

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE INGENIERÍA DE PROCESOS

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



---

**OBTENCIÓN Y EVALUACIÓN DE LA DIGESTIÓN IN VITRO DE UNA BEBIDA  
FERMENTADA A BASE DE LACTOSUERO Y EXTRACTO FOLIAR DE ALFALFA  
(*Medicago sativa*) EDULCORADO CON PANELA**

---

Tesis para optar al título profesional de Ingeniero Agroindustrial

Presentado por:

Bach. Lopez Espinoza, Cristian Genaro

Bach. Suyo Quispe, David Edson

Asesores:

Ing. Uber Quispe Valenzuela

Mgt. Juan Quispe Cama

Sicuani – Cusco – Perú

2022

## **AGRADECIMIENTO**

Agradecemos al omnipresente por permitirnos seguir disfrutando de la vida, por darnos la fortaleza para cumplir con nuestras metas.

“Nuestro profundo agradecimiento a nuestros asesores el Ing. Uber Quispe y Mgt. Juan Quispe por su apoyo durante todo este proceso y en confiar en nosotros.

De igual manera nuestros agradecimientos a la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial y a su staff de docentes y administrativos de la casa de estudios el tricentenario Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, por abrirnos y permitirnos realizar el pregrado y haber confraternizado en esta institución.

Finalmente, a la familia por darnos el soporte emocional y económico que siempre nos brindó, sobre todo en esta esta etapa de nuestra vida académica. Gracias a todos por permitirnos escalar un peldaño más en nuestras vidas dentro de la sociedad.

## **DEDICATORIA**

“Esta tesis está dedicada a:

Mi padre Genaro y mi madre Benedicta quienes con su amor, paciencia y esfuerzo me han permitido llegar a cumplir hoy una meta más, gracias por inculcar en mí el ejemplo de esfuerzo y valentía, Mis hermanos Adán y Lisbeth por su cariño, apoyo incondicional; durante todo este proceso, por estar conmigo en todo momento, porque sé que ellos están felices y orgullosos de verme con el título que me ha otorgado en cumplimiento de mis estudios académicos.

Cristian Lopez E.

Mi tesis la dedico con todo mi amor y cariño.

A ti mi Dios que has sido mi guía, fortaleza y tu amor han estado conmigo hasta el día de hoy.

Con mucho cariño para mis padres Nicasia, Moisés, Raúl y Miryam que me dieron la vida y han estado conmigo en todo momento, aunque hemos pasado momentos difíciles siempre han estado ahí apoyándome y brindándome todo su amor, por todo esto les agradezco de todo corazón el que estén conmigo.

A mi compañera de la vida Yamilet por entenderme en todo, a ella porque en todo momento fue un apoyo incondicional en mi vida, fue la felicidad encajada en una sola persona y mi todo reflejado en esa persona a la cual yo amo tanto.

A mis hermanos Carina, Hugo, Moises y Alberto por apoyarme y alentándome a seguir.

A todos mis amigos, que durante la etapa universitaria pasamos momentos únicos y emocionantes.

Y no me puedo ir sin antes decirles, que sin ustedes a mi lado no lo hubiera logrado. Les agradezco a todos ustedes con toda mi alma el haber llegado a mi vida y el compartir momentos agradables o momentos tristes, pero esos momentos son los que nos hacen crecer y valorar a las personas que nos rodean. Los quiero mucho y nunca los olvidares.

David Edson Suyo Q.

# ÍNDICE DE CONTENIDO

## GENERALIDADES

PRESENTACIÓN .....	i
RESUMEN .....	ii
INTRODUCCIÓN .....	iii
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	v
OBJETIVOS .....	vii
JUSTIFICACIÓN .....	viii
HIPÓTESIS .....	ix
ANTECEDENTES .....	x

## CAPÍTULO I

1. Base Teórica .....	1
1.1. Lactosuero .....	1
1.1.1. Origen y Composición del Lactosuero .....	1
1.1.2. Caracterización del Lactosuero .....	3
1.1.3. Calidad de Lactosuero .....	10
1.1.4. Bebidas a Base de Suero .....	13
1.1.5. Bebidas Fermentadas .....	15
1.2. Alimentos Fermentados .....	18
1.2.1. Cultivos Lácticos .....	19
1.3. Alfalfa .....	22
1.3.1. Características Botánicas .....	23
1.3.2. Extracto Foliar de alfalfa .....	26
1.4. Panela (Chancaca) .....	27
1.5. Calidad proteica .....	30
1.6. Digestibilidad de la proteína .....	30
1.6.1. Digestibilidad in vitro .....	31
1.6.2. La pepsina .....	33
1.6.3. El ambiente in vitro .....	33
1.7. Método para determinar la digestibilidad in vitro .....	33

1.8.	Formulación de alimentos .....	35
1.9.	Evaluación Sensorial.....	35
1.9.1.	Clasificación y Objetivos de la Evaluación Sensorial: .....	36
1.9.2.	Tipos de jueces.....	37
1.10.	Diseños experimentales .....	38

## CAPÍTULO II

2.	Materiales y Métodos .....	40
2.1.	Ámbito de estudio .....	40
2.2.	Materiales y Equipos.....	41
2.2.1.	Materias Primas .....	41
2.2.2.	Insumos .....	41
2.2.3.	Instrumentos de Vidrio de Laboratorio de uso volumétrico .....	41
2.2.4.	Instrumentos de Laboratorio de uso específico .....	42
2.2.5.	Equipos de laboratorio .....	42
2.2.6.	Materiales.....	42
2.2.7.	Reactivos para la acidez.....	43
2.2.8.	Reactivos para la digestibilidad .....	43
2.2.9.	Reactivos para el análisis microbiológico.....	44
2.3.	Bases legales .....	44
2.4.	Diseño de la investigación.....	45
2.4.1.	Determinación de la Formulación Preliminar.....	45
2.4.2.	Procedimiento y Recolección de Datos .....	46
2.5.	Diseño Estadístico.....	51
2.5.1.	Diseño Factorial .....	51
2.5.2.	Análisis de Muestra de los Tratamientos .....	52
2.5.3.	Análisis Estadístico.....	55

## CAPÍTULO III

3.	Resultados y Discusiones .....	56
3.1.	Resultados .....	56
3.1.1.	Análisis de resultado para pH .....	56
3.1.2.	Análisis de resultado para Acidez.....	57
3.1.3.	Análisis de resultado Físicoquímico .....	59

3.1.4.	Análisis de resultado para digestibilidad .....	59
3.1.5.	Análisis de resultado microbiológico.....	66
3.1.6.	Análisis de resultado para atributos organolépticos.....	66
CONCLUSIONES .....		76
RECOMENDACIONES.....		77
BIBLIOGRAFÍA .....		78
ANEXOS .....		86

## Índice de tablas

<b>Tabla 1</b>	Caracterización química del lactosuero .....	3
<b>Tabla 2</b>	Caracterización de tipos de lactosuero.....	4
<b>Tabla 3</b>	Composición de lactosuero dulce y ácido.....	4
<b>Tabla 4</b>	Composición fisicoquímica del lactosuero .....	5
<b>Tabla 5</b>	Composición química del lactosuero .....	5
<b>Tabla 6</b>	Proporción de aminoácidos esenciales en el lactosuero .....	8
<b>Tabla 7</b>	Funciones biológicas de las proteínas del suero .....	9
<b>Tabla 8</b>	Valor nutritivo de la alfalfa.....	22
<b>Tabla 9</b>	Composición nutricional de hoja y EF de alfalfa .....	27
<b>Tabla 10</b>	Tabla Peruana de composición de alimentos - productos azucarados (100 g alimento) .....	29
<b>Tabla 11</b>	Valores de digestibilidad de proteínas .....	31
<b>Tabla 12</b>	Clasificación de las pruebas sensoriales .....	37
<b>Tabla 13</b>	Arreglo factorial de los tratamientos.....	51
<b>Tabla 14</b>	Escala hedónica.....	55
<b>Tabla 15</b>	Variación del pH en la incubación por tiempos.....	56
<b>Tabla 16</b>	Variación de la acidez con respecto al tiempo.....	58
<b>Tabla 17</b>	Composición nutricional de las bebidas fermentadas .....	59
<b>Tabla 18</b>	Porcentaje de digestibilidad proteica para los diferentes tratamientos .....	60
<b>Tabla 19</b>	Resultado microbiológico .....	66
<b>Tabla 20</b>	Media de la puntuación de los atributos sensoriales para los tratamientos.....	67

## Índice de figuras

<b>Figura 1</b>	Obtención de suero pre tratado.....	13
<b>Figura 2</b>	Diagrama de flujo para la elaboración de bebidas lácteas fermentadas saborizadas. ..	17
<b>Figura 3</b>	Diagrama de flujo de la elaboración de lacto suero pre tratado .....	47
<b>Figura 4</b>	Diagrama de flujo de la elaboración de extracto foliar de alfalfa .....	48
<b>Figura 5</b>	Diagrama de flujo de la elaboración de una bebida fermentada a base de lacto suero con extracto foliar de alfalfa edulcorada con panela. ....	50
<b>Figura 6</b>	Variación del pH en la incubación en relación al tiempo.....	57
<b>Figura 7</b>	Variación de la acidez en relación al tiempo.....	58
<b>Figura 8</b>	Análisis de Varianza para DIGESTIBILIDAD - Suma de Cuadrados Tipo III.....	61
<b>Figura 9</b>	Método: 95.0 porcentaje LSD .....	62
<b>Figura 10</b>	Método: 95.0 porcentaje LSD .....	63
<b>Figura 11</b>	Grafica de media y 95% de Fisher LSD para EFA .....	64
<b>Figura 12</b>	Grafica de media y 95% de Fisher LSD para BAL.....	64
<b>Figura 13</b>	Grafica de interacciones de EFA para BAL.....	65
<b>Figura 14</b>	Gráfica de interacción de BAL para EFA .....	65
<b>Figura 15</b>	Análisis de Varianza para SABOR - Suma de Cuadrados Tipo III.....	67
<b>Figura 16</b>	Gráfica de ANOVA para el sabor .....	67
<b>Figura 17</b>	Método Fisher al 95.0 porcentaje LSD .....	68
<b>Figura 18</b>	Graficas de medias para el sabor.....	70
<b>Figura 19</b>	Análisis de Varianza para OLOR - Suma de Cuadrados Tipo III .....	71
<b>Figura 20</b>	Gráfica ANOVA para el olor .....	71
<b>Figura 21</b>	Gráfica de medias para el olor .....	72
<b>Figura 22</b>	Análisis de Varianza para COLOR - Suma de Cuadrados Tipo III .....	72
<b>Figura 23</b>	Gráfica ANOVA para el color.....	73
<b>Figura 24</b>	Método: 95.0 porcentaje LSD .....	74
<b>Figura 25</b>	Gráfica de medias para color.....	75

## PRESENTACIÓN

SEÑORA DECANA DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA DE PROCESOS.

SEÑORES CATEDRÁTICOS Y MIEMBROS DEL JURADO DE TRABAJO DE TESIS.

En cumplimiento con las disposiciones del reglamento de grados y títulos de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Facultad de Ingeniería de Procesos de la Universidad Nacional de San Antonio Abad Del Cusco, con la finalidad de optar el grado del título profesional de Ingeniero Agroindustrial ponemos a vuestra consideración el presente trabajo de tesis intitulado: “OBTENCIÓN Y EVALUACIÓN DE LA DIGESTION IN VITRO DE UNA BEBIDA FERMENTADA A BASE DE LACTOSUERO Y EXTRACTO FOLIAR DE ALFALFA (*Medicago Sativa*) EDULCORADO CON PANELA.

La bebida desarrollada es una alternativa de uso del lactosuero en la alimentación humana, debido a su gran valor nutricional, con el fin de dar una utilización óptima el lactosuero producido en quesería e incrementar los efectos benéficos de este producto para el consumidor.

## Resumen

Se analizó el comportamiento del pH y la acidez en el proceso de incubación también se evaluó la digestibilidad proteica in vitro y propiedades organolépticas de la bebida fermentada con materias primas de cualidades nutricionales a partir de diferentes niveles de concentración de extracto foliar de alfalfa-EFA (6, 8 y 10%) y bacterias ácido lácticas-BAL (2 y 3%) en una solución de lactosuero edulcorado a 15 °Bx con panela. El diseño de la investigación experimental transversal fue factorial 3x2 con arreglo factorial de 6 tratamientos, incubado a 40 °C por tiempo de 6 horas. Para el análisis de datos la técnica utilizada fue análisis de varianza y el método de diferencia mínima significativa de Fisher al 5% de nivel de significancia. Resultados para el pH disminuyó de 6.34 hasta 4.61 donde presentaron un comportamiento similar los 6 tratamientos así mismo la acidez ascendió de 0.19% hasta 0.70% de ácido láctico. En cuanto a la digestibilidad los factores y su interacción tuvieron una influencia significativa donde 10% tuvo mejor efecto que 8 y 6% de EFA, en cuanto las BAL el 2% de concentración presento mayor efecto en la digestibilidad. En los atributos organolépticos, los tratamientos tuvieron efectos significativos para el sabor y color mas no en olor. El estudio muestra que la adición de EFA a diferentes concentraciones no influye sustancialmente para el pH y la acidez durante la incubación, en cuanto a la digestibilidad la adición de la concentración de EFA en la bebida es directamente proporcional al % de digestibilidad, más en el proceso de la fermentación láctica es inversamente proporcional a la concentración de BAL para la digestibilidad o sea el tratamiento 5 tiene mayor digestibilidad. En los atributos organolépticos el tratamiento 2 es el de mayor de aceptación.

**Palabra clave:** bebida fermentada, extracto foliar de alfalfa, bacterias ácido lácticas, digestibilidad, in vitro, lactosuero

## Introducción

La presente línea de investigación se refiere a la digestibilidad *in vitro* (estimado en laboratorio por ventajas de tiempo) y su biodisponibilidad de una bebida fermentada. La calidad de una proteína se define por varios factores como su contenido de aminoácidos esenciales y su digestibilidad que mide el aprovechamiento de un alimento en el aparato digestivo en sustancias útiles para la nutrición o sea la hidrólisis de macromoléculas (proteínas) y la absorción de moléculas esenciales (aminoácidos) en el intestino (Manríquez H., 1994). La fermentación de bacterias (LAB) se ha utilizado durante muchos años con proteínas vegetales para mejorar su valor nutricional (Montemurro et al., 2021; Tangyu et al., 2019). La actividad a menudo conduce a la liberación de péptidos bioactivos. y un aumento de la digestibilidad (Pontonio et al., 2020; Verni et al., 2019). También la fermentación de proteínas vegetales con LAB tiene un efecto positivo sobre la absorción de proteínas al disminuir compuestos anti nutricionales como inhibidor de tripsina, taninos y fitato (De Pasquale et al., 2020; Patterson et al., 2017).

Los hábitos alimenticios deficientes y la escasa disponibilidad de alimentos procesados en el mercado en cuanto al valor nutricional (proteica) no cubren las necesidades de nuestro organismo por ende aparece la malnutrición por la baja asimilación de los nutrientes.

La característica principal en la obtención de alimentos nutritivos es la formulación de sus nutrientes y el proceso operacional que se le aplica para la mejora de sus propiedades de este producto.

La investigación de esta problemática social se realizó por el interés de dar una alternativa al consumidor de un alimento complementario y saludable mediante el aprovechamiento del lactosuero, subproducto más importante de la industria láctea, debido a que existe la necesidad de

aprovechar su contenido de elementos de alto valor nutritivo (proteínas hidrosolubles, carbohidratos, vitaminas y sales minerales) para la industria alimentaria; la utilización de la alfalfa por su alto valor nutricional tales como Ca, K, He, Mg, Na, Zn entre otros y fuente de proteína vegetal.

En el marco de la investigación experimental se realizó diseño factorial, el extracto foliar de alfalfa en la solución de lactosuero e inoculado con bacterias ácido lácticas en un medio controlado.

La estructura muestra en el primer apartado; el planteamiento del problema, la justificación, los objetivos, hipótesis y los antecedentes. En el capítulo I, la base teórica sobre las variables de estudio en su conceptualización y tipificación. Respecto al capítulo II, Materiales y métodos, se describió los medios de laboratorio y el procedimiento ejecutado del trabajo de investigación en la obtención de la bebida fermentada. En el capítulo III, resultados y discusiones, se describe los datos analizados de la digestibilidad in vitro y la evaluación sensorial y realizando las discusiones frente a otros autores. En el último apartado, conclusiones y recomendaciones, se especificó si se cumplió con los objetivos del estudio en la obtención y evaluación sobre la bebida fermentada.

## Planteamiento del Problema

La población mundial aumenta rápidamente a pesar de la escasez de tierra, agua y recursos alimenticios; donde la alimentación del día debería de satisfacer el requerimiento diario tanto nutricional como energético de las personas para tener un estado de salud óptimo, es decir, alcanzar la seguridad alimentaria que evita la malnutrición por un desbalance o insuficiencia energético proteico por deficiencias a nuestro organismo (Hernandes, 2019). Los hábitos alimenticios se basan en consumir con mucha frecuencia algún alimento industrializado de baja asimilación de nutrientes, precocinado, rico en azúcares o bien en grasas (López Fandiño & Medina Méndez, 2011) y que es su mayoría estos consumidores desconocen, no entienden o no les interesa la información nutricional sobre todo en temas de digestibilidad. De seguir con esta mala alimentación por el consumo de alimentos con baja calidad nutricional; tienden a padecer enfermedades cardiovasculares, diabetes, osteoporosis, enfermedades dentales y obesidad (OMS, 2003). La contaminación de lactosuero como remanente tiene implicaciones ambientales (Koutinas, 2009) por su alto contenido de materia orgánica, lo cual expresado como DBO (demanda biológica de oxígeno) está entre 30 000 - 50 000 mg/L y como DQO (demanda química de oxígeno) entre 60 000 - 80 000 mg/L (Ávila & Cárdenas, 2000). De la industria láctea en el Perú, el 46 % de la producción de leche se destina para la elaboración de derivados lácteos, principalmente quesos (MINAGRI, 2019) y es el segundo producto lácteo más consumido, pues en el país hay 6500 plantas queseras (Ministerio de desarrollo agrario y riego, 2021), por ende esta investigación propone la obtención de una bebida fermentada a partir de lactosuero y extracto foliar de alfalfa edulcorado con panela como una alternativa alimentaria que sea saludable y cumpla con su valor nutricional.

¿Como la utilización de las bacterias ácido lácticas y de extracto foliar de alfalfa influye en la obtención de la bebida fermentada a partir de lactosuero sobre la digestibilidad y aceptabilidad sensorial para que cumplan con los parámetros exigidos?

## Objetivos

### Objetivo General

Evaluar la digestión proteica in vitro en una bebida fermentada a base de lactosuero y extracto foliar de alfalfa (*Medicago sativa*) edulcorado con panela.

### Objetivos Específicos

1. Medir el pH y la acidez en el proceso de la incubación sobre las concentraciones de extracto foliar de alfalfa y bacterias ácido lácticas de la bebida fermentada a base de lactosuero.
2. Evaluar las concentraciones de las bacterias ácido lácticas y el extracto foliar de alfalfa sobre la digestibilidad (proteína) in vitro de la bebida fermentada.
3. Determinar la aceptabilidad de la bebida fermentada sobre sus características organolépticas mediante pruebas afectivas.

## Justificación

El trabajo es pertinente dentro del contexto de la industria alimentaria porque necesitamos introducir una alternativa en la dieta alimentaria del consumidor, un producto que complemente las deficiencias en asimilación de nutrientes (proteínas y minerales). La digestibilidad de la proteína corresponde a la proporción de nitrógeno ingerido que se ha absorbido por el organismo. Uno de los métodos utilizados para determinar la digestibilidad es in vitro que de acuerdo a un gran número de trabajos predice la digestibilidad in vivo con alto grado de precisión (Clard y Mott, 1960; Tilley y Terry, 1963; citados por (Lascano, 1990). El extracto foliar de alfalfa es rico en minerales y vitaminas, especialmente en los dos micronutrientes más deficitarios en la dieta (vitamina A y hierro). El extracto foliar de alfalfa presenta también proteínas de alta calidad (aminoácidos esenciales), ácido fólico, vitamina E y otros minerales incluyendo calcio, zinc, magnesio y cobre (Van Wissen , 2003). Las Bacterias Ácido Lácticas desempeñan un papel importante en los procesos de fermentación; ellas son muy utilizadas en la industria alimentaria no solamente por su habilidad por acidificar y preservar alimentos de las esporas, sino también su implicación en la textura, sabor, olor y desarrollo de aroma de alimentos fermentados. (Axelsson, 1993). Por esta razón se busca aprovechar materias primas y remanentes locales cuyas cualidades nutricionales pueden ser potenciadas.

El aporte que se da es industrializar este remanente (lactosuero) y la alfalfa (extracto foliar) como cadenas de valor en la alimentación humana en nuestra región y el resto del país. Este trabajo proporciona la accesibilidad a un alimento que complemente idóneamente la dieta del consumidor, puesto que quedará explícito la importancia del lactosuero y el extracto foliar de alfalfa no solo por el consumo, sino también por la asequibilidad (bajo costo de producción) que tiene y es amigable con el medio ambiente.

## **Hipótesis**

Las concentraciones de extracto foliar de alfalfa y las bacterias ácido lácticas sobre el lactosuero edulcorado con panela influirán en digestibilidad y aceptabilidad sensorial para la obtención de una bebida fermentada.

### Hipótesis Específicos

1. Las concentraciones de Extracto foliar de alfalfa y bacterias ácido lácticas influirán sobre el pH y acidez en el proceso de incubación de la bebida fermentada.
2. Las concentraciones de las bacterias ácido lácticas y el extracto foliar de alfalfa influirán sobre la digestibilidad (proteína) in vitro de la bebida fermentada.
3. Las características organolépticas de la bebida a base de lactosuero con concentración de extracto foliar de alfalfa y bacterias ácido lácticas influirán sobre la aceptabilidad sensorial.

## Antecedentes

(Manus et al, 2021) “Digestibilidad de proteínas in vitro y propiedades físico-químico de las bebidas fermentadas con bacterias enriquecido con proteínas vegetales” realizado en Laval-Canadá, con el objetivo de desarrollar una bebida probiótico enriquecida con proteínas vegetales con alto valor nutricional a base de arroz fermentada, con una formulación probiótica específica compuesta por *Lactobacillus acidophilus* CL1285, *Lactobacillus casei* LBC80R y *Lactobacillus rhamnosus* CLR2 (bio K+). Ha sido enriquecido con una combinación guisante y arroz (PR) o guisante y cáñamo (PH) en 13 y 11% de proteína total respectivamente, seleccionados por su proporción de aminoácidos mayor a 1. Para ello los concentrados fueron 50/50 en PR o 30/70 en PH. Las digestibilidades de las proteínas in vitro se evaluaron utilizando pepsina (250 unidades/mg de sólido, 41.9% de pureza) y el modelo de digestión secuencial de tripsina 1500 unidades/mg de sólido, 20.1% de pureza) de acuerdo con el método de Wang et al. (2008). Los resultados de digestibilidad de proteínas in vitro mostraron que el enriquecimiento y el tratamiento de fermentación aumentaron significativamente los valores de digestibilidad de las bebidas con un valor de 72.7% para bebidas PR fermentadas y 61.4% para bebidas de control fermentadas no enriquecidas. Los perfiles de péptidos de bebidas enriquecidas con PR y PH indicaron que la fermentación condujo a un nivel reducido de péptidos de alto peso molecular (HMW) de aproximadamente 60% y un aumento de péptidos de bajo peso molecular (LMW) en más de 50%. Por tanto, tanto la fermentación como el enriquecimiento en proteínas aumentaron el valor nutricional de las bebidas a base de arroz.

(Lorusso et al, 2018) Este estudio en Bari-Italia tuvo como objetivo investigar características microbianas, químicas, reológicas y propiedades nutricionales (digestibilidad in vitro de la proteína IVPD y índice nutricional) de la quinua en un proceso de fermentación láctica para hacer bebidas similares al yogurt; se determinó la viscosidad (gelatinizado) para la selección de la relación óptima harina- agua y se comparó con muestras comerciales tipo yogurt, en base a resultados se seleccionó 35% p/p de harina en agua y se inocularon con tres cepas diferentes de bacterias ácido lácticas: una probiótica (*Lactobacillus rhamnosus* SP1), una productora de exopolisacáridos –EPS (*Wissella confusa* DMS20194) y una aislada de quinua (*Lactobacillus plantarum* T6B10) a 30 °C durante 20 h de incubación; por lo tanto, se obtuvieron 3 bebidas fermentadas de quinua: B-SP1, B-20194 y B-T6B10. En resultados la *W. confusa* DMS20194 provocó mayor aumento de viscosidad, el índice nutricional fue más alto cuando se utilizó *L. rhamnosus* SP1 y todas las cepas mejoraron la concentración de aminoácidos libres, la actividad antioxidante (hasta en 54%) y la digestibilidad de las proteínas (determinado por el método in vitro de Akeson &Stahmann ); la IVPD antes de la fermentación fue 71% y aumentó hasta 80-86% después de la fermentación, la B-20194 mostró el valor más bajo y entre las otras dos muestra no hubo diferencia significativa. Como consecuencia de una proteólisis moderada que se produjo durante el tiempo de almacenamiento, se encontró un mayor aumento de la digestibilidad en T20 (20 días de almacenamiento-vida útil) para todas las bebidas. Debido a las características nutricionales y funcionales conferidas a la bebida de quinua, el uso de las cepas prebióticas y productoras de EPS mostró potencial adecuado para la aplicación industrial.

(Bolaños, 2016) El presente trabajo de investigación se realizó en Ibarra-Ecuador en la cual su objetivo fue “Formular de una bebida a partir de lactosuero deslactosado y proteína hidrolizada de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd)”. Se utilizó diseño factorial A\*B, para conseguir la bebida predispuesta en primera instancia se efectuó un medio deslactosado hacia el suero de leche que interpuso tres grados de enzima lactasa Ha- Lactase (15600LU/L; 18200NLU/L; 22360NLU/L) que integran tiempos de reacción hacia la enzima, se tuvo como resultado final que había mayor cantidad de glucosa libre en el proceso, se hizo uso de 22360NLU/L de enzima lactasa que abarcaba un tiempo de 120 minutos en total. Luego el suero de leche deslactosada se procedió a la formulación con proteína hidrolizada de quinua en cuatro niveles (100%-0%, 90%-10%, 80%-20% y 70%-30%) con dos niveles de saborizantes al 0.5% de piña y naranja. Para la vida útil de la bebida fue sometida en conservación por 21 días a 4°C en vidrio y plástico. pasteurizado y pasteurizado más sorbato de potasio. Los resultados mostraron proporción que más gusto al panel de catadores fue el tratamiento de 70% de suero de leche - 30% proteína hidrolizada de quinua con sabor a piña, para la vida útil el pH y la acidez fueron influenciados significativamente por el tipo de envase ni el método de conservación a partir del día 7, en el análisis microbiológico hasta el día 14 los valores encontrados de mesófilos aerobios están dentro de los valores establecidos por la norma Ecuatoriana con apariencia normal la bebida que fue tratada con pasteurización y con sorbato de potasio, obtuvo una vida útil de 21 días ya que los parámetros en medición fueron cambiando paulatinamente a medida de que pasaba el tiempo de almacenamiento, el pH y la acidez cambiaron a medida que ponía en duda la estabilidad de la bebida. La presente investigación ofrece un aporte en referencia a los resultados conseguidos, esto debido a que se buscó generar una bebida que contuviera las proteínas hidrolizadas de quinua, haciendo uso de diferentes medios factoriales, teniendo como resultados principales que el 70% fue leche de suero y el 30% proteína hidrolizada

que poseía un sabor agradable, por ende, se percibía como un resultado adecuado que podía ser consumido por los demás, seguidamente, los valores fueron variados ya que el pH cambió junto a la acidez que poseía entonces ponía en una balanza de duda el consumo de la bebida mencionada, nuestra investigación toma como referencia informativa pues es básica para reconocer la alteración o variaciones que se pueden presentar ya que gracias a ella se puede afirmar u obviar el proceso de una bebida.

(Montero et al, 2012) En su trabajo “Estimación de digestibilidad in vitro de una bebida refrescante adicionada con proteína plasmática” en Antioquia- Colombia; evaluó el efecto del tipo de plasma y de los niveles de adición en el contenido proteico y la digestibilidad in vitro de una bebida refrescante a base de arroz. Se desarrolló un diseño factorial 2x3 con tres repeticiones (plasma bovino y plasma porcino; 14.5%, 18.5% y 29%) y el método utilizado in vitro fue de acuerdo al protocolo de Hsu W; en los resultados se observó una interacción entre los factores indicando que el contenido proteico de la bebida varió de acuerdo al tipo y nivel de plasmas fortificados, sin embargo, la digestibilidad no se vio afectada significativamente; pero el tipo de plasma influyó siendo la del bovino significativamente mayor para la digestibilidad. La presente investigación brinda un aporte referido a la estimación de la digestibilidad que posee una bebida refrescante que adquiere dentro de ella algunas proteínas cabe mencionar que se hizo uso de diferentes materiales para conseguir el resultado, es decir, hubo el uso de un diseño factorial que requirió de 3 repeticiones donde se respetó el protocolo de Hsu W, finalizando en que la proteína tenía algunos cambios debido al tipo del plasma que se tenía.

(Vela et al, 2012) Chiapas-México, En su trabajo de investigación “Bebida probiótica de lactosuero adicionada con pulpa de mango y almendras sensorialmente aceptable por adultos mayores”, inoculó la cepa *Lactobacillus Casei* sp. en el lactosuero dulce previamente pasteurizado (pH 6,5 en el tiempo de 2 días a 41 °C, pues a la bebida que se hallaba fermentada se le integro un UFC/ml, añadiéndole una porción de almendras y mango. El método usado tuvo un grado de aceptabilidad abarcando incluso algunas proteínas de calcio a través de la espectrometría de absorción atómica. Se tuvo como finalidad el total de medidas bacterianas de un reflejo en el  $1,4 \times 10^7$  UFC/MI de la bebida en un tiempo de cuarenta y ocho horas de fermentación, logrando obtener un pH de 4,0 y una concentración de 0,33 g/m L de ácido láctico, en calcio del 0.55% con proteína cruda. Por tal motivo el análisis que se efectuó manifestó un grado de aceptación para los atributos de sabor y color, de acuerdo con la prueba binominal estadística se aplica los tributos de textura y olor que evidenciaron un 99,8% y 98,5% de aceptabilidad, respectivamente. Finalmente concluyeron que el contenido de ácido láctico y la cantidad de bacterias presentes permiten considerarlo como una bebida probiótica, y el alto grado de aceptabilidad, lo hacen totalmente apta para el consumo de adultos mayores. La presente investigación brinda un aporte referido al uso o generación de una bebida prebiótica de lactosuero que es de ayuda para las personas mayores, es decir, se hizo uso de algunas frutas como el mango y las semillas de almendra, todo con la finalidad de conseguir mejores resultados para la bebida, de otro lado, efectuando una serie de pasos y procesos se consiguió comprobar que claramente la bebida poseía todo lo necesario para ser de consumo de las personas mayores ya que se hizo uso de proteínas crudas en el 0.55% que abarcaba el calcio como tal. Nuestra investigación la toma como referencia informativa pues el resultado fue positivo y se comprobó su uso siendo referencia para nuestro estudio y los posibles resultados que se buscan.

(Villegas et al, 2015). Chimborazo-Ecuador; cuyo objetivo del trabajo fue desarrollar una bebida fermentada y estandarizada, de aceptabilidad, viabilidad y vida de almacenamiento adecuadas para aprovechar el lactosuero de queseras artesanales con incorporación de avena molida y cultivos probióticos *Lactobacillus acidophilus* más *Lactobacillus casei* (HANSEN). Se realizó un diseño experimental de superficie respuesta tomando como variable independiente las dosis de CMC (0.075% a 0.15%), avena (0.5% a 0.8%) y de cultivo (3% a 5.5%) sobre la aceptabilidad, viscosidad y viabilidad de microorganismos probióticos en el producto dando 15 formulaciones. Resultandos; la viabilidad y la viscosidad no presentaron diferencia significativa; la aceptabilidad tuvo 3 formulaciones seleccionadas 7 (0.11%-0.8%-3%), 8 (0.15%-0.15%-4.25%) y 15 (0.11%-0.65%-4.25%). Durante el almacenamiento en la formulación 8 el pH y la acidez se mantuvieron constante hasta el día 32 la viscosidad también se mantuvo constante. La vida de almacenamiento a 4 °C puede ser hasta 30 días, con beneficios económicos, ecológicos y sociales. La presente investigación nos brinda un aporte informativo en mención al desarrollo de una bebida fermentada para la producción de quesos artesanales con integran la avena molida entre otros productos. Es así, que el estudio fue experimental para poder comprobar la veracidad de los resultados y ver si realmente estos podían ser viables en su totalidad, dentro de ella se incorporaron diferentes sustancias en porcentajes mínimos como del 3 a 5.5%. Por tal motivo los resultados llegaron a ser positivos pues se consiguieron grandes beneficios ecológicos, económicos, quiere decir, todo lo que se aplicó no altero la vida natural y logro conseguir ingresos para el bien de un espacio a través del experimento de dicha fusión, nuestra investigación toma como referencia el estudio pues nos centramos en sus resultados y como ellos culminaron en cosas adecuadas y positivas.

(Marulanda, 2012) “Cuyo objetivo fue elaborar y evaluar una bebida fermentada tipo yogurt a base de lactosuero fermentada con *Streptococcus Salivarius ssp Thermophilus* y *Lactobacillus Casei ssp Casei*” con aceptación del consumidor realizado en Cartagena. Para ello el estudio fue de carácter experimental previo análisis fisicoquímico y microbiológico del lactosuero dulce (el cual se utilizó en 2000 ml) quien demostró que contiene los nutrientes necesarios para someterse a este proceso, a partir de estos resultados se estandarizaron con 3 concentraciones diferente de sólidos solubles (leche en polvo) de 13%, 17% y 21%. Las cepas de bacterias lácticas inoculadas (*Streptococcus Salivarius ssp Thermophilus* y *Lactobacillus Casei ssp Casei*) se dieron en la misma proporción de  $5 \cdot 10^{-5}$  %p/v para las tres concentraciones; durante la incubación se midieron el pH y la acidez en intervalos de 30 minutos durante 3 horas. Los resultados muestran los niveles de acidez dentro de los rangos establecidos por la NTC 805 para productos fermentados; así el descenso de pH estuvo en 4.46, 4.67 y 4.59 respectivamente y en el análisis microbiológico resultaron inocuos con ausencia de Coliformes, también. Se vio el incremento en las propiedades fisicoquímicas. Finalmente, se halló que no había una preferencia básica en ninguna de las concentraciones que abarcaba otros medios de examinación entre ellos, acidez, textura, aroma, etc. De otro lado, los puntos de vista efectuados por algunos opino logos siempre manifestaron preferencias hacia el enfoque de 17% solidos solubles en totalidad. La presente investigación ofrece un aporte en referencia a la generación de bebidas donde se hizo uso de un yogurt lactosuero que fue aceptada por los consumidores. Es así, que se halló que no había ninguna preferencia hacia las concentraciones de los varios medios donde fueron evaluados, es decir, la bebida tuvo una buena aceptación por la integración del pH que se encontró entre el 4.46 junto al estudio mínimo de medios microbiológicos que no contenían Coliformes. Nuestra investigación toma como base dicho estudio pues nos sirve como información de cómo elaborar

algunas bebidas que también contienen un suero de lactosuero que es usada también dentro de nuestro estudio.

(Salazar, 2017) En su trabajo de investigación realizado en Moquegua con el objetivo de “Utilizar el lactosuero de queso fresco y extracto de almendras de calabaza (*Cucúrbita ficifolia*) para elaborar una bebida fermentada”. Algunos métodos y materiales que se usaron fueron: un diseño experimental que poseía tres grados de sustitución para sacar la calabaza y almendras del 30%, 15%, 0%, teniendo una concentración de (CMC) en el 0.1%, 0.07%, 0.04%, abarcando un diseño aleatorio que emitió tres medios para aplicar el análisis estadístico que tuvo una varianza de (ANVA). De igual forma, se consiguió una significación que comparaba las igualdades de los tratamientos, haciendo uso de una prueba Duncan que se utilizó por medio del SSPS. De acuerdo con los resultados fisicoquímicos de las variables de investigación (tienen algunos porcentajes como el pH, viscosidad, grasa, ceniza) donde se halló la distinción significativa de los tratamientos de estudio con un grado de confianza del 99% donde se aplicó la prueba ya mencionada. Algunas bebidas fermentadas que se consiguieron tuvieron un alto valor nutricional y aceptación, entre ellas se hallaron algunas dosificadas en el 30%, 15% teniendo un grado de extracto de proteínas, grasas, en el 0, 34% en promedio, de otro lado, una adición del (CMC) incidió en la textura, viscosidad, sobresaliente en un 30% con el 0,07% de estabilización (CMC). Llegando a la siguiente conclusión: Las mezclas de lactosuero poseían una integración de extracto de calabazas y almendras que logro generar una bebida lata y aceptable frente a las personas. La presente investigación ofrece un aporte en referencia al uso del lactosuero para una bebida fermentada, esto debido a que para conseguir su composición se hizo uso de un extracto de almendras todo ellos llevando a que la bebida fuera muy nutritiva y aceptada, es decir, la calidad fue precisa y el consumo no tuvo mayores alteraciones o quejas pues las variaciones o combinaciones que se

integraron para su generación siguió paso a paso los tratamiento que se requerían ya que las pruebas fueran hechas sin problemas, cabe mencionar que los extractos estuvieron entre un 0%, 30% y 15%, para todo ellos se aplicó la prueba de Duncan que fue de gran ayuda para conseguir los resultados. Nuestra investigación toma como referencia dicho estudio con la finalidad de poseer mayor información y ver que pruebas son las más accesibles.

(Machacuay, 2014) Junín El presente trabajo de investigación “Determinación de las características microbiológicas, fisicoquímicas y sensoriales de una bebida fermentada probiótica a partir de lactosuero” tiene como objetivo general, determinar las características sensoriales, fisicoquímicas y microbiológicas de una bebida fermentada probiótica a partir de lactosuero; Surge como alternativa de solución para el lactosuero que es un subproducto después de la elaboración del queso, lo que nos obliga a buscar nuevas formas de encarar este problema. El estudio integro un tipo de investigación aplicada, es decir, se reconoció el proceso con un método haciendo uso de las medidas experimentales. Se hizo uso para la elaboración de la misma un suero dulce, pues se reconoció que tenía una integración fisicoquímica de acidez en el 0.248% y el pH 5.5%, haciendo uso de bloques variados, donde se efectuó una prueba de significancia de Duncan ( $p \leq 0.05$ ) donde se tomó en cuenta las características organolépticas de cuatro lados para la generación de: Un lactosuero de 100%, 85%, 90%, y de la leche con 10%, 0%, 15%. Dichas mezclas pasaron por un examen sensorial de 15 opino logos con el objetivo de percibir si había un cambio en las características organolépticas de sabor, olor, textura. Las finalidades más próximas manifestaron que el tratamiento tres (85% de lactosuero), es el que más sobresale para ellos pues tiene un puntaje alto que integra algunas características como el análisis químico físico de acidez en (0.648%), pH en (4.57%), ácidos solubles en (16°Brix) y densidad (1.047 g/ml). Es así, que los resultados que se consiguieron fueron de análisis microbiológico en un tratamiento de mohos en menor grado

cerca por debajo de 100, otros coliformes por debajo de los 10, aeróbicos mesófilos accesibles del  $2.5 \times 10$ , hallándose en los límites permitidos para consumirlos, de acuerdo con la NTP–2008 (Leche y productos lácteos. Yogurt) y NTE–2012 (Bebidas de suero). La presente investigación ofrece un aporte en referencia a los aspectos que intervienen en la generación de bebidas fermentadas que incluían diferentes aspectos, procesos, medios, para que se consiga el resultado esperado. En mención a las finalidades que se pudieron observar se encontró que había un porcentaje alto de lactosuero y solo en un 15% de leche abarcando un porcentaje en las proteínas que no tenían fibra, todo ello conlleva una evaluación detallada para saber si dicha bebida es aceptada o no es viable, cabe destacar que este estudio también resulta ser experimental para comprobar su utilidad, por ende, sirve como base en nuestro estudio que también se enfoca en la generación de un medio de lactosuero que culmine en resultados positivos.

(Granito et al, 2004) El presente trabajo de investigación “Uso de *Phaseolus vulgaris* y *Vigna sinensis* como extensores de una bebida láctea fermentada” El objetivo de este trabajo fue desarrollar un nuevo tipo de bebida láctea, extendida con variedades claras de *Phaseolus vulgaris* (caraota) y *Vigna sinensis* (frijol). Para la formulación de las bebidas lácteas se prepararon extractos estériles de caraota y frijol, los cuales sustituyeron a la leche en 10, 20 y 30%. Las mezclas se inocularon con 2% de una mezcla de *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* y *Bifidobacterium* sp. y se incubaron a 42°C por 7 horas. Como saborizantes se usaron mermeladas de mango y guayaba al 20%. Con base en la evaluación sensorial se seleccionaron las mezclas, 10% frijol-mango, 10% frijol- guayaba, 30% caraota-mango y 20% caraota-guayaba. Las bebidas lácteas seleccionadas presentaron mayores niveles de proteína, fibra soluble, fibra insoluble, almidones disponibles y resistentes; sin embargo, La digestibilidad proteica in vitro disminuyó siendo 80.90 y 80.76% en las bebidas extendidas respecto a la muestra

patrón con 85.57 %, probablemente por la presencia de fibra dietética, sin embargo, el incremento en el contenido de proteínas y fibra dietética, tanto soluble como insoluble, en la bebida láctea extendida justifica la extensión de la leche con leguminosas. Se demostró que técnicamente es posible sustituir leche por extractos de caraota o frijol en la elaboración de leche fermentada tipo yogurt líquido.

(Altuna et al, 2021) La presente investigación “ Caracterización de proteínas obtenidas de tres productos lácteos desarrollados en la cooperativa de producción agropecuaria salinas” tiene como objetivo la caracterización proteica de tres bebidas lácteas que son elaboradas a partir de lacto suero dulce con aportes proteicos de dos matrices vegetales (bebida láctea a base de quinua, bebida láctea a base de soya y bebida láctea fermentada), para la investigación se concentró la proteína mediante precipitación isoeléctrica a valores de pH 4.0 sin solubilidad, y mediante electroforesis identificamos el perfil proteico de las bebidas lácteas, encontrándose bandas con pesos moleculares entre 16 a 85 kda en la bebida láctea fermentada y la bebida láctea a base de soya, y de 16 a 79 kda en la bebida láctea a base de quinua. Se estableció la digestibilidad gastrointestinal donde se desarrolló la digestión gástrica con la enzima pepsina y la digestión duodenal con la enzima pancreatina, posterior a la reacción enzimática se aplicó la técnica de electroforesis. Se concluyó que cada una de las bebidas lácteas es digerible dentro del organismo es decir como resultado de la digestibilidad gastrointestinal realizada a un pH 4.0 la muestra de las bebidas lácteas (bebida láctea fermentada, bebida láctea a base de soya, bebida láctea a base de quinua) fueron totalmente digeridas, por lo que se evidencio que hubo una hidrolisis o una digestión completa desde la digestión gástrica evidenciando que en el gel ya no hay presencia de proteínas es decir que las proteínas se han roto.

(Gorostidi, 2014) Con la investigación titulada “ La valorización de lactosuero mediante la obtención de una bebida fermentada funcional en salinas de guaranda, Ecuador” El presente trabajo tuvo por finalidad desarrollar nuevas bebidas lácteas fermentadas funcionales a partir del lactosuero en la Quesera “El Salinerito” (PRODUCCOOP) de Salinas de Guaranda (Ecuador). El estudio se realizó a partir del programa de Formación Solidaria de la Universidad Pública de Navarra, durante una estancia de 6 meses. Se trata de obtener una bebida láctea fermentada funcional a base del lactosuero restante de la producción de queso, con el fin de valorizar un efluente altamente contaminante comercializándolo en mercados locales, lo que supondría la obtención de beneficios económicos, ambientales y de salud para los habitantes de la zona. La formulación base de la bebida láctea fermentada (80% de lactosuero y un 20% de leche entera de vaca) se definió en función de las preferencias de un panel sensorial de 52 consumidores. Una vez definida la mezcla base se elaboraron diferentes tipos de bebidas lácteas edulcoradas y saborizadas: natural con 100% de stevia, natural con 50% stevia y 50% azúcar, mermelada de arándano y mermelada de fresa. Las bebidas lácteas saborizadas se formularon con mermeladas de frutas autóctonas elaboradas en empresas locales. Las especies lácteas utilizadas, incluidos probióticos fueron: *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* y *Bifidobacterium animalis* L. lo que convierte a esta bebida láctea fermentada en funcional. Las bebidas fueron caracterizadas mediante un análisis físico-químico (proteínas, grasa, sólidos totales y cenizas). Además, se realizó un análisis microbiológico para verificar el grado de cumplimiento con respecto a la normativa vigente (INEN 2564:2011) del producto recién elaborado y durante las tres semanas siguientes. Los resultados indicaron que la bebida cumplía con los requisitos microbiológicos establecidos por la Norma Técnica Ecuatoriana de bebidas lácteas. La investigación propuesta responde a la creciente preocupación por dar valor agregado al lactosuero, que constituye un desecho altamente contaminante para las industrias lácteas de la región. Así mismo se presenta una estimación del precio de venta de las diferentes bebidas lácteas fermentadas.

## Capítulo I

### Base Teórica

#### 1.1. Lactosuero

Es un fluido de color verdoso amarillento obtenido a partir de la producción del queso durante la etapa de separación de la cuajada o fase micelar (Parra, 2009). También se puede definir como el líquido ulterior de la precipitación de la caseína en la elaboración del queso, es separado de éste y cuya proporción es de aproximadamente nueve veces con respecto a la masa de queso obtenida (Panesar, 2007).

(Mellinger et. al, 2017) Se le conoce como suero de una quesería en mención del lactosuero a la sustancia líquida que se consigue como finalidad del aislamiento del coágulo de leche en la generación de queso, posterior a ellos se aplica la integración de la caseína.

De acuerdo a las definiciones emitidas, el lactosuero proviene de una sustancia líquida que se da del queso, es la parte restante de todo el proceso que se usa para otros fines y tiene muchas utilidades comestibles como no. Es decir, tiene un nombre muy habitual que es el suero que proviene de la quesería adjuntada o de la leche que ya paso por un periodo y proceso largo, Así mismo, se reconoce que dicho suero es la base para la producción del lactosuero que es un elemento conservador que es de gran aprovechamiento para otras funciones o la producción de otras sustancias. (Foegeding & Luck, 2002)

##### *1.1.1. Origen y Composición del Lactosuero*

Se reconoce que la leche es aquella materia prima con la que se genera el queso o se realiza. Dicha elaboración de queso necesita de una cantidad alta de leche, pues para conseguir un kilogramo de queso se requieren un total de 10 litro de leche que produce 9 litros de lactosuero como un subproducto. Cuando se hace referencia al lactosuero se tiene que considerar que su inicio

lleva incluso muchos siglos atrás, esto debido a que en su mayoría en la antigüedad eran usados como remedios caseros para los males que aquejaban en dicha época, de otro lado, este suero es líquido y se consigue tras una coagulación de la leche que fue generada al mismo tiempo por la fermentación que se da, se considera que el proceso de fermentación netamente estaba compuesta por grasa, proteínas, agua, entre otros minerales. Ahora siendo más precisos, el lactosuero es toda sustancia líquida que se halla como finalidad del aislamiento de los coágulos de la leche, mismo procedimiento que se aplica para la elaboración de yogurt (Poveda, 2013).

La composición nutricional del lactosuero puede variar considerablemente dependiendo de las características de la leche utilizada para producción de quesos, el tipo de queso producido y el proceso tecnológico empleado en la elaboración del queso, a pesar de estas diferencias se encuentran los dos tipos principales de lactosuero (Poveda, 2013). En términos promedio, el lactosuero contiene más de la mitad de los sólidos totales presentes en la leche original, incluyendo alrededor del 20% de las proteínas (lactoalbúminas y lactoglobulinas), la mayor parte de la lactosa, minerales (calcio, fósforo, sodio y magnesio) y vitaminas hidrosolubles (tiamina, ácido pantoténico, riboflavina, pirodoxina, ácido nicotínico, y ácido ascórbico) (Londoño M. , 2006); (Guerrero, 2011)

Haciendo referencia al lactosuero su generación proviene de la leche que es una materia prima que con la que se elabora el queso, dicha composición depende de la leche y el proceso que esta suele atravesar, pero el lactosuero es un elemento básico para la producción de cosas positivas, es decir, es utilizada para ayuda de la persona por sus diferentes nutrientes y como está compuesta de las características que posee los sólidos concretos que se hallan en la misma leche. Por otro lado, no se puede obviar que el lactosuero dentro de la misma integra diversas proteínas y nutrientes que son usados para la generación de otros componentes\_(Guerrero, 2011).

**Tabla 1***Caracterización química del lactosuero*

	<b>DQO</b> <b>(mgO<sub>2</sub>/L)</b>	<b>Grasas</b> <b>(g/dL)</b>	<b>°Dornic</b>	<b>Ác. Láctico</b> <b>(g/dL)</b>	<b>Lactosa</b> <b>(g/dL)</b>	<b>Proteínas</b> <b>(g/dL)</b>
Media	111895,8	0,83	0,27	4,45	1,08	0,21

*Nota: Recuperado (Callejas et. al, 2012)***1.1.2. Caracterización y Tipos de Lactosuero**

Por el tipo de coagulación utilizada en la elaboración del queso se obtienen dos tipos de lactosuero bien diferenciados:

El lactosuero dulce que tiene un pH entre 5.8 y 6.6 se obtiene por acción de enzimas proteolíticas o cuajo las cuales actúan sobre las caseínas de la leche y la fraccionan haciendo que estos se desestabilicen y precipiten, todo esto bajo condiciones específicas de temperaturas aproximadamente entre 15 – 50 °C; a este punto se alcanza el punto isoeléctrico de la mayoría de las caseínas presentes y en este punto la carga eléctrica neta de la proteína es igual a cero, lo cual produce que la micela de la proteína se desestabilice y precipite dejando solamente las proteínas de tipo séricas (Jovanovic et. al, 2005). En la Tabla 2 se detalla las características del lactosuero dulce y ácido proveniente de la elaboración de quesos con leche.

Entre las características más relevantes del lactosuero se hallan el estado normal el pH que abarca, dentro de ella cuajos proteolíticos generando como máximo función que culminen en deshabilitarse por fracciones. Por otro lado, se tienen algunas proteínas de tipo séricas que son la parte final o culminando de todo el proceso, es decir, la leche pasa por etapas hasta llegar a un punto donde se puedan sacar los máximos nutrientes, cabe mencionar que una vez cuajados se

pueden dar diversos usos proteicos que fuera de deshabilitarlo logran que se extraiga lo necesario (Callejas et. al, 2012).

**Tabla 2**

*Caracterización de tipos de lactosuero*

Tipo de coagulación	Tipo de suero	Ejemplos de quesos	pH	Acidez titulable (g ácido láctico)	Cenizas (g/l)
Enzimático	Dulce	Cheddar, mozzarella, queso duro/semiduro	5,8 – 6.6	1 – 2	4,0
Mixta o láctea	Ácido	Cottage, crema	4,0 – 5.2	4 – 6	7,0

Nota: (Gonzales et. al, 2017)

**Tabla 3**

*Composición de lactosuero dulce y ácido*

Componente (g/L)	lactosuero dulce	lactosuero ácida
Sólidos totales	63,0 – 70,0	63,0 – 70,0
Lactosa	46,0 – 52,0	44,0 – 46,0
Grasa	0,0 – 5,0	0,0 – 5,0
Proteína	6,0 – 10,0	6,0 – 8,0
Calcio	0,4 – 0,6	1,2 – 1,6
Fósforo	0,4 – 0.7	0,5 – 0,8
Potasio	1,4 – 1,6	1,4 – 1,6
Cloruros	2,0 – 2,2	2,0 – 2,2

Nota: Adaptado (Panesar, 2007).

**1.1.2.1. Componentes de Lactosuero.** La composición nutricional de los lactosueros dulce y ácido se observa que el primero presenta ligeramente mayores contenidos de lactosa y proteína. Cuenta también con vitaminas del grupo B (tiamina, ácido pantoténico, riboflavina, piridoxina, ácido nicotínico, cobalamina) y ácido ascórbico (Londoño et al., 2008).

**Tabla 4***Composición fisicoquímica del lactosuero*

	<b>Lactosuero dulce</b>	<b>Lactosuero ácidos</b>
	<b>(g/kg de lactosuero)</b>	<b>(g/kg de lactosuero)</b>
Materia seca (MS)	55 - 75	55 - 65
Lactosa	40 - 50	40 - 50
Grasa bruta (GB)	0 - 5	0 - 5
Proteína bruta (PB)	9 - 14	7 - 12
Cenizas	4 - 6	6 - 8
Potasio	1,4 - 1,6	1,4 - 1,6
Cloruros	2,0 - 2,2	2,0 - 2,2
Ácido láctico	0 - 0,3	7 - 8
pH	> 6,0	< 4,5
Grados °Dornic	< 20 °	> 50 °

Nota: recuperado de (Abaigar, 2009)

**Tabla 5***Composición química del lactosuero*

<b>Componente</b>	<b>Dulce</b>	<b>Ácido</b>
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

Nota: Recuperado de Dragone et al. (2009) (Dragone G, 2009) , expresado en % peso/volumen

**1.1.2.2. Proteínas de Lactosuero.** Aproximadamente el 18 – 20% de las proteínas totales de la leche lo constituye; no es la fracción más abundante en lactosuero, sin embargo, es la más interesante desde el punto de vista económico y nutricional (Parra, 2009). Esta fracción contiene cuatro proteínas principales:  $\beta$ -lactoglobulina,  $\alpha$ -lactoalbúmina, albumina de suero sanguíneo (BSA) e inmunoglobulina; los componentes menores de esta fracción son la lactoferrina, transferrina y la fracción lactolin proteasa-peptona (PP) (Jovanovic et. al, 2005).

La  $\beta$ - lactoglobulina ( $\beta$ -Lg) integra aproximadamente la mitad de las proteínas totales del lactosuero bobino. Está compuesta por 162 aminoácidos residuales; 84 de estos son aminoácidos esenciales (Jovanovic et al 2005). Se tiene razón de que las proteínas están enfocadas en la hidrofóbicas generando que se fijen las moléculas hidrofóbicas tales como el retinol, colesterol. Una medida que manifiesta alta resistencia a la digestión gástrica en las personas son la  $\beta$ -Lg, todos ellos generan intolerancia. Por otro lado, se presentan los tratamientos industriales como el calentamiento, esterilización, presión alta de hidrolisis que ayudan a la digestión que integra un lactosuero de la  $\beta$ -Lg (Walzem, 2002).

El lactosuero posee algunas proteínas tales como las más abundantes no solo por el costo sino por el grado proteico que abarcan, la cantidad de valor que logran obtener se hallan entre el 18-20% debido a que dichas porciones integran un medio menor de lactoferrina que en total llegan a ser como 162 aminoácidos. Dichas proteínas tienen un lado conservativo de hidrofóbicas que conllevan a moléculas del retinol, colesterol; todas ellas teniendo un tratamiento industrial que tienen como finalidad poder digerir todo lo que se presenta para próximamente darle otro uso más beneficioso. (Jovanovic et. al, 2005).

La  $\alpha$ - lactoalbúmina ( $\alpha$ -La) es el primordial componente que se encuentran en la leche humana y bobina. Abarca aproximadamente del 20 al 25% de las proteínas del lactosuero y

contienen una gran variedad de aminoácidos, incluyendo un suministro fácilmente disponible de aminoácidos de cadena ramificada y esenciales (Walzem, 2002); también tiene una gran afinidad por el calcio y otros minerales como zinc, manganeso, cadmio, cobre y aluminio (Parra, 2009).

Las inmunoglobulinas (Ig) son anticuerpos, existen cinco clases de anticuerpo: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM. La fracción del lactosuero contiene una cantidad significativa de inmunoglobulinas, al rededor del 10 al 15% del total de las proteínas del lactosuero (Marshall, 2004).

La lactoferrina (LF) es un agente antioxidante no enzimático encontrado en la fracción del lactosuero, así como en el calostro. La lactoferrina del lactosuero se compone aproximadamente de 700 aminoácidos residuales y de una cadena de polipéptidos individuales con dos sitios de unión para iones férricos. La concentración de lactoferrina en la leche bobina y calostro es alrededor de 0.2 mg/ml y 1.5mg/ml respectivamente (Walzen 2002).

Por otro lado, tenemos a la lactoalbúmina es el elemento que no solo se halla en la leche común, sino también en la leche humana, pues, su grado proteico es alto y claramente se encuentra en el lactosuero. Manifestó que su mayor función es la emisión del calcio que es vital para la vida de la persona, puesto que dicho nutriente ayuda de manera directa en la salud de las personas, así mismo, la inmunoglobulina se reconoce como los anticuerpos que solo son una parte de todo el medio del lactosuero, todo ellos siendo compuesto por un total de 700 aminoácidos que ayudan a su mejor continua (Walzem, 2002).

**Tabla 6***Proporción de aminoácidos esenciales en el lactosuero*

<b>Aminoácidos</b>	<b>g/100g de proteína</b>
Cisteína	1,0
Metionina	2,0
Valina	6,0
Leucina	9,5
Isoleucina	5,9
Fenilalanina	3,6
Lisina	9,0
Histidina	1,8
Triptófano	1,5

Nota: recuperado de Parra (2009)

**1.1.2.2.1. Funciones Biológicas de las Proteínas de Lactosuero.** Dado su contenido de aminoácidos esenciales, el valor biológico de las proteínas de lactosuero es alto en comparación con el de las otras proteínas. La calidad de proteína indica la capacidad para proporcionar nitrógeno en un patrón equilibrado de aminoácidos esenciales y no esenciales (Jovanovic et al 2005)

La razón de eficiencia proteica (PER) de una fuente de proteína mide el aumento de peso de los animales jóvenes por gramo de proteína consumida durante un periodo de tiempo dado. Las proteínas del suero tienen proporcionalmente más aminoácidos que contienen azufre (cisteína, metionina) que las caseínas, lo que contribuye a un mayor PER (3,5) (Walzen, 2002)

Cuando se hace referencia a las funciones del lactosuero se pone en énfasis a muchas de ellas porque son diversas; ya que tienen un alto valor biológico que supera a las demás, es decir, cumple la función en algunos casos de aumentar el peso de las personas como de los animales por su alto valor proteico que es muy bueno para la salud de los mismos.

**Tabla 7***Funciones biológicas de las proteínas del suero*

<b>Proteína</b>	<b>Función biológica</b>	<b>Referencias</b>
$\beta$ - lactoglobulina	Transportador (retinol, palmitol, ácidos grasos y vitamina D) Aumento de la actividad esterasa pre gástrica Transferencia de inmunidad pasiva	Chatterton et al., 2006; Farrell et al., 2004
$\alpha$ - lactoalbúmina	Prevención del cáncer, Síntesis de lactosa Tratamiento de la enfermedad inducida por el estrés crónico	Marshall et al., 2004; Chatterton et al., 2006; Smithers, 2008
Albumina de suero	Función antimutagénica Prevención del cáncer Inmunomodulación	Madureira, 2007; Rodrigues et al., 2009
Inmunoglobulina	Prevención y tratamiento de diversas infecciones microbianas (infecciones de las vías respiratorias superiores, gastritis, diarrea, entre otras)	Mehra et al., 2002; Pan et al., 2006
Lactoferrina	Actividades antibacterianas, antivirales, antifúngicas Actividad prebiótica	Fakharany et al., 2008; Smithers, 2008
Lactoperoxidasa	Biosidas y actividades biostáticas	Smithers, 2008
Glicomacropéptidos	Interacción con toxinas, virus y bacterias. Actividad inmunomoduladora	Thoma Worringer et al., 2006
Osteopontina	Mineralización ósea, se utiliza para el tratamiento de cáncer	Rodrigues et al., 2009
Proteasas peptonas	Efectos inmunoestimulantes Prevención de caries	Sugahara et al., 2005

Nota: *Adoptado de (Mendes da Silva, 2011)*

**1.1.2.2.2. Tipos de Péptidos Bioactivos Encontrados en el Lactosuero.** Los péptidos pueden ser liberados por: a) hidrólisis enzimática durante la digestión gastrointestinal, b) fermentación de la leche por cultivos iniciadores proteolíticos aplicados durante el procesamiento o c) hidrólisis por enzimas proteolíticas derivadas de microorganismos o plantas (Korhonen H, 2006).

Estos Péptidos bioactivos han sido definidos como fragmentos específicos de proteínas que tienen un impacto positivo sobre funciones biológicas o condiciones corporales y que pueden definitivamente influir sobre la salud humana, más allá de una nutrición normal y adecuada. Generalmente, son péptidos de pequeño tamaño entre 3 y 20 aminoácidos. Dependiendo de la secuencia de aminoácidos en el péptido, su administración oral podría afectar alguno de los principales sistemas de los organismos: cardiovascular, nervioso, gastrointestinal e inmune (Baró et. al, 2001).

Según Baro y otros (2001), conocedores, mencionan que los tipos de péptidos en el lactosuero son esenciales dentro de la vida del individuo, esto debido a que tienen diferentes funciones que son liberadas de manera gradual, de otro lado, son aquellos fragmentos de proteínas que en su mayoría tienen un resultado positivo en la salud de los seres vivos, puesto que cumplen un rol básico del cuidado biológico en las condiciones corporales para reforzar la salud y nutrición de las personas, así mismo, estos péptidos se hallan en el lactosuero porque contienen un nivel alto de aminoácidos que son ingeridos vía oral llegando a influir como ser percibidos en los medios nerviosos, gastrointestinales, etc.

### **1.1.3. Calidad de Lactosuero**

(Mellinger et. al, 2017) La calidad de composición y cuidado higiénico de lactosuero es un medio básico a tomar en cuenta para el uso de la generación de productos entre otros medios, pues,

la calidad de leche usada tal como el cuidado de higiene en la composición de queso establecen las características del suero. Esto debido a que la formación del suero cambia de acuerdo a:

- Base o estacionalidad de leche para el control de la vaca integra algunos medios de lactación, sanidad, alimentación y raza.
- Se considera al proceso de generación del queso: pues integra el tipo de tratamiento térmico usado para la leche con la integración de calcio de cloruro, cultivos, tipo de coagulación (enzimática, mixta o acida), pues el coagulante usado es microbiano/ quimosina, pepsina), que tiene entre otros aditivos.

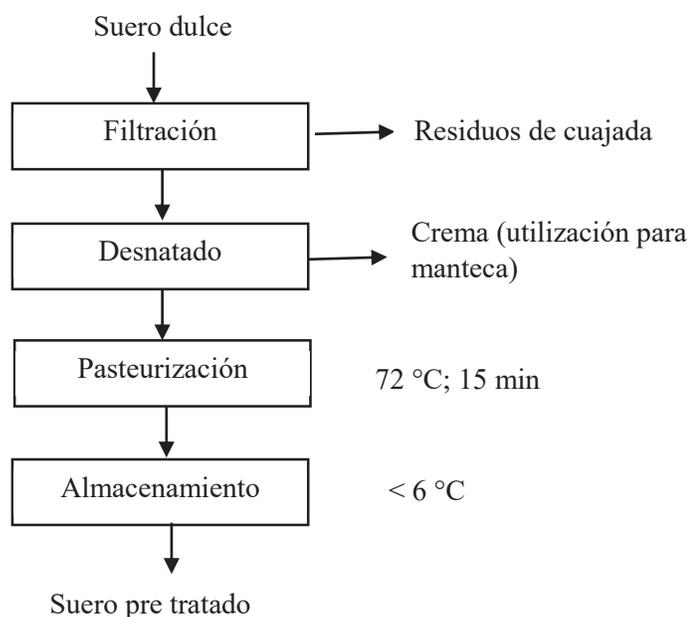
Para poder hacer uso del suero como un medio de generación de ingredientes con productos de consumo concreto, se necesita que el suero tenga algunos parámetros de calidad, es decir, solo se conlleva con el proceso de producto que sea diseñado para otros parámetros que cambian. Es decir, en líneas generales un suero dulce tiene que cumplir con algunos requisitos que son:

- Un pH dado entre el 6,6 y 6,0 (pues las empresas necesitan un 6,3 exactamente)
- Abarca un contenido de proteína alineado al 0,7 g/ 100g
- Conlleva la materia grasa del 0,05%
- Tiene partículas de quesos adecuados de caseína en el <0,02%.
- Un nitrato de <3 ppm, Nitrito <1 ppm.
- El adicionado de cloruro de sodio.
- La falta de colorantes.
- Un antibiótico negativo.
- Seguidamente de un peróxido negativo.
- La totalidad de recuento de <10 000 ufc/ml.
- La contabilidad de termo-resistencia <1 000 ufc/ml.

- Tal como los Coliformes en <50 ufc/ml.
- Los Bacillus cereus <1 ufc/ml.
- Algunos anaerobios sulfitos minimizadores <1 ufc/ml.

Una vez completado el proceso de elaboración del queso, el lactosuero debe ser filtrado, pasteurizado (72°C, 15 min) y almacenado en condiciones adecuadas de inocuidad a temperaturas menores a 6°C por un período no mayor a 24 horas (figura 1). El descremado es opcional según el uso final del lactosuero. Existe también la opción de su uso inmediato.

Haciendo mención a la calidad del lactosuero se tiene que evidenciar que tiene diversos usos para la persona y calidad de vida de los mismos, es decir, el suero pasa por etapas o cambios que se efectúan para mejora de la composición, una de ellas es la crianza que se le da a la vaca el cuidado, alimentación, todo ello para conseguir un producto de calidad y en buen estado, por otro lado, se tiene el proceso que conlleva las etapas, elementos que se utilizan entre otros aspectos. Finalmente, el lactosuero tiene que cumplir ciertos requisitos que son una serie de materiales o composiciones que debe de cumplir para tener un beneficio adecuado.

**Figura 1***Obtención de suero pre tratado*

*Nota: (Castells & Schmidt, 2016)*

**1.1.4. Bebidas a Base de Suero**

(Gonzales et al, 2017) La utilización de suero para las queserías en bebidas con alto porcentaje nutritivo o adecuadas para la salud se halla archivado desde tiempos atrás como el medico Hipócrates recetaba esta medida para las curas. Se tiene conocimiento de que las bebidas en su mayoría son alimentos que están integrados por líquidos que se consiguieron por sueros y otros lácteos, por otro lado, mezcla de suero y leche que adicionan proteínas que son básicas para el cuidado preservación de diferentes tejidos del cuerpo. La terminología de “bebidas hechas por suero” se centran básicamente en productos accesibles, generados por suero liquido como parte de todos que aún mantiene en enfoque al suero como valor significativo. Es más accesible diseñar bebidas en mención a los sueros ácidos o dulces. Por otro lado, se tiene que obviar el suero salado por su gran contenido de sodio que lleva sabores poco usuales al producto final. En el país

colombiano el suero ácido tiene un uso para la generación de bebidas no fermentadas a través de lactosuero, pues se hace uso de lactosuero concentrado.

De acuerdo con Gonzales el uso que se le da al suero es en las queserías que tiene como finalidad hacer algunas bebidas que contengan un alto grado de proteínas, esto debido a que su uso viene desde muchos atrás pues el sabio Hipócrates los usaba como medios de remedio para la cura de diferentes males que sufrían las personas en ese tiempo, así mismo, los líquidos en las bebidas están compuestas en su mayoría por una sustancia sólida que tiene nutrientes como proteínas que ayudan en la salud de la persona como tal. Es decir, los productos hechos con el suero del queso tienen como finalidad poder ser nutritivos y beneficiosos para la salud de la persona.

**1.1.4.1. Producción de Bebidas a Base de Lactosuero.** (Juliano et. al, 2017) las bebidas de tipo comercial llegan a tener hasta un 90% de suero de leche en sus fórmulas y en sus concentraciones más bajas de azúcares, estabilizantes, acidificantes, saborizantes, colorantes y jugos de frutas, como muchos otros distintos. Por ende, dependiendo de las leyes y la legislación jurídica vigente en cada territorio, se puede obtener una gran variedad de estas bebidas a partir de una variedad de fórmulas y procesos de tipo tecnológico. En mención a la pasteurización y sobre fermentación son los procesos tecnológicos que son utilizados la mayor parte del tiempo en la elaboración de este producto, el tratamiento térmico asegura la seguridad microbiológica del producto esto para prolongar su vida útil del producto, mientras tanto la fermentación induce cambios favorables en las propiedades organolépticas, funcionales y nutricionales del producto final.

Para la producción de las bebidas que son elaboradas con el suero, Juliano nos menciona que la mayor parte de ellas están compuestas por el 90% de suero en fórmulas de leche, puesto que

las bebidas que salen o se originan de las mismas son muchas a causa de que los elementos son diversos y pueden pasar por una serie de etapas de composición para conseguir el nutriente o producto que se desea, de otro lado, cabe recalcar que gracias a las leyes existentes se pueden pedir permisos para seguir experimentando sabores que tengan integrado los 'productos queseros de suero con los que se elaboran para reforzar su nivel de nutrición y beneficio en la salud de las personas que lo requieran como tal. Entonces, todos ellos pasan por un proceso de fermentación que son un tratamiento térmico que culmina en resultados adecuados.

#### ***1.1.5. Bebidas Fermentadas.***

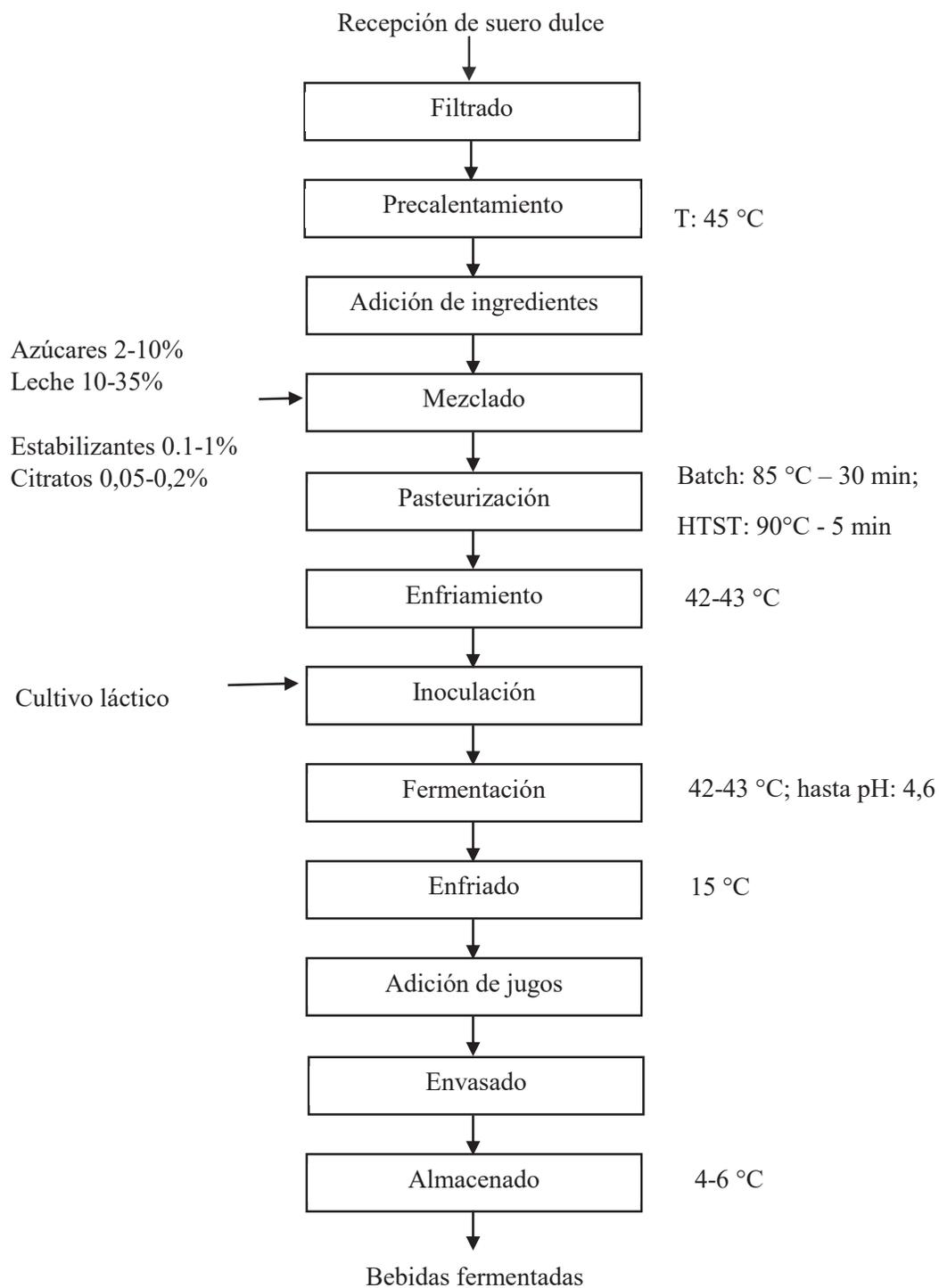
(Juliano et. al, 2017) El elevado contenido de lactosa del suero, así como diversos nutrientes, lo transforman en una materia prima con un gran potencial para ejecutar su desarrollo de productos fermentados, en esta aplicación llegar a tener la ventaja de que el proceso de producción es similar al proceso normal de elaboración de batidos de yogur. Las bacterias del ácido láctico (LAB) a menudo se usan solas o en combinación, fundamentalmente de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*. Además de acidificar la bebida, estas bacterias pueden hidrolizar todas las proteínas de los lácteos para producir péptidos bioactivos y algunas incluso pueden descomponer la  $\beta$ -lactoglobulina, una de las principales proteínas del suero y un alérgeno principal de la leche, en este tipo de bebidas se suele añadir un porcentaje del lácteo de hasta el 50%, así como ingredientes en polvo, para mejorar las propiedades reológicas aumentando la viscosidad y organolépticas del producto final. El paso de pasteurización se puede realizar en lotes a 85 °C durante 30 min, en el esterilizador de placas HTST a 90 °C durante 5 min o a 95 °C durante 3 min. En esta etapa, no solo se trata de reducir la cantidad de bacterias en la mezcla, sino también de hacer cambios estructurales en la proteína de suero, especialmente la de  $\beta$ -lactoglobulina, para mejorar la viscosidad de la bebida. Luego que toda la mezcla se enfrió rápidamente a 43 °C, donde es temperatura a la cual se adhieren los fermentadores tanto como el *Streptococcus thermophilus*

y *Lactobacillus bulgaricus* y se deja incubando, así mismo permitiendo la acidificación del medio, en razón al caso de que se utilicen bacterias mesófilas como son la *Lactobacillus Lactis* y *Streptococcus Lactis*, la mezcla total debe enfriarse a 28°C, temperatura a la que se realiza la fermentación. La fermentación como tal se realiza en un tanque de fermentación, se controla con un medidor de pH y finaliza cuando se alcanza un pH de entre 4 y 6, el tiempo que se estima para la fermentación dependerá no solo del tipo de levadura utilizada, sino en su caso de la receta de las distintas bebidas esto pudiendo variar de 3 a 6 horas con bacterias termófilas y hasta 12 horas con bacterias mesófilas organismo termófilo, después de la fermentación, la mezcla se enfría rápidamente a 15 ° C, luego se agita suavemente para romper los grumos y se le agrega concentrado de jugo puede ser pulpa de fruta y / o sabor artificial el producto terminado se empaqueta y se almacena a 4° grados, al igual que las bebidas no fermentadas, la vida útil esperada del producto es de aproximadamente 30 días, si se almacena en un refrigerador de 4 a 6 ° grados.

Por otro lado, Juliano (2017) menciona que el procedimiento que siguen las bebidas fermentadas tienen cierto grado de similitud con el yogurt, es decir, se requiere de su fermentación integración de hongos que puedan transformar el estado en el que se encuentra, entre ellos varios y diversas proteínas que cambian de acuerdo a la materia prima. Algunas de las bacterias que se puede encontrar son el ácido láctico que requiere de una sola mezcla teniendo como un ingrediente clave la leche pues gracias a ella se pueden desintegrar en otras composiciones que son de mucha ayuda para conseguir las bebidas fermentadas y los sabores que tienen.

**Figura 2**

*Diagrama de flujo para la elaboración de bebidas lácteas fermentadas saborizadas.*



Nota: (Juliano et. al, 2017)

El lactosuero desproteínizado o completo puede ser fermentado para producir una gama de bebidas. La principal ventaja ofrecida por el lactosuero como sustrato para la producción es que tienen un gran valor nutritivo, rehidrata y son menos ácidas que los jugos de frutas. La comercialización de estos productos generalmente enfatiza en la salud y beneficios nutricionales, especialmente si ellas aún contienen las proteínas de lactosuero. Una variedad de bebidas de este subproducto están disponibles en algunos países, aunque ellas son más populares en Europa, representan un sector emergente de productos lácteos no convencionales que requieren características sensoriales, físicas y químicas para el control de calidad y desarrollo del producto (Mawson, 2003).

(Londoño, 2008) Como una bebida fermentada a base de suero como sustrato, se pudo inocular con las bacterias *Streptococcus alivarius* y *Lactobacillus delbrueckii*, una mezcla con sacarosa, jarabe de azúcar, carboximetilcelulosa y crema en leche, que finalmente tuvo un resultado de aceptabilidad de Boisson. Siguiendo en la misma línea, las bebidas fermentadas es el comienzo de todo elemento con el que se busca experimentar nuevos sabores y sustancias referidas a bebidas con un alto grado de proteína. La finalidad que poseen todas las bebidas fermentadas en reemplazar las industriales que no tienen grado de salubridad y en su mayoría dañan la salud de la persona, es decir, busca reemplazar ese gusto por otro que tenga el mismo sabor, pero lleve consigo un valor nutritivo que ayude y optimice su salud como tal. Por otro lado, Londoño (2008) menciona que las bebidas fermentadas que tienen integrado el suero de lactosuero tienen algunas bacterias poco nocivas, pues su fin es que sean aceptadas y procesadas.

## **1.2. Alimentos Fermentados**

Los alimentos fermentados son definidos como todos aquellos que han sido modificados en una vía deseada por la actividad de microorganismos o enzimas. Esos alimentos son productos

apetitosos que se preparan a partir de materia cruda o tratada térmicamente y mediante un proceso en el cual se incluyen microorganismos específicos, adquieren propiedades sensoriales características en cuanto a sabor, aroma, apariencia visual, textura y consistencia, además de una vida de anaquel y seguridad higiénica mayor (Schneider et. al, 2006)

Los alimentos fermentados son componentes esenciales de las dietas de muchas partes del mundo, son importantes por su valor nutritivo y características organolépticas. Se ha visto que durante la fermentación hay una ligera hidrólisis de proteína y una disminución gradual en el total de azúcares (Muzquiz et. al, 2006)

### ***1.2.1. Cultivos Lácticos***

Las Bacterias Ácido Lácticas (BAL) desempeñan un papel importante en los procesos de fermentación; ellas son muy utilizadas en la industria alimentaria, no solamente por su habilidad por acidificar y preservar alimentos de las esporas, sino también su implicación en la textura, sabor, olor y desarrollo de aroma de alimentos fermentados. (Axelsson, 1993)

Las bacterias lácticas son un grupo de microorganismos por varios géneros con características morfológicas, fisiológicas y metabólicas en común. En general las BAL son cocos y bacilos Gram positivos no esporulados, no móviles, anaeróbicos, microaerofílicos o aerotolerantes; oxidasa, catalasa y bencidina negativas; carecen de citocromos, no reducen el nitrato a nitrito y producen ácido láctico como el único o principal producto de la fermentación de carbohidratos (Carr, F J; Chill, D; Maida, N, 2002) (Vásquez, Suárez, & Zapata, 2009). Además, las BAL son ácido-tolerantes; pudiendo crecer algunas a valores de pH tan bajos como 3,2, otras a valores tan altos como 9,6 y la mayoría crece a pH entre 4 y 4,5; permitiéndoles sobrevivir naturalmente en medios donde otras bacterias no aguantarían la aumentada actividad producida por los ácidos orgánicos (Carr et. al, 2002).

Algunos cultivos lácticos se desarrollan de maneras distintas, pero, algo que no se puede obviar que todas ellas poseen bacterias básicas para el proceso de fermentación que se busca. Ya que dichas bacterias cumplen el rol de conservar y preservar las materias primas con las que se trabaja, así mismo, para conservar los alimentos se utilizan texturas, entre otros. Cabe mencionar que las bacterias siempre serán denominadas un grupo de lácteos de microorganismos que tienen como mayor objetivo la sobrevivencia en un medio natural, puesto que algunas no soportarían la estancia de otras bacterias que contienen ácidos orgánicos (Carr et. al, 2002).

**1.2.1.1 Clasificación.** Las BAL pertenecen al phylum Firmicutes que comprende alrededor de 20 géneros: Lactococcus, Pediococcus, Aerococcus, Carnobacterium, Enterococcus, Oenococcus, Tetragenococcus, Vagococcus y Weisella son los principales miembros de las BAL; siendo Lactobacillus es el más grande de estos géneros. Según la fermentación de la Lactosa las BAL se clasifican en homofermentativas (produce solo ácido Láctico) y heterofermentativas (producen ácido Láctico y otras sustancias), según la temperatura de crecimiento en mesófilos y termófilos (Bouzar et.al, 1997).

De acuerdo a la definición que ofrece Bouzar (1997) se comprende que las clasificaciones de los cultivos lácticos tienen integrado un sinfín de características, pues se menciona que poseen en total como 20 géneros que se hallan adecuadamente integrados dentro de la familia ya mencionada, esto debido a que los diferentes tipos dependen exclusivamente de la eliminación de caseína, es decir, a base de la fermentación de que tiene la lactosa del BAL se generan diversas sustancias que son predecibles para el refuerzo y crecimiento de termófilos y mesófilos. Se tiene que entender que dicho lactosuero es conocido también como la sustancia líquida que se consigue por el aislamiento de los coágulos de la leche, ya que es un medio líquido verdoso con el cual se produce o se da la fermentación que sirve para otras medidas experimentales:

- **Homofermentativas.-** El conjunto de estos incluye a *Lactococcus*, *Pebiococcus*, *Enterococcus* y *Streptococcus*, que usan la vía de Embden MeyerhoffParnas al transformar 1 molécula de glucosa en 2 moléculas de ácido láctico, esto además de producir más del 85 % del ácido láctico a partir de la glucosa, por el contrario, las bacterias heterótrofas producen cantidades iguales de lactato, CO<sub>2</sub> y etanol a partir de la glucosa utilizando una ruta como de las hexosas monofosfato o las pentosas y, por lo tanto, producen solo la mitad de la energía del grupo isómero (Almanza & Barrera, 1991).
- **Heterofermentativas.** - Producen solamente 50% de ácido Láctico. Estas fermentan 1 mol de glucosa para formar 1 mol de ácido Láctico, 1 Mol de etanol y 1 Mol de CO<sub>2</sub>. 1 Mol de ATP es generada por mol de glucosa (Devlieghere, Vermeiren, & Debevere , 2004). Este grupo está compuesto de un número de géneros incluyendo: *Lactococcus*, *Lactobacillos*, *InteJococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* y *Pebiococcus*. Este grupo de bacterias contiene la enzima fosfoacetolasa, pero carece de la aldolasa y hexosa isomerasa; así que, en lugar de seguir la vía (EMP), utilizan las vías de la hexosa mono fosfato o la de la pentosa (Almanza & Barrera, 1991).

Cuando se menciona a la heterofermentativas se puede emitir que son aquellas bacterias lácticas que se encargan de transformar la lactosa en un ácido láctico, es decir, contiene diferentes y otros compuestos tales como el di acetilo, pues se usan en la elaboración de quesos para generar acidez básica para la construcción o diseño de evolución en otros productos. Por otro lado, se produce un 50% de ácido que tiene como función mayor la fermentación del ácido láctico. Dentro de ellas se integran diversas bacterias como la *Streptococcus*, *IntenJococcus*, que tienen la finalidad de servir como un fosfato de la pentosa.

Las BAL también se clasifican según la temperatura ideal de crecimiento en mesófilos y termófilos:

- **Mesófilo:** Temperatura ideal de incubación: 20- 25°C, volumen de cultivo líquido 1-2%, tiempo de incubación: 18-20 horas, acidez final 0,8% de ácido láctico. Especies: Lactococcus Lactis subs Lactis, Lactococcus Lactis subs cremoris, Lactococcus Lactis, bio-variedad diacetylactis, Leuconostoc mesenteroides subs cremoris. Utilización: kumis, quesos semi madurados (Blanco et.al, 2006).
- **Termófilas:** Temperatura ideal de incubación: 40-45°C, volumen de cultivo Líquido 2-3 %, tiempo de incubación: 2-4 horas, acidez final 0,9% de ácido Láctico. Especies: Lactobacillus belbruekii Subsp bulgaricus, Lactobacillus Lactis, Lactobacillus helvéticos, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus casei, Lactobacillus plantarum, Streptococcus Salivarius Subsp thermophilus (Blanco et al, 2006).

### 1.3. Alfalfa

(Infoagro, 2019) según la botánica la alfalfa pertenece a la familia de las leguminosas, cuyo nombre científico es Medicago sativa. Se trata de una planta perenne, vivaz y de porte erecto.

#### Tabla 8

*Valor nutritivo de la alfalfa*

VALOR NUTRITIVO DE LA ALFALFA	
Proteína	20,98%
Grasa	1,83%
Fibra	17,53%
Ceniza	11,37%
Humedad	7,00%
Carbohidratos	58,51%
Digestibilidad in vitro	67,19%

Nota: Dirección agraria Puno (2012) “alfalfa: Reyna de los forrajes” recuperado de INIA Cusco 2010.

### ***1.3.1. Características Botánicas***

En cuanto a la raíz principal, es una raíz pivotante de tono fuerte y de crecimiento alto hasta 5 m de largo, con numerosas raíces accesorias, tiene una corona que sobresale del suelo, de la que sobresalen brotes que dan lugar a un tallo.

- Tronco. Son buenas y rectas para soportar el peso de las hojas e inflorescencias, además son muy aptas, por lo que es una planta muy apta para segar.
- Hojas. Tienen tres capas, aunque las primeras hojas verdaderas son uniformes. Bordes lisos con bordes superiores ligeramente dentados.
- Flores. La flor tiene como particularidad de esta familia es la flor de la subfamilia Papilionoidea, mayormente de color azul o violeta, con racimos de flores en las axilas de las hojas.
- Frutas. Es una leguminosa sin espinas que tiene de 2 a 6 semillas de color amarillo pálido, en forma de riñón y de 1,5 a 2,5 mm de largo. pantalones largos. (Sociedad cooperativa general agropecuaria)
- Algunas características botánicas es que la raíz o su crecimiento solo llegaba hasta los cinco centímetros, dentro de estos elementos botánicos se tiene que resaltar todo lo natural y como se lleva el proceso exacto de evolución, es decir, dentro de esta se halla un tronco que es como la parte central ya que soporta todas las hojas o elementos que crezcan al interior de la misma, de otro lado, las hojas son otros elementos que tienen integrados las hojas con diferentes bordes claramente, así mismo, se tienen las flores y frutas que son la última etapa de evolución ya que se tiene un producto un alimento que llega ser comestible pues la fruta llega a poseer entre 2 a 6 semillas (Linneo, 1753).

### 1.3.1.1. Clasificación Taxonómica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Rosidae

Orden: Fabales

Familia: Fabaceae

Subfamilia: Faboideae

Tribu: Trifolieae

Género: Medicago

Especie: *Medicago sativa*

*Nota: (Linneo, 1753)*

### 1.3.1.2. Variedades de Alfalfa

- **Alfalfa WL 350.**- En relación a esta variedad presenta una latencia o dormancia de 3,8, lo que la hace resistente a sequías y tiempo de heladas esto ante las condiciones desfavorables, pueden permanecer en el suelo hasta por 3 meses sin problemas, luego germinan cuando las condiciones son favorables, en zonas montañosas, este período de tiempo de junio a octubre durante el año. Esta alfalfa ha demostrado prosperar con excelentes resultados en altitudes entre 2 600 y 4 200 metros, sola o en combinación con pasto, en suelos con un pH ideal entre 5,5 y 6,8. En relación a su cultivo requiere únicamente agua de lluvia, con riego es aún más rentable. La larga vida útil en el campo después de una buena instalación y manejo es de 15 a 20 años y el rendimiento en terrenos áridos es de 100 y 140 ton/ha de follaje verde al año. Es un forraje muy nutritivo, aporta un 20 % de proteínas, vitaminas, fósforo, potasio, cobre, hierro y nitrógeno por ultimo

está adaptado al pastoreo de ganado y por lo tanto puede producir heno, ensilaje y harina (Caritas del Perú, 2012).

- **Alfalfa Brown 6.-** Es una alfalfa de dormancia 6, su productividad es directamente proporcional al periodo de lluvias del lugar donde está sembrada, se obtiene más cortes en la medida que se alargue el periodo de lluvias y disminuirá si el periodo de lluvias es más corto. Sobre el caso de heladas, se dejará de producir materia verde durante condiciones climáticas extremas. En relación a sus beneficios la Alfalfa es semi-hibernación con producción en invierno. La producción de alfalfa es mayor en las regiones de jalca del Perú. Gran producción en regiones extremadamente áridas y suelos secos. Tiene una copa ancha, poco profunda y enterrada que le permite soportar los peores períodos de sequía y heladas y se recupera rápidamente en primavera. Haciendo referencia a la alfalfa se tiene conocimiento que su tiempo de estancia era larga un próximo de 3 meses dependiendo de la temperatura que se presentara, también se presencian diferentes tipos de alfalfa siendo una de ellas el Brown 6, es decir, su crecimiento se da más que todo cuando hay lluvia en la zona su crecimiento es rápida y algunas veces la conocían como maleza, pues su reacción o evolución se da por la presencia de lluvias. Ahora los espacios donde más se presenciaba el crecimiento de alfa era en Jalca donde el crecimiento como tal era de manera masiva, así mismo, esta alfalfa crece en espacios de temperaturas altas pueden ser montañas, cerros, etc. (Caritas del Perú, 2012).

Especificaciones

Producción 24 a 28 ton- MS/ha/año

Nº cortes 4 a 7 cortes por año

Tamaño 60 a 70 cm.

Longevidad 5 a 8 años

Adaptación Tierras bajo secano o riego por encima de los

3500 m.s.n.m.

Tolerancia a sequía Muy buena

Enfermedades Resistencia a enfermedades de raíz.

Plagas Moderada resistencia a pulgón azul.

Proteína 24%

Energía 6.5 MJ/Kg MS (Agencia agraria peruana, 2013)

- **Alfalfa WL 440.**-Es una variedad semi-dormante de dormancia 6, de alto rendimiento y superior calidad alimenticia. Tolera condiciones de frío intenso. Con cortes de 5 a 7 cortes por año. De familia de alfalfas, sub familia alfalfas semi dormantes. (Hortus, 2013)

### ***1.3.2. Extracto Foliar de Alfalfa***

Es el concentrado de las hojas obtenido de la separación de los nutrientes de la fibra insoluble, el principio para la obtención de este concentrado reside en la termo coagulación de sus proteínas (precipitación de proteína a alta temperatura). Desde la década de 1940 hasta la actualidad, una intensa investigación en todos los aspectos en todos los aspectos de producción, bioquímica, toxicología y sus impactos en consumo de EFA en particular, ha sido liderado en muchos países por los precursores de la APEF, luego bajo el impulso de la propia asociación. En todos los resultados indicaron, sin excepción, la inocuidad del producto y demostraron la variedad, extensión y rapidez de los beneficios inducidos por su consumo, así como atestiguada por una extensa bibliografía. (Association pour la Promotion des Extraits Foliares en nutrición, 2009)

El extracto foliar es rico en minerales y vitaminas, especialmente en los dos micronutrientes más deficitarios en la dieta nicaragüense (vitamina A y hierro). El extracto foliar presenta también proteínas de alta calidad (aminoácidos esenciales), ácido fólico, vitamina E y otros minerales incluyendo calcio, zinc, magnesio y cobre (Van Wissen , 2003)

**Tabla 9**

*Composición nutricional de hoja y EF de alfalfa*

ALFALFA	Hierro (mg/Kg )	Zinc (mg/Kg )	Nitrógeno (g/Kg)	Proteína soluble (g/Kg)	Triptófan o (%)	All- trans-β- caroteno (mg/Kg)	Ácido Cianhídrico total (mg/Kg)	Materia seca (%)
Extracto	327,17±	11,63 ±	82,97±	13,61±	0.374±	57,54±	No Aplica	94,41±0.16
foliar	14,23	0,25	14,91	2,38	0.13	0.049		
Hoja	174,49±	84,08±	55,12±	65,26±	0,198±	373,73±	638,33±	31,18±
	6,79	1,01	23,03	6,06	0,03	0,45	33,62	0,43

Nota: Recuperado de (Pico, y otros, 2011)

#### 1.4. Panela (Chancaca)

Según la región este producto recibe diferentes denominaciones, es así que en Colombia y Ecuador se lo llama “panela”; en Venezuela, “papelón”; en Costa Rica, “tapa de dulce”; en Guatemala, Brasil y Panamá es “rapadura” y en México recibe el nombre de “piloncillo”; en Perú, Ecuador y Chile, “chancaca”; en Costa Rica, “papelón”; en Venezuela y algunos países centroamericanos, “raspadura”; en Cuba, Brasil y Bolivia; “azúcares orgánicos de merara y muscovado”; en Filipinas e Isla Mauricio, “jaggery o gur”; en India y el sur de Asia. (Obando, 2010).

La panela se obtiene de la caña de azúcar (*saccharum officinarum*) que es una gramínea tropical emparentada con el sorgo y el maíz, en cuyo tallo se forma y acumula un jugo rico en sacarosa. La panela presenta mayor pureza que el azúcar corriente porque es el resultado exclusivo

de la evaporación de los jugos de la caña y de la siguiente cristalización de la sacarosa, sin que se someta a procesos de refinado o centrifugado o a otro proceso químico, por esta razón, la panela es un producto natural que mantiene casi la totalidad de los nutrientes de la caña de azúcar. No obstante, la panela es un alimento con un valor nutricional muy especial, es así como también está compuesto por carbohidratos junto con vitaminas, proteínas, grasas, agua, minerales y calcio. El sistema de Información de Mercados del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, comentó en el título de noticias sobre el mercado Panela y en tanto como las propiedades como el fósforo, el hierro, el sodio, el potasio y el magnesio son importantes en la dieta, especialmente para los niños. (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2002)

Como también se le cargan propiedades tanto medicinales, por ejemplo, la panela se utiliza para controlar, aliviar los resfríos y como un cicatrizante natural de las llagas periféricas; en el país de la India se le llama azúcar medicinal porque se usa para tratar los problemas pulmonares, como expectorante, para indigestión y estreñimiento, así como antiguos libros hindúes indican que se usaba para la purificación de la sangre y prevenir dolores reumáticos y trastornos biliares. (Codex alimentarius , 2005)

La panela según Obando (2010), tiene diferentes definiciones como significados en todas partes del mundo destacando entre ellas costa Rica, Venezuela, Chile, Ecuador, pues su origen se da en la caña de azúcar es un elemento tropical de maíz donde se acumulaba un rico jugo que poseía la sacarosa. Su mayor finalidad es endulzar los alimentos y consumos que realizaban las personas pues su pureza en el azúcar es usada en todos los países que buscan sacarle provecho de consumo para la alimentación de las personas. Entonces mencionados las propiedades de la panela se reconoce que como tiene alto grados nutritivos también posee niveles calóricos y grasas naturales que eran beneficiosas hacia la salud de las personas.

**Tabla 10**

*Tabla Peruana de composición de alimentos - productos azucarados (100 g alimento)*

Código	Nombre del alimento	Energía	Agua	Proteína	Grasa	Carbohidrat	Fibra
		Kcal	g	g	g	o disponible	dietario
						g	g
K1	Azúcar refinada	384	0,6	0,0	0,0	99,2	0,0
K2	Azúcar rubia	380	2,0	0,0	0,0	97,5	0,0
K3	Chancaca	324	15,8	0,0	0,0	83,9	0,0
K4	Miel de abeja	330	14,1	0,0	0,0	85,6	0,2
K5	Miel de caña	282	26,3	0,3	0,2	72,0	0,0

Código	Ceniza	Calcio	Fósforo	Zinc	Hierro	Riboflavina	Niacina	Vitamina
	g	mg	Mg	mg	mg	mg	mg	C
								mg
K1	0,2	1	0	0,00	0,10	0,02	0,00	0,00
K2	0,5	45	2	0,18	1,70	0,03	0,06	0,00
K3	0,3	46	2	0,29	3,20	0,11	0,08	0,00
K4	0,3	26	10	0,22	0,40	0,03	0,16	1,30
K5	1,2	69	43	-	1,00	0,08	0,29	5,10

Nota: Recuperado de (Reyes García, Gómez, Sánchez Prieto, & Espinoza Barrientos, 2017)

### 1.5. Calidad Proteica

La calidad proteica depende del tipo de aminoácidos que la componen, si una proteína es deficiente en uno o más aminoácidos esenciales entonces tienen baja calidad, puesto que la síntesis proteica requiere la disponibilidad de todos los aminoácidos que la integran. Una proteína de alta calidad tiene todos los aminoácidos en las proporciones adecuadas. También influye la digestibilidad de la proteína y otros factores, como la energía que recibe un individuo (León, 2006).

Los ingredientes se diferencian unos de otros no sólo en el contenido de proteína bruta, sino también y de una forma sustancial en su composición de aminoácidos. Los ingredientes de origen animal se caracterizan por su excepcional contenido de lisina y aminoácidos azufrados, mientras que los insumos de origen vegetal se caracterizan por ser deficitarios en metionina y cistina. Los aminoácidos esenciales deben suministrarse necesariamente en la dieta, puesto que el organismo no puede sintetizarlos por sí mismo. (Castro & Avilía M, 1993)

### 1.6. Digestibilidad de la Proteína

La digestibilidad de la proteína corresponde a la proporción de nitrógeno ingerido que se ha absorbido. El organismo por lo regular excreta entre 10 y 25% del nitrógeno, sólo una parte de este proviene directamente del nitrógeno dietético que no se absorbió; la otra parte resulta de la proteína de las otras secreciones del tracto gastrointestinal durante el proceso de la digestión y la bacteria fecal. Este valor también se puede dar en fracción o en porcentaje (Velásquez Uribe , 2006) (Gómez et. al, 2005)

$$D = \frac{N \text{ Adsorbido (NA)}}{N \text{ Ingerido (NI)}} * 100$$

**Tabla 11***Valores de digestibilidad de proteínas*

Fuente proteico	Digestibilidad media	D relativa a proteína de referencia
Huevos	97	100
Leche y queso	95	100
Carne y pescado	94	100
Maíz	85	89
Arroz	88	93
Trigo	86	90
Harina de soja	86	90

Nota: (Gómez Candela, Cos Blanco, & Mateo Lobo, 2005)

### **1.6.1. Digestibilidad in vitro**

Los ensayos de digestibilidad son tan laboriosos de llevar a cabo que se han hecho numerosos intentos para reproducir en el laboratorio las reacciones que tienen lugar en el tracto digestivo, con objeto de poder determinar la digestibilidad de los alimentos por métodos rápidos. Uno de estos métodos es el de digestibilidad in vitro, de acuerdo a un gran número de trabajos, predice la digestibilidad in vivo con alto grado de precisión (Clard y Mott, 1960; Tilley y Terry, 1963; citados por (Lascano, 1990).

El método Tilley y Terry (1963) fue el precursor del método de fermentación in vitro en dos etapas, generalmente los métodos desarrollados posteriormente son en su mayoría modificaciones de este, como el propuesto por Schimid et al. (1975) que incorpora "buffer" como fuente de nitrógeno. Otra modificación al método Tilley y Terry es la de Van Soest et al., (1966) que sustituye la pepsina de la segunda etapa por solución 108 detergente neutro para determinar

FDA, es decir, solubiliza la pared celular bacteriana y los productos endógenos, además de la proteína (Cañas, 1995).

(Hsu et al, 1997) ha desarrollado un método *in vitro* que utiliza un sistema multienzimática para la estimación de la digestibilidad *in vitro* que consta de tripsina, quimotripsina y peptidasa. Encontró que el pH de una suspensión de proteína inmediatamente después de 10 minutos de digestión con la solución multienzimática estaba altamente correlacionado con la digestibilidad aparente *in vivo* de las ratas. Los análisis de regresión de 23 muestras analizadas mostraron que el coeficiente de correlación entre pH, 10 min y la digestibilidad aparente *in vivo* fue de 0,90 con un error estándar de estimación de 2,23; la ventaja más significativa de este método *in vitro* fue que se puede completarse en 1 hora y con alto grado de sensibilidad.

(Boisen & Fernández, 1991) es un método enzimático *in vitro* de dos pasos con incubación de pepsina y pancreatina para estimar la digestibilidad prececal de la materia seca y el nitrógeno, también es un método enzimático de tres pasos con incubación de pepsina, pancreatina y un complejo enzimático degradante de fibra microbiana para estimar la digestibilidad postileal de la materia seca. La digestibilidad *in vitro* de materia seca de ocho alimentos comunes estuvo altamente correlacionada con los valores de digestibilidad ileal y fecal de la materia seca, así como energía. De las diferencias entre *in vitro* e *in vivo* de nitrógeno digestible, aminoácidos, las pérdidas endógenas de nitrógeno, se calcularon los aminoácidos. Las pérdidas se correlacionan linealmente con materia seca no digerida en el procedimiento de dos pasos. En base a estos resultados un modelo para calcular la digestibilidad neta, correspondiente a la digestibilidad aparente ileal de nitrógeno y aminoácidos, se propone en mezclas alimenticias.

### **1.6.2. La Pepsina**

Es una enzima digestiva que en la presencia de un medio ácido desdobla las proteínas del alimento. Colocando una muestra de la materia prima que se desea analizar en una solución que contenga pepsina y midiendo qué cantidad de proteína es digestible, podemos estimar el valor nutritivo relativo de dicha materia prima. Es muy importante tener en cuenta que en el tracto digestivo existen otras enzimas que también ayudan a desdoblar las proteínas y que las condiciones son mucho más complejas que las que pueden simularse en un laboratorio, por lo tanto, los resultados de porcentaje de digestibilidad en pepsina que obtengamos mediante este método nunca deberán confundirse con la digestibilidad verdadera de la materia prima (Fundación Chile, 1999)

### **1.6.3. El Ambiente In Vitro**

El objetivo en la creación de un ambiente artificial in vitro es favorecer las condiciones experimentales o el máximo desarrollo de los microorganismos introducidos en el inoculo. Los factores que tiene que ser controlados son la temperatura, pH, tiempo de incubado, agitación anaerobiosis y nutrientes para los microorganismos (Ministerio de agricultura, 1972), así como, la preparación de las muestras y las proporciones enzima sustrato.

En cuanto a la preparación de las muestras hay que tener en cuenta el tamaño de las partículas y el tamaño de la muestra, en general, la criba comúnmente utilizada para la muestra es menor a 1 mm de diámetro y se prepara entre 0,5 y 1 g de alimento a ser evaluado (Hervera, Baucells, & Blanch, 2007).

## **1.7. Métodos para Determinar la Digestibilidad In Vitro**

El método de digestibilidad por pepsina validado por (AOAC 971.09, 2005) pues se usa en muestra desengrasada por extracción soxhlet con éter. Se usa una solución de pepsina al 0,02% preparada en HCl 0,075 M incubándose a 45 °C durante 16 horas mientras se agita (15 rpm), después se filtra y el residuo se lava con agua destilada o acetona, después se seca para

posteriormente determinar en contenido proteico del digerido y de la muestra original por método kjendahl.

$$\text{Protien digestibility (\%)} = 100 - (A/B) * 100$$

Dónde: A es el contenido de proteína bruta total del residuo obtenido (mg) y B es el contenido de proteína bruta total en la muestra (mg).

También se tiene el método pH-stat y pH drop o de caída de pH de 3 enzimas, referenciado por (Lazo, Romaine, & Reigh, 1998), dado que la tasa inicial de liberación de péptidos y la digestibilidad de proteínas están asociadas, la cual se calcula a partir de la disminución de pH o consumo de NaOH, debido a la proteólisis que incide en la reducción de pH por la liberación de protones del enlace peptídico. Se realiza una solución de 18 mg de muestra en 10 ml de agua destilada, después de que la mezcla este bien agitada durante 1 hora a temperatura ambiente, se ajusta el pH a 8,0 con NaOH 0,1 N; a continuación, se mezclan de enzimas que contienen 1.6 mg/ml de tripsina, 3.1mg/ml de quimotripsina y 1.6 mg/ml de Flavourzyme 500 mg. El pH de la proteína se registra a intervalos de 1 minuto durante 10 minutos, la digestibilidad relativa de la proteína (RPD)se calcula con la caseína como referencia.

$$\text{RPD(\%)} = \frac{-\Delta\text{pH of ingredient}}{-\Delta\text{pH casein}} * 100$$

Dónde:  $-\Delta\text{pH}$  de ingrediente es cambio porcentual de caída de pH y  $-\Delta\text{pH casein}$  es la caída de pH de la enzima caseína

## 1.8. Formulación de Alimentos

El diseño y programación de una dieta deberá basarse en los resultados de una valoración inicial y completa del estado nutricional para comprobar si son necesarias modificaciones en la ingesta de energía, nutrientes, líquidos, consistencia de la dieta, frecuencia de las comidas, etc. Las necesidades de proteína varían a lo largo de la vida: los bebés, los niños y los adolescentes las necesitan para crecer, las gestantes para el desarrollo del feto y las lactantes para la producción de leche. (Carbajal Azcona, 2013).

La ingesta recomendada de proteína es de 0.8g/Kg de peso corporal y por día. Como objetivo nutricional el rango aceptable de distribución de macronutrientes en proteínas es de 10-15% Kcal, se requiere 50 g en una dieta basada en 2000Kcal (1 g de proteína equivale a 4 Kcal) (Carbajal, 2013).

Existen varios métodos que se emplean para balancear alimentos desde lo más simple hasta lo más complejo, entre ellos tenemos modelos matemáticos: prueba y error, ecuaciones simultaneas, cuadrado de Pearson, programación lineal y no lineal (Montes et al, 2017).

## 1.9. Evaluación Sensorial

Disciplina científica usada para evocar, medir, analizar e interpretar reacciones hacia las características de los alimentos y materiales (Lawless et., 2004) (ASTM). Al consumir un alimento se estimulan diferentes sentidos (Etaio et. al, 2007) (Witting , 2001).

- Estímulos Visuales: color, brillo, forma de la presentación los estímulos de tipo táctil son percibidos por las superficies de las manos o la boca si es: grueso, liso, grueso, líquido, gelatinoso, succulento, fibroso, grumoso, pulverulento, graso.
- Estímulos Aromáticos: percibidos por el epitelio olfativo como el olor como de la frescura, lavanda, el ácido, etc.

- Estímulos Auditivos: chiclosos, vívidos, chispeantes, crujientes.
- Estímulos Gustativos: percibidos por las papilas gustativas: dulce, salado, ácido por último la evaluación sensorial nos informa en relación a la calidad de los alimentos que se ingieren y las expectativas del consumidor.

Cuando se mencionan a las exámenes sensoriales, es la manera en como las personas logran percibir las cosas externas entre ellas alimentos, etc. Haciendo mención a los medios sensoriales y lo que se puede conseguir con las mismas, están los estímulos visuales con los que se perciben diferentes situaciones y lo que no llega a consumirse, de otro lado, los aromáticos ya que las personas tienden a percibir olores para reconocer las cosas si es agradable como no agradable y los estímulos gustativos donde pasan todos los medios comestibles que la persona consume para poder saber si seguía siendo de su gusto como no. Finalizando en los estímulos auditivos ya que por ellos se escuchan sonidos como chispeantes, crujientes, de algún alimento que se consumirá, por tal motivo, todo pasa por medios sensoriales que la persona examina detalle a detalle (Witting, 2001).

### ***1.9.1. Clasificación y Objetivos de la Evaluación Sensorial:***

En su clasificación existen tres tipos de pruebas sensoriales, que se aplican en función de la finalidad o aspecto que queramos valorar del alimento o de la forma en que se prepara, y su idoneidad para la aceptabilidad del consumidor.

**Tabla 12***Clasificación de las pruebas sensoriales*

<b>Clasificación</b>	<b>Objetivo</b>	<b>Pregunta de interés</b>	<b>Tipo de prueba</b>	<b>Características de panelistas</b>
Discriminatoria	Determinar si dos productos son percibidos de manera diferente por el consumidor	¿Existen diferencias entre los productos?	Analítica	Reclutados por agudeza sensorial, orientados a la método usado, algunas veces entrenados
Descriptiva entrenados	Determinar la naturaleza de las diferencias sensoriales	¿En qué tipos de características específicas difieren los productos?	Analítica	Reclutados por agudeza sensorial y motivación, entrenados o altamente
Afectiva	Determinar la aceptabilidad, preferencia o satisfacción de consumo de un producto	¿Qué productos gustan más y cuáles son los preferidos?	Hedónica	Reclutados por uso del producto, no entrenados

Nota: Tomado de (Liria Domínguez, 2007)

**1.9.2. Tipos de jueces**

Según Sancho et. al, (1999) la selección y el entrenamiento de las personas que tomarán parte en pruebas de evaluación sensorial son factores de los que dependen en gran parte el éxito y la validez de las pruebas.

La capacidad y rendimiento de los jueces en las pruebas sensoriales se ven afectadas por muchos factores. La selección y entrenamiento de jueces apropiados es un proceso esencial, que

requiere mucho tiempo dentro de la planificación de cualquier análisis sensorial, existen cuatro tipos de jueces:

- **Juez Experto.** - Es una persona que tiene gran experiencia en probar un determinado tipo de alimento, posee una gran sensibilidad para percibir las diferencias entre muestras y para distinguir y evaluar las características del alimento.
- **Juez Entrenado o panelista.** - Es una persona que posee bastante habilidad para la detección de alguna propiedad sensorial, o algún sabor o textura en particular, que ha recibido cierta enseñanza teórica y práctica acerca de la evaluación sensorial y que sabe exactamente lo que se desea medir en una prueba.
- **Juez semi entrenado o de laboratorio.** - Personas que han recibido un entrenamiento teórico similar al de los jueces entrenados, que realizan pruebas sensoriales con frecuencia y posee suficiente habilidad, pero que generalmente participan en pruebas discriminativas sencillas, las cuales no requieren de una definición muy precisa de términos o escalas.
- **Juez consumidor.** - Se trata de una persona que no tiene nada que ver con las pruebas, ni trabajan con alimentos como los investigadores o empleados de fábricas procesadoras de alimentos, ni han efectuado evaluaciones sensoriales periódicas. Por lo general son tomadas al azar.

### 1.10. Diseños experimentales

Existen en general dos formas de adquirir datos; a través de un diseño de muestreo (tipo observacional) o de un diseño experimental (al menos se controla una variable) (Montoya et. al, 2011). Se ha identificado tres categorías generales de diseños experimentales: a) experimento verdadero, b) cuasi experimento y c) pre-experimentos; la principal diferencia radica en el grado

de control que se impone a las variables de estudio, presencia de grupo control, selección aleatoria de sujetos o asignación aleatoria de tratamientos a grupos. Los diseños factoriales están dentro de la categoría de experimentos puros o verdaderos como diseños de grupo de control con posttest únicamente, donde el investigador manipula dos o más variables independientes e/o incluyen dos o más niveles, la denominación de este tipo de diseño se hace por el número de variables y/o niveles. Como ejemplo tenemos a  $2^k$  (k factores con dos niveles), AXB (dos factores con A y B niveles) (Campbell & Stanly, 1966).

## Capítulo II

### Materiales y Métodos

La investigación realizada ha sido de intervención experimental con planificación prospectivo de variables analíticas y con medidas transversales.

#### 2.1. **Ámbito de estudio**

El presente trabajo de investigación se desarrolló en las siguientes instalaciones: Procedimientos para la obtención de la bebida fermentada a partir de lactosuero dulce con extracto de hoja de alfalfa endulzado con panela se realizó en un laboratorio de análisis del departamento de alimentos de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial que se encuentra en la localidad de Sicuani. Latitud  $1^{\circ} 16'12''$  S, longitud  $71^{\circ} 13'5''$  W a 3500 m.s.n.m., de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco.

El análisis fisicoquímico se realizó en los laboratorios de la Escuela Profesional de Agronomía de La Universidad Nacional del Altiplano, ubicado en la región Puno (Latitud  $15^{\circ}50'36''$ S, longitud  $70^{\circ}01'25''$ O y una elevación 3827 m.s.n.m.).

La evaluación de la digestibilidad in vitro se realizó en el laboratorio de la Escuela profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Altiplano.

El análisis sensorial se realizó en la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial ubicado en la Av. Arequipa S/N de la ciudad de Sicuani de la UNSAAC.

El análisis de microbiología se realizó en laboratorio LAASA LAB ubicado en la ciudad de Cusco.

## 2.2. Materiales y Equipos

### 2.2.1. *Materias Primas*

- Lactosuero de queso fresco fue obtenido de la planta procesadora de quesos LB. LanPer del distrito de Langui provincia de Canas.
- Alfalfa (*Medicago sativa*) variedad WL 350 se ha obtenido de la comunidad campesina de Suyo del distrito de Sicuani.

### 2.2.2. *Insumos*

- Cultivo láctico LYOFASST SACCO Y 456 B (*Lactobacillus Delbrueckii* sub. *bulgaricus* y *Streptococcus Thermophilus*).
- Panela Orgánica (*Saccharum officinarum* L.)

### 2.2.3. *Instrumentos de Vidrio de Laboratorio de uso volumétrico*

- Pipeta clase A: capacidad de 10 ml, marca de Pyrex, 10 mm de diámetro y 360 mm de longitud.
- Matraz Erlenmeyer: material de vidrio borosilicatado de 250 ml de capacidad marca Pyrex.
- Probeta: de capacidad de 500 ml, material de vidrio borosilicatado marca Pyrex.
- Bureta Mohr de capacidad de 250 ml, material de vidrio borosilicatado, marca Hirschmann
- Agitador de 150 mm de altura, peso de 10 g, material vidrio borosilicato y resistente a temperaturas entre -31°C y 450 °C.
- Tubos de ensayo borosilicatado de 2 cm de ancho y 10 cm largo.
- Vaso precipitado borosilicatado de vidrio 500 ml.
- Placa de Petri borosilicatado.

#### **2.2.4. Instrumentos de Laboratorio de uso específico**

- Termómetro digital de Aguja de 0-120 °C marca Omron
- Lactodensímetro de 1.015-1.040 g/ml a 20 °C. marca Gerber
- Potenciómetro de 0.0—14 pH a (-5°C—80°C) marca PCE-PH 22
- Refractómetro de 0—32°Brix (20°C) marca HR10
- Balanza analítica modelo PCE-LS 2000, capacidad de Min 5 g y Max 2000 g  $\pm$  0.01
- Agitador magnético marca CAT modelo M6 de 0-1600 rpm y 0-400°C de Temperatura.
- Contador de colonias Marca LYGHTBOX modelo Petite

#### **2.2.5. Equipos de laboratorio**

- Micro Kjeldahl marca Tecator modelo KJELTEC SYSTEM 1002 Distilling Unit
- Equipo extractor soxhlet (matraz, sifón, Fuente de calor y refrigerante)
- Estufa de secado LAB INCUBADOR NO IN-601 T°100 °C y 180 min.
- Campana extractora de gases Marca Ezermeister ISZ
- Incubadora (baño maría) marca MEMMERT modelo WB7 T° max 95°C.
- Mufla Marca LABOR MÜSZERIPARI MÜVEK T° max 900°C
- Liofilizador Marca BUCHI LYOVAPOR modelos L200
- Autoclave Modelo LS-B50L temperatura máxima 134°C y presión de 0.22 Mpa.

#### **2.2.6. Materiales**

- Botella de polietileno de alta densidad de 300 ml
- Licuadora marca Oster BLSTBPST de potencia de 700 Watts.
- Olla industrial de acero inox de alta calidad de 21%, 32 cm de diámetro y 32 cm de altura, de 25 l de capacidad.
- Olla industrial de acero inoxidable 10 l de capacidad, marca Record.
- Cocina industrial de dos hornillas marca Surge

- Hisopo de laboratorio
- Gradilla de metal
- Soporte Universal
- Propipeta de goma
- Papel aluminio
- Papel filtro de laboratorio
- Pinza de crisol
- Mechero Bunsen
- Embudo de Vidrio
- Desecadora de vidrio
- Molino de cuchillas Bosch, modelo TSM6A013B de 180 watts.

#### **2.2.7. Reactivos para la acidez**

- Hidróxido de Sodio 0.1 N
- Fenolftaleína

#### **2.2.8. Reactivos para la digestibilidad**

- Tampón fosfato 0.1 M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$
- Ácido clorhídrico 0.2 M  $\text{HCl}$
- Hidróxido de Sodio  $\text{NaOH}$  1M
- Pepsina de la mucosa gástrica porcina, 25 mg powder  $\geq 250$ units/mg solid, marca SIGMA, lote BCBQ7633V
- Cloranfenicol 0.5 ml (Antibacteriano)  $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_5$
- Pancreatina de páncreas porcino marca SIGMA, lote SLBTSS47
- Ácido acético  $\text{CH}_3\text{COOH}$
- Etanol 96%  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$

- Acetona 99.5% C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O

### **2.2.9. Reactivos para el análisis microbiológico**

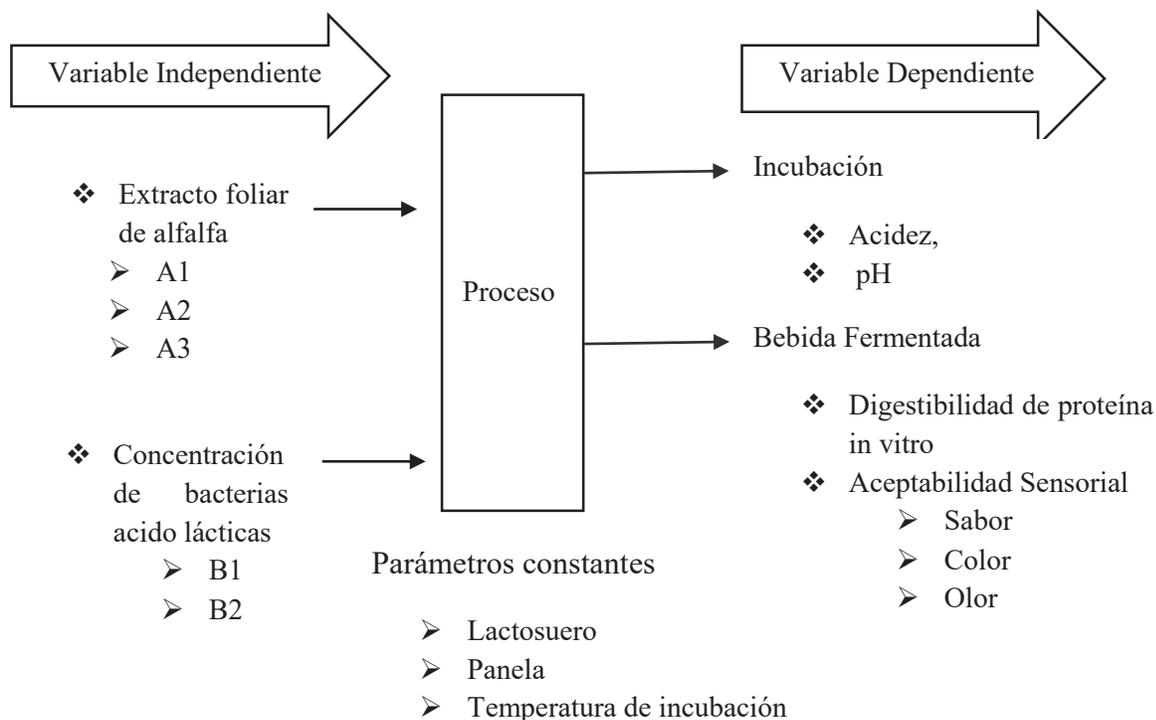
- Medio de cultivo OGY agar
- Medio de cultivo PDA agar
- Medio de cultivo Baird parked
- Medio de cultivo Maccon key

### **2.3. Bases legales**

- Ley de inocuidad de los alimentos “Decreto Legislativo N° 1062” El Peruano, 28 de junio de 2008 (Ley) 03 de julio de 2008 (Fe de erratas)
- Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano (proyecto de actualización de la R.M. n° 615-2003 sa/dm); capítulo iv de los grupos de alimentos y criterios microbiológicos
- Norma del Codex para leches fermentadas Codex Stan 243-2003 (Las bebidas a base de leche fermentada)
- Norma Técnica Peruana 202.001:2016 LECHE Y PRODUCTOS LÁCTEOS. Leche cruda. Requisitos, 6ª Edición (Determinación de acidez. Método volumétrico)

## 2.4. Diseño de la investigación

VARIABLES EN ESTUDIO:



### 2.4.1. Determinación de la Formulación Preliminar

La cantidad utilizada de lactosuero como matriz alimentaria fue constante de 300 ml, la cual contenía la concentración extracto de alfalfa recomendada por día.

La posología según, Dillon (1994), nutricionista especializado en extracto de alfalfa como suplemento nutricional, es de 10 g por día en niños; para adultos, mujeres embarazadas y ancianas en dosis que fluctúa de 10 g a 15 g por día. También la Asociación para la promoción de extractos foliares “APEF” (1998) indica dosis de 6 g a 10 g en niños por día. Que la cantidad de EFA de determinó de 6, 8 y 10 % por pruebas preliminares experimentales en base a la suspensión de las partículas de EFA en el lactosuero.

**2.4.1.1 Determinación de la Formulación Real.** En el presente trabajo se seleccionó 3 niveles del factor Extracto foliar de alfalfa para ello se calcula los porcentajes de la concentración de la misma en muestra (solución)

$$\% m/v = \frac{m \text{ soluto}}{v \text{ solución}} \times 100 \quad \rho = \frac{m}{v} \quad \rightarrow \quad m(ls) = v(ls)\rho(ls)$$

Para A1 g de EFA  $\% m/m = \frac{6g}{300ml\rho+6g} \times 100$  entonces ha sido de 1,92 %(m/m)

Para A2 g de EFA  $\% m/m = \frac{8g}{300ml\rho+8g} \times 100$  entonces ha sido de 2,54 %(m/m)

Para A3 g de EFA  $\% m/m = \frac{10g}{300ml\rho+10g} \times 100$  entonces ha sido de 3,2 %(m/m)

También se seleccionó 2 niveles del factor cultivo láctico (bacterias ácido lácticas) de acuerdo a las indicaciones de uso de la marca comercial que influenciarán en las características de la bebida.

Para B1 de BAL ha sido 2%

Para B2 de BAL ha sido 3%

## 2.4.2. Procedimiento y Recolección de Datos

### 2.4.2.1. Descripción del Proceso de obtención de lacto Suero Pre Tratado

**Estandarización.** -Se procedió el control de calidad del Lactosuero; se determinó la acidez menor a 20 °Dornic, pH mayor a 6 y densidad que oscila en 1.026g/ cm<sup>3</sup>; de acuerdo a los requerimientos.

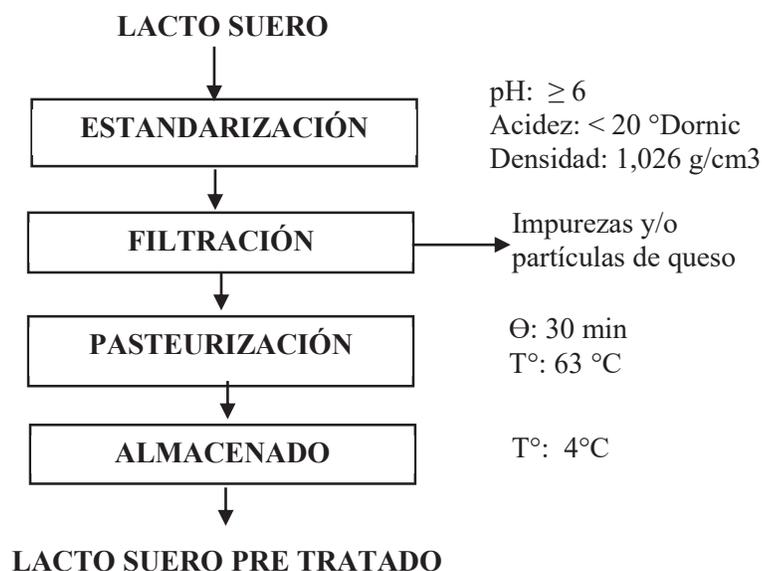
**Filtración.** - Se filtró el lactosuero con ayuda de un colador de acero inoxidable para eliminar los residuos de queso o extraños que no pertenecen y/o impurezas.

**Pasteurización.** - El pasteurizado se hizo en una olla de acero inoxidable a una temperatura de 63°C por un tiempo de 30 min removiendo en todo momento.

**Almacenado.** – Se almacenó en botellas de vidrio debidamente desinfectadas a temperatura de refrigeración de 4°C y así obtendremos el lactosuero pre tratado.

**Figura 3**

*Diagrama de flujo de la elaboración de lacto suero pre tratado*



#### 2.4.2.2. Descripción del Proceso de Obtención de Extracto Foliar de Alfalfa

**Selección.** – Se seleccionó 16 Kg de alfalfa, se realizó la eliminación de alfalfas amarillas o en mal estado y la separación de impureza (otras flores tales como nabos, pastos, cebada entre otros).

**Lavado y desinfección** - Se procedió al lavado de las hojas de alfalfa utilizando 100 ppm (0.1 ml) de hipoclorito de sodio por litro de agua potable por 5 minutos y se enjuago con abundantes chorros de agua.

**Licuada.** – Para la extracción de zumo de alfalfa se utilizó una licuadora semi industrial marca Oster, añadiendo agua en la proporción 1 a 2 y la molienda en un tiempo de 2 min.

**Prensado.** – Se realizó a través de una tela organza separando de la parte solida (fibra indigerible) todo el jugo verde de pH 7 presente en la pulpa de la hoja.

**Termocuagulación.** – En seguida se le realizó el tratamiento térmico al zumo de alfalfa a 84 °C por 2 minutos utilizando una olla de acero inoxidable y una cocina industrial.

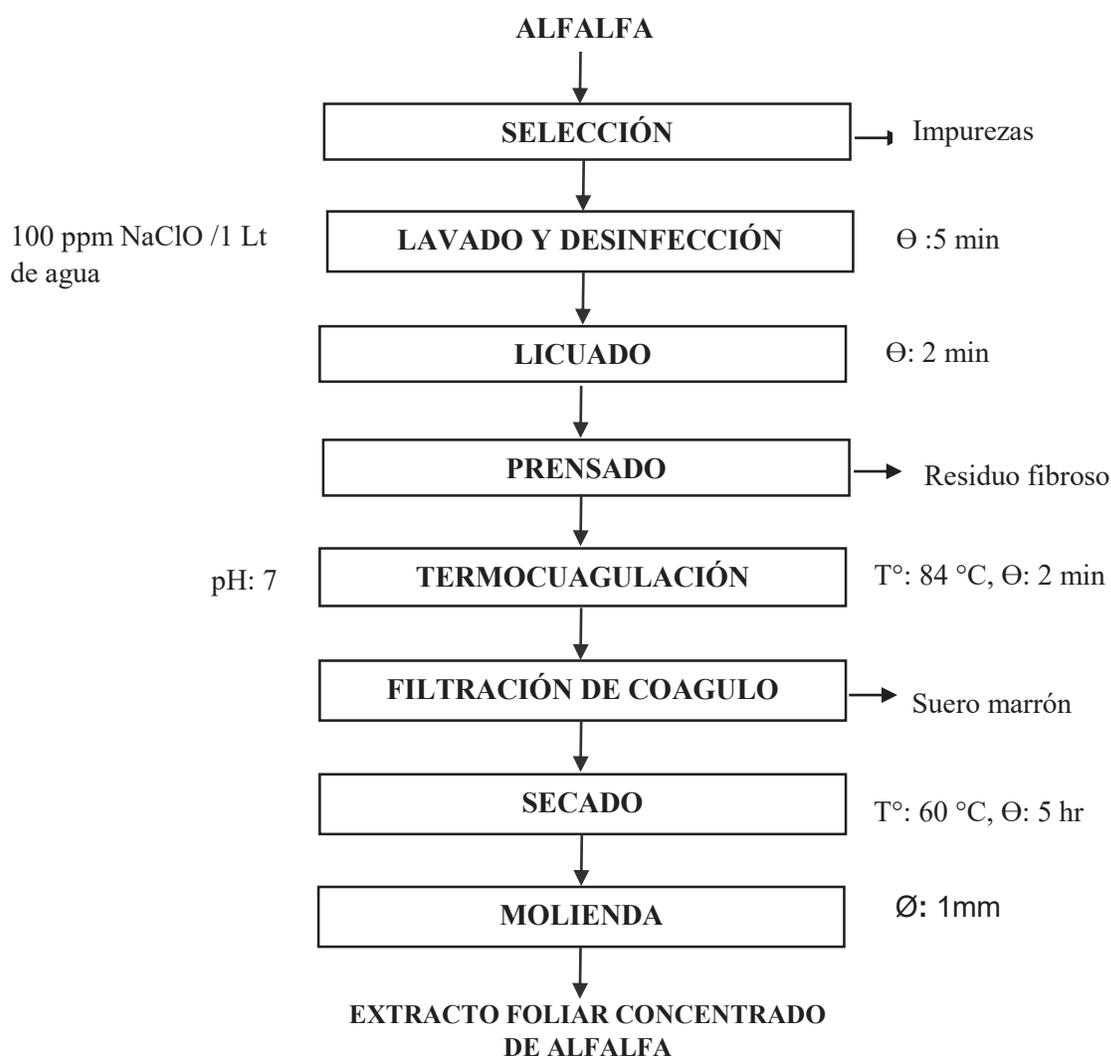
**Filtración.** – Se separó por filtración el coágulo verde del líquido a través de una tela organza y así obtuvimos el extracto foliar de alfalfa en base húmeda.

**Secado.** - Después de obtener el coágulo (extracto foliar), esta fue sometida a temperatura de 60 °C con circulación de aire en una estufa de secado hasta obtener 10 % de humedad.

**Molienda.** - Se molió con un molino de cuchillas el extracto foliar de alfalfa para obtener una harina de color verde de 700 g de peso (siendo 4,37% el rendimiento), almacenando en bolsas de polietileno.

**Figura 4**

*Diagrama de flujo de la elaboración de extracto foliar de alfalfa*



*Recuperado de association pour la promotion des Extraits foliaires en nutrition (APEF)*

### **2.4.2.3 Descripción del Proceso de Obtención de una Bebida Fermentada a Partir de Lacto suero con Extracto Foliar de Alfalfa Edulcorado con Panela.**

**Mezclado.** - Se mezcló el lactosuero pre tratado, el extracto foliar de alfalfa y la panela granulada en un recipiente de acero inoxidable.

**Acondicionamiento.** - Se acondicionó la mezcla a una temperatura de 40°C.

**Inoculación.** - Se inoculo el cultivo liofilizado SACCO LYOFASST Y 456 B (*Streptococcus salivarius* subsp, *thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*) a la temperatura de acondicionamiento 40 °C.

**Fermentación.** – Para este proceso unitario se incubó la mezcla por un tiempo de 6 horas a una temperatura constante de 40°C para que actúen adecuadamente las bacterias ácido lácticas.

**Enfriado.** - Una vez terminado el tiempo de encubado se tuvo que enfriar la solución a una temperatura de 10 °C para detener el proceso de fermentación.

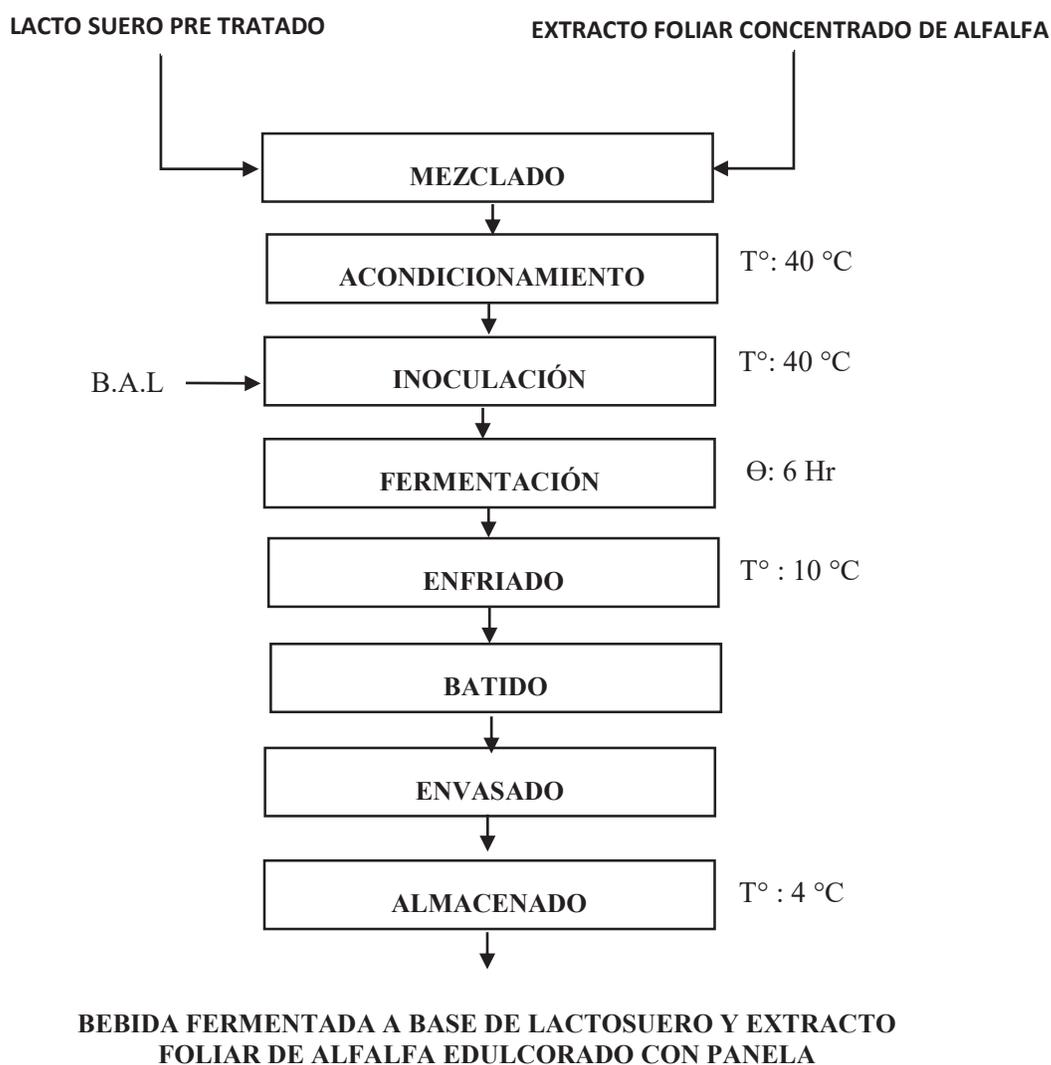
**Batido.** - El batido se hizo con ayuda de un agitador de acero inoxidable evitando el batido con demasiada fuerza obteniendo homogenizada la bebida.

**Envasado.** - El envasado se realizó en Botella de polietileno de alta densidad de 300 ml desinfectadas y esterilizadas.

**Almacenado.** - Se almacenó la bebida fermentada a partir de lacto suero con extracto foliar de alfalfa y edulcorado con panela en una refrigeradora industrial a 4 °C.

**Figura 5**

Diagrama de flujo de la elaboración de una bebida fermentada a base de lacto suero con extracto foliar de alfalfa edulcorada con panela.



Nota: Adaptado de (Juliano, y otros, 2017)

## 2.5. Diseño Estadístico

### 2.5.1. Diseño Factorial

Se realizó el diseño factorial 3\*2 (Hernandez Sampieri, Collado, & Lucio, 2003)

		Extracto foliar de alfalfa (A)		
		A1	A2	A3
Cultivo láctico (B)	B1	A1B1	A2B1	A3B1
	B2	A1B2	A2B2	A3B2

Modelo estadístico  $y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$  donde:

$y_{ijk}$  es la variable respuesta o dependiente

$\mu$  es la media general

$\varepsilon$  es el error experimental

$\alpha\beta$  es la interacción de los factores o variables independientes

**Tabla 13**

*Arreglo factorial de los tratamientos*

Concentración de alfalfa (A)	1,923 %m/m		2,542 %m/m		3,165 %m/m	
Concentración de cultivo láctico (B)	2 %	3%	2 %	3%	2 %	3%
Tratamientos	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Repetición I						
Repetición II						
Repetición III						

## 2.5.2. *Análisis de Muestra de los Tratamientos*

**2.5.2.1. Determinación de pH.** El pH se determinó por el método de potenciómetro, se realizó el siguiente procedimiento:

Se vertió la muestra que fue de 20 ml en un vaso precipitado, se retiró el electrodo del potenciómetro y se lavó con agua destilada para que luego sea introducido en la muestra y de esa forma medir la lectura obtenida

**2.5.2.2. Determinación de la Acidez.** La acidez titulable se determinó por el método volumétrico según la NTP 202.116 LECHE Y PRODUCTOS LÁCTEOS.

Esta medición se realizó utilizando un método de titulación, que siempre incluye tres agentes o medios: el valorante, el analito (o titulado) y el indicador.

El procedimiento se realiza con un titulador compuesto por una bureta con un soporte universal y un anillo con tuerca, un vaso de precipitados, del cual se tomarán 9 ml de muestra y se le agregó tres gotas de fenolftaleína al 1%. Se inició la titulación en gotas sobre la muestra hasta que viro un ligero color rosado por al menos 30 segundos. Se midió la cantidad del NaOH utilizado para la titulación.

La expresión resultante de la acidez en la muestra expresada en ácido láctico se calcula según la siguiente fórmula:

$$\text{Acidez g/L (ácido láctico)} = \frac{V \times N \times 90}{M}$$

En donde:

V = Volumen de solución de hidróxido de sodio 0.1 N gastado en la titulación de la muestra, en ml

N = Normalidad de la solución de hidróxido de sodio (0,1 N).

M = Volumen de la muestra, en ml

Peq = Peso Equivalente del ácido láctico (90).

**2.5.2.3. Determinación Físicoquímico.** Se determinó el valor nutricional para cada preparación química como AOAC 935.39C proteína, NTP206.017 grasa, AOAC935.39B ceniza, FAO14/7 fibra.

**2.5.2.4. Determinación de la Digestibilidad.** El método utilizado para determinar la digestibilidad de proteína fue la digestibilidad In vitro de Boisen y fernandez (1997), que contemplan tres etapas de incubación

Etapa 1: se utiliza la muestra molida (1mm) aproximadamente de 0,5 g pesado con precisión en matraz Erlenmeyer y en cada serie se incluyó un espacio en blanco, se adicionó 25 ml de tampón fosfato (0,1 M; pH 6,0) a cada matraz y se mezclaron con agitación magnética suave a 300 rpm; a la mezcla se le añadieron 10 ml de HCl (ácido clorhídrico) 0,2M y se ajustó a pH 2. A continuación, se añadió a la mezcla 1 ml de una solución de pepsina recién preparada que contenía 10 mg de pepsina (porcina 2000 FIP-U/g, Merck n° 7190) más 0,5 ml de una solución de clorafenicol (0,5g/100ml de etanol) para evitar el crecimiento bacteriano; los matraces se cerraron con papel aluminio y las muestras se incubaron a 39°C en una estufa secadora de laboratorio durante 2 horas con agitación constante a 110 rpm.

Etapa 2: A la mezcla se le añadió 10 ml de tampón fosfato (0,2 M; pH 6,8) más una solución de 5 ml de NaOH 0,6 M y se ajustó a pH 6,8. a continuación la suspensión se mezcló con 1 ml de solución pancreatina que contenía 50 mg de pancreatina porcina (porcina, grado IV sigma n° P-1790). Después se volvió a cerrar con papel aluminio, los matraces se volvieron a incubar a 39°C durante 4 horas con agitación suave.

Etapas 3: Se agregó 10 ml de 0,2 M de EDTA (ácido etilendiaminotetraacético), luego se ajustó el pH a 4,8 con 30% de ácido acético. A continuación, se selló con papel aluminio y se incubó bajo agitación de 110 rpm a una temperatura de 39 °C por 18 horas. Se procedió a filtrar los residuos no digeridos (suspendidos en el papel filtro) y digeridos (líquido filtrado) y este nitrógeno fue analizado por el método Kjeldahl. La digestibilidad in vitro de la proteína se calculó a partir de N en la muestra y el residuo no digerido después de la corrección por N en blanco.

**2.5.2.5. Determinación Microbiológica.** El método utilizado para la determinación de Coliformes, mohos y levaduras en las muestras es una técnica de fermentación multitubo para Coliformes totales. Los resultados se expresan como el número más probable (NMP) por 100ml. Esta técnica tiene 3 etapas: presunción donde se utiliza caldo lauril triptosa, confirmación de Coliformes totales utilizando caldo verde claro, y se realiza una fase completa para realizar la prueba de calidad, cantidad y poder establecer si hay o no presencia de coliformes.

**2.5.2.6. Determinación de Atributos Organolépticos.** Identifica atributos sensoriales. Los atributos organolépticos se evaluaron por el Método de la Escala Hedónica con 5 puntos, siendo este el objetivo principal localizar el nivel de agrado y desagrado (bipolar) que provoca la muestra específica, la cual se puntualizan las características del agrado (Espinoza, 2003).

- Muestras. - Se presentó las muestras para que cada una de ellas se ubique por separado cada una de estas se codificó con números aleatorios tomados de la Tabla de Números Aleatorios para Muestras de Espinoza (2003).
- Jueces. - Los jueces elegidos correspondieron a los estudiantes de la escuela profesional de ingeniería agroindustrial de los últimos ciclos estas personas no conocen la problemática del estudio, solamente entender el procedimiento de la prueba y responder

a ella, los panelistas fueron de un número de 30 jueces (consumidores) con tres repeticiones.

**Tabla 14**

*Escala hedónica*

PUNTAJE	PREFERENCIA
5	Me Gusta Mucho
4	Me Gusta
3	Me es Indiferente
2	Me Disgusta
1	Me Disgusta Mucho

### **2.5.3. Análisis Estadístico**

La técnica de análisis e interpretación de la información de los datos obtenidos en las pruebas de los tratamientos fueron analizados por pruebas estadísticas para variables paramétricas.

Para el análisis fisicoquímico y la digestibilidad se realizó la prueba de comparación de medias (el análisis multifactorial categórico de la varianza) también se realizó el método diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher al 95% para determinar la diferencia de pares de medias entre los tratamientos.

Para analizar los resultados organolépticos de las muestras se aplicó el modelo estadístico de análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de tukey mediante el paquete estadístico statgraphics Centurión XVI.I.

La técnica utilizada para demostrar la verdad o falsedad de la hipótesis planteada, se utilizó un nivel de significancia ( $\alpha$ ) 5%.

## Capítulo III

### Resultados y Discusiones

#### 3.1. Resultados

##### 3.1.1. Análisis de resultado para pH

La Tabla N° 15 nos muestra los datos del pH evaluado por cada hora durante la incubación de la bebida fermentada de los 6 tratamientos.

**Tabla 15**

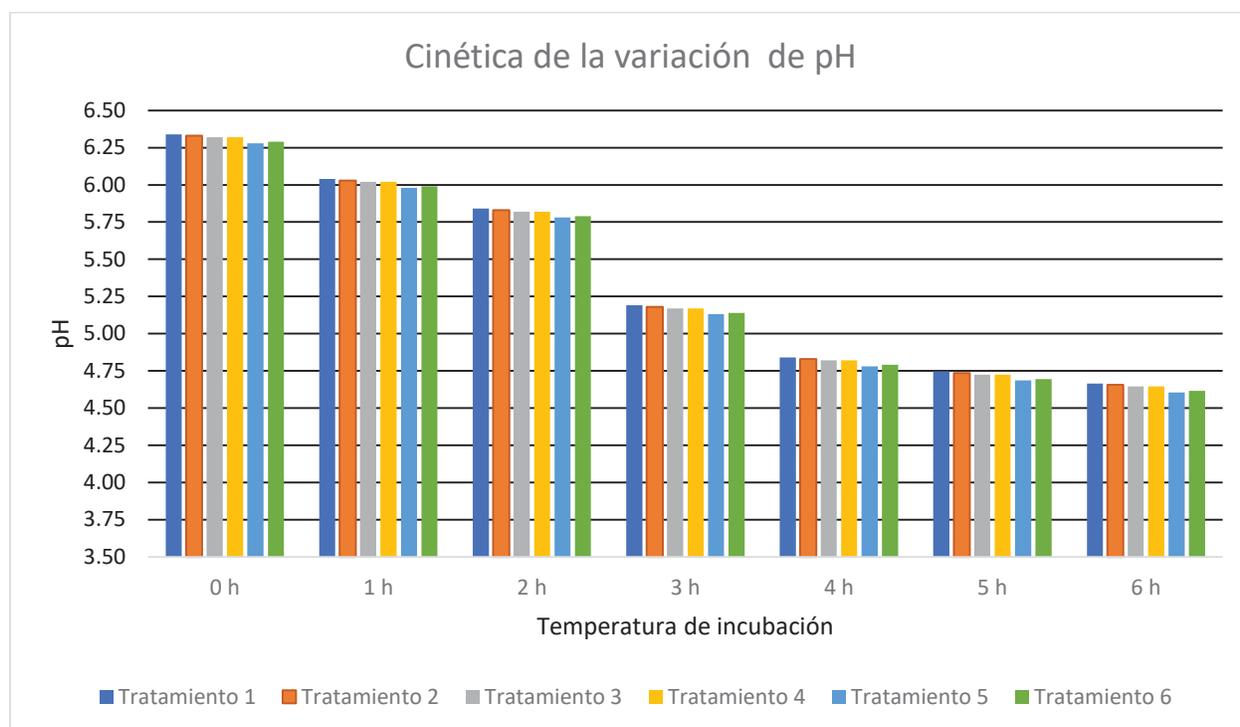
*Variación del pH en la incubación por tiempos.*

<b>Muestra</b>	<b>0 h</b>	<b>1 h</b>	<b>2 h</b>	<b>3 h</b>	<b>4 h</b>	<b>5 h</b>	<b>6 h</b>
Tratamiento 1	6,34	6,04	5,84	5,19	4,84	4,75	4,67
Tratamiento 2	6,33	6,03	5,83	5,18	4,83	4,74	4,66
Tratamiento 3	6,32	6,02	5,82	5,17	4,82	4,73	4,65
Tratamiento 4	6,32	6,02	5,82	5,17	4,82	4,73	4,65
Tratamiento 5	6,28	5,98	5,78	5,13	4,78	4,69	4,61
Tratamiento 6	6,29	5,99	5,79	5,14	4,79	4,70	4,62

Nota: Como ha de ser el pH descendió paulatinamente debido al incremento de ácido láctico durante el proceso de incubación, desde los pH más cercanos al neutro hasta los pH cercanos a 4,5. En la figura N° 6 se visualiza las curvas del pH con respecto al tiempo para cada tratamiento donde el tratamiento 6 nos muestra un mayor descenso del pH que inicia en 6,29 y en el intervalos de 2 a 3 horas incubación muestra un mayor descenso del pH de 5,79 a 5,14 para luego terminar la incubación con un pH final de 4,62; por el otro lado el tratamiento 1 nos muestra un comportamiento casi uniforme en el descenso del pH iniciando con 6,34 y termina con un 4,67 de pH en el tiempo que dura la incubación.

**Figura 6**

*Variación del pH en la incubación en relación al tiempo.*



Discusión: Los resultados de (Machacuay, 2014) muestran una disminución del pH Comenzando desde 5,5 con 0 horas de incubación para luego mostrar una disminución del pH en diferentes tiempos llegando hasta un pH de 4,57 con un tiempo final de 6 horas incubación. También Gorostidi, (2014) muestra sus resultados de pH durante 5 horas de incubación un descenso de 6,5 pH inicial hasta 4,6 pH final. Los resultados de la investigación presente tiene una similitud con los autores antes mencionados en el descenso del pH durante la incubacion de 6 horas donde inicia cercanos a 6,3 en los diferentes tratamientos hasta llegar cercanos a 4,64

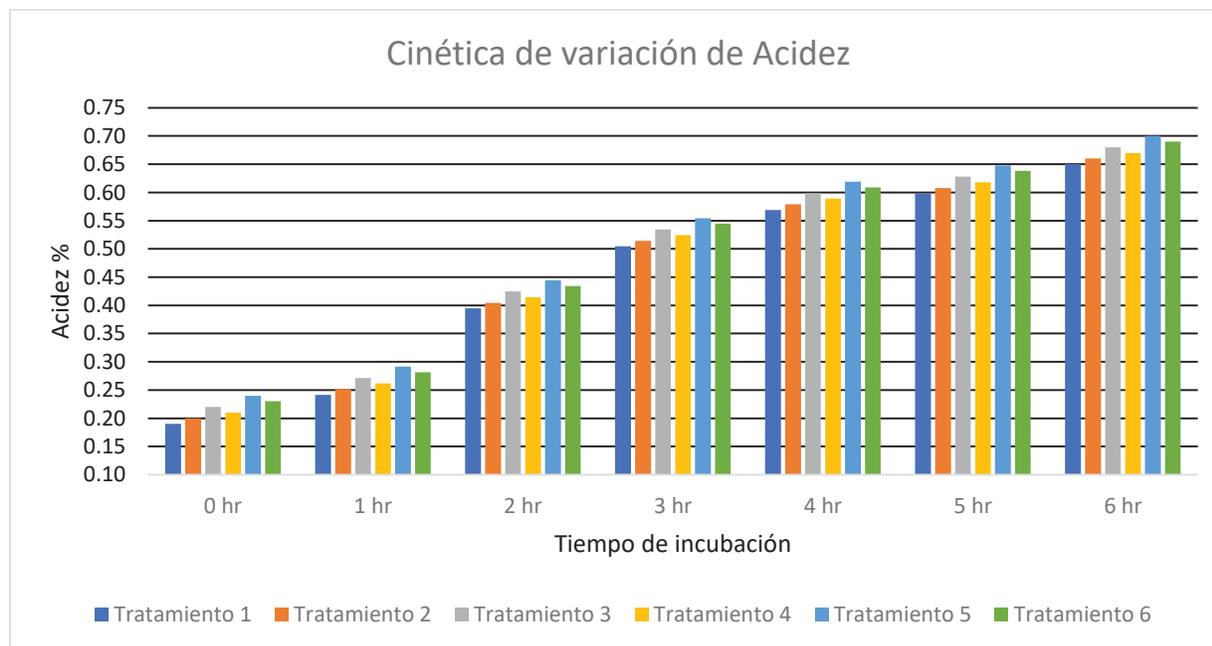
### **3.1.2. Análisis de resultado para Acidez**

En la siguiente tabla 16 nos ilustra el incremento de la acidez debido a las fermentaciones lácticas resultado del metabolismo de la lactosa por las bacterias ácido láctico.

**Tabla 16***Variación de la acidez con respecto al tiempo*

Muestra	0 h	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h
Tratamiento 1	0,19	0,24	0,39	0,50	0,57	0,60	0,65
Tratamiento 2	0,20	0,25	0,40	0,51	0,58	0,61	0,66
Tratamiento 3	0,22	0,27	0,42	0,53	0,60	0,63	0,68
Tratamiento 4	0,21	0,26	0,41	0,52	0,59	0,62	0,67
Tratamiento 5	0,24	0,29	0,44	0,55	0,62	0,65	0,70
Tratamiento 6	0,23	0,28	0,43	0,54	0,61	0,64	0,69

En la figura N° 7 se observa diferentes comportamientos donde el tratamiento 6 tiene mayor incremento en el intervalo de 1 a 2 horas y después casi continuo. Para el tratamiento 1 el incremento se comportó de manera casi lineal hasta 0,65 % ácido láctico.

**Figura 7***Variación de la acidez en relación al tiempo*

Discusión: Los resultados de (Machacuay, 2014) demuestran un incremento de la acidez comenzando a la 0 hora de 0,24% de ácido, transcurrido las 4 horas se obtiene 0,486% y en el

intervalo de 5 a 6 horas aumenta lentamente la acidez hasta llegar 0,648%; Así mismo (Gorostidi, 2014) en sus muestras ensayadas observa de sus resultados un incremento lineal a partir de una hora de incubación hasta llegar a 0,72% de ácido láctico. Estos resultados de los autores mencionados son coherentes con los datos obtenidos en la presente investigación donde se inician a la 0 horas con 0,22 % ácido láctico en promedio los diferentes tratamientos llegando al final en la incubación de 6 horas con 0,67% en promedio, donde estos valores están dentro de los límites permitidos por la norma de Codex para leches fermentadas.

### 3.1.3. Análisis de resultado Físicoquímico

**Tabla 17**

*Composición nutricional de las bebidas fermentadas*

	<b>Humedad %</b>	<b>Materia seca %</b>	<b>Proteína cruda %</b>	<b>Ceniza %</b>	<b>Grasa %</b>	<b>Carbohidrato %</b>	<b>Calorías Kcal</b>
Extracto Foliar de Alfalfa	5,24	94,76	55,00	4,20	6,42	26,00	161,68
Lactosuero	9300	7,00	0,96	0,31	0,38	5,12	27,74
Tratamiento 1	82,81	17,19	1,51	0,44	0,60	14,64	70,00
Tratamiento 2	82,79	17,21	1,49	0,43	0,58	14,71	70,02
Tratamiento 3	82,16	17,84	1,63	0,50	0,55	15,16	72,11
Tratamiento 4	82,04	17,95	1,60	0,48	0,57	15,30	72,73
Tratamiento 5	81,30	18,70	1,70	0,53	0,53	15,94	75,33
Tratamiento 6	81,32	18,68	1,68	0,51	0,55	15,94	75,43

Nota: En cuanto al contenido de proteína cruda está por debajo del límite mínimo de la norma Codex Stan 243 de leches fermentadas y la grasa sí está dentro del límite máximo, pero también se nota una diferencial de la proteína en comparación del lactosuero con los diferentes tratamientos en medida de la adición de extracto foliar de alfalfa.

### 3.1.4. Análisis de resultado para digestibilidad

La tabla 18 nos muestra las variaciones del porcentaje de digestibilidad proporcional al porcentaje de proteína cruda para los diferentes tratamientos mostrándonos que existe mayor % de digestibilidad cuando se incrementa el porcentaje de proteína cruda. Es decir, es una relación directamente proporcional entre % de proteína cruda y % de digestibilidad.

**Tabla 18**

*Porcentaje de digestibilidad proteica para los diferentes tratamientos*

<b>Muestra</b>	<b>% Proteína cruda</b>	<b>% digestibilidad</b>
Extracto foliar de alfalfa	54,89	88,19
Lactosuero	0,96	44,88
Tratamiento 1	1,51	70,60
Tratamiento 2	1,49	69,66
Tratamiento 3	1,63	76,21
Tratamiento 4	1,60	74,80
Tratamiento 5	1,70	79,48
Tratamiento 6	1,68	78,54

*Nota: los datos mostrados son la media de tres réplicas*

➤ **Interpretación y prueba de hipótesis**

ANOVA Multifactorial - Variable dependiente: DIGESTIBILIDAD (%)

Factores: EFA (%m/m), BAL (%)

Número de casos completos: 18

**Figura 8***Análisis de Varianza para DIGESTIBILIDAD - Suma de Cuadrados Tipo III*

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<i>EFFECTOS PRINCIPALES</i>					
<i>A:EFA</i>	<i>240,581</i>	<i>2</i>	<i>120,29</i>	<i>53727,71</i>	<i>0,0000</i>
<i>B:BAL</i>	<i>5,3792</i>	<i>1</i>	<i>5,3792</i>	<i>2402,62</i>	<i>0,0000</i>
<i>INTERACCIONES</i>					
<i>AB</i>	<i>0,221033</i>	<i>2</i>	<i>0,110517</i>	<i>49,36</i>	<i>0,0000</i>
<i>RESIDUOS</i>	<i>0,0268667</i>	<i>12</i>	<i>0,00223889</i>		
<i>TOTAL (CORREGIDO)</i>	<i>246,208</i>	<i>17</i>			

*Nota: Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual*

Interpretación: La tabla ANOVA nos muestra para la Digestibilidad la influencia de ambos factores al menos en uno de sus niveles. Puesto que 3 valores-P son menores que 0,05; se prueba la significancia estadística de cada uno de los factores y su interacción que tienen un efecto estadísticamente significativo sobre digestibilidad con un 95,0% de nivel de confianza. Se rechaza la hipótesis nula o de estudio y se acepta la hipótesis alterna del efecto del extracto foliar de alfalfa y bacterias ácido lácticas sobre la digestibilidad. Así Manus et al (2021) menciona también que el enriquecimiento de proteína y la fermentación aumentaron significativamente los valores de digestibilidad proteica de las bebidas vegetales. Sin embargo, Granito et al (2004) muestra los resultados de digestibilidad in vitro donde disminuyó en 80,9 y 80,76% para el frijol y caraota respectivamente donde la muestra patrón obtuvo un 85,57 % más la disminución de las bebidas extendidas se debe probablemente por la presencia de fibra dietética.

En las figuras 9 y 10, se aplicó un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias fueron significativamente diferentes de otras.

➤ Pruebas de Múltiple Rangos para Digestibilidad por Bacterias Ácido Lácticas

**Figura 9**

*Método: 95,0 porcentaje LSD*

<i>BAL</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
<b>3</b>	9	74,3378	0,0157723	X
<b>2</b>	9	75,4311	0,0157723	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
<b>2 - 3</b>	*	<b>1,09333</b>	0,0485994

*Nota: \* indica una diferencia significativa.*

Interpretación: Se observa que en los dos niveles los grupos homogéneos no presentan la misma alineación de las X's en columna indicando diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. El nivel de 2% de concentración de las bacterias ácido lácticas induce de mejor manera en comparación al nivel de 3% para la digestibilidad. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0. La investigación realizada donde obtuvimos un 44,88 % hasta 79,48%, podemos mencionar que el aumento de digestibilidad se debe al incremento de BAL, compartiendo los resultados de Lorusso et al, (2018) que indica después de la fermentación aumentó de 71 hasta 86% la digestibilidad in vitro de la proteína más las diferentes cepas de bacterias no presentaron diferencia significativa. Los resultados obtenidos de la presente investigación tienen alguna similitud con Altuna et al, (2021) que indica en las bebidas lácteas a base de soya, quinua y bebida láctea se evidencio una hidrolisis y digestión completa realizado a pH 4,0.

- Pruebas de Múltiple Rangos para Digestibilidad por Extracto Foliar de Alfalfa

### Figura 10

Método: 95,0 porcentaje LSD

<i>EFA</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
<b>6</b>	6	70,1283	0,019317	X
<b>8</b>	6	75,5067	0,019317	X
<b>10</b>	6	79,0183	0,019317	X

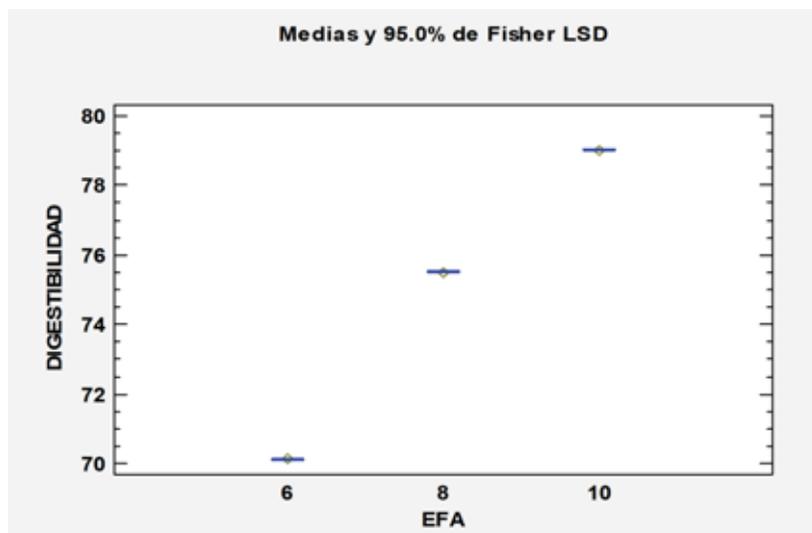
<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
<b>8 - 6</b>	*	5,37833	0,0595219
<b>10 - 6</b>	*	8,89	0,0595219
<b>10 - 8</b>	*	3,51167	0,0595219

Nota: \* indica una diferencia significativa.

Interpretación: Se aprecia que en los tres niveles los grupos homogéneos no presentan la misma alineación de las X's en columna indicando diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. El 10% de concentración de EFA influye de mejor manera para la digestibilidad que la de 8% y 6 % de EFA, así mismo el 8% tiene mayor efecto que el 6% para la digestibilidad. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0. Montero et al (2012) indica que el contenido proteico de la bebida varió de acuerdo al nivel de proteína de plasma fortificado, pero la digestibilidad solo se vio afectada por el tipo de proteína de plasma

**Figura 11**

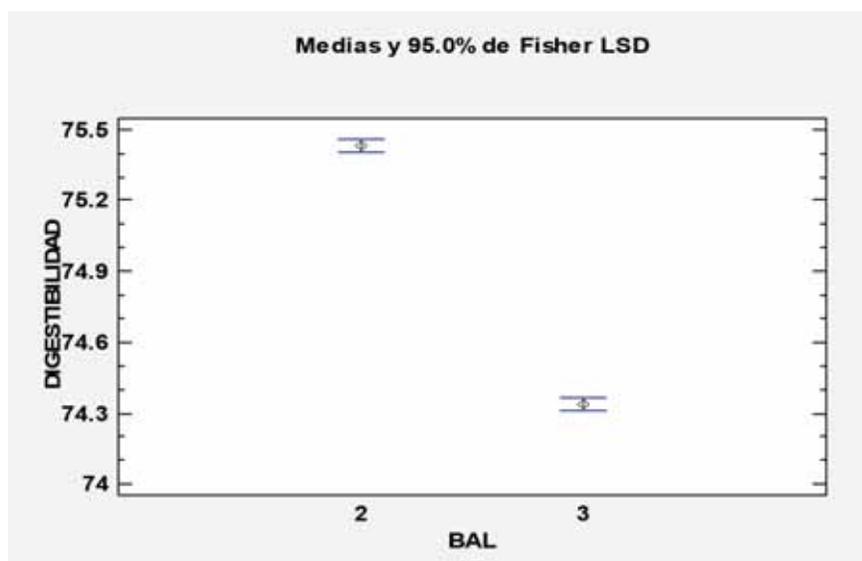
*Grafica de media y 95% de Fisher LSD para EFA*



Nota: En esta gráfica las medias de los niveles de extracto foliar no se traslapan por lo tanto presentan diferencia estadísticamente significativa.

**Figura 12**

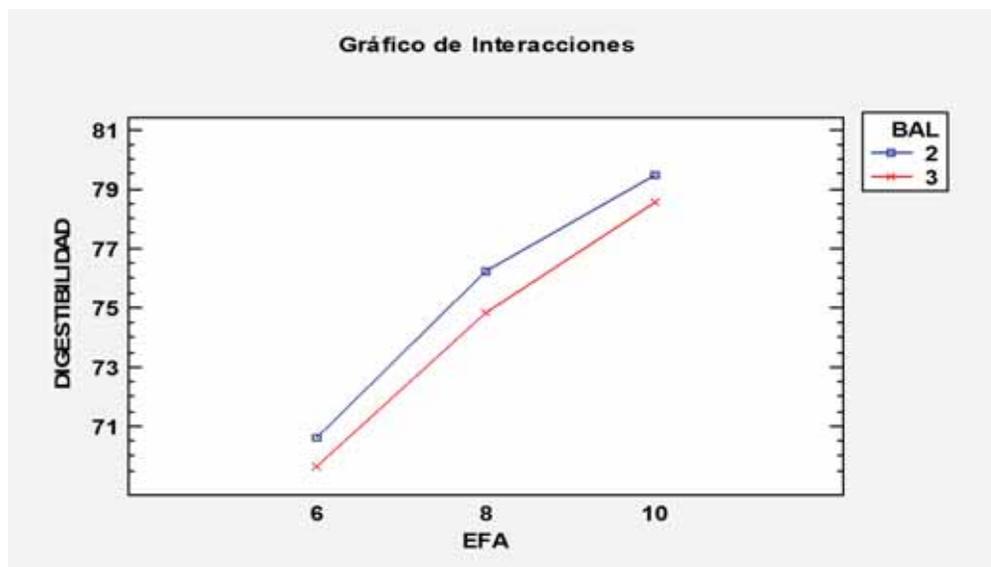
*Grafica de media y 95% de Fisher LSD para BAL*



Nota: Las medias en los niveles de BAL tampoco se traslapan entre sí por lo que también presentan diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la digestibilidad.

**Figura 13**

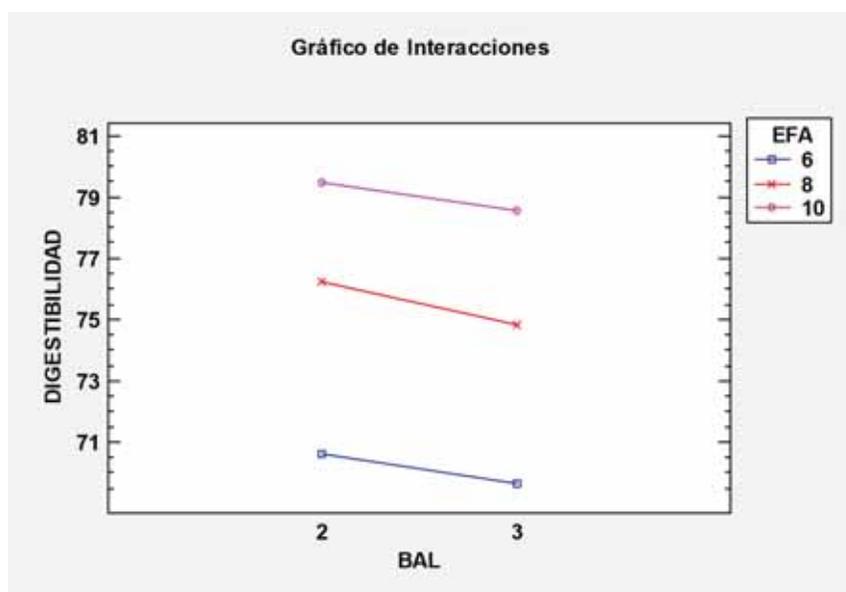
Gráfica de interacciones de EFA para BAL



Nota: Para la interacción AxB en la figura 13 nos indica que el efecto en la digestibilidad de extracto foliar de alfalfa es mayor al 2 % que al 3% de bacterias ácido lácticas

**Figura 14**

Gráfica de interacción de BAL para EFA



Nota: Para la interacción BxA en la figura 14 nos indica que el efecto de bacterias ácido lácticas es mucho mayor en extracto foliar de alfalfa del 10% que al 6% y 8% para el incremento porcentaje de digestibilidad

### 3.1.5. Análisis de resultado microbiológico

**Tabla 19**

*Resultado microbiológico*

<b>N° Ref. Laboratorio</b>	<b>Punto de muestreo</b>	<b>Coliformes Totales NMP/100ml (35 °C)</b>	<b>Mohos UFC/ mL. (28°C)</b>	<b>Levaduras UFC/mL. (28°C)</b>
Muestra 1	Bebida fermentada	76	9	45
Límites permisibles		100	100	100

*Nota: Método Estandarizado por Agotamiento en superficie y el Método Estandarizado de Fermentación de Tubo Múltiple de Coliformes. Documento de referencia NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01 NORMA SANITARIA QUE ESTABLECE LOS CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS DE CALIDAD SANITARIA E INOCUIDAD PARA LOS ALIMENTOS Y BEBIDAS DE CONSUMO HUMANO, con RM N°591-2008/MINSA, Grupo I. Leche y Productos lácteos Ítem 1.7. Leches fermentadas y acidificadas (yogourt; leche cultivada; cuajada, otros).*

De acuerdo a los resultados de análisis y en el marco de los documentos de referencia, la muestra: Cumple con los ECA Microbiológicos (Estándares de Calidad), establecidos por el documento de referencia.

### 3.1.6. Análisis de resultado para atributos organolépticos

Factores:

Factor A: Tratamientos

Factor Bloque: Jueces

Número de casos completos: 540

**Tabla 20***Media de la puntuación de los atributos sensoriales para los tratamientos*

Muestra	Sabor	Olor	Color
Tratamiento 1	3,7	3,4	3,2
Tratamiento 2	3,9	3,4	3,8
Tratamiento 3	3,6	3,5	3,5
Tratamiento 4	3,7	3,4	3,4
Tratamiento 5	3,4	3,4	3,5
Tratamiento 6	3,5	3,4	3,5

Nota: los datos mostrados son los promedios de tres replicas como se muestran en anexo

**ANOVA Multifactorial – SABOR**

Variable dependiente: SABOR

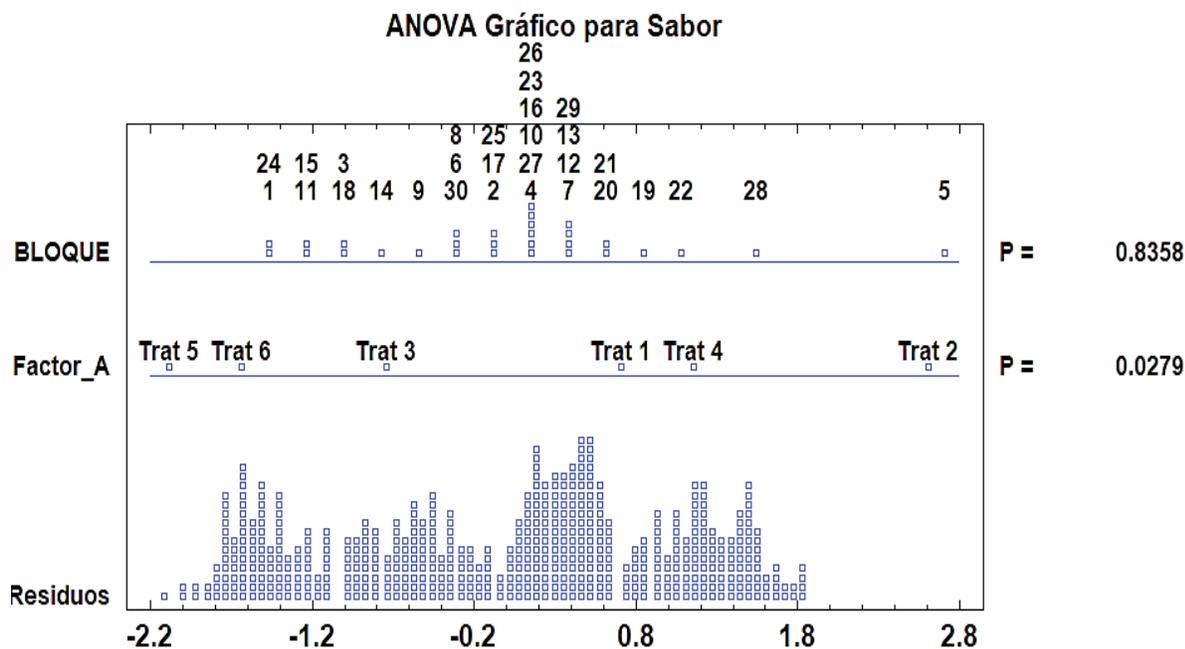
**Figura 15***Análisis de Varianza para SABOR - Suma de Cuadrados Tipo III*

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A:Factor_A (tratamientos)	14437	5	2,88741	2,54	0,0279
B:BLOQUE (jueces)	24,4815	29	0,844189	0,74	0,8358
RESIDUOS	575,007	505	1,13863		
TOTAL (CORREGIDO)	613,926	539			

Nota: Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

La tabla ANVA nos muestra que en uno de los factores el valor-P es menor que 0.05, este factor A tiene un efecto estadísticamente significativo sobre Sabor al entre los tratamientos con un 95.0% de nivel de confianza, el efecto del bloque no es estadísticamente significativo, concluyendo que no existen diferencias grandes entre las corridas de la prueba del sabor para los jueces.

**Figura 16***Gráfica de ANOVA para el sabor*



Nota: Nótese que la variación sobre los bloques es aceptable más que la variación observada de los residuales, con la posible excepción del bloque 5. La gráfica muestra la diferencia entre los tratamientos, notamos que el tratamiento 2 es el mejor sabor.

### Pruebas de Múltiple Rangos para SABOR por factor tratamiento

**Figura 17**

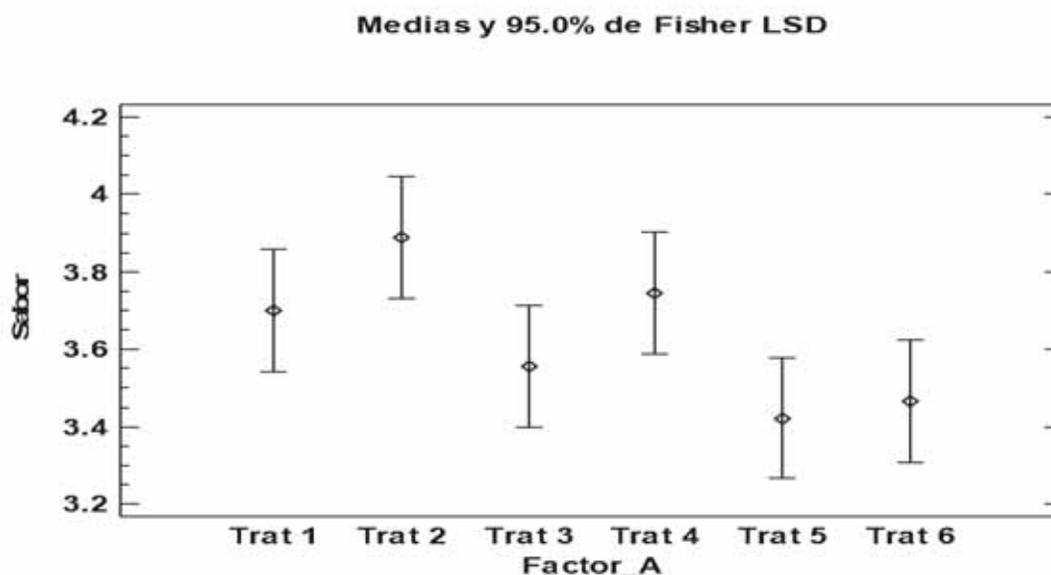
Método Fisher al 95.0 porcentaje LSD

Factor_A	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
Trat 5	90	3,42222	0,112479	X
Trat 6	90	3,46667	0,112479	XX
Trat 3	90	3,55556	0,112479	XX
Trat 1	90	3,7	0,112479	XXX
Trat 4	90	3,74444	0,112479	XX
Trat 2	90	3,88889	0,112479	X
Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites	
Trat 1 - Trat 2		-0,188889	0,312519	
Trat 1 - Trat 3		0,144444	0,312519	
Trat 1 - Trat 4		-0,0444444	0,312519	

Trat 1 - Trat 5		0,277778	0,312519
Trat 1 - Trat 6		0,233333	0,312519
Trat 2 - Trat 3	*	0,333333	0,312519
Trat 2 - Trat 4		0,144444	0,312519
Trat 2 - Trat 5	*	0,466667	0,312519
Trat 2 - Trat 6	*	0,422222	0,312519
Trat 3 - Trat 4		-0,188889	0,312519
Trat 3 - Trat 5		0,133333	0,312519
Trat 3 - Trat 6		0,088889	0,312519
Trat 4 - Trat 5	*	0,322222	0,312519
Trat 4 - Trat 6		0,277778	0,312519
Trat 5 - Trat 6		-0,044444	0,312519

Nota: \* indica una diferencia significativa.

En la parte superior de la figura 16, se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos que compartan una misma columna de X's. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0. Al comparar las diferencias entre par de medias; se muestra que el tratamiento 2 presenta mejor sabor que los tratamientos 3, 5 y 6; así mismo el tratamiento 4 es mejor que el tratamiento 5 mientras que el tratamiento 1 no presenta diferencia significativa con los otros tratamientos.

**Figura 18***Graficas de medias para el sabor*

Nota: Al realizarse la comparación múltiple de Fisher, se determinó de manera significativa que la media del tratamiento 2 no se traslapa con los de tratamiento 5 y 6 que indica mayor aceptación en el sabor respecto a estos es decir hay una diferencia estadísticamente significativa, mas no con los tratamientos 1,3 y 4 con un nivel de confía del 95%

**Interpretación y prueba de hipótesis.** Se rechaza la hipótesis porque las medias de los tratamientos no son iguales con valor-P menor a 0,005 al menos existe un par medias de con diferencia significativa entre sí, mas no así para los jueces que no influyen en los resultados para el sabor

ANOVA Multifactorial - OLOR

Variable dependiente: OLOR

**Figura 19**

*Análisis de Varianza para OLOR - Suma de Cuadrados Tipo III*

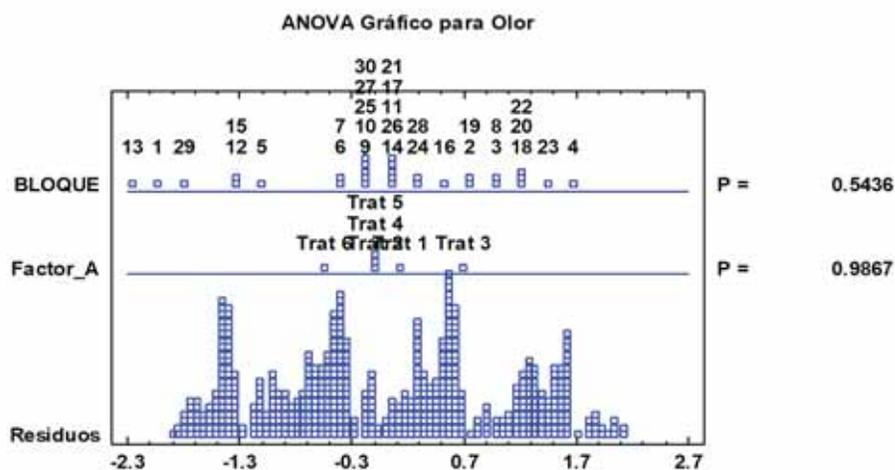
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A:Factor_A (Tratamientos)	0,72037	5	0,144074	0,13	0,9867
B:BLOQUE (Jueces)	31,6315	29	1,09074	0,95	0,5436
RESIDUOS	580,113	505	1,14874		
TOTAL (CORREGIDO)	612,465	539			

Nota: Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Interpretación .- Como se aprecia en la tabla de ANVA no se observa ninguna diferencia estadísticamente significativa Puesto que ningún valor-P es menor que 0,05; ninguno de los efectos principales tiene un efecto estadísticamente significativo sobre Olor con un 95,0% de nivel de confianza. Es decir que todos los tratamientos igual preferencia ante los jueces.

**Figura 20**

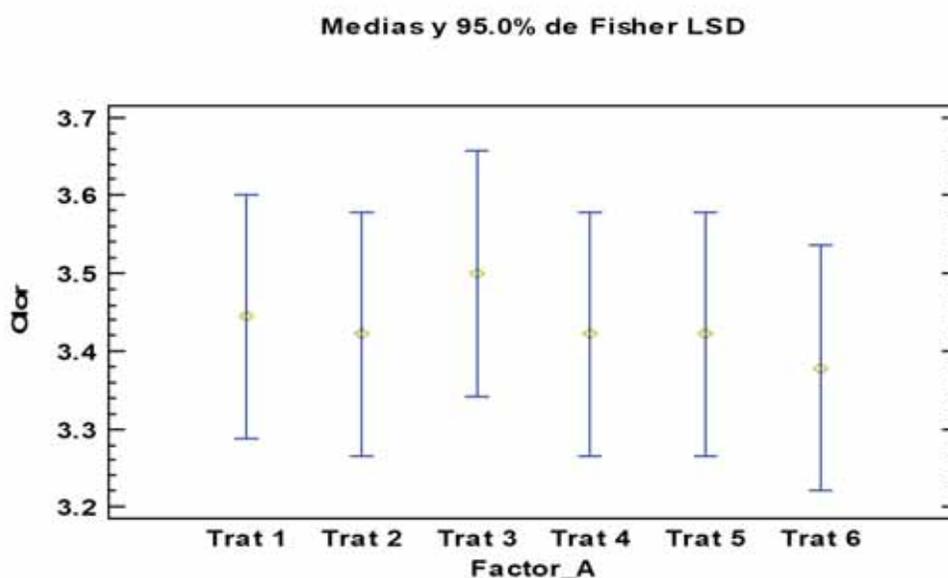
*Gráfica ANOVA para el olor*



Nota: La variación sobre los bloques y los tratamientos es aceptable más que la variación observada de los residuales, con la posible excepción bloque (juez) 13 y 1

**Figura 21**

Gráfica de medias para el olor



Nota: No existe diferencia entre las medias de los tratamientos dado que estos se traslapan los 6 tratamientos al 95% de confianza

**ANOVA Multifactorial - COLOR**

Variable dependiente: COLOR

**Figura 22**

Análisis de Varianza para COLOR - Suma de Cuadrados Tipo III

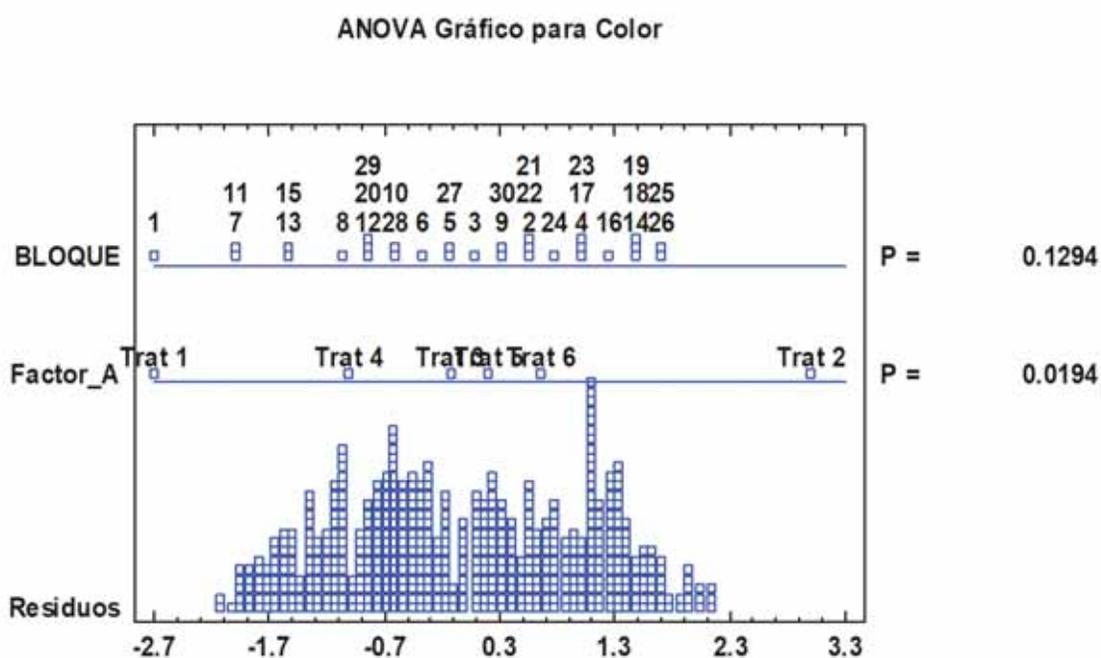
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A:Factor_A (Tratamiento)	15,8537	5	3,17074	2,72	0,0194
B:BLOQUE (Jueces)	44,387	29	1,53059	1,31	0,1294
RESIDUOS	588,535	505	1,16542		
TOTAL (CORREGIDO)	648,776	539			

Nota: Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

La tabla ANVA nos muestra que en uno de los factores el valor-P es menor que 0.05, este factor A tiene un efecto estadísticamente significativo sobre Sabor al entre los tratamientos con un 95.0% de nivel de confianza, el efecto del bloque no es estadísticamente significativo, concluyendo que no existen diferencias grandes entre las corridas de la prueba del sabor para los jueces.

### Figura 23

Gráfica ANOVA para el color



Nota: La variación sobre los bloques es aceptable más que la variación observada de los residuales, con la posible excepción del bloque 1. La gráfica muestra la diferencia entre los tratamientos, notamos que el tratamiento 2 es el mejor sabor y el tratamiento 1 de la menor aceptabilidad para el sabor

## Pruebas de Múltiple Rangos para Color por Factor A

**Figura 24**

Método: 95.0 porcentaje LSD

Factor_A	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
Trat 1	90	3,21111	0,113794	X
Trat 4	90	3,37778	0,113794	XX
Trat 3	90	3,46667	0,113794	XXX
Trat 5	90	3,5	0,113794	XXX
Trat 6	90	3,54444	0,113794	XX
Trat 2	90	3,77778	0,113794	X

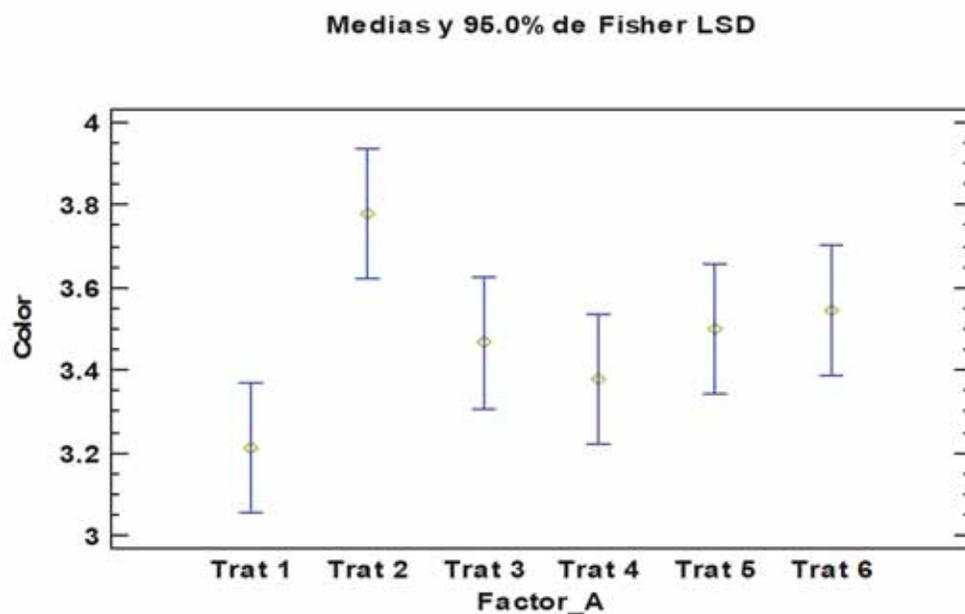
Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Trat 1 - Trat 2	*	-0,566667	0,316173
Trat 1 - Trat 3		-0,255556	0,316173
Trat 1 - Trat 4		-0,166667	0,316173
Trat 1 - Trat 5		-0,288889	0,316173
Trat 1 - Trat 6	*	-0,333333	0,316173
Trat 2 - Trat 3		0,311111	0,316173
Trat 2 - Trat 4	*	0,4	0,316173
Trat 2 - Trat 5		0,277778	0,316173
Trat 2 - Trat 6		0,233333	0,316173
Trat 3 - Trat 4		0,088889	0,316173
Trat 3 - Trat 5		-0,033333	0,316173
Trat 3 - Trat 6		-0,077778	0,316173
Trat 4 - Trat 5		-0,122222	0,316173
Trat 4 - Trat 6		-0,166667	0,316173
Trat 5 - Trat 6		-0,044444	0,316173

Nota: \* indica una diferencia significativa.

En la parte superior de la figura 24, se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos que compartan una misma columna de X's. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0. Al comparar las diferencias entre par de medias; se muestra que el tratamiento 1 presenta mejor color que los tratamientos 2 y 6, así mismo el tratamiento 2 es mejor que el tratamiento 4 mientras que el tratamiento 3 y 5 no presenta diferencia significativa con los otros tratamientos.

### Figura 25

*Gráfica de medias para color*



Al realizarse la comparación múltiple de Fisher, se determinó de manera significativa que la media del tratamiento 2 no se traslapa con los de tratamiento 1 y 4 que indica mayor aceptación en el Color respecto a estos, es decir hay una diferencia estadísticamente significativa, mas no con los tratamientos 3, 5 y 6 con un nivel de confía del 95%.

## CONCLUSIONES

Tras el análisis de las concentraciones de extracto foliar de alfalfa y las bacterias ácido láctico en la digestibilidad proteica sobre la bebida fermentada a base lactosuero podemos deducir que:

1. Se midió el comportamiento de los tratamientos con un pH inicial 6,29 y 6,34 con pH final que oscilan entre 4,62 y 4,67 a 6 horas de incubación, la acidez tuvo un resultado esperado como las investigaciones anteriores de bebidas fermentadas. como refleja el ascenso de acidez las cuales iniciaron con 0,23 y 0,19 y al tiempo de 6 horas incubación hubo un ascenso que oscilan entre 0,65 y 0,70 expresado en porcentajes de ácido láctico, sobre las concentraciones de 6, 8 y 10 % de EFA y 2 y 3% de BAL.
2. Se evaluó la digestibilidad donde se concluye que al 2% de concentración de bacterias ácido lácticas presentó mayor porcentaje de digestibilidad y así mismo el 10% de concentración de extracto foliar de alfalfa presento mayor porcentaje de digestibilidad siendo este el tratamiento 5 con mayor índice de digestibilidad de 79,48 % para la investigación presente. Con el 3% de bacterias ácido lácticas y 6% de extracto foliar de alfalfa presentaron menor porcentaje de digestibilidad 69,66% siendo este el tratamiento 2.
3. En cuanto a las características organolépticas el tratamiento 2 presento mayor aceptabilidad respecto al sabor y el color, para el olor los tratamientos no presentaron diferencias de aceptabilidad frente a los otros tratamientos.

## RECOMENDACIONES

- Se recomienda recurrir a un proceso educativo, informando sobre el contenido nutricional y la inclusión del extracto foliar de alfalfa en la dieta de nuestra población.
- Se recomienda que se los resultados de esta investigación sean utilizados para otras investigaciones futuras y sirvan como antecedentes para elaborar otros productos agroindustriales.
- Se recomienda realizar estudios de vida útil de este producto y tipo de envase.

## Bibliografía

- Abaigar, A. (2009). El lactosuero en la alimentación del ganado porcino. *ITG ganadero*, 13-17.
- Agencia agraria peruana. (2013). Obtenido de <http://www.agpsac.com/Semillas/Producto/Brown-6>
- Almanza, F., & Barrera, E. (1991). *Tecnología de leche y derivados*. Bogota: Unisur.
- Altuna, J., Barrionuevo, A., Bayas, F., Verdezoto, R., & Coloma, A. (30 de Diciembre de 2021). Caracterización de proteínas obtenidas de tres productos lácteos desarrollados en la cooperativa de producción agropecuaria salinas. *Ciencias de los alimentos*, 77- 80. doi: <https://doi.org/10.18779/cyt.v14i2.506>
- AOAC 971.09. (2005). Pepsin Digestibility of Animal Protein feeds. *Official methods of analysis of AOAC international*, 18, 39-40. USA.
- Association pour la Promotion des Extraits Foliars en nutrition. (18 de 12 de 2009). L'autorisation Europeenne de l'extrait foliare enfin. *AFEP NEWSLETTER N°1, APEF info N°1*. France. Obtenido de <https://nutrition-luzerne.org/wp-content/uploads/2014/05/APEF-Newsletter-1-FR.pdf>
- ASTM. (s.f.). sensorial de materiales y productos.
- Axelsson, L. (1993). *Lactic acid bacteria classification and physiology*. Nueva York: Marcel Dekker.
- Baró, L., Jimenez, J., Martinez- Férez, A., & Bouza, J. (2001). Bioactive milk peptides and proteins. *Ars Pharmaceutica*.
- Blanco, S., Delahaye, P., & Fragenas, N. (2006). Evaluacion fisica y nutricional de un yogurt con frutas tropicales bajo en calorías. *Facultad de Agronomia*, 32, 131-144.
- Boisen, S., & Fernández, J. A. (april de 1991). In vitro digestibility of energy and amino acids in pig feeds. *National institute of animal science*(54), 231.
- Bolaños Navarrete, J. M. (2016). Formulación de una bebida a partir de lactosuero deslactosado y proteína hidrolisado de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*).
- Bouzar, F., Cerning, J., & Desmazeaud, M. (1997). *Exopolysaccharide production and texture promoting abilities of mixed strain starter cultures in yogurt production* (Vol. 80). Journal Dairy Science.
- Callejas Hernandez, J., Prieto Garía, F., Reyes, V., & Marmolejo, Y. (2012). *Carracterización fisicoquímica de un lactosuero*. universidad de Guanajuato. Guanajuato: Acta universitaria.

- Callejas, J. P. (2012). Caracterización fisicoquímica del lactosuero. *Acta unersitaria* , 22.
- Camacho. (2013). Uso del suero de leche en alimentos y sus sustitutos. *Boletín Informativo*, 1-10.
- Campbell, D. T., & Stanly, J. G. (1966). *Diseños experimentales y cuasi expeirimentales en la investigacion social*. Buenos Aires: Amorrortu editores. Obtenido de [https://www.academia.edu/33262198/CAMPBELL\\_STANLEY\\_Dise%C3%B1os\\_experimntales\\_y\\_Cuasiexperimentales\\_en\\_la\\_investigaci%C3%B3n\\_social](https://www.academia.edu/33262198/CAMPBELL_STANLEY_Dise%C3%B1os_experimntales_y_Cuasiexperimentales_en_la_investigaci%C3%B3n_social)
- Cañas, R. (1995). Alimentación y nutrición animal. *Colección en Agricultura Facultad de Agronomía Pontificia Universidad Católica de Chile*.
- Carbajal Azcona, Á. (2013). *Manual de nutrición y dietética*. Obtenido de Universidad Complutense de MAdrid: <https://eprints.ucm.es/id/eprint/22755/1/Manual-nutricion-dietetica-CARBAJAL.pdf>
- Caritas del Perú. (2012). Obtenido de <https://docplayer.es/4080860-Caracteristica-de-la-alfalfa-dormante-w350.html>.
- Carr, F J; Chill, D; Maida, N. (2002). *The lactic acid bacteria*. Survey.
- Castells, M., & Schmidt, E. (2016). El suero como materia prima. Argentina: Inti.
- Castro, E., & Avilia M, L. (1993). Rol y determinación de lisina, metionina y cistina. *amininoácidos esenciales*. Santiago, Chile. Obtenido de <https://www.fao.org/3/ab482s/AB482S06.htm>
- Codex alimentarius . (2005). Norma internacional codex para la panela. *Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural*, 16. Obtenido de <http://www.panelamonitor.org/media/docrepro/document/files/propuesta-de-norma-internacional-codex-para-la-panela.pdf>
- Delgado, D. (2012). *VITONICA*. Obtenido de La alfalfa, un alimento beneficioso para el ser humano: <https://www.vitonica.com/wellness/la-alfalfa-un-alimento-beneficioso-para-elser-humano>
- Devlieghere, F., Vermeiren, L., & Debevere , J. (2004). *Possibilities and limitations*. Dairy Journal.
- Dragone G, M. S. (2009). Characterisation of volatile compounds in an alcoholic beverage produced by whey fermentation . *food Chem*, 112.
- Etaio, I., Pérez, F. J., Albisu, M., Salmerón, J., Ojeda, M., & Gaston, E. (2007). Guía para la evaluación sensorial de la calidad de los vinos tintos de Rioja Alavesa. *Asociación de Bodegas Vascas Alavesa*.
- Ezpinoza Atencia, E. (2003). *Evaluacion sensorial de los alimentos*. Tacna: Jorge Basadre Grohmann.

- Fan, M. Z., Sauer, W. C., Hardin, R. T., & Lien, K. A. (1994). Determination of apparent ileal amino acid digestibility in pigs. *effect of dietary amino acid level*. J Anim Sci.
- Foegeding, E., & Luck, P. (2002). Whey protein products. En L. Trugo, B. Caballero, & P. Finglas, *Encyclopedia Of foods Sciences and Nutrition*. New York: Academic Press.
- Fundación Chile. (1999). *La digestibilidad como criterio de evaluación de alimentos*. Obtenido de Food and Agriculture Organization:  
<http://www.fao.org/tempref/FI/CDrom/aquaculture/a0845t/volume2/docrep/field/003/ab482s/AB482S08.htm>
- Gómez Candela, C., Cos Blanco, A. I., & Mateo Lobo, R. (2005). *Alimentación y nutrición* (2da ed.). (C. Vazquez, A. I. Cos, & C. López Nomdedeu, Edits.) Madrid-Buenos Aires: Diaz de Santos. Obtenido de <https://books.google.com.pe/books?id=F-xV6Rul96kC&pg=PA30&dq=digestibilidad+de+proteinas&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwimuKCzvObzAhViGbkGHYEtA6sQ6AF6BAGDEAI#v=onepage&q=digestibilidad%20de%20proteinas&f=false>
- Gonzales, M., Castells, M., Mellinger Silva, C., Juliano, P., & Sepulveda, J. (2017). El suero de Queseria. En G. Muset, & M. Castells, *Valorizacion del lactosuero* (pág. 16). Argentina: Inti.
- Gonzales, M., Mattos, C., Castells, M. L., Juliano, P., Mellinger Silva, C., Sepulveda, J. U., . . . López, T. (2017). Alternativas de valorización de sueros de quesería. En C. G. Muset, M. L. Castells, & INTI (Ed.), *Valorización del lactosuero* (1a ed., págs. 28-29). San martin.
- Gorostidi Martinez, N. (Septiembre de 2014). Estudio de la valorización de lactosuero mediante la obtención de una bebida fermentada funcional. *Universidad publica de Navarra*. Ecuador.
- Granito, M., Trujillo, L., & Guerra, M. (Junio de 2004). Uso de Phaseolus Vulgaris y Vigna sinensis como extensores de una bebida láctea fermentada. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* , 54(2). Obtenido de [http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0004-06222004000200014&script=sci\\_arttext](http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0004-06222004000200014&script=sci_arttext)
- Guerrero, J. R. (2011). caracterización del suero de queso blanco del combinado lácteo. *tecnología química*, 31.
- Hernandes, C. (02 de octubre de 2019). *Alimentación actual y sus problemas* . Obtenido de Cuidando salud: <https://www.cuidandosalud.com/la-alimentacion-un-problema-de-salud/>
- Hernandez Sampieri, R., Collado, C. F., & Lucio, P. (2003). *Metodologia de la investigacion*. Mexico: Mc Graw-Hill.
- Hervera, M., Baucells, M. D., & Blanch, F. (2007). Prediction of digestible energy content of extruded dog food by in vitro analysis. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 91(5-6), 205-209.

- Hortus. (2013). Obtenido de [http://www.hortus.com.pe/Hortus/productoA.php?nombre=Alfalfa% 20WL-440HQ](http://www.hortus.com.pe/Hortus/productoA.php?nombre=Alfalfa%20WL-440HQ)
- Hsu, H. W., Vavak, D. L., Satterlee, L. D., & Miller, G. A. (1997). A Multienzyme technique for estimating protein digestibility. *Journal of Food Science*, 42, 1269. Obtenido de <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2621.1977.tb14476.x>
- Infoagro. (junio de 2019). *El cultivo de la alfalfa primera parte*. Obtenido de infoagro.com: <http://www.infoagro.com/herbaceos/forrajes/alfalfa.htm>
- Jamanca Gonzáles, N. C., Rodríguez Espinoza, R. F., & Santa María Podestá, N. (2017). Procesamiento de una bebida nutritiva a base de alfalfa (*Medicago sativa*) y maracuyá (*Passiflora edulis*). *Infinitum*, 28-31.
- Jovanovic, S., Barac, M., & Macej, O. (2005). Whey proteins-properties and possibility of application. *Mljekarstvo*, 55.
- Juliano, P., Walter, E., Gonzáles, M., Castells, M. L., Mattos, C., Mellinger Silva, C., . . . Miraballes, M. (2017). Procesamiento: selección de tecnologías. En M. L. Castells, C. G. Muset, & INTI (Ed.), *Valorización del lactosuero* (1a ed., págs. 48-53). San Martín.
- Korhonen H, P. A. (2006). Bioactive peptides: production and functionality. 16.
- Koutinas, A. H. (2009). *Whey valorisation: A complete and novel technology development for dairy industry starter*. Bioresource Technology.
- Lascano, C. E. (1990). Recomendaciones sobre metodología para la medición de consumo y digestibilidad in vivo. En M. Ruiz, & A. Ruiz, *Nutrición en rumiantes*. Costa Rica: ALPA.
- Lawless, H., Horne, J., & Chapman, K. (2004). Taller de Evaluación Sensorial Aplicada. *Talleres sensoriales*. NEW YORK.
- Lazo, J. P., Romaine, R. P., & Reigh, R. C. (1998). Evaluation of three in vitro enzyme assays for estimating protein digestibility in the Pacific white shrimp. *World Aquaculture*, 29(4), 441-450. Obtenido de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1749-7345.1998.tb00668.x>
- León, M. (2006). Proteínas en nutrición artificial. *Abbott sociedad española de nutrición parental y enteral recuperado de*. Obtenido de [https://senpe.com/documentacion/monografias/senpe\\_monografias\\_proteinas\\_NE3](https://senpe.com/documentacion/monografias/senpe_monografias_proteinas_NE3)
- Linneo, C. (1753). *Species Plantarum*. 2, 778-779.
- Liria Domínguez, M. R. (2007). Guía para la Evaluación Sensorial. *AgroSalud*, 4.
- Londoño, M. (2006). Aprovechamiento del suero ácido de queso doble crema para la elaboración de queso utilizando tres métodos de complementación de acidez con tres ácidos orgánicos. *Perspectiva en nutrición humana*, 16.

- Londoño, M. J. (2008). bebida fermentada de suero de queso fresco inoculada con lactobacillus casei. *Facultad nacional agronomía medellín*, 61.
- López Fandiño, R., & Medina Méndez, I. (2011). *La alimentación en el siglo xxi*. Obtenido de Gobierno de España; ministerio de ciencias, innovación y universidades: <https://editorial.csic.es/publicaciones/libros/11671/978-84-00-08822-4/1a-alimentacion-en-el-siglo-xxi.html>
- Lorusso, A., coda, R., Montemurro, M., & Giuseppe Rizzello, C. (1 de Abril de 2018). Use of selected lactic acid bacteria and quinoa flour for manufacturin novekl yogurt like beverages. *MDPI*, 7(4). Obtenido de <https://doi.org/10.3390/foods7040051>
- Low, A. G. (1982). *Digestibility and availability of amino acids from feedstuffs for pigs* (Vol. 9). Lives Prod Sci.
- Low, A. G. (1990). Protein evaluation in pigs and poultry. *Physiology Digestive Feedstuffs Evaluation*. Butterworth. Londres.
- Machacuay Cordova, S. M. (2014). “Determinacion de las características microbiológicas, fisicoquímicas y sensoriales de una bebida fermentada probiotica a partir de lactosuero. *Universidad Nacional del Centro del Perú*. Junin, Peru.
- Machacuay Córdova, S. M. (2014). Determinación de las características microbiológicas, fisicoquímicas y sensoriales de una bebida fermentada probiótica a partir de lactosuero. Junin, Perú.
- Manríquez H., J. A. (1994). La digestibilidad como criterio de evaluación de alimentos - su aplicacion en peces y en la conservación del medio ambiente. *Control de calidad de insumos y dietas acuícolas*. (E. Castro, Ed.) Santiago, Chile: Fundación Chile. Obtenido de <https://www.fao.org/3/ab482s/AB482S00.htm#TOC>
- Manus, J., Millette, M., Aguilar Uscanga, B. R., Salmieri, S., & Maherani, B. (22 de julio de 2021). In vitro protein digestibility and physicochemical properties of lactic acid bacteria fermented beverages enriched wict plant proteins. *Food Science wiley*, 4172-4180. doi:10.1111 / 1750-3841.15859
- Marshall, K. (2004). Therapeutic application of whey protein. *Alternative medicime review*, 9.
- Marulanda Olier, M. L. (2012). Elaboración y evaluacion de una bebida tipo de yogurt a base de lactosuero dulce fermentado con *Streptococcus Salivarius ssp Thermophilus* y *Lactobacillus Casei ssp Casei*. *Universidad de Cartagena Facultad de Ingeniería Progrma Ingeniería de Alimentos*.
- Mawson, J. (2003). *Fermentation of whey* (Second ed.). (B. caballero, Ed.) London: Encyclopedia of foods sciences and nutrition.
- Mellinger Silva, C., Gonzáles, M., Juliano, P., Sepulvida, J. U., & Castells, M. L. (2017). El suero de queseria. En C. G. Muset, & M. L. Castells, *Valoración del lactosuero* (INTI ed., págs. 15, 19-21). San martin.

- Mena, P. W. (Abril de 2002). Formulación y elaboración de dos bebidas refrescantes con base en suero dulce de queso Fresco y sabores de frutas.
- Mendes da silva, L. (2011). Potential application of whey proteins in the medical field. En J. A. J. S. Ries, *Engineering aspects of milk and dairy products* (págs. 221-254). Braga, Portugal: Taylor & Francis.
- MINAGRI. (27 de Marzo de 2019). *MINAGRI*. Obtenido de <https://www.gob.pe/institucion/minagri/noticias/26977-minagri-promueve-la-cadena-de-produccion-y-mayor-consumo-de-queso-peruano>
- Ministerio de agricultura. (1972). La determinación de digestibilidad en vivo e invitro. En I. z. amazoniza, *II reunion de especialistas e investigadores forrajeros de peru* (pág. 142). Perú. Obtenido de [https://books.google.com.pe/books?id=A5MgAQAIAAJ&pg=PA137&dq=metodologia+de+digestibilidad+en+vitro&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwics92Y0uf3AhXkCdQKHb0\\_DUwQ6AF6BAGFEAI#v=onepage&q=metodologia%20de%20digestibilidad%20en%20vitro&f=false](https://books.google.com.pe/books?id=A5MgAQAIAAJ&pg=PA137&dq=metodologia+de+digestibilidad+en+vitro&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwics92Y0uf3AhXkCdQKHb0_DUwQ6AF6BAGFEAI#v=onepage&q=metodologia%20de%20digestibilidad%20en%20vitro&f=false)
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. (2002). Guía para la elaboración de la panela. *Capacitación en obtención de nuevos productos derivados de la caña y el manjao adecuado de la agroindustria panelera*. Mocoa.
- Ministerio de desarrollo agrario y riego. (marzo de 2021). *Perú cuenta con 6500 plantas de fabricación de quesos*. (A. a. noticias, Recopilador) Obtenido de <https://andina.pe/agencia/noticia-el-peru-cuenta-6500-plantas-fabricacion-quesos-839366.aspx#:~:text=%E2%80%9CEn%20el%20Per%C3%BA%2C%20la%20producci%C3%B3n,a%20nivel%20nacional%E2%80%9D%2C%20puntualiz%C3%B3>.
- Montero C, P. M., Durán L, M., & Marrugo L, Y. (Abril de 2012). Estimación de la digestibilidad in vitro de una bebida refrescante adicionado con proteína plasmática. *Vitae*, 19(1), S300-S302. Recuperado el 29 de Octubre de 2021, de <https://www.redalyc.org/pdf/1698/169823914092.pdf>
- Montes, A. A., Castellanos, G. M., Martínez, G. G., & Chávez, E. T. (2017). Uso de la programación matemática para la formulación de raciones de animales. *Congreso Interdisciplinario de Ingeniería*, 154.
- Montoya Márquez, J. A., Sánchez Estudillo, L., & Torres Hernández, P. (2011). Diseños experimentales ¿quesos y como se utilizan en las ciencias acuáticas? *Ciencia y mar*, 61-70.
- Muzquiz M, M. M., Pedrosa E, A. J., Varela, E., Guillamón, C., Goyoaga, C., Cuadrado, C., & Burbano. (2006). Factores no nutritivos en fuentes proteicas de origen vegetal. *Implementacion y salud- Journal of food technology*, 3, 87-98.
- Obando, P. (2010). *La panela valor nutricional y su importancia en la gastronomía*. Ecuador: Ibarra.

- Organización Mundial de la Salud. (2003). *Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas*. Ginebra.
- Panesar, K. G. (2007). Bioutilisation of whey for lactic acid production. *Food chemistry*, 1-14.
- Parra, A. (2009). Lactosuero importancia en la industria de alimentos. *Facultad nacional de agronomía*, 62.
- Pico, S. M., Gutierrez, D., Aragón, I., Escobar, A., Ortiz, D., Sanches, T., . . . Pachón, H. (Junio de 2011). Evaluación de la composición nutricional, antinutricional y biodisponibilidad in vitro de diferentes extractos foliares. *Revista Chilena*, 38(2), 168-176.
- Poveda, E. (2013). Suero lácteo, generalidades y potencial uso como fuente de calcio de alta biodisponibilidad. *Revista Chilena de nutrición*, 40.
- Rademacher, M., Sauer, W. C., & Jansman, J. M. (1999). Standardized ileal digestibility of amino acids in pigs. *Franffur*.
- Reyes García, M., Gómez, I., Sánchez Prieto, & Espinoza Barrientos, C. (2017). *Tabla de composición de alimentos* (10ma ed.). (Instituto nacional de salud, & Ministerio de salud, Edits.) Lima, Perú: Segear sac. Recuperado el junio de 2019, de [www.ins.gob.pe](http://www.ins.gob.pe)
- Salazar Ordoñez, J. (2017). Utilización del lactosuero de queso fresco y extracto de almendras de calabaza para la elaboración de una bebida fermentada. *Revista Ciencia y Tecnología para el desarrollo-UJCM*, 26-35.
- Sancho, J., Bota, E., & de Castro, J. J. (1999). *Introducción al análisis sensorial de los alimentos*. Barcelona: Universitat de Barcelona.
- Sauer, W., Caine, W. R., Tamminga, S., Vertegen, M. w., & Schulze, H. (1997). *Apparent ileal digestibilities of amino acids in newly weaned pigs fed diets with protease-treated soybean meal*.
- Saver, W. C., Dungan, M., de Lange, K., Imbeah, M., & Mosenthin, R. (1989). Considerations in methodology for the determination of amino acid digestibilities in feedstuffs for pigs. *Absorption and Utilization of amino acid of Amino Acid, III*. Florida: Friedman, M.
- Schneider, R., Fernandez, F. J., Aguilar, M. B., Guerrero Legarreta, I., Alpuche Solís, A., & Ponce Alquicira, E. (2006). Partial Characterization of a class Ila pedicin produced by *periococcus, parvulus*. Mexico: Choro.
- Sociedad cooperativa general agropecuaria. (s.f.). *Alfalfa*. Obtenido de ACOR: [http://www.cooperativaacor.com/extra/descargas/des\\_12/PUBLICACIONES/Otros-cultivos-I/Alfalfa/2-AA-1.pdf](http://www.cooperativaacor.com/extra/descargas/des_12/PUBLICACIONES/Otros-cultivos-I/Alfalfa/2-AA-1.pdf)
- Souffrant, W. B. (1991). Pérdidas endógenas de nitrógeno durante la digestión en cerdos. *Proc. del 5to Simposio Internacional sobre Fisiología Digestiva en Cerdos*. Wageningen, Países Bajos.

- Universidad Nacional de Colombia. (13 de enero de 2020). *icta.unal.edu.co*. Obtenido de Analisis Fisicoquimico: <http://www.icta.unal.edu.co/index.php/ct-menu-item-12/analisis-icta/ct-menu-item-13>
- Van Wissen , D. (2003). Extracto foliar. (78). ECHO Development Notes. Obtenido de <http://edn.link/69xxgj>
- Vásquez, S. M., Suárez, H., & Zapata, S. (2009). Utilizacion de sustancias antimicrobianas producidas por bacterias ácido laticas en la conservacion de la carne. *Revista Chilena de Nutrición*, 199-204.
- Vela gutiérrez, G., Catro Mundo, M., Caballero Roque, A., & Ballenas Díaz, A. (2012). Bebida probiótica de lactosuero adicionado con pulpa de mango y almendras sensorialmente aceptables por adultos mayores. *ReCiTeIA*, 11(2). Obtenido de <http://revistareciteia.es.tl/>
- Velásquez Uribe , G. (2006). *Fundamentos de alimentación saludable*. Antioquía: Universidad de Antioquía.
- Villegas, N. R., Hernández, A., Díaz, J. A., & Flores, I. (Sept - Dic de 2015). Desarrollo de una bebida fermentada con adición de avena a partir del lactosuero de queserías artesanales. *Ciencia y tecnología de alimentos*, 25(3), 54 - 59.
- Walzem, R. D. (2002). Whey components millenima of evolution create funcionalities for mammalian nutrition what we may be overlooking. *Critical reviews in food science and nutrition*, 42.
- Witting de Penna, E. (2001). *Evaluación Sensorial. Una metodología actual para la tecnología de alimentos*. Santiago.

## Anexos

## Anexo 1: Matriz de consistencia

<b>Problema</b>	<b>Objetivo</b>	<b>Hipótesis</b>	<b>Variable</b>
Problema general	Objetivo general	Hipótesis general	V. Independiente
¿Los diferentes niveles de las concentraciones de extracto foliar de alfalfa y de las bacterias ácido lácticas sobre el lactosuero influirán en las características fisicoquímico, digestibilidad y aceptabilidad sensorial para la obtención de una bebida fermentada que cumplan con los parámetros exigidos?	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Evaluar la digestión proteica en una bebida fermentada a base de lactosuero y extracto foliar de alfalfa inoculado con las bacterias ácido lácticas.</li> </ul>	Existe o influye significativamente	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Extracto foliar de alfalfa</li> <li>• Bacterias ácido lácticas</li> </ul>
Problema específico	Objetivo específico	Hipótesis específico	V. Dependiente
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Medir el pH y la acidez en el proceso de la incubación sobre las concentraciones de extracto foliar de alfalfa y bacterias ácido lácticas de la bebida fermentada a base de lactosuero.</li> <li>• Evaluar la digestibilidad (proteína) in vitro de la bebida fermentada sobre el efecto de las bacterias ácido lácticas y el extracto foliar de alfalfa.</li> <li>• Evaluar la aceptabilidad (preferencia) de la bebida fermentada sobre sus características organolépticas mediante pruebas afectivas.</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• pH, acidez</li> <li>• Digestibilidad de proteína</li> <li>• Aceptabilidad sensorial</li> </ul>

## Anexo II: Instrumentos de recolección de datos – Ensayo de digestibilidad in vitro



**Universidad Nacional del Altiplano - Puno**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**  
 Ciudad Universitaria, Av. Sesquicentenario N° 1150, Telf.: (051)599430 IP: 10301 / (051) 366080



---

**LABORATORIO DE EVALUACIÓN NUTRICIONAL DE ALIMENTOS**

**INFORME DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS Nro. 00121-2021-LENA-EPIA**

SOLICITANTE : CRISTIAN GENARO LOPEZ ESPINOZA  
 DAVID EDSON SUYO QUISPE

TÍTULO : "OBTENCIÓN Y EVALUACIÓN DE LA DIGESTIÓN IN VITRO DE UNA BEBIDA FERMENTADA A BASE DE LACTOSUERO Y EXTRACTO FOLIAR DE ALFALFA (*Medicago sativa*) EDULCORADO CON PANELA"

PRODUCTO : BEBIDA FERMENTADA

ENSAYO SOLICITADO : DIGESTIBILIDAD IN VITRO DE PROTEÍNA

FECHA DE RECEPCIÓN : 27 de Diciembre del 2021

FECHA DE ENSAYO : 27 de Diciembre del 2021

FECHA DE EMISIÓN : 30 de Diciembre del 2021

**RESULTADOS:**

De acuerdo al informe de los Análisis de Laboratorio que obra en los archivos las medias de los resultados por triplicado son:

**ENSAYO DE DIGESTIBILIDAD IN VITRO DE PROTEÍNA**

MUESTRAS	% DE DIGESTIBILIDAD DE PROTEÍNA
EFA	88.19
Lactosuero	44.88
Tratamiento 1	70.60
Tratamiento 2	69.66
Tratamiento 3	76.21
Tratamiento 4	74.80
Tratamiento 5	79.48
Tratamiento 6	78.54

**MÉTODOS UTILIZADOS EN LABORATORIO:**

- Digestibilidad in vitro de Boisen & Fernández (1997)
- Proteína bruta (N) por método kjeldahl

• **CONCLUSIÓN:** Los resultados de digestibilidad están conformes

Puno, C.U. 30 de diciembre del 2021

  
**Osvaldo Alpest Alca**  
INGENIERO AGROINDUSTRIAL  
C.I.T. 100626

  
**JEFATURA**  
LABORATORIO DE EVALUACIÓN NUTRICIONAL DE ALIMENTOS  
F.C.A. UNAF - PUNO

  
**Luis Alberto Jiménez**  
INGENIERO AGROINDUSTRIAL  
C.I.P. 1512  
JEFE DE LABORATORIO

---

E-mail: direccion.epiia@unap.edu.pe

### Anexo III: Instrumentos de recolección de datos – Análisis Bromatológico



LABORATORIO AMBIENTAL DE  
AGUA SUELOS Y MECÁNICA DE SUELOS

**ANÁLISIS**  
Físico - Químico - Microbiológico  
Agua, suelo, alimentos  
Medio ambiente  
Mecánica de suelos y otros.



## INFORME DE ANÁLISIS

**SOLICITANTES:** SUYO QUISPE DAVID EDSON  
LOPEZ ESPINOZA CRISTIAN GENARO

**T. TESIS:** OBTENCIÓN Y EVALUACIÓN DE LA DIGESTIÓN IN VITRO  
DE UNA BEBIDA FERMENTADA A BASE DE LACTOSUERO  
Y EXTRACTO FOLIAR DE ALFALFA (*MEDICAGO SATIVA*)  
EDULCORADO CON PANELA.

**MUESTRA:** EXTRACTO FOLIAR DE ALFALFA

**FECHA:** 01/12/2021

**RESULTADOS DE ANÁLISIS BROMATOLÓGICO**

Humedad	%	5.24
Proteínas Cruda	%	54.98
Ceniza	%	4.24
Grasa	%	6.42
Carbohidrato	%	28.8
Fibra Cruda	%	0.32
Calorías	Kcal	172.98

Métodos: Humedad NTP 206.011, Proteína Kjeldahl NTP 202.119 ó AOAC 990.03 Dumas, Materia Grasa NTP 202 126.....



Ing. Mario José Cristóbal Guerrero  
N.º 252776  
ESPECIALISTA EN SUELOS



LABORATORIO AMBIENTAL DE  
AGUA SUELOS Y MECÁNICA DE SUELOS

ANÁLISIS

Fisico - Químico - Microbiológico  
Agua, suelo, alimentos  
Medio ambiente  
Mecánica de suelos y eros.



## INFORME DE ANÁLISIS

SOLICITANTES: SUYO QUISPE DAVID EDSON  
LOPEZ ESPINOZA CRISTIAN GENARO

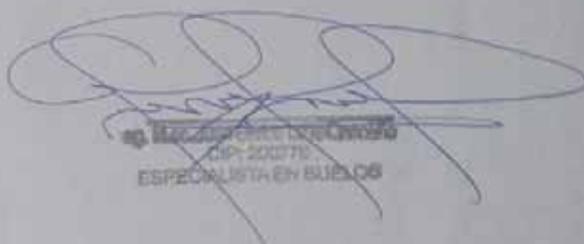
T. TESIS: OBTENCIÓN Y EVALUACIÓN DE LA DIGESTIÓN IN VITRO  
DE UNA BEBIDA FERMENTADA A BASE DE LACTOSUERO  
Y EXTRACTO FOLIAR DE ALFALFA (*MEDICAGO SATIVA*)  
EDULCORADO CON PANELA.

MUESTRA: LACTOSUERO

FECHA: 01/12/2021

### RESULTADOS DE ANÁLISIS BROMATOLÓGICO

Humedad	%	93
Materia seca	%	7
Proteína Cruda	%	0.96
Ceniza	%	0.31
Grasa	%	0.38
Carbohidrato	%	5.12
Calorías	Kcal	27.74



Ing. María Alejandra López Canales  
CIP: 200270  
ESPECIALISTA EN SUELOS



LABORATORIO AMBIENTAL DE  
AGUA-SUELOS Y MECÁNICA DE SUELOS

ANÁLISIS  
Físico - Químico - Microbiológico  
Agua - suelo, alimentos  
Medio ambiente  
Mecánica de suelos y otros.



## INFORME DE ANÁLISIS

SOLICITANTES: SUYO QUISPE DAVID EDSON  
LOPEZ ESPINOZA CRISTIAN GENARO

T. TESIS: OBTENCIÓN Y EVALUACIÓN DE LA DIGESTIÓN IN VITRO  
DE UNA BEBIDA FERMENTADA A BASE DE LACTOSUERO  
Y EXTRACTO FOLIAR DE ALFALFA (*MEDICAGO SATIVA*)  
EDULCORADO CON PANELA.

MUESTRA: TRATAMIENTO 1

FECHA: 01/12/2021

### RESULTADOS DE ANÁLISIS BROMATOLÓGICO

Materia seca	%	17.19
Proteína Cruda	%	1.51
Ceniza	%	0.44
Grasa	%	0.6
Carbohidrato	%	14.64
Calorías	Kcal	70

  
Ing. Cristian Genaro Lopez Espinoza  
ESPECIALISTA EN SUELOS



LABORATORIO AMBIENTAL DE  
AGUA SUELOS Y MECÁNICA DE SUELOS

ANÁLISIS  
Fisico - Químico - Microbiológico  
Agua, suelo, alimentos  
Medios ambiente  
Mecánica de suelos y obras



## INFORME DE ANÁLISIS

SOLICITANTES: SUYO QUISPE DAVID EDSON  
LOPEZ ESPINOZA CRISTIAN GENARO

T. TESIS: OBTENCIÓN Y EVALUACIÓN DE LA DIGESTIÓN IN VITRO  
DE UNA BEBIDA FERMENTADA A BASE DE LACTOSUERO  
Y EXTRACTO FOLIAR DE ALFALFA (MEDICAGO SATIVA)  
EDULCORADO CON PANELA.

MUESTRA: TRATAMIENTO 2

FECHA: 01/12/2021

### RESULTADOS DE ANÁLISIS BROMATOLÓGICO

Materia seca	%	17.21
Proteínas Cruda	%	1.49
Ceniza	%	0.43
Grasa	%	0.58
Carbohidrato	%	14.71
Calorías	Kcal	70.02

  
M.Sc. CRISTIAN GENARO LOPEZ ESPINOZA  
DPI: 2002776  
ESPECIALISTA EN SUELOS



LABORATORIO AMBIENTAL DE  
AGUA SUELOS Y MECÁNICA DE SUELOS

ANÁLISIS  
Físico - Químico - Microbiología  
Agua, suelo, alimentos  
Medio ambiente  
Mecánica de suelos y erosión



## INFORME DE ANÁLISIS

SOLICITANTES: SUYO QUISPE DAVID EDSON  
LOPEZ ESPINOZA CRISTIAN GENARO

T. TESIS: OBTENCIÓN Y EVALUACIÓN DE LA DIGESTIÓN IN VITRO  
DE UNA BEBIDA FERMENTADA A BASE DE LACTOSUERO  
Y EXTRACTO FOLIAR DE ALFALFA (MEDICAGO SATIVA)  
EDULCORADO CON PANELA.

MUESTRA: TRATAMIENTO 3

FECHA: 01/12/2021

### RESULTADOS DE ANÁLISIS BROMATOLÓGICO

Materia seca	%	17.84
Proteínas Cruda	%	1.63
Ceniza	%	0.5
Grasa	%	0.55
Carbohidrato	%	15.16
Calorías	Kcal	72.11

  
Ing. M.Sc. [Nombre] [Apellido]  
CSP: 200770  
ESPECIALISTA EN SUELOS



LABORATORIO AMBIENTAL DE  
AGUA SUELOS Y MECÁNICA DE SUELOS

ANÁLISIS

Natza - Químico - Microbiología  
Agua, suelo, alimentos  
Medio ambiente  
Mecánica de suelos y otros.



## INFORME DE ANÁLISIS

SOLICITANTES: SUYO QUISPE DAVID EDSON  
LOPEZ ESPINOZA CRISTIAN GENARO

T. TESIS: OBTENCIÓN Y EVALUACIÓN DE LA DIGESTIÓN IN VITRO  
DE UNA BEBIDA FERMENTADA A BASE DE LACTOSUERO  
Y EXTRACTO FOLIAR DE ALFALFA (*MEDICAGO SATIVA*)  
EDULCORADO CON PANELA.

MUESTRA: TRATAMIENTO 5

FECHA: 01/12/2021

### RESULTADOS DE ANÁLISIS BROMATOLÓGICO

Materia seca	%	18.7
Proteínas Cruda	%	1.7
Ceniza	%	0.53
Grasa	%	0.53
Carbohidrato	%	15.94
Calorías	Kcal	75.33

LABORATORIO AMBIENTAL DE  
AGUA SUELOS Y MECÁNICA DE SUELOS



LABORATORIO AMBIENTAL DE  
AGUA SUELOS Y MECÁNICA DE SUELOS

ANÁLISIS  
Fases - Química - Microbiología  
Agua, Suelos, Alimentos  
Medio ambiente  
Medicina de agua y otros.



## INFORME DE ANÁLISIS

SOLICITANTES: SUYO QUISPE DAVID EDSON  
LOPEZ ESPINOZA CRISTIAN GENARO

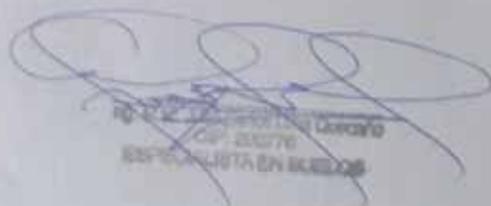
T. TESIS: OBTENCIÓN Y EVALUACIÓN DE LA DIGESTIÓN IN VITRO  
DE UNA BEBIDA FERMENTADA A BASE DE LACTOSUERO  
Y EXTRACTO FOLIAR DE ALFALFA (MEDICAGO SATIVA)  
EDULCORADO CON PANELA.

MUESTRA: TRATAMIENTO 4

FECHA: 01/12/2021

### RESULTADOS DE ANÁLISIS BROMATOLÓGICO

Materia seca	%	17.95
Proteínas Cruda	%	1.6
Ceniza	%	0.48
Grasa	%	0.57
Carbohidrato	%	15.3
Calorías	Kcal	72.73

  
 Ing. Cristian Genaro Lopez Espinoza  
 CIP: 250776  
 ESPECIALISTA EN SUELOS



LABORATORIO AMBIENTAL DE  
AGUA, SUELOS Y MECÁNICA DE SUELOS

ANÁLISIS  
Fisico - Químico - Microbiológico  
Agua, suelo, alimentos  
Medio ambiente  
Mecánica de suelos y otros



## INFORME DE ANÁLISIS

SOLICITANTES: SUYO QUISPE DAVID EDSON  
LÓPEZ ESPINOZA CRISTIAN GENARO

T. TESIS: OBTENCIÓN Y EVALUACIÓN DE LA DIGESTIÓN IN VITRO  
DE UNA BEBIDA FERMENTADA A BASE DE LACTOSUERO  
Y EXTRACTO FOLIAR DE ALFALFA (MEDICAGO SATIVA)  
EDULCORADO CON PANELA.

MUESTRA: TRATAMIENTO 6

FECHA: 01/12/2021

### RESULTADOS DE ANÁLISIS BROMATOLÓGICO

Materia seca	%	18.68
Proteína Cruda	%	1.68
Ceniza	%	0.51
Grasa	%	0.55
Carbohidrato	%	15.94
Calorías	Kcal	75.43

**Anexo III: Instrumentos de recolección de datos – Análisis Microbiológico**

**LAASA LAB**  
LABORATORIO DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO Y CONTROL DE CALIDAD

---

**INFORME N°45 – AM – LAASA LAB 2021**

**ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE “ OBTENCIÓN Y EVALUACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD IN VITRO DE UNA BEBIDA FERMENTADA A BASE DE LACTOSUERO Y EXTRACTO FOLIAR DE ALFALFA (*Medicago sativa*) EDULCORADO CON PANELA.**

**CONTIENE:**

1. METODOLOGÍA.
2. MATERIALES.
3. RESULTADO DE ENSAYO MICROBIOLÓGICO.
4. CONCLUSIONES.
5. REGISTRO FOTOGRÁFICO.

  
Blga. María de Carmen Yáñez Mujica  
C. B. P. 8298  
GERENTE  
L.A.A.S.A. LAB. E.I.R.L.

**Cusco, 6 de diciembre del 2021**

---

Urb. Magisterio Av. José Gabriel Coello 403-A 1ra Etapa  984782192 / 054 - 595814 1



## 1 METODOLOGIA:

Debido a que un gran número de enfermedades son transmitidas por vía fecal-oral utilizando como vehículo los alimentos y el agua, es necesario contar con microorganismos que funcione como indicador de contaminación fecal. Estos deben de ser constantes, abundantes y exclusivos de la materia fecal, deben tener una sobrevivencia similar a la de los patógenos intestinales y debe de ser capaces de desarrollarse extraintestinalmente.

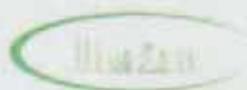
El grupo coliforme es constante, abundante y casi exclusivo de la materia fecal, sin embargo, las características de sobrevivencia y la capacidad para multiplicarse fuera del intestino también se observan en aguas potables, por lo que el grupo coliforme se utiliza como indicador de contaminación fecal en agua; conforme mayor sea el número de coliformes en agua, mayor será la probabilidad de estar frente a una contaminación reciente. Cuando los coliformes llegan a los alimentos, no sólo sobreviven, sino que se multiplican, por lo que en los alimentos el grupo coliforme adquiere un significado distinto al que recibe en el agua. En productos alimenticios que han recibido un tratamiento térmico (pasteurización, horneado, cocción, etc.), se utilizan como indicadores de malas prácticas sanitarias.

Los microorganismos coliformes constituyen un grupo heterogéneo con hábitat primordialmente intestinal para la mayoría de las especies que involucra. El grupo de bacterias coliformes totales comprende todos los bacilos Gramnegativos aerobios o anaerobios facultativos, no esporulados, que fermentan la lactosa con producción de gas en un lapso máximo de 48 h. a  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Este grupo está conformado por 4 géneros principalmente: Enterobacter, Escherichia, Citrobacter y Klebsiella.

Las Levaduras, son microorganismos cuya forma dominante de crecimiento es unicelular. Poseen un núcleo y se multiplican por reproducción sexual o asexual, por gemación o por fisión transversal. La reproducción sexual cuando ocurre, es por medio de ascosporas contenidas en un saco o asca.

Las levaduras suelen estar presentes en los suelos, en las hojas de las plantas, en frutos, en la piel de los animales donde también forman parte de la microbiota, sobre otros hongos macroscópicos como las setas y alimentos donde se utilicen como fermento. En cuanto a su modo de vida pueden ser saprotrofos o parásitos ya sea de plantas, animales u otros hongos.

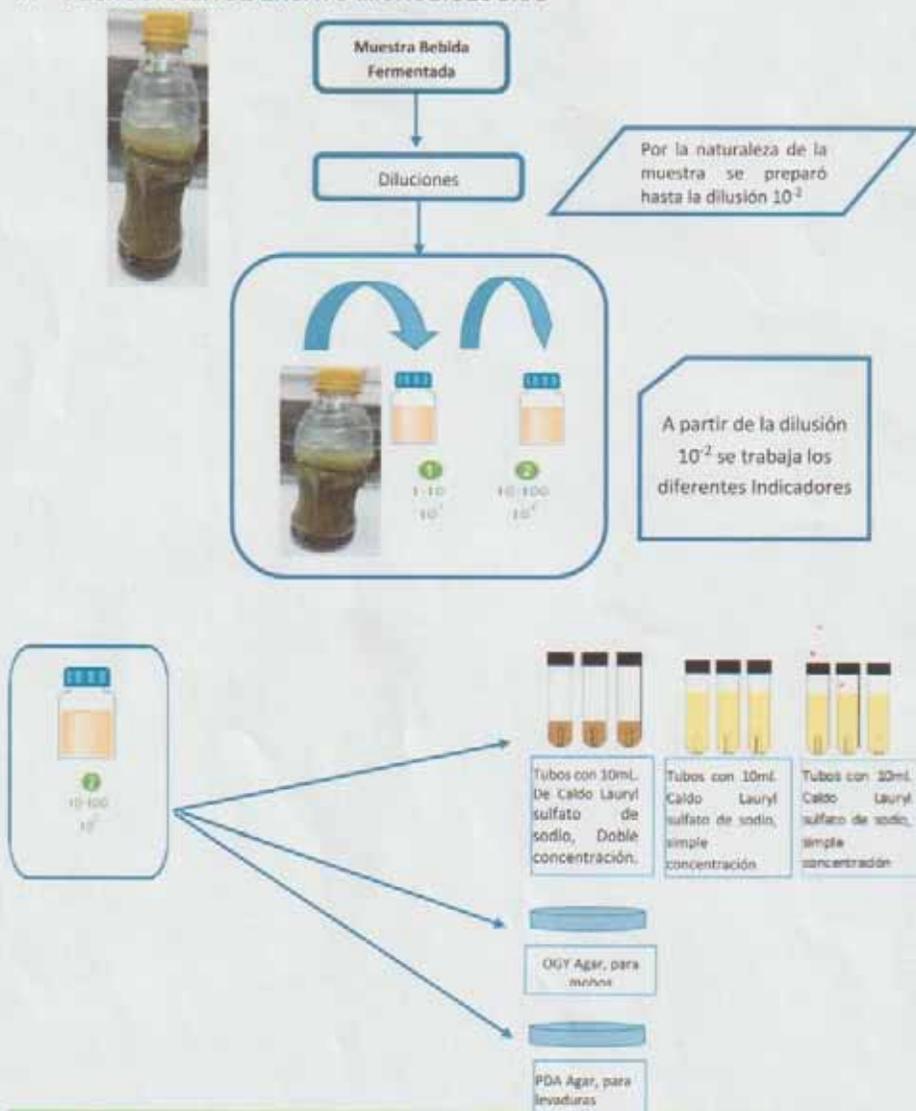
Los Mohos: Son un grupo de hongos microscópicos; pertenecientes al reino Fungi, que se caracterizan por tener un cuerpo formado por estructura filamentosa con ramificaciones, que se conocen con el nombre de hifas, se alimentan por absorción pudiendo propagarse por esporas flageladas o no,  Crecen formando colonias en un medio selectivo a  $25^{\circ}\text{C}$ .



**LAASA LAB**

Es de gran importancia cuantificar los mohos y levaduras en los alimentos, puesto que al establecer la cuenta de estos microorganismos, permite su utilización como un indicador de prácticas sanitarias inadecuadas durante la producción y el almacenamiento de los productos, así como el uso de materia prima inadecuada.

### 1.1 FLUXOGRAMA DE ENSAYO MICROBIOLÓGICO





**LAASA LAB**

LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA Y BIOPROCESOS

## 1.2 MATERIAL OPERATIVO



### 1.2.1 Material operativo

Entre este tipo de material se tiene:

- Placas Petri esterilizadas de 18 x 100mm.
- Balones de 500ml.
- 3 Tubos de ensayo con 10mL. De doble concentración y 6 tubos con 10ml de concentración simple con Caldo Lauryl sulfato de sodio, con tubo de Durham, esterilizados.
- Pipetas de vidrio de 5ml y 10ml, esterilizadas.
- Placas con Medios de Cultivo, OGY Agar y PDA Agar.
- Bateria de coloración de Gram.

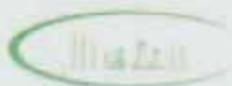
### 1.2.2 Equipos de Laboratorio

- Mechero de Bunsen.
- Autoclave.
- Incubadora a 37°C.
- Incubadora a 28°C.
- Microscópio
- Balanza
- EPPs (Protector naso bucal; Gorro; Guantes; Mandil).


**LAASA LAB**
LABORATORIO DE ANÁLISIS DE AGUAS, ALIMENTOS Y PRODUCTOS BIOLÓGICOS

### 1.2.3 Preparación de Material operativo:

Preparación de Medios de Cultivo	Preparación de diluciones	Preparación de Implementos
<p>3 Tubos de 20ml, con Caldo Lauryl sulfato con 10ml, de doble concentración, con tubo de Durhan, invertido.</p> <p>2 series de três tubos com 10ml. De Caldo Lauryl sulfato, de simple concentración, con tubo de Durhan, invertido.</p> <p>Placas con medios de cultivo, OGY Agar y PDA Agar.</p>	<p>Se cuenta com dos envases esterilizados com 90ml. De agua destilada esterilizada.</p> <p>Se cuenta com pipetas esterilizadas de 10ml. Por cada dilusión.</p> <p>La esterilidade se logra en autoclave durante 15 minutos a 121°C.</p>	<p>Se necessita pipetas de 5 y 10ml de vidrio.</p> <p>Que se esterilizan en autoclave durante 15 minutos a 121°C.</p> <p>Botellas con 90ml de agua destilada esterilizadas en autoclave durante 15 minutos a 121°C. para las dilusiones.</p>
		



**LAASA LAB**

## 2 RESULTADOS DE ENSAYO MICROBIOLÓGICO

SOLICITANTES: Bach. LOPEZ ESPINOZA; Cristian Genaro  
Bach. SUYO QUISPE; David Edson.

PROYECTO DE TESIS: "OBTENCIÓN Y EVALUACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD IN VITRO DE UNA BEBIDA FERMENTADA A BASE DE LACTOSUERO Y EXTRACTO FOLIAR DE ALFALFA (Medicago sativa) EDULCORADO CON PANELA".

UNIVERSIDAD SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO-FACULTAD DE INGENIERÍA DE PROCESOS  
-ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL-

**Muestra 1 : BEBIDA FERMENTADA A BASE DE LACTOSUERO.**

### DATOS DEL MUESTREO

Toma de muestra : Realizada por Sr. Cristian López Espinoza.  
Lugar de Procedencia : Laboratorio de Investigación e Innovación de Productos Agroindustriales de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial.  
Distrito : Sicuani – Canchis - Cusco.  
Descripción de muestra : Envases de plástico nuevo, con tapa rosca sellados  
Fecha muestreo 1er. Ensayo : 01/12/2021

### RESULTADOS

N° Ref. Laboratorio	Punto de muestreo	Coliformes Totales NMP/100ml (35 °C)	Mohos UFC/ mL (28°C)	Levaduras UFC/mL (28°C)
Muestra 1	Bebida fermentada	76	9	45
Límites permisibles		100	100	100

MÉTODO DE ANÁLISIS:	Método Estandarizado por Agotamiento en superficie Método Estandarizado de Fermentación de Tubo Múltiple de Coliformes
DOCUMENTO DE LA REFERENCIA	NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01 NORMA SANITARIA QUE ESTABLECE LOS CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS DE CALIDAD SANITARIA E INOCUIDAD PARA LOS ALIMENTOS Y BEBIDAS DE CONSUMO HUMANO, con RM N°591-2008/MINSA, Grupo I, Leche y Productos lácteos ítem 1.7, Leches fermentadas y acidificadas (yogourt; leche cultivada; cuajada, otros).

De acuerdo a los resultados de análisis y en el marco de los documentos de referencia, la muestra: **Cumple con los ECA** Microbiológicos (Estándares de Calidad), establecidos por el documento de referencia.

Cusco, 6 de diciembre del 2021.  
MCYM.

NOTA: Los resultados son válidos únicamente para la muestra analizada

  
Bga. María de Carmen Yáñez Mujica  
BIOLOGA  
C. B. P. 8298



**LAASA LAB**

### 3 REFERENCIASS BIBLIOGRÁFICAS

- Komacki J.L. & Johnson J.L. (2001) "Enterobacteriaceae, Coliforms, and Escherichia coli as Quality and Safety Indicators". In: Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 4th ed. Downs F.P. & Ito K. (Eds.) APHA. Washington. 69-82.

### 4 REGISTRO FOTOGRÁFICO

FOTOGRAFÍA	DESCRIPCIÓN
	<p>Muestra entregada en Laboratorio</p>
	<p>Material operativo para la determinación de Microorganismos Coliformes.</p>
	<p>Material con inculo de cultivo para la determinación de Microorganismos Coliformes.</p>

**LAASA LAB**

Servicios de laboratorio de aguas, alimentos y medio ambiente



Material operativo para el ensayo microbiológico.



Placas de cultivo para Mohos y Levaduras.

#### Anexo IV: Instrumentos de recolección de datos – Análisis Químico

ANÁLISIS QUÍMICO DE pH Y ACIDEZ EN LA OBTENCIÓN Y DIGESTIÓN IN VITRO DE UNA BEBIDA FERMENTADA A BASE DE LACTOSUERO Y EXTRACTO FOLIAR DE ALFALFA

Muestra: Tratamiento 1

Resultados de análisis químico

Tiempo	pH	Acidez (%)
0 Hrs	6.34	0.19
1 Hrs	6.04	0.24
2 Hrs	5.84	0.39
3 Hrs	5.19	0.50
4 Hrs	4.84	0.57
5 Hrs	4.75	0.60
6 Hrs	4.67	0.65

Muestra: Tratamiento 2

Resultados de análisis químico

Tiempo	pH	Acidez (%)
0 Hrs	6.33	0.20
1 Hrs	6.03	0.25
2 Hrs	5.83	0.40
3 Hrs	5.18	0.51
4 Hrs	4.83	0.58
5 Hrs	4.74	0.61
6 Hrs	4.66	0.66

Muestra: Tratamiento 3

Resultados de análisis químico

Tiempo	pH	Acidez (%)
0 Hrs	6.32	0.22
1 Hrs	6.02	0.27
2 Hrs	5.82	0.42
3 Hrs	5.17	0.53
4 Hrs	4.82	0.60
5 Hrs	4.73	0.63
6 Hrs	4.65	0.68

Muestra: Tratamiento 4

Resultados de análisis químico

Tiempo	pH	Acidez (%)
0 Hrs	6.32	0.21
1 Hrs	6.02	0.26
2 Hrs	5.82	0.41
3 Hrs	5.17	0.52
4 Hrs	4.82	0.59
5 Hrs	4.73	0.62
6 Hrs	4.65	0.67

Muestra: Tratamiento 5

Resultados de análisis químico

Tiempo	pH	Acidez (%)
0 Hrs	6.28	0.24
1 Hrs	5.98	0.29
2 Hrs	5.78	0.44
3 Hrs	5.13	0.55
4 Hrs	4.78	0.62
5 Hrs	4.69	0.65
6 Hrs	4.61	0.70

Muestra: Tratamiento 6

Resultados de análisis químico

Tiempo	pH	Acidez (%)
0 Hrs	6.29	0.23
1 Hrs	5.99	0.28
2 Hrs	5.79	0.43
3 Hrs	5.14	0.54
4 Hrs	4.79	0.61
5 Hrs	4.70	0.64
6 Hrs	4.62	0.69

## Anexo V: Instrumentos de recolección de datos – Análisis Organoléptico

Ficha de evaluación sensorial



Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco  
Facultad de Ingeniería de Procesos  
Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial



### FICHA DE EVALUACIÓN SENSORIAL PRUEBA DE NIVEL DE ACEPTACIÓN DE ESCALA HEDÓNICA

NOMBRES Y APELLIDOS ..... FECHA: .....

Producto: Bebida fermentada

#### INSTRUCCIONES PARA LA EVALUACIÓN SENSORIAL:

Sr(a) panelista a continuación se presenta la tabla de puntuación de acuerdo a su sensación, pruebe e indique lo que le proporcione los atributos organolépticos de la muestra.

Sensación	Me disgusta mucho	Me disgusta	Me es indiferente	Me gusta	Me gusta mucho
puntaje	1	2	3	4	5

En frente de Ud. Se le presenta 6 muestras del producto para que los puntué en cuanto: sabor, olor, color y consistencia

Recuerde tomar agua entre muestra y muestra

Atributo Puntaje	Sabor (gusto)	Olor (Olfato)	Color (vista)
595			
287			
965			
782			
529			
314			

Comentarios y sugerencias:

.....

**Gracias por su colaboración**

	Muestras	Sabor	Olor	Color	Consistencia	Promedio
ENSAYO 1	Trat. 1	3.47	3.23	3.07	3.60	3.34
	Trat. 2	3.90	3.07	3.77	3.37	3.53
	Trat. 3	3.63	3.40	3.40	3.00	3.36
	Trat. 4	3.83	3.23	3.23	3.80	3.53
	Trat. 5	3.33	3.23	3.17	3.40	3.28
	Trat. 6	3.60	3.30	3.37	3.77	3.51
	Prom. General	3.63	3.24	3.33	3.49	3.42

	Muestras	Sabor	Olor	Color	Consistencia	
ENSAYO 2	Trat. 1	3.70	3.57	3.37	3.77	3.60
	Trat. 2	3.90	3.33	3.93	3.50	3.67
	Trat. 3	3.47	3.57	3.43	3.37	3.46
	Trat. 4	3.63	3.30	3.23	3.40	3.39
	Trat. 5	3.47	3.53	3.43	3.73	3.54
	Trat. 6	3.33	3.33	3.63	3.87	3.54
	Prom. General	3.58	3.44	3.51	3.61	3.53

	Muestras	Sabor	Olor	Color	Consistencia	
ENSAYO 3	Trat. 1	3.93	3.53	3.20	3.47	3.53
	Trat. 2	3.87	3.87	3.63	3.90	3.82
	Trat. 3	3.57	3.53	3.57	3.70	3.59
	Trat. 4	3.77	3.73	3.67	3.40	3.64
	Trat. 5	3.47	3.50	3.90	3.87	3.68
	Trat. 6	3.47	3.50	3.63	3.53	3.53
	Prom. General	3.68	3.61	3.60	3.64	3.63

**Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para SABOR con intervalos de confianza del 95.0%**

			<i>Error</i>	<i>Límite</i>	<i>Límite</i>
<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Est.</i>	<i>Inferior</i>	<i>Superior</i>
MEDIA GLOBAL	18	3.63			
EFA					
6	6	3.795	0.0513791	3.68305	3.90695
8	6	3.65	0.0513791	3.53805	3.76195

10	6	3.445	0.0513791	3.33305	3.55695
BAL					
2	9	3.56	0.0419509	3.4686	3.6514
3	9	3.7	0.0419509	3.6086	3.7914
EFA por BAL					
6,2	3	3.7	0.0726611	3.54168	3.85832
6,3	3	3.89	0.0726611	3.73168	4.04832
8,2	3	3.55667	0.0726611	3.39835	3.71498
8,3	3	3.74333	0.0726611	3.58502	3.90165
10,2	3	3.42333	0.0726611	3.26502	3.58165
10,3	3	3.46667	0.0726611	3.30835	3.62498

### El StatAdvisor

Esta tabla muestra la media de SABOR para cada uno de los niveles de los factores. También muestra los errores estándar de cada media, los cuales son una medida de la variabilidad en su muestreo. Las dos columnas de la extrema derecha muestran intervalos de confianza del 95.0% para cada una de las medias. Pueden desplegarse estas medias e intervalos seleccionado Gráfica de Medias de la lista de Opciones Gráficas.

**Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para OLOR con intervalos de confianza del 95.0%**

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Error Est.</i>	<i>Límite Inferior</i>	<i>Límite Superior</i>
MEDIA GLOBAL	18	3.43056			
EFA					
6	6	3.43333	0.0944575	3.22753	3.63914
8	6	3.46	0.0944575	3.25419	3.66581

10	6	3.39833	0.0944575	3.19253	3.60414
BAL					
2	9	3.45444	0.0771242	3.2864	3.62248
3	9	3.40667	0.0771242	3.23863	3.57471
EFA por BAL					
6,2	3	3.44333	0.133583	3.15228	3.73439
6,3	3	3.42333	0.133583	3.13228	3.71439
8,2	3	3.5	0.133583	3.20895	3.79105
8,3	3	3.42	0.133583	3.12895	3.71105
10,2	3	3.42	0.133583	3.12895	3.71105
10,3	3	3.37667	0.133583	3.08561	3.66772

### El StatAdvisor

Esta tabla muestra la media de OLOR para cada uno de los niveles de los factores. También muestra los errores estándar de cada media, los cuales son una medida de la variabilidad en su muestreo. Las dos columnas de la extrema derecha muestran intervalos de confianza del 95.0% para cada una de las medias. Pueden desplegarse estas medias e intervalos seleccionado Gráfica de Medias de la lista de Opciones Gráficas.

### Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para COLOR con intervalos de confianza del 95.0%

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Error Est.</i>	<i>Límite Inferior</i>	<i>Límite Superior</i>
MEDIA GLOBAL	18	3.47944			
EFA					
6	6	3.495	0.087776	3.30375	3.68625
8	6	3.42167	0.087776	3.23042	3.61291
10	6	3.52167	0.087776	3.33042	3.71291
BAL					
2	9	3.39333	0.0716688	3.23718	3.54949
3	9	3.56556	0.0716688	3.4094	3.72171
EFA por BAL					
6,2	3	3.21333	0.124134	2.94287	3.4838
6,3	3	3.77667	0.124134	3.5062	4.04713
8,2	3	3.46667	0.124134	3.1962	3.73713
8,3	3	3.37667	0.124134	3.1062	3.64713
10,2	3	3.5	0.124134	3.22953	3.77047
10,3	3	3.54333	0.124134	3.27287	3.8138

**El StatAdvisor**

Esta tabla muestra la media de COLOR para cada uno de los niveles de los factores. También muestra los errores estándar de cada media, los cuales son una medida de la variabilidad en su muestreo. Las dos columnas de la extrema derecha muestran intervalos de confianza del 95.0% para cada una de las medias. Pueden desplegarse estas medias e intervalos seleccionado Gráfica de Medias de la lista de Opciones Gráficas.

## Anexo VI: Normativas alimentarias

## NORMA DEL CODEX PARA LECHE FERMENTADAS

CODEX STAN 243-2003

## 1. ÁMBITO

Esta norma se aplica a las leches fermentadas, es decir, la Leche Fermentada incluyendo las Leches Fermentadas Tratadas Térmicamente, las Leches Fermentadas Concentradas y los productos lácteos compuestos basados en estos productos, para consumo directo o procesamiento ulterior, de conformidad con las definiciones de la Sección 2 de esta Norma.

## 2. DESCRIPCIÓN

- 2.1 La *leche fermentada* es un producto lácteo obtenido por medio de la fermentación de la leche, que puede haber sido elaborado a partir de productos obtenidos de la leche con o sin modificaciones en la composición según las limitaciones de lo dispuesto en la Sección 3.3, por medio de la acción de microorganismos adecuados y teniendo como resultado la reducción del pH con o sin coagulación (precipitación isoeléctrica). Estos cultivos de microorganismos serán viables, activos y abundantes en el producto hasta la fecha de duración mínima. Si el producto es tratado térmicamente luego de la fermentación, no se aplica el requisito de microorganismos viables.

Yogur:	Cultivos simbióticos de <i>Streptococcus thermophilus</i> y <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subesp. <i>bulgaricus</i> .
Yogur en base a cultivos alternativos:	Cultivos de <i>Streptococcus thermophilus</i> y toda especie <i>Lactobacillus</i> .
Leche acidófila:	<i>Lactobacillus acidophilus</i> .
Kefir :	Cultivo preparado a partir de gránulos de kefir, <i>Lactobacillus kefiri</i> , especies del género <i>Leuconostoc</i> , <i>Lactococcus</i> y <i>Acetobacter</i> que crecen en una estrecha relación específica. Los gránulos de kefir constituyen tanto levaduras fermentadoras de lactosa ( <i>Kluyveromyces marxianus</i> ) como levaduras fermentadoras sin lactosa ( <i>Saccharomyces unisporus</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> y <i>Saccharomyces exiguus</i> ).
Kumys:	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subesp. <i>bulgaricus</i> y <i>Kluyveromyces marxianus</i> .

Podrán agregarse otros microorganismos aparte de los que constituyen el cultivo específico (o los cultivos específicos) especificados anteriormente.

- 2.2 *Leche fermentada concentrada* es una Leche Fermentada cuya proteína ha sido aumentada antes o luego de la fermentación a un mínimo del 5,6%. Las leches fermentadas concentradas incluyen productos tradicionales tales como Stragisto (yogur colado), Labneh, Ymer e Ylette.

### 3.3 Composición

	Leche fermentada	Yogur, yogur en base a cultivos alternativos y leche acidófila	Kefir	Kumys
Proteína láctea <sup>(a)</sup> (% w/w)	mín. 2,7%	mín. 2,7%	mín. 2,7%	
Grasa láctea (% w/w)	menos del 10%	menos del 15%	menos del 10%	menos del 10%
Acidez valorable, expresada como % de ácido láctico (% w/w)	mín. 0,3%	mín. 0,6%	mín. 0,6%	mín. 0,7%
Etanol (% vol./w)				mín. 0,5%
Suma de microorganismos que comprenden el cultivo definido en la sección 2.1 (ufc/g, en total)	mín. 10 <sup>7</sup>	mín. 10 <sup>7</sup>	mín. 10 <sup>7</sup>	mín. 10 <sup>7</sup>
Microorganismos etiquetados <sup>(b)</sup> (ufc/g, en total)	mín. 10 <sup>6</sup>	mín. 10 <sup>6</sup>		
Levaduras (ufc/g)			mín. 10 <sup>4</sup>	mín. 10 <sup>4</sup>

(a) El contenido en proteínas es 6,38 multiplicado por el nitrógeno Kjeldahl total determinado.

(b) Se aplica cuando en el etiquetado se realiza una declaración de contenido que se refiere a la presencia de un microorganismo específico (aparte de aquellos especificados en la sección 2.1 para el producto en cuestión) que ha sido agregado como complemento del cultivo específico.

### 3.1 Materias primas

- Leche y/o productos obtenidos a partir de la leche.
- Agua potable para usar en la reconstitución o recombinación.

### 3.2 Ingredientes permitidos

- Cultivos de microorganismos inocuos incluyendo los especificados en la Sección 2;
- Otros microorganismos aptos e inocuos (*para productos incluidos en la Sección 2.4*);
- Cloruro de Sodio; y
- Ingredientes no lácteos tal como se listan en la Sección 2.3 (Leches Fermentadas Aromatizadas);
- Agua potable (*para los productos incluidos en la Sección 2.4*);
- Leche y productos lácteos (*para los productos incluidos en la Sección 2.4*);
- Gelatina y almidón en:
  - leches fermentadas tratadas térmicamente luego de la fermentación;
  - leche fermentada aromatizada;
  - bebidas a base de leche fermentada; y
  - leches fermentadas simples si lo permite la legislación nacional del país de venta al consumidor final;

siempre y cuando se agreguen solamente en cantidades funcionalmente necesarias de acuerdo con las Buenas Prácticas de Fabricación, y tomando en cuenta todo uso de estabilizantes/espesantes listados en la sección 4. Estas sustancias podrán añadirse antes o después del agregado de los ingredientes no lácteos.

## (PROYECTO DE ACTUALIZACIÓN DE LA RM N° 615-2003 SA/DM)

## NORMA SANITARIA QUE ESTABLECE LOS CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS DE CALIDAD SANITARIA E INOCUIDAD PARA LOS ALIMENTOS Y BEBIDAS DE CONSUMO HUMANO

### CAPÍTULO I GENERALIDADES

**Artículo 1°.- Finalidad**

La presente norma se establece para garantizar la seguridad sanitaria de los alimentos y bebidas destinados al consumo humano.

**Artículo 2°.- Objetivo**

Establecer las condiciones microbiológicas de calidad sanitaria e inocuidad que deben cumplir los alimentos y bebidas en estado natural, elaborados o procesados, para ser considerados aptos para el consumo humano.

**Artículo 15°.- Criterios microbiológicos**

Los alimentos y bebidas deben cumplir íntegramente con la totalidad de los criterios microbiológicos correspondientes a su grupo o subgrupo para ser considerados aptos para el consumo humano:

1.7. Leches Fermentadas y Acidificadas (yogur, leche cultivada, cuajada, otros)						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g.	
					m	M
Coliformes	5	3	5	2	10	10 <sup>2</sup>
Mohos	5	3	5	2	10	10 <sup>2</sup>
Levaduras	5	3	5	2	10	10 <sup>2</sup>

**Anexo VII: Imágenes del desarrollo del trabajo de investigación**

## Elaboración de las muestras



El lavado de manos.

El correcto lavado de las manos haciendo los 7 pasos antes de ingresar al laboratorio como lo indica las BPMs.



Control de calidad del lactosuero

Se realizó la medición con un potenciómetro el pH también la medición de densidad con la utilización de un lactodensímetro



Control de calidad del lactosuero.

Se procedió a la determinación de acidez por titulación, utilizando 9 ml de muestra de lactosuero con hidróxido de sodio 0,1 N



Pesado de cultivo láctico.

En una balanza analítica de laboratorio se pesó el cultivo láctico, conservado en refrigeración, para su inoculación inmediata.

	<p>Elaboración de muestras</p> <p>Para las muestras ya mezcladas el lactosuero con extracto foliar de alfalfa, se le acondicionaron a una temperatura de 42 °C ulteriormente fueron inoculados con bacterias lácticas.</p>
	<p>Fermentación láctica.</p> <p>Esta proceso unitaria se realizó en baño maría para mantener la temperatura de 42 °C por un periodo de 6 horas</p>
	<p>Envases esterilizados</p> <p>Para envasar la bebida fermentada, previamente se esterilizó con vapor de agua, aproximadamente 15 minutos, los envases tipo PET</p>

## Análisis microbiológico

	Laboratorio de microbiología
	<p>Esterilizando los tubos de ensayo y placas Petri</p> <p>Se realizó para eliminar microorganismos patógenos En un autoclave a 121°C por 15 minutos</p>
	<p>Esterilizando los tubos de ensayo.</p> <p>Se realizó para eliminar microorganismos patógenos En un autoclave a 121°C por 15 minutos</p>

	<p>Pesando el Agar Se realizó el pesado en la balanza analítica de agar como medio de cultivo de los microorganismos</p>
	<p>Pesando el Agar Se realizó el pesado en la balanza analítica de agar como medio de cultivo de los microorganismos</p>
	<p>Esterilizando nuevamente los tubos de ensayo con el cultivo para eliminar cualquier carga microbiana que no se ha de evaluar.</p> <p>Agares para el medio de cultivo de coliformes, mohos y levaduras.</p>

	<p>Introduciendo los materiales de laboratorio junto con la muestra del medio de cultivo al autoclave para eliminar la carga microbiana ajena.</p>
	<p>Terminado el proceso de esterilizado el cultivo de microbiano y su acondicionamiento a las 'placas Petri.</p>
	<p>Codificando las placas Petri de los diferentes medios de cultivo</p>



Preparación de la dilución de las diferentes muestras (tratamientos) con cultivos microbiológicos



Inoculación de las muestras en los diferentes medios de cultivo. En esta etapa se utilizó un mechero bunsen para mantener un medio estéril.



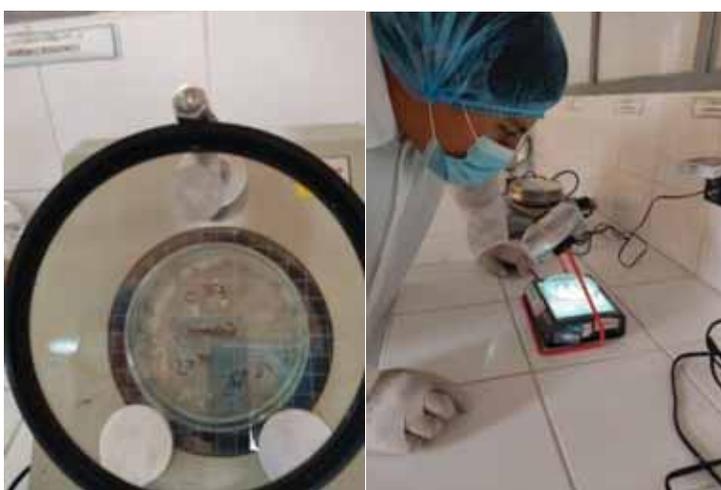
Las muestras con cultivos microbiológicos de los diferentes tratamientos.



Codificando los medios de cultivos de las 3 microorganismos a analizar



Codificando las placas Petri



Contabilizando las Unidades Formadoras de Colonias con la utilización del equipo contador de colonias para determinar la carga microbiana de los tratamientos.

## Análisis Físicoquímico

	Fotos del laboratorio con presencia de nuestro asesor de tesis
	Muestras en el digestor para determinar la cantidad de nitrógeno de los diferentes tratamientos.
	Laboratorio de la UNA. Equipo Soxhlet para la determinación de grasas.



Determinación de cenizas y humedad con la utilización de la mufla para los diferentes tratamientos contenidos en cada crisol.



Midiendo el pH de las muestras utilizando el equipo de potenciómetro.



Determinación de cenizas y humedad con la utilización de la mufla para los diferentes tratamientos contenidos en cada crisol.

		<p>Equipo microKjedahl para la determinación de nitrógeno de los tratamientos y el ácido bórico.</p>
		<p>Determinación de cenizas y humedad con la utilización de la mufla para el extracto foliar de alfalfa contenido en un crisol.</p>
		<p>Potenciómetro Estufa</p>

 A laboratory bench with various glassware, bottles, and a red microkjendahl apparatus.	 A close-up of a microkjendahl apparatus with a glowing red spiral inside, used for nitrogen determination.	Determinación de nitrógeno del extracto foliar de alfalfa .
 A microkjendahl apparatus with a black top and a white base, used for nitrogen determination.	 A close-up of a dark, circular ash residue, likely from the alfalfa extract.	Ceniza del extracto foliar de alfalfa y el equipo microkjendahl
 Two technicians in white lab coats and blue gloves working with laboratory equipment.	 A close-up of a crucible being coded, likely for identification of samples for ash and moisture analysis.	Codificando los crisoles que contienen las muestras para su posterior análisis de cenizas y humedad .



Pesando los reactivos a utilizar en la determinación de proteínas.



Las muestras en la campana extractora de gases para la determinación de proteínas



Crisoles con muestra después de estar en la mufla para la determinación de cenizas.

	<p>Codificando las muestras para la determinación de cenizas y la campana extractora de gases para la digestión de las muestras.</p>
	<p>Las muestras ya digeridas y para su posterior análisis de nitrógeno.</p>
	<p>Determinación de humedad de los diferentes tratamientos.</p>



Muestra digerida para el análisis de proteínas.

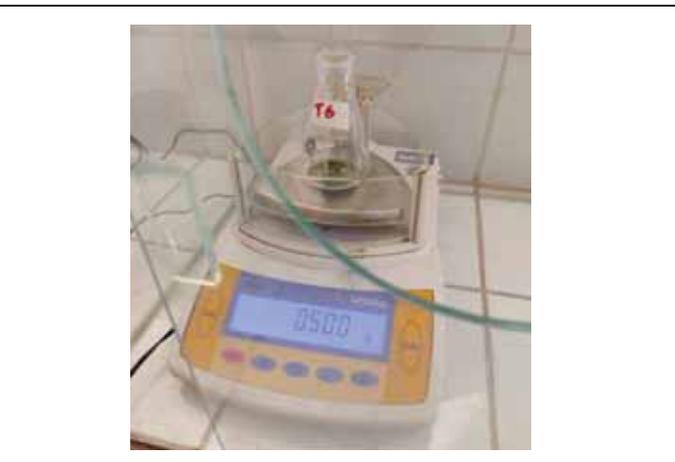


Determinación de humedad para los diferentes tratamientos en la campana de vidrio.



Muestra digerida para el análisis de proteínas.

## Análisis de Digestibilidad in vitro

	<p>Aquí se muestra los 6 tratamientos Antes de liofilizar las mismas</p>
	<p>Se pesó en la balanza analítica 0.5g de cada muestra liofilizada</p>
	<p>0.5g de cada muestra liofilizada</p>



Muestras liofilizadas

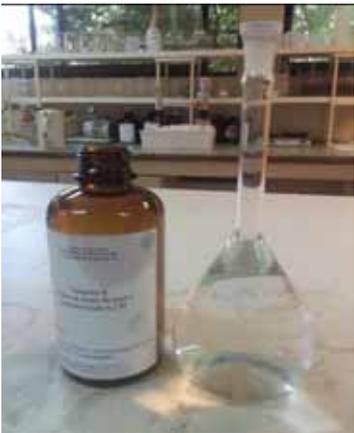
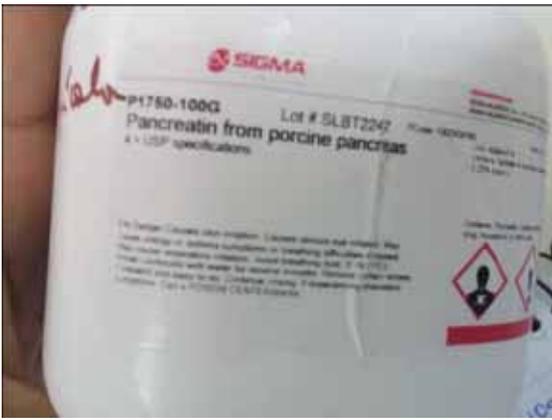


Sodio fosfato monobásico y sodio fosfato



Adición de 10 ml de HCl de 0.2 M con un pH 2

	<p>Agitación con una barra magnética de la mezcla sellada con papel aluminio a 300 rpm</p>
	<p>Hidróxido de Sodio y Pepsina</p>
	<p>Ácido Clorhídrico HCl</p>

	<p>Solución Fosfato de Sodio Di-basico</p>
	<p>Adición de 10 ml de tampón fosfato de 0,2 M de concentración y con un pH de 6.8.</p>
	<p>Pancreatina</p>



Primera incubación a 39°C por un tiempo de 2 horas y agitación magnética de 110 rpm.

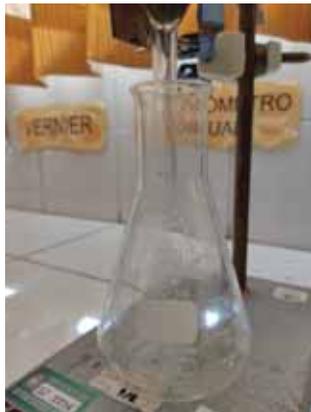


Segunda incubación a 39°C por un tiempo de 4 horas y agitación magnética de 110 rpm.



Tercera incubación a 39°C por un tiempo de 18 horas y agitación magnética de 110 rpm.

		<p>Medición del pH de las muestras para cada etapa del proceso de determinación de digestibilidad in vitro</p>
		<p>Filtración de la solución que se asemeja al líquido absorbido por el cuerpo y estos serán determinados la cantidad de nitrógeno para saber la digestibilidad de cada tratamiento y lo que queda atrapado en el papel filtro son los restos que luego se eliminan por el organismo.</p>
		<p>Desechos retenidos que se asemejan a que no son absorbidos por el cuerpo.</p>



Liquido final para determinar la cantidad de nitrógeno por el método de kjendahl



Liquido final para determinar la cantidad de nitrógeno por el método de kjendahl



Equipo de Liofilización que ayuda en la eliminación de agua de los tratamientos.

## Análisis sensorial



Evaluación Sensorial  
Medición de la temperatura  
corporal cumpliendo los  
protocolos de bioseguridad



Evaluación Sensorial  
Desinfectando las manos,  
cumpliendo los protocolos de  
bioseguridad



Evaluación Sensorial



Instruyendo al panelista



Panelistas



Panelista con las muestras

