cruz, A. G., Sant'Ana, A. d. S., Macchione, M. M., Teixeira, Â. M., & Schmidt, F. L. (2009). Milk drink using whey butter cheese (queijo manteiga) and acerola juice as a potential source of vitamin C. *Food and Bioprocess Technology*, 2(4), 368-373.
- Chavan, R., Shraddha, R., Kumar, A., & Nalawade, T. (2015). Whey based beverage: Its functionality, formulations, health benefits and applications. *Journal of Food Processing & Technology*, 6(10), 1.
- Cheryan, M. (1998). *Ultrafiltration and microfiltration handbook*: CRC press.
- da Silveira, E. O., Neto, J. H. L., da Silva, L. A., Raposo, A. E., Magnani, M., & Cardarelli, H. R. (2015). The effects of inulin combined with oligofructose and goat cheese whey on the physicochemical properties and sensory acceptance of a probiotic chocolate goat dairy beverage. *LWT-Food Science and Technology*, 62(1), 445-451.
- Dagbagli, S., & Goksungur, Y. (2008). Optimization of b-galactosidase production using *Kluyveromyces lactis* NRRL Y-8279 by response surface methodology. *Electronic journal of biotechnology*, 11(4), 11-12.
- Das, B., Roy, A. P., Bhattacharjee, S., Chakraborty, S., & Bhattacharjee, C. (2015). Lactose hydrolysis by β -galactosidase enzyme: optimization using response surface methodology. *Ecotoxicology and environmental safety*, 121, 244-252.
- Djurić, M., Carić, M., Milanović, S., Tekić, M., & Panić, M. (2004). Development of whey-based beverages. *European Food Research and Technology*, 219(4), 321-328.
- FAO. (1995). NORMA GENERAL PARA LOS ADITIVOS ALIMENTARIOS. *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura*.
- Fox, P. (2009). Lactose: Chemistry and properties *Advanced dairy chemistry* (pp. 1-15): Springer.

- Gallardo, F., Kelly, A., & Delahunty, C. (2005). Influence of starter culture on flavor and headspace volatile profiles of fermented whey and whey produced from fermented milk. *Journal of Dairy Science*, 88(11), 3745-3753.
- García, J., Chambers, E., Matta, Z., & Clark, M. (2005). Viscosity measurements of nectar-and honey-thick liquids: product, liquid, and time comparisons. *Dysphagia*, 20(4), 325-335.
- Gennari, A., Mobayed, F. H., Da Rolt Nervis, B., Benvenuti, E. V., Nicolodi, S., da Silveira, N. P., . . . Volken de Souza, C. F. (2019). Biocatalysts β -galactosidases on magnetic nanocellulose: textural, morphological, magnetic and catalytic properties. *Biomacromolecules*.
- Gironés, A., Villano, D., Moreno, D., & García, C. (2013). New isotonic drinks with antioxidant and biological capacities from berries (maqui, açai and blackthorn) and lemon juice. *International journal of food sciences and nutrition*, 64(7), 897-906.
- González, M., Álvarez, S., Riera, F., & Álvarez, R. (2007). Economic evaluation of an integrated process for lactic acid production from ultrafiltered whey. *Journal of Food Engineering*, 80(2), 553-561.
- González, P., Camacho, F., Guadix, E., Luzón, G., & González, P. (2009). Density, viscosity and surface tension of whey protein concentrate solutions. *Journal of food process engineering*, 32(2), 235-247.
- Guimarães, P. M., Teixeira, J. A., & Domingues, L. (2010). Fermentation of lactose to bio-ethanol by yeasts as part of integrated solutions for the valorisation of cheese whey. *Biotechnology advances*, 28(3), 375-384.
- Gutiérrez, J. Y. (2017). Influencia de la concentración de dos estabilizantes sobre las propiedades organolépticas y la viscosidad del néctar de sachatomate (*Cyphomandra Betacea*).
- Haider, T., & Husain, Q. (2009). Hydrolysis of milk/whey lactose by β galactosidase: A comparative study of stirred batch process and packed bed reactor prepared with calcium alginate entrapped enzyme. *Chemical engineering and processing: process intensification*, 48(1), 576-580.
- Harju, M., Kallioinen, H., & Tossavainen, O. (2012). Lactose hydrolysis and other conversions in dairy products: Technological aspects. *International Dairy Journal*, 22(2), 104-109.
- Hernández, J. C., García, F. P., Cruz, V. E. R., Santillán, Y. M., & Marzo, M. A. M. (2012). Caracterización fisicoquímica de un lactosuero: potencialidad de recuperación de fósforo. *Acta Universitaria*, 22(1), 11-18.
- INEN. (2011a). 2564. Bebidas Lácteas. Requisitos. Quito-Ecuador: Instituto Ecuatoriano de Normalización.
- INEN. (2011b). 2594. Suero de Leche Líquido. Requisitos. Quito-Ecuador: Instituto Ecuatoriano de Normalización.
- INEN. (2012). 2609. Bebidas de Suero. Requisitos. Quito-Ecuador: Instituto Ecuatoriano de Normalización.
- INCONTEC. (1995). 3837. Bebidas No Alcohólicas. Bebidas Hidratantes y Energéticas Para La Actividad Física, El Ejercicio y El Deporte. Bogotá-Colombia: Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación.
- Jelen, P. (2009). Whey-based functional beverages *Functional and speciality beverage technology* (pp. 259-280): Elsevier.
- Jurado, E., Camacho, F., Luzón, G., & Vicaria, J. (2002). A new kinetic model proposed for enzymatic hydrolysis of lactose by a β -galactosidase from *Kluyveromyces fragilis*. *Enzyme and Microbial Technology*, 31(3), 300-309.
- Lee, J., & Chambers, D. H. (2007). A lexicon for flavor descriptive analysis of green tea. *Journal of Sensory Studies*, 22(3), 256-272.
- Mena, P. (2002). *Formulación y elaboración de dos bebidas refrescantes con base en suero dulce de queso fresco y sabores de frutas*. Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2013.
- Mendoza, M., & González, P. (2018). Industria usa el 10% del suero de la leche que se produce en el país. *El comercio*.

- Misselwitz, B., Pohl, D., Frühauf, H., Fried, M., Vavricka, S. R., & Fox, M. (2013). Lactose malabsorption and intolerance: pathogenesis, diagnosis and treatment. *United European gastroenterology journal*, 1(3), 151-159.
- Mozumder, N., Akhtaruzzaman, M., Bakr, M., & Zohra, F. T. (2012). Study on isolation and partial purification of lactase (β -Galactosidase) enzyme from *Lactobacillus* bacteria isolated from yogurt. *Journal of Scientific Research*, 4(1), 239-239.
- OMS. (2013). Ingesta de potasio en adultos y niños. Ginebra, Suiza Organización Mundial de la Salud
- Panesar, P. S., Kennedy, J. F., Gandhi, D. N., & Bunko, K. (2007). Bioutilisation of whey for lactic acid production. *Food chemistry*, 105(1), 1-14.
- Parra, R. A. (2009). Whey: importance in the food industry. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 62(1), 4967-4982.
- Pertuz, I., Burgos, J., Calderón, Y., Cervantes, G., Cuello, C., Galves, N., . . . Monsalvo, M. (2018). Uso de plantas para la elaboración de bebidas aromáticas mediante las TIC. *IJMSOR: International Journal of Management Science & Operation Research*, 3(1), 45-50.
- Pescuma, M., Hébert, E. M., Mozzi, F., & de Valdez, G. F. (2008). Whey fermentation by thermophilic lactic acid bacteria: Evolution of carbohydrates and protein content. *Food microbiology*, 25(3), 442-451.
- Pessela, B. C. C., Mateo, C., Fuentes, M., Vian, A., García, J. L., Carrascosa, A. V., . . . Fernández-Lafuente, R. (2003). The immobilization of a thermophilic β -galactosidase on Sepabeads supports decreases product inhibition: Complete hydrolysis of lactose in dairy products. *Enzyme and Microbial Technology*, 33(2-3), 199-205.
- Reddy, A., Mohan, D. J., Bhattacharya, A., Shah, V., & Ghosh, P. (2003). Surface modification of ultrafiltration membranes by preadsorption of a negatively charged polymer: I. Permeation of water soluble polymers and inorganic salt solutions and fouling resistance properties. *Journal of Membrane Science*, 214(2), 211-221.
- Sakhale, B., Pawar, V., & Ranveer, R. (2012). Studies on the development and storage of whey based RTS beverage from mango cv. Kesar. *Food Process Technol*, 3(3), 1-4.
- Schaafsma, G. (2008). Lactose and lactose derivatives as bioactive ingredients in human nutrition. *International Dairy Journal*, 18(5), 458-465.
- Siso, M. G. (1996). The biotechnological utilization of cheese whey: a review. *Bioresource technology*, 57(1), 1-11.
- Uribe, M. M. L., Valencia, J. U. S., Monzón, A. H., & Suescún, J. E. P. (2008). Bebida fermentada de suero de queso fresco inoculada con *Lactobacillus casei*. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 61(1), 4409-4421.
- Vera, R. (2012). Infusiones heladas como bebidas alternativas en el mercado nacional.
- Wernert, M. F., Wagner, M. L., Gurni, A. A., Carballo, M. A., & Ricco, R. A. (2009). Estudio de polifenoles de infusiones y cocimientos de hojas de " Cedrón"(*Aloysia citrodora* Palau) y " Poleo"(*Lippia turbinata* Griseb.)-Verbenaceae. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 8(4), 308-311.
- Yan, L., Li, Y. S., Xiang, C. B., & Xianda, S. (2006). Effect of nano-sized Al₂O₃-particle addition on PVDF ultrafiltration membrane performance. *Journal of Membrane Science*, 276(1-2), 162-167.

ANEXOS

Anexo 1: Ficha técnica de pre-mezcla de sales minerales

GRANOTEC

FICHA TÉCNICA

GRANOVIT

Versión: 00
Fecha: 2/18

Producto: GRANOVIT C000A
Premezcla de vitaminas y minerales.

Código: C00A13

Composición: Fosfato tricálcico (como fuente de calcio), vitamina C (ácido ascórbico), fumarato férrico (como fuente de hierro), óxido de zinc (como fuente de zinc), vitamina A (acetato 250'000 UI/g), vitamina B6 (clorhidrato de piridoxina), vitamina D3, vitamina B2 (riboflavina) / vitamina B1 (monohidrato de tiamina).

Especificaciones:

Característica Físico-Química	Unidades	Especificaciones
Apariencia		Polvo aglomerado de color crema de libre flujo*
Humedad	%	Máx. 10.00

* El color puede variar de blanco a beige sin que sea indicativo de pérdida de nutrientes.

El producto cumple con las especificaciones preporcionadas por el cliente y la NTE / NEN 1034:2 vigente.

Aplicación: Uso en alimentos en general.
Nota: Producto destinado a uso industrial, no consumir directamente.

Dosificación recomendada: Al emplear 0,29 gramos de GRANOVIT C000A, por cada porción de 15 gramos de cacao en polvo, se obtendrá el aporte siguiente:

Componente	VDR NTE/NEN 1034:2	Por cada 0,29 g de Granovit C00 le aporta con:	
		% VDR	Cantidad
Vitamina A	80,00 µg	10,00	80,00 µg
Vitamina B1	1,40 mg	10,00	0,14 mg
Vitamina B2	1,60 mg	10,00	0,16 mg
Vitamina B6	2,00 mg	10,00	0,20 mg
Vitamina C	60,00 mg	10,00	6,00 mg

- Granotec Ecuador S.A. garantiza la calidad e inocuidad de sus productos, de conformidad con las especificaciones indicadas en sus fichas técnicas y certificaciones de análisis, inspección y revisión e aprobación por el cliente.
- La información presentada en este documento, se entregó a su respectiva necesidad al cliente de recibir sus pruebas internas para evaluar resultados y hacer los ajustes y las garantías características en el producto final.
- El cliente es responsable único de asegurar el uso y almacenamiento de los productos adquiridos, por lo tanto, Granotec Ecuador S.A. no puede ser responsable del cumplimiento de las especificaciones en el producto final del cliente.
- Este producto ha sido elaborado en una planta que maneja leucina alergénica.

Granotec Ecuador
Calle 10 de Agosto, No. 2002
Cajon Amarillo, Quito, Ecuador
www.granotec.com

Registros
• Registro
• Autorización

Integración
• Integración
• Control

Normas e
• Normas e
• Registros
• Producción

Calidad
• Control
• Seguimiento

Anexo 2: Ficha técnica del permeado de suero

2.1.- Parámetros Físico-Químicos:

Parámetros	Unidad	Mínimo	Máximo
Temperatura	°C	-	8
Acidez	°D	6	10
Grasa	%	-	0.10
Proteína	%	0.15	0.25
Lactosa	%	3.6	4.9
Sólidos No grasos	%	5.10	5.50
Sólidos totales	%	5.2	5.6
pH	-	6.4	6.9
Alcohol	%	78	82
Ebullición	-	Negativo	Negativo
Crioscopia	m°C	-536	-480
Agua	%	0.00%	8.0%
Brix	°	5	9
Densidad	g/ml	1.020	1.024
Peroxiso	ppm	0	0

Fuente: Especificaciones internas de laboratorio

2.2.- Parámetros Sensoriales:

Parámetros	Característica
Color	Amarillo verdoso.
Olor	Olor característico, libre de olores extraños.
Sabor	Característico.

2.3.- Parámetros Microbiológicos:

Parámetros	Unidad	Valor	METODO
Coliformes Totales	ufo/g	10	Petrifilm
E.Coli	ufo/g	<10	Petrifilm
Mesófilos	ufo/g	30000	Petrifilm
Salmonella	ufo/g	Ausencia	Petrifilm

Fuente: NTE INEN 10:2012 LECHE PASTEURIZADA - REQUISITOS

Anexo 3: Ficha técnica de la enzima β -galactosidasa

FICHA TÉCNICA	
MAYALACT 5000	
Versión: 01	Página: 4 de 6

Fig. 4 Proceso UHT - filtración

6. Dosis

La dosis requerida depende de un número de condiciones, incluyendo:

- Grado deseado de hidrólisis
- Condiciones de proceso
- Fuerza de la formulación del producto

Las dosis típicas se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Dosis de enzima recomendada para diferentes condiciones de procesos con lactasa

DOSIFICACIÓN DE MAYALACT 5000 (ml/L)	Tiempo de reacción (horas)	Temperaturas de reacción (°C)	Grado de Hidrólisis (%)
0.12 - 0.2	10	5	20
0.04 - 0.08	24	5	20
0.2 - 0.36	1	30	20
0.04 - 0.08	4	30	20
0.08 - 0.16	1	40	20
0.02 - 0.04	4	40	20
0.4 - 0.24	10	5	50
0.2 - 0.28	24	5	50
0.84 - 1.24	1	30	50
0.2 - 0.32	4	30	50
0.36 - 0.56	1	40	50
0.08 - 0.16	4	40	50
1.4 - 2.16	10	5	80
→ 0.6 - 0.88 ≤ 0.74	24	5	80
2.76 - 4.16	1	30	80
0.68 - 1.04	4	30	80
1.16 - 1.76	1	40	80
0.28 - 0.44	4	40	80

Anexo 4: Ficha de evaluación sensorial para cada uno de los atributos evaluados

Escala hedónica para la evaluación del grado de satisfacción.

Producto: Bebida refrescante saborizada con cedrón a base de permeado de suero deslactosado

Fecha: 09/04/2019

Pruebe las muestras e indique su nivel de agrado marcando con una X en el lugar que indique su opinión acerca de cada muestra para el atributo color

ESCALA	205	628	483
Me gusta muchísimo
Me gusta mucho
Me gusta ligeramente
Ni me gusta ni me disgusta
Me disgusta ligeramente
Me disgusta mucho
Me disgusta muchísimo

Comentarios:

.....
.....
.....

MUCHAS GRACIAS

Continuación de anexo 4

Escala hedónica para la evaluación del grado de satisfacción.

Producto: Bebida refrescante saborizada con cedrón a base de permeado de suero deslactosado

Fecha: 09/04/2019

Pruebe las muestras e indique su nivel de agrado marcando con una X en el lugar que indique su opinión acerca de cada muestra para el atributo apariencia general (partículas en suspensión, turbiedad)

ESCALA	205	628	483
Me gusta muchísimo
Me gusta mucho
Me gusta ligeramente
Ni me gusta ni me disgusta
Me disgusta ligeramente
Me disgusta mucho
Me disgusta muchísimo

Comentarios:

.....
.....
.....

MUCHAS GRACIAS

Continuación de anexo 4

Escala hedónica para la evaluación del grado de satisfacción.

Producto: Bebida refrescante saborizada con cedrón a base de permeado de suero deslactosado

Fecha: 09/04/2019

Pruebe las muestras e indique su nivel de agrado marcando con una X en el lugar que indique su opinión acerca de cada muestra para el atributo sabor

ESCALA	205	628	483
Me gusta muchísimo
Me gusta mucho
Me gusta ligeramente
Ni me gusta ni me disgusta
Me disgusta ligeramente
Me disgusta mucho
Me disgusta muchísimo

Comentarios:

.....
.....
.....

MUCHAS GRACIAS

Anexo 5: Cálculos para la determinación del porcentaje de acidez en el permeado de suero lácteo

El porcentaje de acidez en el permeado de suero se determinó mediante el uso de la fórmula que se muestra a continuación, el resultado final se obtuvo mediante un promedio de los cálculos realizados.

$$\% \text{ácido} = \frac{N * V * Eq * Wt}{W * 1000} * 100$$

$$\% \text{ácido láctico} = \frac{0.1 * 0.5 * 15.01}{10.08 * 1000} * 100$$

$$\% \text{acid láctico} = 0.0074$$

$$\% \text{ácido lactico} = \frac{0.1 * 0.6 * 15.01}{10.04 * 1000} * 100$$

$$\% \text{ácido láctico} = 0.0089$$

$$\% \text{ácido láctico} = \frac{0.1 * 0.6 * 15.01}{10.12 * 1000} * 100$$

$$\% \text{ácido láctico} = 0.0089$$

$$\text{Prmoedio del \% acidez} = \mathbf{0.0084}$$

Donde:

N: Normalidad real

V: Volumen gastado

Eq: Equivalente químico del ácido predominante

W: peso de la muestra

Anexo 6. Análisis de lactosa en permeado de suero hidrolizado.



INFORME DE RESULTADOS

INF.DIV-IN.42975a

DATOS DEL CLIENTE

Cliente:	ANABEL MORENO ARCOS
Dirección:	PASAJE SINCHONA ENTRE MIGUEL RIOFRIO Y ROCAFUERTE
Teléfono:	072687163 0967726278

DATOS DE LA MUESTRA

Muestra de:	ALIMENTO		
Descripción:	PERMEADO DE SUERO(UHT) F1		
Lote:	---	Contenido Declarado:	200ml
Fecha de Elaboración:	2018-12-08	Fecha de Vencimiento:	2019-06-08
Fecha de Recepción:	2019-01-22	Hora de Recepción:	12:10:54
Fecha de Análisis:	2019-01-22	Fecha de Emisión:	2019-01-25
Material de Envase:	---		
Toma de Muestra realizada por:	El cliente.		
Observaciones:	Los resultados reportados en el presente informe se refieren a los datos y las muestras entregadas por el cliente a nuestro laboratorio.		

CARACTERISTICAS DE LA MUESTRA

Color:	Característico.	Olor:	Característico.
Estado:	Líquido.	Conservación:	Refrigeración

RESULTADOS INSTRUMENTAL

PARAMETROS	RESULTADO	UNIDAD	METODO DE ANALISIS INTERNO	METODO DE ANALISIS DE REFERENCIA
LACTOSA	0.00	%	MIN-50	HPLC

Quim. Mercedes Parra
Jefe División Instrumental

Continuación de anexo 6



INFORME DE RESULTADOS

INF.DIV-IN.42975b

DATOS DEL CLIENTE

Cliente:	ANABEL MORENO ARCOS
Dirección:	PASAJE SINCHONA ENTRE MIGUEL RIOFRIO Y ROCAFUERTE
Teléfono:	072687163 0967726278

DATOS DE LA MUESTRA

Muestra de:	ALIMENTO		
Descripción:	PERMEADO DE SUERO(UHT) F2		
Lote:	---	Contenido Declarado:	200ml
Fecha de Elaboración:	2018-12-08	Fecha de Vencimiento:	2019-06-08
Fecha de Recepción:	2019-01-22	Hora de Recepción:	12:10:54
Fecha de Análisis:	2019-01-22	Fecha de Emisión:	2019-01-25
Material de Envase:	---		
Toma de Muestra realizada por:	El cliente.		
Observaciones:	Los resultados reportados en el presente informe se refieren a los datos y las muestras entregadas por el cliente a nuestro laboratorio.		

CARACTERISTICAS DE LA MUESTRA

Color:	Característico.	Olor:	Característico.
Estado:	Líquido.	Conservación:	Refrigeración

RESULTADOS INSTRUMENTAL

PARAMETROS	RESULTADO	UNIDAD	METODO DE ANALISIS INTERNO	METODO DE ANALISIS DE REFERENCIA
LACTOSA	0.00	%	MIN-50	HPLC

Quim. Mercedes Parra
Jefe División Instrumental

Anexo 7: Análisis estadístico de la evaluación sensorial de la bebida infusión de cedrón
General Linear Model: Apariencia general versus Formulación; Juez

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Formulación	8	20,65	2,581	1,76	0,085
Juez	29	60,33	2,080	1,42	0,082
Error	232	339,57	1,464		
Total	269	420,55			

Fisher Pairwise Comparisons

Formulación	N	Mean	Grouping
2	30	5,36667	A
4	30	5,20000	A
1	30	5,20000	A
5	30	5,13333	A
7	30	4,96667	A
8	30	4,90000	A
9	30	4,76667	A
6	30	4,56667	A
3	30	4,53333	A

General Linear Model: Color versus Formulación; Juez

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Formulación	8	26,99	3,373	2,84	0,005
Juez	29	69,66	2,402	2,02	0,002
Error	232	275,24	1,186		
Total	269	371,89			

Tukey Pairwise Comparisons

Formulación	N	Mean	Grouping
1	30	5,43333	A
7	30	5,43333	A
2	30	5,40000	A
4	30	5,36667	A
3	30	5,23333	A
8	30	5,00000	A
6	30	4,76667	A
9	30	4,70000	A
5	30	4,63333	A

General Linear Model: Sabor versus Formulación; Juez

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Formulación	8	4,141	0,5176	0,38	0,932
Juez	29	66,996	2,3102	1,68	0,019
Error	232	318,304	1,3720		
Total	269	389,441			

Tukey Pairwise Comparisons

Formulación	N	Mean	Grouping
2	30	5,16667	A
3	30	5,00000	A
5	30	4,93333	A
9	30	4,86667	A
1	30	4,83333	A
8	30	4,83333	A
6	30	4,80000	A
7	30	4,80000	A
4	30	4,73333	A

Anexo 8: Análisis estadístico respecto a las variables de turbidez y viscosidad en la bebida infusión de cedrón

One-way ANOVA: turbidez versus Formulación

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Formulación	8	5569,60	696,200	1365,10	0,000
Error	18	9,18	0,510		
Total	26	5578,78			

Tukey Pairwise Comparisons

Formulación	N	Mean	Grouping
F3	3	77,833	A
F4	3	71,233	B
F8	3	69,867	B
F9	3	67,033	C
F7	3	65,267	C
F6	3	58,667	D
F5	3	47,867	E
F2	3	38,067	F
F1	3	35,167	G

One-way ANOVA: Viscosidad versus Tratamiento

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	8	42,554	5,3193	31,22	0,000
Error	18	3,067	0,1704		
Total	26	45,621			

Tukey Pairwise Comparisons

Tratamiento	N	Mean	Grouping
F6	3	7,067	A
F3	3	5,067	B
F1	3	4,733	B C
F9	3	4,533	B C
F7	3	4,3333	B C D
F4	3	3,867	C D E
F8	3	3,333	D E F
F2	3	3,000	E F
F5	3	2,600	F

Anexo 9: Análisis estadístico de la evaluación sensorial de la bebida isotónica

General Linear Model: Apariencia general versus Formulación; Juez

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Formulación	2	1,067	0,5333	0,84	0,438
Juez	29	60,100	2,0724	3,25	0,000
Error	58	36,933	0,6368		
Total	89	98,100			

Tukey Pairwise Comparisons

Formulación	N	Mean	Grouping
3	30	5,90000	A
2	30	5,76667	A
1	30	5,63333	A

General Linear Model: Color versus Formulación; Juez

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
formulación	2	5,489	2,7444	2,78	0,070
Juez	29	40,322	1,3904	1,41	0,132
Error	58	57,178	0,9858		
Total	89	102,989			

Fisher Pairwise Comparisons

formulación	N	Mean	Grouping
3	30	5,53333	A
1	30	5,16667	A B
2	30	4,93333	B

General Linear Model: Sabor versus Formulación; Juez

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Formulación	2	14,96	7,4778	7,79	0,001
Juez	29	93,56	3,2261	3,36	0,000
Error	58	55,71	0,9605		
Total	89	164,22			

Tukey Pairwise Comparisons

Formulación	N	Mean	Grouping
1	30	4,96667	A
2	30	4,70000	A
3	30	4,00000	B