

**UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ MARÍA ARGUEDAS**

**FACULTAD DE INGENIERÍA**

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**



**INFLUENCIA DE LA SUSTITUCIÓN PARCIAL DE LACTOSUERO Y HARINA DE QUINUA (*Chenopodium Quinoa Willd*) EN LAS PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS Y FÍSICOQUÍMICAS DEL YOGUR SUSTITUIDO.**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**AUTOR:** Br. PICHUHUA ROMAN, Lucio

**ASESOR:** Ing. Msc. SICHEZ MUÑOZ, Julio Cesar.

**ANDAHUAYLAS – PERÚ**

**2016**

**TESIS FINANCIADO POR LA DIRECCION DE INVESTIGACION DE LA UNAJMA**

## **DEDICATORIA**

*A mí querida y estimada madre; Rosalia Roman Ancco, por su eterna amabilidad y afecto.*

*A mí padre; Lucio Pichihua Cuaresma, por el Cariño y comprensión que siempre puso en mí.*

*A mi maravilloso hijo Lucio Leonardo Pichihua Cárdenas por ser la razón de seguir el camino de superación*

*A mis hermanos.*

*A Dios, por guiarme y sostenerme durante todo el tiempo que me queda vivir.*

## PRESENTACIÓN

El presente trabajo de investigación experimental contempla el estudio de la influencia de la sustitución parcial de lactosuero de (40%, 50%, 60%) y harina de quinua (*chenopodium quinoa willd*) de (2%, 3%, 4%) en las propiedades organolépticas y fisicoquímicas del yogur sustituido, en la investigación se realizó análisis fisicoquímico de la leche y lactosuero, la evaluación del comportamiento de las propiedades fisicoquímicas (acidez y pH) en función al tiempo durante la fermentación de la leche sustituida con lactosuero y harina de quinua (*Chenopodium Quinoa Willd*) y leche fresca no sustituida, además se realizó el análisis sensorial del yogur sustituido, con panelistas no entrenados, mediante la escala hedónica, luego se hizo la optimización de los porcentajes de lactosuero y harina de quinua, finalmente se analizó la propiedades fisicoquímico del producto optimizado.

La investigación tuvo como objetivo general determinar la influencia de la sustitución parcial de lactosuero con y harina de quinua (*Chenopodium quinoa willd*) en las propiedades organolépticas y fisicoquímicas del yogur sustituido. Mediante la evaluación del comportamiento de pH y acidez durante la fermentación y el análisis sensorial se determinó si influye o no influye en las propiedades fisicoquímicos y organolépticos del yogur sustituido parcialmente, para saber se realizó el análisis de varianza (ANOVA) de los resultados de pH, acidez, y del análisis sensorial (apariencia, sabor, consistencia, color y olor), de esta manera se encontró el porcentaje óptimo de lactosuero y harina de quinua, para el procesamiento adecuado de un yogur sustituido parcialmente.



Universidad Nacional José María Arguedas

Identidad y Excelencia para el Trabajo Productivo y el Desarrollo

## FACULTAD DE INGENIERIA

### APROBACION DEL JURADO EVALUADOR INFORME FINAL DE TESIS

Los que suscribimos:

Integrantes del Jurado Evaluador del Proyecto de Tesis intitulado: "INFLUENCIA DE LA SUSTITUCIÓN PARCIAL DE LACTOSUERO Y HARINA DE QUINUA (*Chenopodium Quinoa Willd*) EN LAS PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS Y FÍSICOQUÍMICAS DEL YOGUR SUSTITUIDO". Cuyo autor es el Bachiller en Ingeniería Agroindustrial **LUCIO PICHIHUA ROMAN; CUMPLE CON LOS REQUISITOS** exigidos por la facultad de Ingeniería de Universidad Nacional José María Arguedas; por lo que otorgamos aprobación del informe final corregido, declarando apto y autorizando su publicación a fin que pueda iniciar sus gestiones administrativas, conducentes a la expedición y entrega del Título Profesional de Ingeniero Agroindustrial.

Andahuaylas, 16 de junio de 2016

Ing. MSc. Fidelia Tapia Tadeo  
Presidente del Jurado Evaluador

Ing. MSc. Carlos Alberto Ligarda Samanez  
Primer Miembro del Jurado Evaluador

Ing. MSc. Abel Manuel Serna Herrera  
Segundo Miembro del Jurado Evaluador



Universidad Nacional José María Arguedas

Identidad y Excelencia para el Trabajo Productivo y el Desarrollo

FACULTAD DE INGENIERIA

COMPROMISO Y APROBACION DEL ASESOR DE TESIS

La que suscribe:

El que suscribe: **Ingeniero Químico. SICHEZ MUÑOZ; Julio Cesar**, identificado con **CIP N-º 32340**, Profesor Nombrado Asociado a Tiempo Completo, adscrito al Departamento Académico de Ingeniería y Tecnología Agroindustrial, por la presente hace constar:

Que el Informe final de Tesis intitulado: **“INFLUENCIA DE LA SUSTITUCIÓN PARCIAL DE LACTOSUERO Y HARINA DE QUINUA (*Chenopodium Quinoa Willd*) EN LAS PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS Y FÍSICOQUÍMICAS DEL YOGUR SUSTITUIDO”**. Cuyo autor es el bachiller en Ingeniería Agroindustrial **LUCIO PICHIHUA ROMAN**; **cumple con los requisitos** exigidos por la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional José María Arguedas; por lo que otorgo la aprobación del Informe Final corregido, declarando apto y autorizando su publicación a fin que pueda iniciar sus gestiones administrativas, conducentes a la expedición y entrega del Título Profesional de Ingeniero Agroindustrial.

Andahuaylas, 16 de junio de 2016.

: Ing. MSc. **Julio Cesar SICHEZ MUÑOZ**  
Asesor de Tesis

**Bach. Lucio PICHIHUA ROMAN**  
Tesisista

## **AGRADECIMIENTO**

- A mi alma mater “Universidad Nacional José María Arguedas” y a mi Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial (EPIA).
- Al Ing. Julio Cesar Sichez Muñoz, Profesor Asesor de la presente Tesis, quien brindó su apoyo incondicional para su ejecución.
- A los MSc. David Choque Quispe, Ing. MSc. Carlos Alberto Ligarda Samanez, Ing. Fredy Taipe Pardo, quienes con su apoyo y motivación se culminó la presente tesis.
- A todos mis amigos y compañeros con los que compartí durante mi formación profesional y que siempre me motivaron para realizar el trabajo de investigación.
- A los miembros del jurado calificador.
- A toda mi familia.

## ÍNDICE GENERAL

	Pág.
I. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1. Antecedentes .....	4
1.2. Características generales de la leche. ....	7
1.2.1. Definición .....	7
1.2.2. Composición .....	8
1.2.3. Estructura .....	10
1.2.3.1. Los azúcares de la leche. ....	13
1.2.3.2. Proteínas de la leche. ....	13
1.2.3.3. Micelas de la caseína. ....	14
1.2.4. Microbiología de la leche .....	19
1.2.4.1. Microbiología del interior de la ubre .....	19
1.2.4.2. Contaminación externa de la leche. ....	19
1.3. El lactosuero.....	21
1.3.1. Tipos de lactosuero. ....	21
1.3.2. Características fisicoquímicas del lactosuero .....	24
1.3.3. Proteínas del lactosuero. ....	25
1.3.4. Carbohidratos en el lactosuero.....	28
1.3.5. Vitaminas del lactosuero.....	29
1.3.6. Aplicaciones y productos del lactosuero. ....	29
1.3.7. La fermentación del lactosuero.....	30
1.3.8. Problemas derivados de la producción del lactosuero. ....	31
1.3.9.1. Bebidas de lactosuero tipo jugos de fruta. ....	32
1.3.9.2. Bebidas tipo lácteo.....	32
1.3.9.3. Bebidas tipo carbonatadas refrescantes. ....	32
1.3.9.4. Bebidas basadas en lactosuero y otros componentes:.....	33
1.4. La Quinoa.....	33
1.4.1. Descripción botánica. ....	35
1.4.2. Morfología del grano de quinoa .....	35
1.4.3. Composición química y disponibilidad del valor nutricional de la quinoa ( <i>Chenopodium quinoa willd</i> ). ....	36
1.4.4. Harina de quinoa. ....	38
1.5. Productos fermentados lácteos.....	39
1.6. El Yogur.....	41
1.5.2. Importancia nutricional y terapéutica del yogur .....	44

1.5.3.Desarrollo de las bacterias lácticas en la leche y estimulación del crecimiento .....	45
1.5.3.1. Desarrollo de las bacterias lácticas. ....	45
1.5.4. Tipos de yogures. ....	46
1.5.4.1. Crecimiento de las bacterias lácticas. ....	49
1.5.4.2. Factores que afectan el crecimiento y la reproducción de las bacterias durante la fermentación. ....	52
1.5.5. Fermentación láctica. ....	53
1.5.5.1. Metabolismo glucídico .....	53
1.5.5.1.1. Fermentación láctica homofermentativa. ....	54
1.5.5.1.2. Fermentación láctica heterofermentativa. ....	55
1.5.5.2. Metabolitos .....	55
1.5.6. Propiedades dietéticas y nutritivas del yogurt. ....	58
1.5.7. Propiedades físico organolépticas.....	59
1.6. Justificación .....	60
1.7. Objetivos .....	62
1.7.1. Objetivo general.....	62
1.7.2. Objetivo específicos.....	62
1.8. Problema .....	62
1.8.1. Problema general .....	62
1.8.2. Problemas específicos.....	63
1.9. Hipótesis.....	63
1.9.1. Hipótesis general .....	63
1.9.2. Hipótesis específicas.....	63
II. MATERIALES Y MÉTODOS .....	64
2.1. Lugar de ejecución.....	64
2.2. Material de estudio.....	64
2.2.1. Universo y/o Población.....	64
2.2.2. Muestra .....	65
2.3. Equipos, materiales, reactivos y material de estudio de laboratorio. ....	65
2.3.1. Equipos. ....	65
2.3.2. Maquinarias. ....	65
2.3.3. Materiales de ensayo.....	66
2.3.4. Reactivos e insumos .....	67
2.3.5. Utensilios. ....	67
2.3.6. Indumentaria .....	68
2.3.7. Material de estudio. ....	68

2.4.	Métodos de análisis.....	68
2.4.1.	Análisis fisicoquímico y proximal de la leche fresca.....	68
2.4.2.	Análisis fisicoquímico del lactosuero.....	69
2.4.3.	Análisis fisicoquímico del yogur.....	70
2.5.	Metodología experimental.....	71
2.5.1.	Materia prima.....	71
2.5.2.	Obtención de harina precocida de quinua.....	71
2.5.3.	Obtención de lactosuero.....	73
2.5.4.	Preparación del cultivo madre.....	75
2.5.5.	Evaluación de la fermentabilidad de las bacterias lácticas.....	77
2.5.6.	Obtención de yogur sustituido parcialmente con Lactosuero y Harina de Quinua ( <i>chenopodium quinoa willd</i> ).....	77
2.5.7.	Evaluación del análisis sensorial.....	81
2.5.8.	Determinación del análisis químico proximal del yogur óptimo parcialmente sustituido.....	82
2.6.	Análisis estadístico para el análisis de datos.....	82
2.6.1.	Análisis estadístico.....	82
2.6.2.	El diseño factorial 3 <sup>2</sup> .....	82
2.6.3.	Análisis de diseño experimental 3 <sup>2</sup> .....	84
III.	RESULTADOS.....	87
3.1.	Resultado del análisis físico químico de la materia prima.....	87
3.1.1.	Resultado del análisis fisicoquímico de la leche fresca.....	87
3.1.2.	Determinación del análisis físico químico del lactosuero.....	88
3.2.	Resultados de la influencia del lactosuero y harina de quinua en las propiedades físico químicas del yogur sustituido.....	88
3.2.1.	Análisis de Varianza (ANOVA) para el diseño 3 <sup>2</sup> de la influencia del lactosuero y harina de quinua en las propiedades físico químicas del yogur sustituido.....	91
3.2.1.1.	Análisis de varianza para el porcentaje de ácido láctico.....	91
3.2.1.2.	Análisis de varianza para el pH.....	92
3.3.	Resultado de la influencia de las propiedades organolépticas de yogur sustituido con lactosuero y harina de quinua.....	93
3.3.1.	Resultado del promedio aritmético para cada atributo por tratamiento.....	94
3.3.2.	Resultado de la determinación de los modelos matemáticos para cada atributo.....	96
3.3.3.	Resultados de la determinación de la gráfica de contorno para cada atributo.....	101

3.3.4.	Resultados de la optimización por cada atributo de cada uno de los modelos matemáticos. ....	105
3.3.4.1.	Optimización general del yogur.....	107
3.3.5.	Resultado del análisis de varianza del análisis sensorial. ....	107
3.4.	Resultado de la evaluación y caracterización del yogur óptimo. ....	112
3.4.1.	Resultado del análisis físico químico del yogur óptimo. ....	112
3.4.2.	Resultado del comportamiento de la acidez y pH del yogur sustituido óptimo y patrón en función al tiempo. ....	113
IV.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	115
4.1.	Resultado del análisis físico químico de la materia prima.....	115
4.1.1.	Discusión de resultados para el análisis físico químico de la leche entera. ....	115
4.1.2.	Discusión de resultados para el análisis fisicoquímico del lactosuero. ....	116
4.2.	Discusión de resultados de la influencia del lactosuero y harina de quinua en las propiedades fisicoquímicas del yogur sustituido parcialmente. ....	118
4.2.1.	Discusión de resultados para el comportamiento de pH en función al tiempo en los tratamientos y el patrón durante la fermentación. ....	118
4.2.2.	Discusión de resultados para el comportamiento de % de acidez (g de ácido láctico/100g) en función al tiempo en los tratamientos y el patrón durante la fermentación. ....	119
4.3.	Resultado de la influencia de las propiedades organolépticas de yogur sustituido parcialmente con lactosuero y harina de quinua. ....	121
4.4.	Discusión de resultados del análisis físico químico de yogur óptimo sustituido parcialmente.....	122
4.4.1.	Discusión de resultado del comportamiento de la acidez y pH del yogur óptimo sustituido parcialmente y patrón en función al tiempo.....	123
V.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES. ....	125
5.1.	Conclusiones .....	125
5.2.	Recomendaciones.....	126
VI.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS. ....	127

## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.	
Tabla 1	Composición nutricional de la leche fresca	09
Tabla 2	Composición y estructura de la leche (cantidades en 1 Kg)	12
Tabla 3	Aminoácidos de las proteínas lácteas totales (mg / g de proteína)	17
Tabla 4	Propiedades de los principales elementos estructurales de la leche	18
Tabla 5	Características de algunos microorganismos y grupos de organismos que son importantes en la leche	20
Tabla 6	Composición (%) del lactosuero dulce y ácido	22
Tabla 7	Composición nutricional (g/100g) del lactosuero dulce comercializado en polvo.	23
Tabla 8	Composición proximal del germen de quinua	36
Tabla 9	Composición de yogur por 100 g de producto.	42
Tabla 10	Concentración de aminoácidos libres (mg/ 10 ml) en el yogur	43
Tabla 11	Clasificación de las principales bacterias lácticas que intervienen en la obtención de las leches y productos fermentados	47
Tabla 12	Principales características de las bacterias lácticas descritas en la tabla 11	48
Tabla 13	Producción de compuestos carbonilo (ppm) por los cultivos del yogur	58
Tabla 14	Escala hedónica para la evaluación sensorial de los atributos de apariencia, sabor, consistencia, color y olor	81
Tabla 15	Puntos de diseño.	83
Tabla 16	Matriz de diseño experimental.	83
Tabla 17	Diseño de procesos experimentales (Variables dependientes e independientes de la investigación).	84
Tabla 18	ANOVA para el diseño $3^2$	86
Tabla 19	Composición química de la leche fresca entera (en % base húmeda).	87
Tabla 20	Análisis fisicoquímico de leche fresca entera	87
Tabla 21	Análisis fisicoquímico del lactosuero.	88

Tabla 22	Análisis de varianza para acidez	91
Tabla 23	Análisis de varianza para el pH	92
Tabla 24	Resultados de los promedios aritméticos para para cada atributo.	95
Tabla 25	Determinación de modelos matemáticos para atributo de apariencia.	96
Tabla 26	Determinación de modelos matemáticos para atributo de sabor.	97
Tabla 27	Determinación de modelos matemáticos para atributo de consistencia.	98
Tabla 28	Determinación de modelos matemáticos para atributo de color.	99
Tabla 29	Determinación de modelos matemáticos para atributo de olor.	100
Tabla 30	Optimización de apariencia.	105
Tabla 31	Optimización de sabor.	106
Tabla 32	Optimización de consistencia	106
Tabla 33	Optimización de color	106
Tabla 34	Optimización de olor	106
Tabla 35	Análisis de varianza para apariencia	107
Tabla 36	Análisis de varianza para sabor	108
Tabla 37	Análisis de varianza para consistencia	109
Tabla 38	Análisis de varianza para color	111
Tabla 39	Análisis de varianza para olor	111
Tabla 40	Resultado del análisis físico químico del yogur con la sustitución parcial del 48.8% de lactosuero y 2% de harina de quinua.	113

## ÍNDICE DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1	Composición química de la leche (%).	10
Figura 2	Observación de la leche a diferentes aumentos.	11
Figura 3	Formas de lactosa	13
Figura 4	Comportamiento de las moléculas de proteínas de leche con la variación del pH.	14
Figura 5	Modelo esquemático de micela de caseína	14
Figura 6	Estructura de una submicela de caseína	15
Figura 7	Representación esquemática de la unión de dos submicelas mediante el fosfato cálcico coloidal (CCP).	15
Figura 8	Estructura del grano de quinua	36
Figura 9	Degradación de la caseína por las bacterias lácticas	46
Figura 10	Fenómenos de estimulación e inhibición que se producen durante el crecimiento de las bacterias del yogur	50
Figura 11	Crecimiento de los cocos y los bacilos del yogur en leche que ha recibido un tratamiento térmico intenso y que se incubó a 45 °C. Porcentaje de inóculo = 2.5 %. N = recuento en ml <sup>-1</sup> . Resultados aproximados.	51
Figura 12	Factores que determinan el crecimiento simbiótico de <i>st. thermophilus</i> y <i>lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus</i>	52
Figura 13	Metabolismo de la lactosa en las bacterias lácticas.	56
Figura 14	Diagrama de bloques para la obtención de harina de quinua precocida.	72
Figura 15	Diagrama de bloques para la obtención de lactosuero	74
Figura 16	Diagrama de bloques para la preparación de cultivo madre.	76
Figura 17	Diagrama de bloques procedimental para la elaboración de yogur parcialmente sustituido con lactosuero y harina de quinua precocida.	80
Figura 18	Comportamiento de pH en función al tiempo en los tratamientos y el patrón durante la fermentación.	89
Figura 19	Producción de ácido láctico en función al tiempo en los tratamientos y el patrón, durante la fermentación.	90
Figura 20	Diagrama de Pareto estandarizado para acidez.	92
Figura 21	Diagrama de Pareto estandarizado para pH.	93
Figura 22	Grafica de contorno de apariencia	101
Figura 23	Grafica de contorno de Sabor.	102
Figura 24	Grafica de contorno de consistencia.	103

Figura 25	Grafica de contorno de Color.	104
Figura 26	Grafica de contorno de Olor.	105
Figura 27	Efectos principales para apariencia	108
Figura 28	Efectos principales para sabor	109
Figura 29	Efectos principales para apariencia	110
Figura 30	Efectos principales para color	112
Figura 31	Comportamiento de la acidez del yogur óptimo y patrón en función al tiempo.	113
Figura 32	Comportamiento de pH del yogur óptimo y patrón en función al tiempo.	114

## RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo general determinar la influencia de la sustitución parcial de lactosuero y harina de quinua (*Chenopodium Quinoa Willd*) en las propiedades organolépticas y fisicoquímicas del yogur sustituido,

El proceso de obtención de la harina de quinua se desarrolló en la Empresa Agroindustrial el Andino E.I.R.L. del distrito de San Jerónimo siguiendo el diagrama de flujo de la planta.

La leche fresca se adquirió de los productores de leche fresca de Chihuampata del distrito de Talavera de la provincia de Andahuaylas, La obtención de lactosuero se obtuvo bajo el procedimiento de elaboración de queso fresco tomado de Walstra, et al. (2001); Se desarrolló un análisis fisicoquímico del lactosuero y de la leche por método descrito por la NTP 2001 y la AOAC 2000 – 2001; la elaboración del yogur sustituido parcialmente fue procesada a través de la metodología descrita por (Condori, 2010). Para evaluar la influencia de la sustitución parcial de lactosuero y harina de quinua en las propiedades fisicoquímicas y organolépticas del yogur sustituido, además para determinar el porcentaje óptimo se aplicó un diseño factorial  $3^2$ , de dos factores (porcentaje de lactosuero y harina de quinua), cada uno con 3 niveles; lactosuero (40, 50 y 60 %) y harina de quinua (2, 3 y 4 %) realizándose 9 tratamientos, con 3 repeticiones (27 unidades experimentales), por lo cual evaluó la producción de ácido láctico por método de método 16.023 (A.O.A.C., 1984), y se tomó lectura del pH con un potenciómetro digital además se desarrolló el análisis sensorial mediante la evaluación de la escala hedónica .

Finalmente se determinó el análisis fisicoquímico de la leche con; agua 87.20 %; proteína 3.35 %; grasa 3.62 %; carbohidratos 5.03 %, cenizas 0.80 %; ácido láctico 0.17 %; pH 6.80 y del lactosuero con; agua 90.52 %; proteína 0.95 %; grasa 0.91 %; carbohidratos 7.44 %, cenizas 0.18 %; ácido láctico 0.30 %; pH 6.21 se logró determinar la influencia del lactosuero y harina de quinua en el yogur sustituido parcialmente, donde según el análisis

de varianza se obtiene que los valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre las propiedades organolépticas y fisicoquímicas con un 95.0 % de nivel de confianza, por lo tanto la sustitución parcial de lactosuero y harina de quinua influye en las propiedades organolépticas y fisicoquímicas del yogur sustituido. Además se determinó mediante modelos matemáticos el porcentaje óptimo de 48.8 % de lactosuero y 2.0 % de harina de quinua.

**PALABRAS CLAVES.** Sustitución parcial, lactosuero, harina de quinua, (*Chenopodium Quinoa Willd*).

## SUMMARY

This study was designed to determine the overall influence of the partial replacement of whey and flour quinoa (*Chenopodium Quinoa Willd*) in the organoleptic and physicochemical properties of the substituted yogurt,

The process of obtaining quinoa flour was developed in the Agroindustrial the Andean E.I.R.L. San Jeronimo district following the flowchart of the plant. Fresh milk was purchased from producers of fresh milk Chihuampata Talavera district of the province of Andahuaylas, the production of whey was obtained under the procedure of processing of fresh cheese made from Walstra, et al. (2001); a physicochemical analysis of whey and milk by method described by NTP 2001 and developed AOAC 2000 - 2001; the preparation of yogurt was replaced partially processed through the methodology described by (Condori, 2010). To evaluate the influence of the partial replacement of whey and quinoa flour in the physicochemical and organoleptic properties of substituted yogurt also to determine the optimum percentage factorial design 32, two factors (percentage of whey and quinoa flour) was applied, each with 3 levels; whey (40, 50 and 60%) and quinoa flour (2, 3 and 4%) performing 9 treatments, with 3 replications (27 experimental units), whereby evaluated the production of lactic acid by method of method 16023 (AOAC , 1984), and pH reading was taken with a digital potentiometer also sensory analysis developed by evaluating the hedonic scale.

Finally physico-chemical analysis of milk was determined; 87.20% water; 3.35% protein; fat 3.62%; Carbohydrates 5.03%, 0.80% ash; 0.17% lactic acid; pH 6.80 and whey with; 90.52% water; 0.95% protein; fat 0.91%; Carbohydrates 7.44%, 0.18% ash; 0.30% lactic acid; pH 6.21 was possible to determine the influence of whey and quinoa flour in yogurt partially replaced, where according to the analysis of variance is obtained that P-values are less than 0.05, these factors have a statistically significant effect on the organoleptic and

physico-chemical properties a 95.0% confidence level, hence the partial replacement of whey and quinoa flour affects the organoleptic and physicochemical properties of substituted yogurt. Moreover it determined by mathematical models the optimal percentage of 48.8% and 2.0% whey quinoa flour.

**KEYWORDS.** Partial substitution, whey, flour quinoa (*Chenopodium Quinoa Willd*).

## I. INTRODUCCIÓN

Según Mahaut y col (2004) el yogurt presenta varias ventajas para la alimentación humana, por la facilidad de absorción de la lactosa, aumento de la digestibilidad de proteínas, mejora de la digestibilidad de la materia grasa, actividad antimicrobiana, estimulación del sistema inmune, acción preventiva contra los cánceres del sistema digestivo y por la acción anticolesterémica.

Diversas técnicas se han propuesto para aumentar la vida útil del yogurt, aunque existen algunas controversias sobre la corrección de denominar estos productos como “yogurt”, ya que la mayoría de las normas legales establecen que el “yogurt” debe contener un número abundante y viable de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus*. Sin embargo Tamine y Deet (1980) propusieron que sería razonable reservar el término “yogurt” al producto tradicional y denominar al producto sometido a tratamiento térmico como “yogurt pasteurizado, ultra alta pasteurización (UHT) o de larga duración”.

La diferencia entre el yogurt pasteurizado y el yogurt tradicional es el bajo recuento de microorganismos estarter que se encuentra en el primer tipo. Esta diferencia no obstante es muy relevante en relación con las propiedades nutricionales y terapéuticas del producto (Tamine y Deet, 1981).

La producción de yogures sustituidos en la provincia y la región, en la actualidad la industria quesera no desarrollan procesos y tecnologías para la producción de productos funcionales, y el aprovechamiento de residuos de gran importancia nutricional y económica, como el lacto suero, esto debido al desconocimiento de la importancia nutricional y el efecto ambiental que causa al ser desechados como residuo a causes de río.

Inda. (2000) indica que el suero de leche es uno de los residuos más representativos de la industria lechera y uno de los contaminantes más severos que existen a nivel ambiental. El suero es definido como un líquido remanente tras la precipitación y

separación de la caseína de la leche durante la elaboración del queso y constituye aproximadamente el 85% - 90% del volumen de la leche, cuyos componentes principales como la lactosa, calcio, sales minerales y proteínas lacto-séricas de bajo peso molecular solubles en su punto isoelectrico son retenidas en un 55%, ya que no reaccionan con el cuajo. El suero vertido a corrientes de agua, por su valor nutritivo y energético, es consumido por bacterias y otros microorganismos que utilizan el oxígeno del agua; la demanda biológica del lactosuero es de 40000 a 50000 de O<sub>2</sub> mg/L, el oxígeno de un río no contaminado es de 10 mg/L, al descender a 4 de O<sub>2</sub> mg/L desaparecen los peces, incluyendo especies poco exigentes en oxígeno. El vertido de un litro de suero causaría la muerte de todos los peces contenidos en 10 toneladas de agua.

Frente a estas necesidades, la empresas Gloria S.A.A; Laive S.A.A; está promocionando y comercializando yogur sustituido con lacto suero en polvo, proteína de lacto suero, y enriquecido con cereales de distintos sabores, con la finalidad de reducir los costos de producción, dar aportes sobre el problema de colesterol, intolerancia, la desnutrición y el impacto ambiental

Mediante estas problemáticas y necesidades identificadas, el presente trabajo de investigación tiene como finalidad, dar un aporte tecnológico en un derivado lácteo, obteniendo un yogurt mediante sustitución parcial de lacto suero con harina de quinua.

La quinua tiene más nutrientes que el arroz, trigo, maíz y soya, porque contiene los 10 aminoácidos esenciales para el cuerpo, los cuales son vitales para el desarrollo de células del cerebro para el aprendizaje, memorización, raciocinio y crecimiento físico (Ugarte, 2001). Por lo que la calidad nutricional de un producto depende tanto de la cantidad como de la calidad de los nutrientes presentes en el grano.

El valor alimenticio de un producto se aprecia no solamente por la proporción y cantidad de sus nutrientes, sino también por su calidad y su digestibilidad. El tarwi, la

quinua y la kiwicha superan los contenidos en aminoácidos esenciales como la lisina, la metionina y el triptófano presentes en los cereales principales, proporcionalmente no alcanzan los contenidos en aminoácidos esenciales componentes de los alimentos de origen animal, pero se acercan a los requisitos precisados por la FAO (Salís, 2005).

Sin embargo, uno de los atributos de calidad más importante del yogurt es sus propiedades físico químicas y sensorial (acidez y pH) que determinan la aceptación o rechazo por parte de los consumidores y seguidamente la calidad nutricional. Frente a estas propiedades fisicoquímicas y organolépticas, se planteó realizar la ejecución de este trabajo de investigación con los siguientes objetivos:

Como objetivo general fue: Determinar la influencia de la sustitución parcial de lactosuero y harina de quinua (*Chenopodium quinoa willd*) en las propiedades organolépticas y fisicoquímicas del yogur sustituido.

En donde para alcanzar el objetivo general, se plantearon los siguientes objetivos específicos:

- ✓ Determinar la influencia de la sustitución parcial de lactosuero y harina de quinua en las propiedades organolépticas del yogur sustituido.
- ✓ Determinar la influencia de la sustitución parcial de lactosuero y harina de quinua en las propiedades fisicoquímicas del yogur sustituido.
- ✓ Determinar el porcentaje óptimo de lacto suero y harina de quinua en la elaboración de yogur sustituido.

## 1.1. Antecedentes

El lactosuero, que representa el 90% del volumen de la leche, fue hasta ahora desechado durante la elaboración del queso, salvo una pequeña proporción que se aprovecha, después de seco, para la alimentación animal. No obstante, se lograron recientemente una serie de procedimientos de filtración sobre geles, ultrafiltración, osmosis inversa, electrodiálisis, precipitación por poli electrolitos, etc., que permiten recuperar la  $\beta$ -lactoglobulina y la  $\alpha$ -lactoalbumina, sin desnaturalizarla, y también la lactosa. (Cheftel, 1976).

En los últimos años el lacto suero ha encontrado aplicaciones como el procesamiento biotecnológico fermentativo del lactosuero que genera productos para el sector agroindustrial como proteína unicelular, proteasas, galactosidasa, glicerol, ácido acético y láctico y bebidas alcohólicas. Para la obtención de estos productos se utilizan *Saccharomyces cerevisiae*, *Serratia marcescens*, *Candida pelliculosa*, *Lactobacillus helveticus*, *Streptococcus thermophilus*, *Kluyveromyces fragilis* y/o *Kluyveromyces marxianus* y recientemente el *L. delbrueckii* spp. *bulgaricus*. *Kluyveromyces marxianus* (*K. marxianus*), era conocida anteriormente como *S. fragilis* y *K. fragilis*. (Marth, 1973),

El desarrollo de bebidas para consumo humano, a partir del suero lácteo, ha sido posible en los últimos años. Estos refrescos o fórmulas, serían bebidas nutricionales, análogas a la leche, ideales para programas gubernamentales. Muchos de estos productos, se pueden elaborar pasteurizados, saborizados, fortificados y también se puede hidrolizar la lactosa por medios enzimáticos (Inda, 2000).

En algunos casos, se combinaron las fermentaciones de ácido láctico y alcohólicas, para producir bebidas a base de suero. Se desarrollaron bebidas fortificadas con sacarosa,

fermentadas con levaduras y bacterias lácticas. También se desarrollaron bebidas de suero espumante. Normalmente, se alcanza la concentración de 1% de ácido láctico, para su posterior fermentación etílica, hasta alcanzar cantidades del alcohol etílico inferiores al 1%. Bebidas como el Milone, utilizan estos principios, además de haberse mezclado con té, para la precipitación de las proteínas y taninos (Marth, 1973).

El lactosuero se utilizó también para la elaboración de productos similares a la cerveza. Al suero se le incorpora lúpulo, sin necesidad de incorporar malta., donde posteriormente se genera la fermentación productora de dióxido de carbono y alcohol etílico. Otra formulación, incluía malta, lúpulo, azúcar, materiales colorantes, y hasta un 50% de suero lácteo, para luego realizar una fermentación superior (Marth, 1973).

El lactosuero derivado de la producción quesera se utiliza para producir suero en polvo dulce y ácido, suero condensado, suero deslactosado y desmineralizado, obtención de proteína, lactosa, siropes, quesos, además de obtener alcohol etílico, vinagre y ácido láctico (Badui, 1977, Early, 2004, FAO, 2004, Furtado, 1999, Inda, 2000, Keating, 2002, Kosikowski, 1982, Gilles, 1974).

Morales et al. (2000) desarrollo un trabajo con el objetivo determinar las condiciones experimentales de elaboración de un yogurt extendido con garbanzo (*Cicer arietinum L.*), inoculado con *St. thermophilus* y *L bulgaricus*, para compararlo fisicoquímica, microbiológica y sensorialmente con un yogurt elaborado con base en leche descremada. Los resultados obtenidos indicaron que de las mezclas obtenidas por el método de calificación química (cálculo de aminoácidos) que cumplieron con los objetivos propuestos fueron la mezcla 70:30 y 80:20 (leche descremada: extracto de garbanzo). Los yogurt elaborados con la mezcla 70:30 adicionados con almidones modificados (ULTRA SPERCE M y COL-FLO) , no eliminaron la sinéresis presente en los productos así como

tampoco mejoraron las características sensoriales de los mismos; sin embargo, en el yogurt elaborado con la mezcla 80:20, y el almidón modificado (ULTRA SPERCE M.) se logró eliminar la sinéresis obteniéndose un yogurt «extendido» con características de sabor y textura similar a la de un yogurt elaborado con base en leche, el cuál fue aceptado por el 80% de los jueces y que cumple además con las especificaciones de la norma oficial para yogurt.

Miranda et al. (2007) ha desarrollado una bebida fermentada elaborada a partir del suero de queso en el combinado lácteo de Bayamo (Granma, Cuba). El producto fermentado final se ensayó para establecer las principales características físicas, químicas, sensoriales y nutricionales. También se determinó la estabilidad del producto terminado. Se hicieron 5 corridas a nivel de planta piloto de 30 litros cada una. Se obtuvo una acidez titulable del 0.70% a las 24 horas de inoculación. Se satisficieron los indicadores propuestos de calidad del producto fermentado final. Se garantizó la inocuidad de la bebida elaborada. Se obtuvo una puntuación promedio de 6 (correspondiente a la afirmación “Me gusta mucho”) en las pruebas de aceptación. La estabilidad del producto fue de 7 días.

Londoño et al. (2008), desarrolló un trabajo donde tuvo por objetivo desarrollar una bebida fermentada de suero de queso fresco inoculada con *Lactobacillus casei*, a la cual se le evaluó la viabilidad del microorganismo, utilizando medios de cultivo selectivos, bajo condiciones anaeróbicas. Para verificar la supervivencia durante el período de almacenamiento (21 días), la cepa, se caracterizó morfológica y bioquímicamente. Adicionalmente, se llevó a cabo la prueba de aceptabilidad, evaluando la bebida con 25 jueces. Se realizaron análisis físico-químicos, microbiológicos y sensoriales, a la materia prima y al producto elaborado, acorde a las normas vigentes en Colombia.

Castañeda (2009), tuvo como objetivo establecer pruebas preliminares para la formulación y elaboración de un yogurt en base a harina de tarwi. Las mezclas se realizaron a 2 diferentes concentraciones (YSPT1; 70% leche en polvo + 30% de leche de tarwi), (YSPT2; 80% de leche en polvo + 20% leche de tarwi). El contenido de sólidos totales presente en la mezcla se encontró entre 12 a 14%. El contenido en proteínas fue de 3,86 y 3,93%, grasa 2,88 y 3%, carbohidratos 4,04 y 14,13% con un aporte energético de 97,57 y 99,33 kcal en YSPT1 y YSPT2 respectivamente. Se establecieron pruebas de formación de acidez expresado como porcentaje de ácido láctico, evaluados por 8 horas a temperatura de 42 a 44 °C, los resultados obtenidos indican que YSPT1 y YSPT2 presentan 0.39 y 0.41% de acidez respectivamente. Los atributos sensoriales como aroma, sabor y aceptabilidad no presentaron diferencia estadística, según la escala hedónica utilizada muestra un nivel de agrado moderado. Los resultados microbiológicos para numeración de coliformes, hongos y levaduras se reportó < 10 ufc/g muestra para ambas concentraciones.

Condori, (2010) elaboró un yogurt batido mediante sustitución parcial de leche fresca con extracto de kiwicha. Para tal fin se estudió dos variables, el primero fue determinar la cantidad adecuada de dilución de harina de kiwicha en agua, en proporciones de 15 y 20 % para la obtención del extracto de kiwicha filtrada. El segundo variable también fue determinar la cantidad óptimo de la sustitución del extracto de kiwicha en leche fresca, en concentraciones de 20 y 40 % para la obtención de yogurt batido, El yogurt óptimo presentó: 3,23% de proteína; 3,28 % de grasa y 14,96 % de carbohidratos.

## **1.2. Características generales de la leche.**

### **1.2.1. Definición**

Es el producto íntegro no alterado ni adulterado del ordeño higiénico, regular y completo de vacas sanas y bien alimentadas, sin calostro y exento de color, olor, sabor y

consistencia anormales y que no ha sido sometido a procesamiento o tratamiento alguno (Vicente, 2001).

Desde el punto de vista biológico, la leche es el producto de la secreción de las glándulas que a tal fin tienen las hembras mamíferas, cuya función natural es la alimentación de los recién nacidos. Desde el punto de vista fisicoquímico, la leche es una mezcla homogénea de un gran número de sustancias (lactosa, glicéridos, proteínas, sales, vitaminas, enzimas, etc.) que están en forma de una emulsión (la grasa y sustancias asociadas), algunas en suspensión (las caseínas ligadas a sales minerales), y otras en disolución verdadera (lactosa, vitaminas hidrosolubles, proteínas del suero, sales etc.) (Ordoñez, 2001).

La leche es una solución acuosa diluida y se comporta como tal. Las sustancias polares se disuelven bien en la leche; su constante dieléctrica es elevada. La viscosidad es baja, aproximadamente el doble del agua. El pH, normal es 6.7. La actividad de agua es elevada, alrededor de 0.993. Ninguna de estas propiedades inhibe el crecimiento de los microorganismos en la leche; es más, la leche resulta un substrato ideal para el desarrollo de muchos microorganismos. La leche es una emulsión diluida de grasa en el plasma. Todas las reacciones entre el resto de los componentes de la leche y la materia grasa tienen lugar a través de la membrana del glóbulo graso (Walstra et al. 2001).

### **1.2.2. Composición**

La composición de la leche se puede observar en la siguiente Tabla 01, Según Tamine y Robinson (1991) la composición de la leche fresca se presenta a continuación en la figura 01; para diferenciar con más claridad todas sus componentes y sus constituyentes expresados en porcentaje.

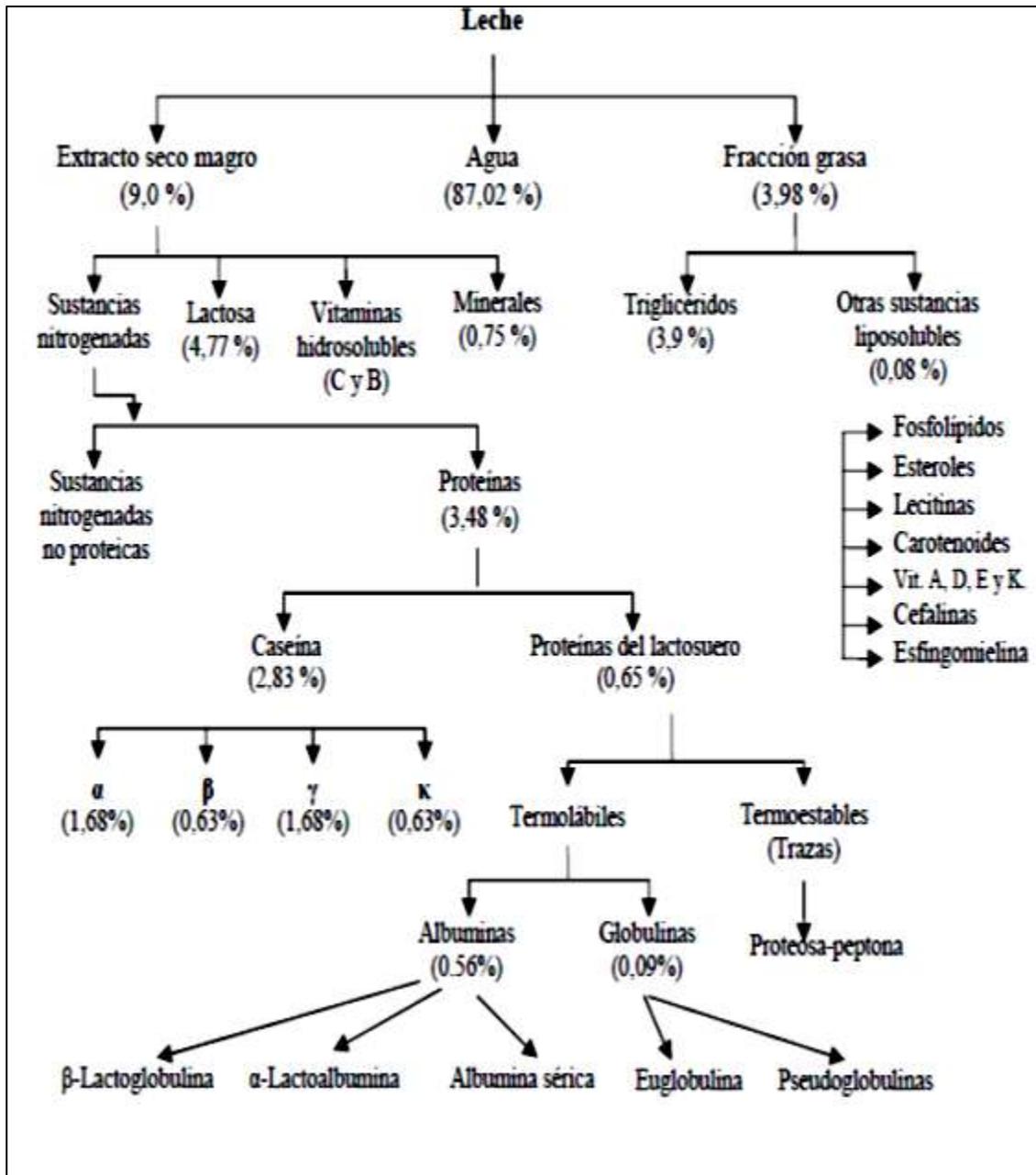
**Tabla 1. Composición nutricional de la leche fresca**

<b>Componentes</b>	<b>Cantidad</b>
Energía Kcal	68
Proteína (%)	3,3
Grasa (%)	3,6
Carbohidratos (%)	4,8
Agua (%)	87
Cloro (mg)	109
Calcio (mg)	140
Fósforo (mg)	90
Potasio (mg)	140
Vitamina A (mg)	0,03
Vitamina B <sub>1</sub> (mg)	0,04
Vitamina C (mg)	1,0

Fuente: Tamine y Robinson (1991).

La lactosa es el carbohidrato característico de la leche, es un disacárido compuesto por glucosa y galactosa. La materia grasa está constituida fundamentalmente por triglicéridos muy distintos que forman una mezcla compleja; sus ácidos grasos presentan grandes diferencias en la longitud de su cadena y en su grado de saturación. La leche también contiene pequeñas cantidades de otros lípidos, como fosfolípidos, colesterol, ácidos grasos libres y digliceridos. Alrededor de las cuatro quintas partes de las proteínas de la leche son caseínas que, a su vez, están constituidas por una mezcla de aproximadamente 10 proteínas diferentes. El resto corresponde esencialmente a las llamadas proteínas del suero y además así como las enzimas (Walstra et al. 2001).

Figura 1. Composición química de la leche (%).



Fuente: Tamime y Robinson (1991).

### 1.2.3. Estructura

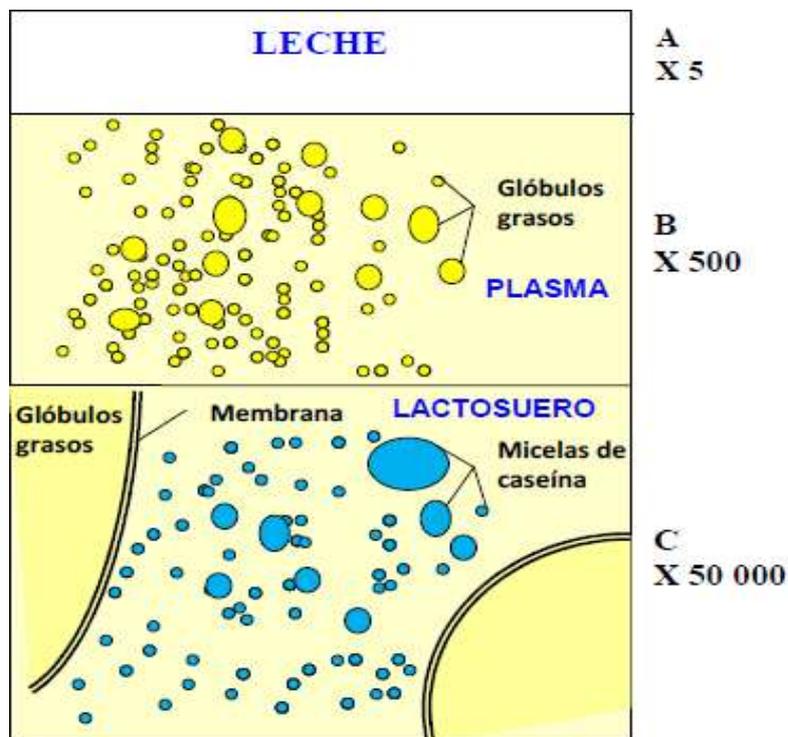
La estructura puede definirse como la disposición física de los componentes químicos en un sistema. Es decir, la composición se refiere a qué hay en el sistema y la estructura a cómo está. Expresándolo de otra forma, la estructura es todo lo que se

necesita, además de la composición y las condiciones externas, para determinar las propiedades de un sistema. La representación de esta se presenta en la figura 02, (Walstra et al. 2001).

- a. Líquido uniforme. Sin embargo este líquido es turbio, lo que significa que no es homogéneo.
- b. Gotitas esféricas de materia grasa. Estos glóbulos flotan en un líquido (plasma), que todavía es turbio.

El plasma contiene partículas proteínicas, que son las micelas de caseína. El líquido resultante (suero) todavía es opalescente, lo que indica que contiene otras partículas. Los glóbulos grasos están rodeados por una fina capa externa (membrana) de diferente composición (H. Mulder y P. Walstra, *The Milk Fat Globule* 1974).

**Figura 2. Observación de la leche a diferentes aumentos.**



Fuente: (Walstra et al. 2001).

**Tabla 2. Composición y estructura de la leche (cantidades en 1 Kg)**

**GLÓBULOS GRASOS**

<b>Glicéridos</b>	
Triglicéridos	40 g
Di glicéridos	0.1g
Mono glicéridos	10 mg
<b>Ácidos grasos</b>	60 mg
<b>Esteroles</b>	90 mg
<b>Carotenoides</b>	0.3mg
<b>Vitaminas A, D, E, K</b>	
<b>Agua</b>	60mg

**MICELAS DE CASEÍNA**

<b>Proteína</b>	
Caseína	26 g
Proteosa - p.	+
<b>Sales</b>	
Calcio	850 mg
Fosfato	1000 mg
Citrato	150 mg
K, Mg, Na	
<b>Agua</b>	80 g
<b>Enzimas:</b> Lipasa, Plasmina	

**LEUCOCITOS**

Muchas enzimas
Ácidos nucleicos
Agua

Agua	+
Proteína	350 mg
Fosfolípidos	230 mg
Cerebró cidos	30 mg
Glicéridos	+
Ácidos grasos	15 mg
Esteroles	15 mg
Enzimas	
Fosfatasa alcalina, xantin oxidasa y muchas otras	
Cu	4 ug
Fe	100 ug

**PARTÍCULAS LIPOPROTEICAS**

Lípidos
Proteína
Enzimas
Agua

**LACTOSUERO**

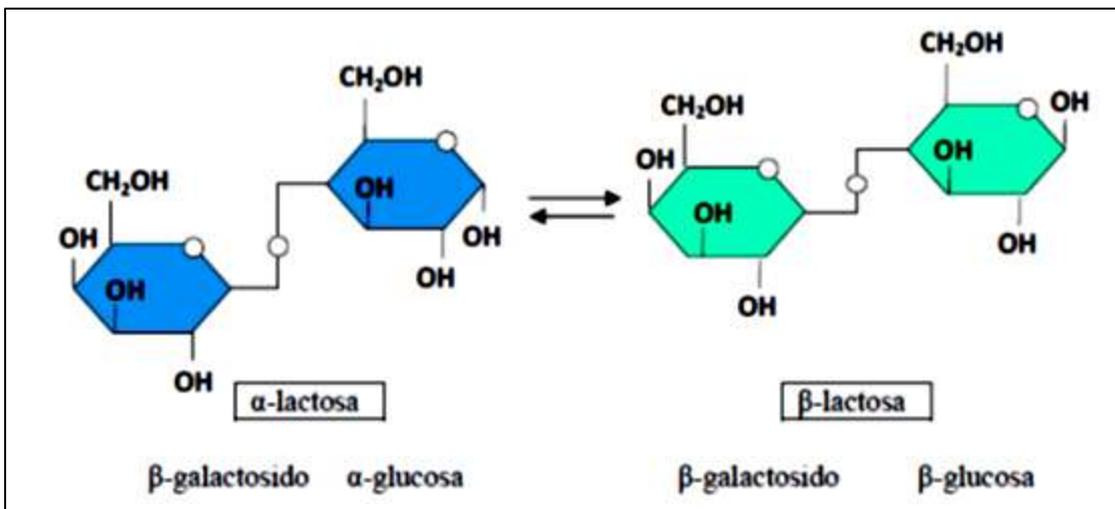
Agua	790 g	<b>Ácidos orgánicos</b>		<b>Proteínas</b>	
Carbohidratos		Citrato	1600mg	Caseína	+
Lactosa	46 g	Formato	40 mg	B-lactoglobulina	3.3 g
Glucosa	70 mg	Acetato	30 mg	α – lactoalbumina	1.0 g
Otros		Lactato	20 mg	Albumina sérica	0.3 g
		Oxalato	20 mg	Inmunoglobulinas	0.7 g
		Otros	10 mg	Proteosa-peptona	+
<b>Minerales</b>		<b>Gases</b>		<b>Comp. N no proteicos</b>	
Ca ligado	300mg	Oxigeno	6 mg	Péptidos	+
Ca Iónico	90mg	Nitrógeno	16 mg	Aminoácidos	50 mg
Mg	70mg	<b>Lípidos</b>		Urea	250 mg
K	1500mg	Glicéridos		Amoniaco	10 mg
Na	450mg	Fosfolípidos	100 mg	Otros	300 mg
Cl	1100mg	Cerebró cidos	10 mg	<b>Enzimas</b>	
Fosfato	1100mg	Ácidos grasos	20 mg	Fosfatasa ácida	
Sulfato	100mg	Esteroles	70 mg	Per oxidasa	
Bicarbonato	100mg	Otros		Muchas otras	
<b>Elementos</b>		<b>Vitaminas</b>		<b>Esteres fosfóricos</b>	300 mg
Zn	3 mg	Grupo B	200 mg		
Fe	120 ug	Ácido ascórbico	20 mg		

Fuente: (Walstra et al. 2001).

### 1.2.3.1. Los azúcares de la leche.

El azúcar principal de la leche es la lactosa, se encuentra entre 40-50 g/l, por eso se añade azúcar a la leche de vaca para lactancia artificial. Otros azúcares que conforman en pequeñas cantidades de mg o ug son (glucosa, galactosa, amino - azúcares, azúcares fosforilados, etc.) (Primo Yúfera, 1998). Si el suero de la leche se purifica y se concentra, cristaliza la lactosa por debajo de 93,5 °C en forma de  $\alpha$  - monohidratada y por encima de 93,5°C cristaliza en forma de  $\beta$  - anhidra, esta forma se disuelve con más facilidad que la primera, la representación se muestra en la siguiente figura 3.

Figura 3. Formas de lactosa.

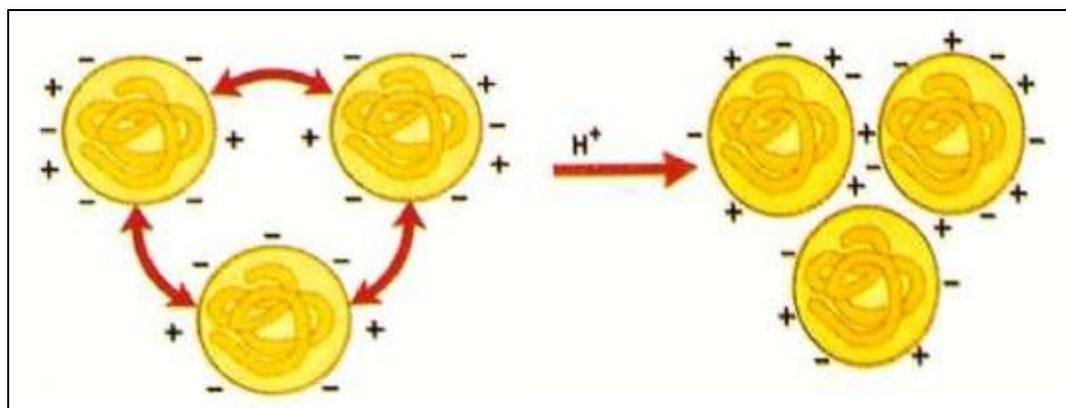


Fuente: Primo Yúfera (1998).

### 1.2.3.2. Proteínas de la leche.

Las proteínas de leche son de dos tipos, la caseína en suspensión coloidal y las del suero, principalmente la lactoglobulina y la lactoalbúmina, la caseína constituye el 80 % aproximadamente de las proteínas de la leche y las sueltas en el suero el 20 % restante. Respecto a la pauta de la FAO, las proteínas de la leche son deficientes en metionina + cisteína y ligeramente deficientes en triptófano, sobrepasa notablemente en cuanto al contenido en lisina (Primo Yúfera, 1998).

**Figura 4. Comportamiento de las moléculas de proteínas de leche con la variación de pH.**



a) Molécula de proteínas a pH 6.6 tiene una carga negativa

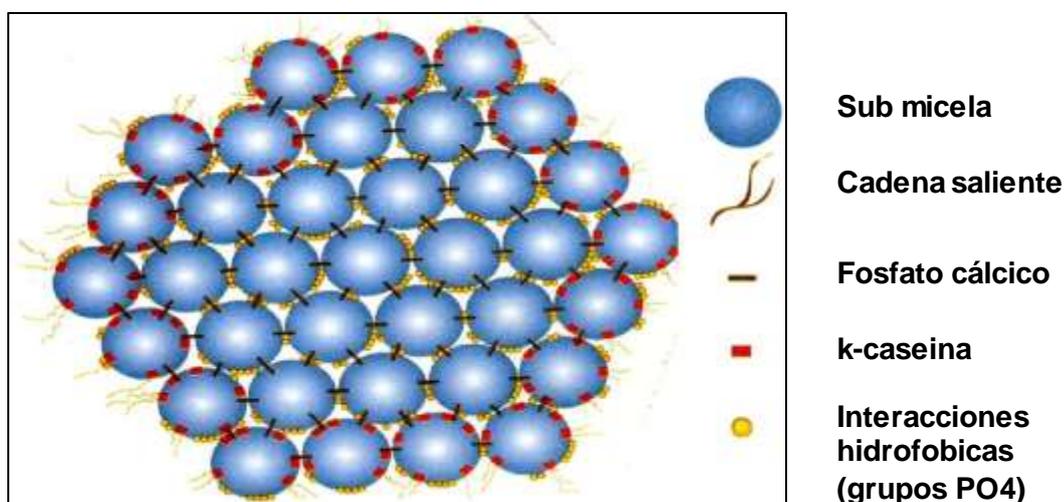
b) Molécula de proteínas a pH 4,7 punto isoeléctrico

Fuente: Madrid y Vicente (2003).

### 1.2.3.3. Micelas de la caseína.

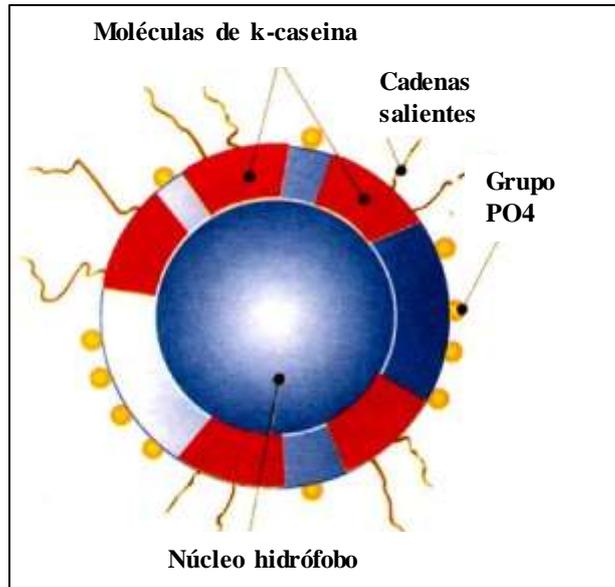
Las caseínas se encuentran en forma dispersión coloidal formando partículas de un tamaño variable. Estas partículas dispersan la luz y por tanto confieren a la leche su característico color blanco, en donde estas reciben el nombre de micelas de caseína (Ordoñez, 2001).

**Figura 5. Modelo esquemático de micela de caseína**



Fuente: Madrid y Vicente (2003).

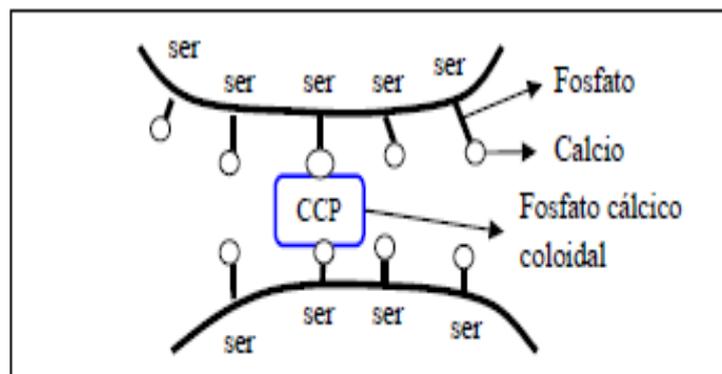
**Figura 6. Estructura de una submicela de caseína**



Fuente: Madrid y Vicente (2003).

El hecho de que la caseína no se encuentre en la leche en disolución sino en forma de micelas, tiene importantes consecuencias sobre las propiedades de la leche. Las micelas de caseína son las responsables de la estabilidad física de los productos lácteos durante el tratamiento térmico, la concentración y el almacenamiento. Las micelas determinan también las propiedades reológicas de los productos fermentados y concentrados (Walstra et al., 2001).

**Figura 7. Representación esquemática de la unión de dos submicelas mediante el fosfato cálcico coloidal (CCP).**



Fuente: Ordoñez (2001).

**Tabla 3. Aminoácidos de las proteínas lácteas totales (mg / g de proteína)**

<b>Aminoácidos</b>	<b>Valores medios aproximados</b>
Ácido glutámico	240
Prolina	115
Leucina	100
Lisina	80
Ácido aspártico	75
Valina	70
Isoleucina	65
Serina	60
Tirosina	50
Fenilalanina	50
Treonina	45
Arginina	35
Alanina	35
Histidina	25
Metionina	25
Glicina	20
Cisteína	20
Triptófano	15

Fuente: Primo Yúfera (1998).

Según Ordoñez (2001) las micelas son estables a los tratamientos térmicos empleados como la pasteurización y esterilización cuando el pH tiene valores alrededor de 6,8; a la compactación y a la homogeneización. El mismo autor señala que las micelas no son estables a pH ácido de 4,6; a la congelación, en etanol al 40 % y a concentraciones elevadas en calcio.

Según Walstra et al. (2001), menciona que la leche sin los glóbulos grasos y sin las micelas de caseína se llama suero o lactosuero; es el líquido en donde están dispersas las micelas.

**Tabla 4. Propiedades de los principales elementos estructurales de la leche**

<b>Leche</b>				
<b>Plasma</b>				
<b>Suero</b>				
	<b>Glóbulos grasos</b>	<b>Micelas de caseína</b>	<b>Proteínas globulares</b>	<b>Partículas de lipoproteína</b>
Componente principal	Grasa	Caseína, agua, sales	Proteínas del suero	Lípidos, proteínas
En estado de	Emulsión	Fina dispersión	Disolución coloidal	Dispersión coloidal
Contenido (% sobre extracto seco)	4	2,8	0,6	0,01
Volumen de la fracción	0,04	0,1	0,006	10 <sup>-4</sup>
Diámetro de las partículas <sup>1</sup>	0,1-10 nm	20-300 nm	3-6 nm	10 nm
Numero por ml	10 <sup>10</sup>	10 <sup>14</sup>	10 <sup>17</sup>	10 <sup>14</sup>
Área superficial (cm <sup>2</sup> /ml de leche)	700	40.000	50.000	100
Densidad (20°C, kg/m <sup>3</sup> )	920	1.100	1.300	1.100
Visibles al	Microscopio	Ultramicroscopio		Microscopio electrónico
Se separa en	Desnatadora	Ultracentrifugación	Ultrafiltración	Ultrafiltración
Velocidad de difusión (mm en 1 h) <sup>1</sup>	0,0	0,1-0,3	0,6	0,4
pH isoelectrico	3,8	4,6	4-5	4

Fuente: Walstra et al., (2001).

<sup>1</sup> A efectos comparativos, se considera que el tamaño de la mayor parte de moléculas en solución es de 0,4 -1 nm de diámetro y la velocidad de difusión, por ejemplo de 5 mm en 1 hora. 1 mm = 10<sup>3</sup>um = 10<sup>6</sup> nm = 10<sup>7</sup> A.

Nota: los valores son medias aproximadas.

## **1.2.4. Microbiología de la leche**

### **1.2.4.1. Microbiología del interior de la ubre**

En el interior de la ubre, incluso si el animal está sano, existen siempre bacterias banales que contaminan la leche en el momento del ordeño. Esta carga original es escasa y está compuesta principalmente por micrococos y bacterias coliformes (30 - 90 %) y estreptococos (0 - 50 %) aunque también puede existir una gran variedad de bacterias Gran positivas, esporuladas o no, y Gran negativas, aunque en tasas que no suelen ser mayores al 10 % (Ordoñez, 2001).

### **1.2.4.2. Contaminación externa de la leche.**

Una vez que la leche abandona la ubre queda expuesta a ulteriores contaminaciones. La tasa original de la leche procedente de un animal sano (aproximadamente  $10^3$  ufc/ml) se multiplica inmediatamente después de su salida al exterior por un factor de 10 ó 100, si la leche se obtiene con cierta higiene, y el número de bacterias puede sobrepasar el nivel  $10^6$  ufc/ml si no se guardan las mismas condiciones higiénicas. Las fuentes más importantes de la contaminación de la leche, pueden ser las siguientes: tipo de establo, el aire, el tipo de ordeño y las aguas utilizadas para la limpieza de los materiales (Ordoñez, 2001).

Durante el ordeño los microorganismos pueden llegar a la leche procedente de la piel de la ubre, que suele tener adherido estiércol, entre los muchos microorganismos que pueden contaminar la leche están los coliformes, estreptococos fecales, otras bacterias intestinales, esporos bacterianos (principalmente *clostridium* spp.) levaduras y mohos; algunas de ellos son patógenos del hombre. *Bacillus subtilis* y *B. stearothermophilus*, son suficientemente termoresistentes como para alterar la leche esterilizada que no han recibido un tratamiento adecuado (Walstra et al., 2001).

**Tabla 5. Características de algunos microorganismos y grupos de organismos que son importantes en la leche**

<b>Nombre</b>	<b>Fuente</b>	<b>Crecimiento en leche cruda</b>	<b>Resistencia al calor</b>	<b>Patogenicidad</b>	<b>Alteración</b>
<i>Bacillus subtilis</i> y <i>B. stearothermophilus</i>	Alimentación, estiércol, suelo, polvo	++	+	Probablemente no	Alteración de la leche esterilizada
<i>Clostridium botulinum</i>	Suelo, agua contaminada	-	+	Botulismo	No
<i>Clostridium perfringens</i>	Suelo, estiércol, agua contaminada	(+)	+	Desordenes intestinales	No
<i>Coliformes</i>	Heces, utensilios de ordeño, agua contaminada	++	-	Mastitis, desordenes intestinales	Alteración de leche y queso
<i>Pseudomonas</i>	Utensilios, leche refrigerada, agua contaminada	++	-	ocasionalmente	Hidrolizan las proteínas y la grasa de leche refrigerada
<i>Lactobacillus</i> spp.	Utensilios de ordeño, leche en cantaras, sala de ordeño	++	-	No	Acidificación de la leche
<i>Lactococcus lactis</i>	Utensilios de ordeño, leche en cantaras, sala de ordeño	++	-	No	Leche acidificada
<i>Micrococcus</i> ssp. (2)	Utensilios de ordeño	+	+	No	Crece en productos pasteurizados
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Enfermedad de la vaca o del ordeñador	-	-	Mastitis, tuberculosis	No
<i>Salmonella, shigella</i>	Estiércol, agua contaminada	+	-	Desordenes intestinales	No
<i>Staphylococcus aureus</i>	Canal del pezón, interior de la ubre, piel, ordeñador	++	-	Intoxicación alimentaria, ulcera	Casi nunca
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Utensilios de ordeño, leche en cantaras, sala de ordeño	++	-	No	Acidificación

Fuente: Walstra et al., (2001). Un signo más significa que el organismo no es destruido, en un tratamiento térmico a 63°C durante 30 minutos

### **1.3. El lactosuero.**

El suero es la fase acuosa de la leche, obtenida por medio de acidificación, aplicación de calor o coagulación enzimática. Su apariencia es opaca y de coloración verde-amarilla (Badui, 1977, Early, 2004, Keating, 2002, Kosikowski, 1982). Representa el 80 – 90 % del volumen total de la leche que entra en el procesamiento del queso, y contiene alrededor del 50 % de los nutrientes de la leche original (Industria Alimenticia, 1992).

El lactosuero es un subproducto de la fabricación de queso fresco, y se caracteriza porque contiene proteínas y fracciones proteicas de alto valor biológico como la  $\beta$ -lactoglobulina (6 - 8 g/L), la  $\alpha$ -lactoalbúmina (1 - 2 g/L), péptidos, albúmina sérica (0.4 g/L), inmunoglobulinas, lactoferrina, lactoperoxidasa y glicomacropéptidos, alta cantidad de lactosa (44 - 52 g/L), minerales (4.3-9.5 g/L) y vitaminas (Londoño et al., 2008; Haraguchi et al., 2006).

#### **1.3.1. Tipos de lactosuero.**

Inda (2000) menciona que el suero contiene un poco más del 25 % de las proteínas de la leche, cerca del 8 % de la materia grasa y cerca del 95 % de la lactosa. El lactosuero puede clasificarse en suero dulce o suero ácido, según la leche utilizada, el tipo de queso a fabricar y el sistema de coagulación. La composición del lactosuero teniendo en cuenta ésta clasificación, se presenta en la Tabla 06. No todos los lactosueros son iguales, una de las diferencias principales entre ellos es su composición, que depende no solamente de la composición de la leche para quesería y del contenido de humedad del queso sino, de manera muy significativa, del pH al que el lactosuero se separa de la cuajada. Los lactosueros de quesos más ácidos tienen mayor contenido de minerales que los lactosueros

de quesos menos ácidos, esto tiene implicaciones importantes a la hora de procesar el lactosuero para convertirlo en un requesón, en una bebida, o en otro alimento.

**Tabla 6. Composición (%) del lactosuero dulce y ácido.**

<b>COMPONENTE</b>	<b>SUERO DULCE</b>	<b>SUERO ACIDO</b>
Humedad	93.94	94 - 95
Grasa	0.2 - 0.7	0.04
Proteínas	0.8 – 1.0	0.8 – 1.0
Lactosa	4.5 – 5.0	4.5 – 5.0
Sales minerales	0.005	0.4

Fuente: Inda (2000).

Los sueros ácidos (pH, 3.57 a 4.34) y dulces (pH, 6.02 a 6.58) pueden ser condensados, secados, fermentados, deslactosados, demineralizados y desproteïnados. Utilizando tecnologías como la ultrafiltración, ósmosis inversa, intercambio de iones y electro diálisis. Además, la preparación de formulaciones para niños recién nacidos, ha sido un negocio rentable a nivel mundial (Kosikowski, 1982, Wisconsin Center for Dairy Research, 2002).

Este producto constituye por tanto, una nueva oportunidad de desarrollo de productos alimenticios. Para otros, significa un producto de desecho, sin un futuro inmediato, pero sí con un potencial a largo plazo (Kosikowski, 1982, Wisconsin Center for Dairy Research, 2002). En la Tabla 7, se muestra la composición nutricional del lactosuero dulce comercializado en polvo.

**Tabla 7. Composición nutricional (g/100g) del lactosuero dulce comercializado en polvo.**

<b>AMINOACIDO</b>	<b>SUERO DULCE EN POLVO</b>
Triptófano	0.205
Treonina	0.817
Isoleucina	0.719
Leucina	1.186
Lisina	1.03
Metonina	0.241
Cistina	0.253
Fenilalanina	0.407
Tirosina	0.363
Valina	0.697
Arginina	0.375
Histidina	0.237
Alanina	0.598
Acido aspártico	1.269
Ácido glutámico	2.248
Glicina	0.28
Prolina	0.786
Serina	0.622

Fuente: USDA (2011).

El lactosuero dulce comercializado en polvo en Estados Unidos, presenta una composición alta de ácido glutámico que es el compuesto homónimo de la L-glutamina, ya que al sustituirse el -OH del ácido carboxílico terminal del ácido glutámico por un grupo amino (NH<sub>2</sub>) se forma la L-glutamina. (USDA, 2011; Tapiero et al., 2002).

Aunque tiene un contenido proteico bajo, la proteína de suero posee un alto valor biológico, contiene la mayor cantidad de aminoácidos esenciales (400 mg/g) siendo superior al huevo, y posee 32 mg/g de aminoácidos azufrados con un valor superior al de la carne y la caseína comparados nutricionalmente (Londoño *et al.*, 2008; Smithers, 2008). Estas proteínas tienen usos múltiples y son una excelente opción para las personas que valoran el papel de una dieta saludable para ayudar a mantener y mejorar la salud (Zemel, 2003). Además de las proteínas, el lactosuero presenta una cantidad rica de minerales donde sobresale el potasio, seguido de calcio, fósforo, sodio, magnesio, zinc, cobre y hierro. Cuenta también con vitaminas del grupo B (tiamina [0.5 mg/100g], ácido pantoténico [5.6 mg/100g], riboflavina [2.2 mg/100g], piridoxina [2.4 mg/100g]) y ácido ascórbico (Londoño *et al.*, 2008).

### **1.3.2. Características fisicoquímicas del lactosuero**

El suero derivado de la producción del queso es muy nutritivo, y retiene aproximadamente el 52 % de los nutrientes de la leche entera. A pesar de su excelente contenido nutricional, la manipulación del suero de desecho de la producción de queso, es un problema caro y complicado, para el productor. Posee un porcentaje de sólidos de 6.0 a 6.5 %, y una demanda bioquímica de oxígeno superior a 32000 (mgO<sub>2</sub>/L) (Kosikowski, 1982, Badui, 1977). Las proteínas y la lactosa se transforman en contaminantes cuando el líquido es arrojado al medioambiente sin ningún tipo de tratamiento, porque la carga de materia orgánica que contiene permite la reproducción de microorganismos (Londoño *et al.*, 2008).

Según Inda (2000) indica que las proteínas lactoséricas se pueden desnaturalizar elevando la temperatura a un valor suficientemente alto y generalmente ya se comienzan a ver algunos efectos entre 60 y 70 °C

### 1.3.3. Proteínas del lactosuero.

Las proteínas del lactosuero son el conjunto de sustancias nitrogenadas que no precipitan cuando el pH de la leche se lleva a pH 4.6, que corresponde al punto isoeléctrico de la caseína bruta. Por eso se les denomina también caseínas solubles. Ellas representan aproximadamente el 20% de las proteínas de la leche (Spreer, 1991). Las proteínas del lactosuero son de un alto valor biológico (Industria Alimenticia, 1992, Badui, 1990). Su valor nutritivo es de un 25 a un 35% superior que el de la caseína (Badui, 1990). Según los diversos métodos de fraccionamiento, se permiten distinguir cuatro grandes fracciones (Spreer, 1991).

- a. Albuminas: representan el 75% de las proteínas solubles. Comprende fundamentalmente tres constituyentes; la  $\alpha$ -lactoalbúmina, la  $\beta$ -lactoalbúmina y la seroalbúmina. En general, son muy susceptibles a la precipitación en medio ácido (Spreer, 1991), La  $\alpha$ -lactoalbúmina es rica en aminoácidos como lisina, leucina, treonina, triptofano y cisteína. Su habilidad de ligarse al calcio, le proporciona protección contra la desnaturalización térmica. Se cree que puede tener beneficios anticarcinogénicos. Su uso es de gran importancia en las fórmulas lácteas para lactantes. (Wisconsin Center of Dairy Research, 2002). Su estructura primaria, presente muchas similitudes con la que tiene la lisozima del huevo de gallina (Cheftel, 1976).
- b. Globulinas: constituyen del 10 al 12% de las proteínas séricas. Son de gran importancia inmunológica, y se discute si los efectos de las globulinas presentes en la leche de vaca, pueden extenderse hacia los seres humanos (Spreer, 1991), La  $\beta$ -lactoglobulina es una proteína que se enlaza con el retinol, y juega un papel importante en la absorción de disponibilidad de vitamina A. Esta misma proteína se

considera como el mayor alérgeno de la leche, debido a las reacciones que produce en algunos consumidores (Wisconsin Center of Dairy Research, 2002). La repartición de los residuos no polares, polares e ionizados es uniforme. Los residuos hidrófobos se pueden incluir en el seno de la molécula, lo que limita las asociaciones o interacciones con otras moléculas proteicas. Sin embargo, esta molécula se asocia más o menos según el pH del medio: dímero a pH 6,6, que se polimeriza en octámero, cuando el pH varía de 5,2 a 3,5. En pH extremo, la proteína se encuentra como un monómero (Cheftel 1976).

- c. **Proteasas-peptonas:** son proteínas muy resistentes al tratamiento térmico y ácido (Spreer, 1991), Ellas se categorizan como glicoproteínas, fosfoproteínas o fosfoglicoproteínas. Dos proteasapeptonas tienen la capacidad de enlazar la toxina de *Escherichia Coli*. Entre las glicoproteínas, se encuentran las inmunoglobulinas, que poseen actividad antimicrobiana contra *E. coli*, *Campylobacter jejuni* y *Helicobacter pylori* (Wisconsin Center of Dairy Research, 2002).
- d. **Proteínas menores:** en general son proteínas que están presentes en una fracción muy pequeña, y son difíciles de clasificar. Entre ellas destacan la lactoferrina, lactolina y proteínas de la membrana del glóbulo graso (Spreer, 1991). La lactoferrina es una proteína que liga el hierro, lo que le permite transportarlo a lo largo del cuerpo, y quelarlo, para que no esté disponible para los microorganismos. La lactoperoxidasa es una enzima termoestable, y posee efectos nocivos contra *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella typhimorium*, además de evitar el crecimiento de bacterias gram positivas (Wisconsin Center of Dairy Research, 2002).

El glucomacropéptido (GMP), conocido también como el macropéptido de la caseína, es una proteína presente en el suero, debido a la acción de la quimosina en  $\kappa$ -caseína, durante la coagulación enzimática de la leche. El GMP puede llegar a alcanzar de un 10% a un 15%, de las proteínas del suero, siempre y cuando se haya utilizado quimosina. El GMP tiene la propiedad de ligar las toxinas del *Vibrio cholerae* y *Escherichia coli* (Wisconsin Center of Dairy Research, 2002).

También, esta proteína puede prevenir la formación de caries, la agregación de plaquetas, interactuar con anticuerpos y proteger contra bacterias y virus. Sin embargo, todas estas propiedades deben ser estudiadas con mayor profundidad (Wisconsin Center of Dairy Research, 2000).

El glucomacropéptido es una proteína rica en aminoácidos ramificados, como la leucina, isoleucina y valina. Sin embargo, es una proteína que no tiene presencia de aminoácidos aromáticos, como la fenilalanina, triptofano y tirosina. La deficiencia de fenilalanina, hace que sea una proteína consumible por los fenilcetonúricos. Por ello es un producto de un importante interés, para formular alimentos para individuos con Fenilcetonuria, además de productos dietéticos, por sus propiedades supresivas del hambre, pasta de dientes, gomas de mascar o suplementos para aprovechar su capacidad de retención de toxinas y mejorar la salud intestinal (Wisconsin Center of Dairy Research, 2002).

Todas las proteínas del suero en conjunto, poseen todos los aminoácidos esenciales. Las proteínas del suero, poseen más aminoácidos esenciales que la proteína de huevo, la caseína y la soya. Estas proteínas son de gran importancia en las bebidas nutritivas para deportistas, por la gran fuente de aminoácidos ramificados, como la leucina, isoleucina y valina (Wisconsin Center of Dairy Research, 2002).

Algunos estudios señalan beneficios del consumo del suero derivado de la producción de queso, para la prevención del cáncer de próstata. Esto, debido a la formación del antioxidante glutatión, que controla la cantidad de radicales simples formadores de cáncer. A diferencia de las proteínas de caseínas, las proteínas del suero, al ser ricas en cisteína, permiten una suficiente producción de glutatión (Bomser, 2003)

#### **1.3.4. Carbohidratos en el lactosuero.**

La lactosa es el componente mayoritario de la materia seca de la leche. Otros azúcares también están presentes, pero en cantidades vestigiales. Se trata generalmente de poliósidos, que contienen fucosa y glúcidos nitrogenados (Spreer, 1991). El contenido de lactosa en el suero, es de 4,5 – 5% m/v (Industria Alimenticia, 1992). En el proceso de fabricación de los quesos, un 95% de la lactosa se pierde en el lactosuero (Furtado, 1999).

La lactosa es un glucócido reductor que pertenece al grupo de los diholósidos. Está formada por la unión de una molécula de  $\alpha$  o  $\beta$ -glucosa y otra  $\beta$ - galactosa (Early, 2004, Keating, 2002, Spreer, 1991).

La hidrólisis enzimática también es posible. Algunas levaduras y numerosas bacterias poseen una lactasa que pueden provocarla. La evolución más frecuente, y a la vez, más importante, es su transformación en ácido láctico, llevada a cabo por las bacterias lácticas (Spreer, 1991).

La lactosa residual en los productos lácteos, pueden provocar problemas a la digestión de los consumidores lactosa intolerantes, debido a la ausencia de la enzima lactasa (NDDIC, 2009). Algunos productos lácteos fermentados, tienen la capacidad de disminuir estos problemas de mal absorción, por su habilidad de catabolizar la lactosa. En algunos productos lácteos fermentados como el yogur, las bacterias lácticas metabolizan

más del 50% de la lactosa presente en la leche (Marshall y Tamine, 1997). Las bacterias *Streptococcus salivarius* var *thermophilus* y *Lactobacillus helveticus*, tienen capacidad de metabolizar la lactosa. Además, *S. thermophilus* puede fermentar la sacarosa y el *Lactobacillus helveticus*, puede metabolizar galactosa por la vía de Leloir (Marshall y Tamine, 1997).

### **1.3.5. Vitaminas del lactosuero**

El suero posee un contenido vitamínico importante, sobre todo de vitaminas del complejo B y de ácido ascórbico (Badui, 1977, Industria Alimenticia, 1992, Gilles, 1974). Las vitaminas liposolubles son muy escasas, al carecer este subproducto de suficiente materia grasa (Badui, 1977, Gilles, 1974). La presencia de muchas de estas vitaminas, lo hacen un medio de características positivas para el desarrollo de fermentaciones (Gilles, 1974).

### **1.3.6. Aplicaciones y productos del lactosuero.**

Actualmente, el suero derivado de la producción quesera se utiliza para producir suero en polvo dulce y ácido, suero condensado, suero deslactosado y desmineralizado, obtención de proteína, lactosa, siropes, quesos, además de obtener alcohol etílico, vinagre y ácido láctico (Badui, 1977, Early, 2004, FAO, 2004, Furtado, 1999, Inda, 2000, Keating, 2002, Kosikowski, 1982, Gilles, 1974).

Se han desarrollado también algunos quesos, basados en la coagulación de proteínas lactoséricas, por medio de un tratamiento térmico en condiciones ácidas y en presencia de calcio. Estos productos reciben el nombre de requesón, ricottone y Ricotta. Además, algunos países escandinavos, se producen los quesos tipo Mysost, que utilizan

todos los sólidos del lactosuero, donde su procesamiento no requiere grandes inversiones (Inda, 2000).

En la industria de alimentos, se utiliza sobre todo el suero en polvo, como sustituto de la leche descremada deshidratada, por su menor costo. Sin embargo, una limitante de su aplicación es el sabor ligeramente ácido, similar a las frutas cítricas (Badui, 1977). También se le utiliza para la fabricación de bebidas de fantasía o deportivas, productos químicos o farmacéuticos, además de postres y alimentos preparados (Industria Alimenticia, 1992). Las características químicas de las proteínas del suero, de poder solubilizarse en amplios rangos de pH, y su poder espumante, les proporciona excelentes condiciones en aplicaciones en la industria de alimentos (Mabouis, 2004).

### **1.3.7. La fermentación del lactosuero.**

El suero lácteo se utiliza como medio de cultivo para el desarrollo de algunos microorganismos. Muchos microorganismos pueden fermentar el suero, y por ello, se pueden obtener múltiples productos metabólicos de estos procesos (Gilles, 1974). El proceso de fermentación permite mejorar las características nutritivas de este subproducto, además de hacerlo más paladeable (Marth, 1973).

Para este proceso metabólico, deben seleccionarse microorganismos capaces de fermentar la lactosa, ya que es el único carbohidrato fermentable presente en el producto. Los productos fermentados, a partir del suero lácteo, son utilizados para alimentación animal, debido al alto contenido de vitaminas del complejo B. (Badui, 1977, Gilles, 1974, Marth 1973).

Aunque el suero posee algunas sales, es deficiente en compuestos nitrogenados inorgánicos, y deben ser suplementados si se desean desarrollar cierto tipo de fermentaciones (Marth, 1973).

En algunos estudios se reportó la presencia de sustancias estimulantes e inhibidoras en el lactosuero. Algunos investigadores señalan factores que favorecen el desarrollo del *Streptococcus faecalis*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus leichmanis*, *Lactobacillus casei* y estreptococos lácticos heterofermentativos. Por otro lado, al menos algunas veces, se inhibe el desarrollo de *Lactobacillus casei*, *Staphylococcus aureus*, *Aerobacter aerogenes*, *Alcaligenes viscolactis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fragi*, *Pseudomonas flourecens*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus cremoris*, *Lactobacillus lactis* y *Streptococcus thermophilus* (Marth, 1973).

La fermentación del suero, sirve para (Marth, 1973):

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

#### **1.3.8. Problemas derivados de la producción del lactosuero.**

La leche en sí, posee un D.B.O. de 105 000 O<sub>2</sub>. Ello se debe al alto contenido de sólidos en su matriz. Sin embargo, la industria lechera desecha más suero que cualquier otro producto lácteo, incrementando considerablemente la cantidad total de sólidos que van al desagüe (Badui, 1977). A pesar de que el suero posee un nivel D.B.O. inferior, una gran parte de los sólidos se desechan en ese medio. En ese sentido, es indispensable el

tratamiento del suero, antes de ser eliminado y que constituya un grave contaminante (FAO, 2004 b).

### **1.3.9. Desarrollo de bebidas a partir de lactosuero.**

El desarrollo de bebidas para consumo humano, a partir del suero lácteo, ha sido posible en los últimos años. Estos refrescos o fórmulas, serían bebidas nutricionales, análogas a la leche, ideales para programas gubernamentales. Muchos de estos productos, se pueden elaborar pasteurizados, saborizados, fortificados y también se puede hidrolizar la lactosa por medios enzimáticos (Inda, 2000).

#### **1.3.9.1. Bebidas de lactosuero tipo jugos de fruta.**

Son las más comunes y utilizan lactosuero desproteinizado (sin proteínas) o el permeado de lactosuero ultrafiltrado (UF) con mezcla de jugos de frutas. Los ingredientes básicos son lactosuero líquido y jugos de frutas líquidos o concentrados. Los sabores empleados son naranja, limón, mango, maracuyá, y combinación de frutas exóticas. El lactosuero ácido es utilizado para elaboración de bebidas isotónicas para deportistas con sabores ácidos, enriquecidas con vitaminas y minerales (Jelen, 2009).

#### **1.3.9.2. Bebidas tipo lácteo.**

Se utiliza el lactosuero, o componentes del lactosuero como un ingrediente en una bebida tipo yogurt. Puede desarrollarse en dos formas: leche no fermentadas y en productos fermentados. (Jelen, 2009).

#### **1.3.9.3. Bebidas tipo carbonatadas refrescantes.**

Se caracterizan por utilizar lactosuero altamente clarificado, desproteinizado y carbonatado. El producto más representativo en el mercado mundial (Suiza, Alemania,

Finlandia, Austria y Noruega) es la bebida suiza “Rivella” consumida en Canadá y Holanda desde 1952. Es una bebida de lactosuero pasteurizada, carbonatada con diversos sabores “Rivella Red” estimulante con extractos de hierbas, “Rivella blue” baja en calorías, “Rivella Green” con extractos de té verde y “Rivella yellow” sin edulcorantes artificiales, refrescante y sabor delicado a base de vegetales como la soya (Parra, 2009; Rivella, 2011).

#### **1.3.9.4. Bebidas basadas en lactosuero y otros componentes:**

Estas bebidas se desarrollan para deportistas durante el periodo de gran ansiedad previa a las competencias, ya que abarca las bebidas nutricionales basadas en la proteína del lactosuero debido a su fácil digestión. Estas bebidas emplean componentes del lactosuero como PSC (Proteína de suero concentrada), APS (aislado de proteína de suero) y lactosuero hidrolizado para elaboración de bebidas deportivas e isotónicas y con multi-minerales (Jelen, 2009).

#### **1.4. La Quinua**

En 1996 la quinua fue catalogada por la FAO como uno de los cultivos promisorios de la humanidad, no sólo por sus grandes propiedades benéficas y por sus múltiples usos, sino también por considerarla como una alternativa para solucionar los graves problemas de nutrición humana. La NASA también la incluyó dentro del sistema CELLS (en español: Sistema Ecológico de Apoyo de Vida Controlado) para equipar sus cohetes en los viajes espaciales de larga duración, por ser un alimento de composición nutritiva excelente como alternativa para solucionar los problemas de insuficiente ingesta de proteínas.

Su nombre científico es (*Chenopodium quinoa Willd*), es quizá, hoy en día, la quenopodiácea más conocida en el mundo entero, por sus propiedades nutricionales. La

quinua es un pseudocereal originario de América del Sur. Se cultivaba ya hace 5.000 años en áreas andinas de Perú y Bolivia, en las que era utilizada como alimento sagrado y como ofrenda a los dioses indígenas (incas, quechuas, aymaras y otros). (Salcines, 2009).

Su cultivo es posible desde el nivel del mar hasta los 4000 metros de altura. Su adaptación climática es alta, incluso en ambientes desfavorables, desde climas cálidos (35 °C) hasta climas fríos (-8 °C), con precipitaciones que oscilan desde los 250 mm hasta los 2000 mm al año, en suelos francos, arenosos, arcillosos, con pH alcalino (9,0) hasta suelos ácido (4,5). Su amplia variabilidad fenotípica y genética, le otorga una mayor capacidad de sobrevivencia a la especie frente a las drásticas adversidades climáticas donde pueda ser cultivada, otorgándole una mayor seguridad al momento de la cosecha. Existen 3000 variedades conservadas de quinua, mostrando variabilidad en el color de la semilla, planta, tallos, tipos de inflorescencia, contenido de saponina, proteína, betacianinas, contenido de oxalatos de calcio, adaptación a diferentes condiciones agroecológicas. (Sepúlveda et al., 2004). Según la FAO, (2000), su contenido de proteínas la convierte en un buen sustituto de la carne, lácteos y huevos.

Toda la semilla está envuelta por episperma en forma de una membrana delgada. El embrión está formado por los cotiledones y la radícula constituye la mayor parte de la semilla que envuelve al episperma como un anillo. El contenido de proteína en el germen es del orden 48.5% y de 3.5% en el endosperma, en lípidos del 28.0% y 0.7% respectivamente (Lescano, 2007).

Debido al elevado contenido de aminoácidos esenciales de su proteína, la quinua es considerada como el único alimento del reino vegetal que provee todos los aminoácidos esenciales, que se encuentran extremadamente cerca de los estándares de nutrición humana establecidos por la FAO.

#### 1.4.1. Descripción botánica.

De acuerdo Mujica et al. (2001) la clasificación taxonómica de la quinua es la siguiente.

Reino	Vegetal
División	Fanerógamas
Subdivisión	Angiosperma
Clase	Dicotiledónea
Subclase	Archiclamidea
Orden	Centrosperma
Familia	Chenopodiaceae
Genero	Chenopodium
Sección	Chenopodia
Sub sección	Cellulata
Especie	<i>Chenopodium quinoa willd</i>

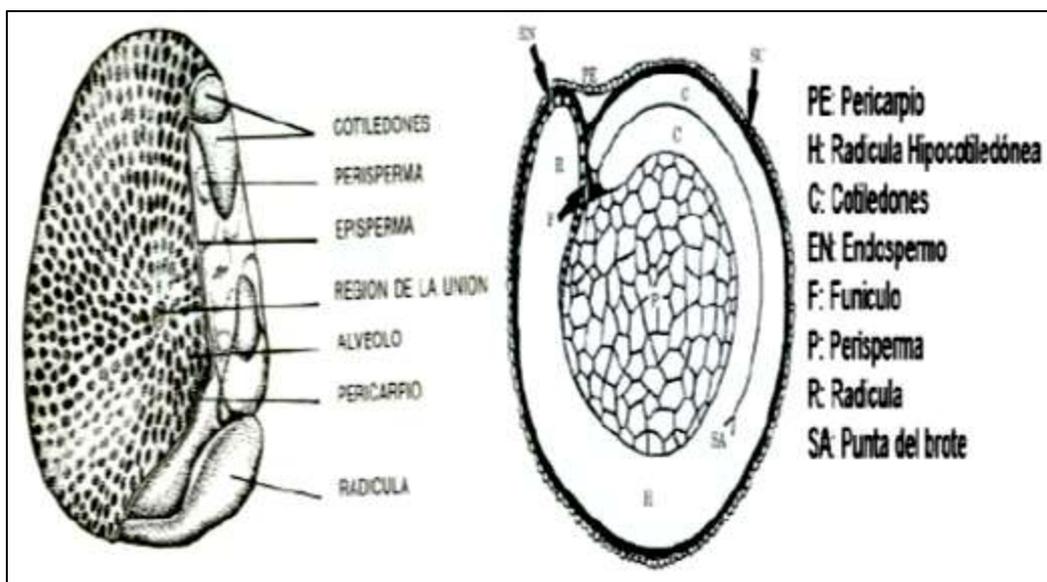
Fuente: Mujica et al., (2001).

#### 1.4.2. Morfología del grano de quinua

El pericarpio está pegado a la semilla, presenta alvéolos que en algunas variedades se puede separar fácilmente. Pegada al pericarpio se encuentra la saponina, que le transfiere el sabor amargo a la quinua la semilla está envuelta por el epispermo en forma de una membrana delgada (Tapia et al., 1979).

El embrión está formado por un eje radícula hipocotiledónea (H) y dos cotiledones (C) y constituye la mayor parte de la semilla que envuelve al perisperma como un anillo. El perisperma es almidonoso y normalmente de color blanco (Tapia et al., 1979).

Figura 8. Estructura del grano de quinua



Fuente: (Prego, et al 1998)

#### 1.4.3. Composición química y disponibilidad del valor nutricional de la quinua (*Chenopodium quinoa willd*).

La quinua es un grano pequeño con un embrión bastante desarrollado (25 % del grano) en el cual se concentra una importante cantidad de proteínas (Tapia, 2007).

Tabla 8: Composición proximal del germen de quinua.

COMPOSICIÓN PROXIMAL %		
	Variedad Blanca Junín	Variedad Rosada Junín
<b>Humedad</b>	11.26 +/- 0.01	12.72 +/- 0.01
<b>Proteína</b>	15.81 +/- 0.05	16.62 +/- 0.05
<b>Grasa</b>	6.20 +/- 0.20	6.32 +/- 0.20
<b>Ceniza</b>	4.38 +/- 0.01	4.43 +/- 0.02
<b>Carbohidratos</b>	62.35 +/- 0.3	59.91 +/- 0.3

Fuente: tomado de Barrial, (2014).

La cantidad de proteína varía de acuerdo a la localidad en que se desarrolla el cultivo, fecha en que se realiza la siembra y variedad del grano (Pino, 1998). Además, estudios demuestran que el porcentaje de proteína en la semilla aumenta al existir una menor cantidad de almidón, el que es acumulado según la fecha en que se siembre el grano debido a factores climáticos, y además se sabe que, al aumentar la temperatura ambiental en los cultivos disminuye la tasa de síntesis proteica (Pino, 1998).

La quinua constituye un producto de excepcionales cualidades nutritivas que posee importancia internacional por ser alta en proteínas al compararlo con el resto de los cereales, pero el verdadero valor de la quinua está en la calidad de sus proteínas, es decir, en la combinación de una mayor proporción de aminoácidos esenciales para la alimentación humana, que le otorgan un alto valor biológico (Zamudio, 2003).

Además la quinua posee alto contenido de vitaminas, especialmente C, E y del complejo B. También es rica en minerales como el hierro, fósforo, potasio y calcio (Albarran, 1993).

En relación al contenido total de lípidos es superior al de los cereales, representando aproximadamente del 5% al 9% de su peso, de esto, contiene alrededor de un 4% de ácidos grasos, sobresaliendo algunos esenciales como el linoleico y linolénico, los que comprenden del 55% al 63% del total de los lípidos de la quinua (Albarran, 1993).

El almidón es el mayor constituyente de este grano, con aproximadamente un 51% a 60% del peso de la semilla. Se localiza en las células del perisperma, que son de forma alargada bien definida (Albarran, 1993).

La composición en aminoácidos es de particular interés para el nutricionista, puesto que el valor nutritivo de una proteína depende principalmente de su patrón o perfil de aminoácidos (Braverman, 1980).

El contenido de lisina es importante en la harina de quinua, el que duplica el de otros cereales (aminoácido principal en legumbres), siendo también uno de los aminoácidos más escasos en los alimentos de origen vegetal. La quinua también es rica en metionina (aminoácido principal en cereales), fuente principal de azufre y necesaria para el metabolismo de la insulina. Asimismo, es alta en arginina y ácido glutámico y tiene niveles adecuados de histidina, isoleucina, valina y treonina (Albarran, 1993).

La digestibilidad es la proporción de los granos ingeridos, en sus diferentes formas y absorbido por el organismo. La digestibilidad de los granos andinos es del 80 % aproximadamente (Tapia et al., 1979).

La digestión y absorción de la proteína de los granos enteros son muy difíciles para los niños menores de 2 años. Por ello, su digestibilidad mejorará notablemente con la ingestión de mezclas en forma de harinas, papillas y licuados con frutas o leche (Canahua et al., 2003).

#### **1.4.4. Harina de quinua.**

Se transforma la quinua en hojuelas y harina, su almidón es bueno para panificación. Los granos de segunda clase y los subproductos de la cosecha se destinan para consumo de aves, cerdos y rumiantes. La superficie rugosa y seca del grano se desprende fácilmente con agua caliente o al ser hervida. La capa o pericarpio almacena sustancias amargas como la saponina y diversos glicósidos de alto peso molecular, formados por una o más cadenas carbohidratadas y una aglicona denominada sapogenina, principalmente del tipo triterpenoide siendo el ácido oleanólico y la hederagenina los constituyentes principales (Blanco, 2003).

Sin embargo los principales productos que se obtienen de la quinua son: harina cruda de quinua, harina instantánea de quinua, quinua perlada, hojuelas de quinua y expandido de quinua. Entre las formas preferidas para el consumo de quinua son: Guiso

con diferentes carnes, postres, refrescos, sopas, hojuelas en el desayuno, agua de biberón, tipo menestra, chupe, galletas, bolitas de miel, sancochado, licor/chicha, frito, tostadas, mazamorra, entre otros (ADEX/USAID/MSP/COSUDE, 2006).

La harina de quinua es un producto obtenido de la molienda de los granos de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) procesados (beneficiados), que han sido sometidos a un proceso de trituración y molienda, reduciéndolos a determinados grados de granulometría para los distintos usos a los que se destine. La quinua procesada de la que se obtenga la harina deberá estar sana y limpia, asimismo deberá cumplir con los requisitos establecidos en la NTP 205.062:2009 QUINUA. Su proceso y composición deberá ajustarse a lo dispuesto en la Resolución Ministerial N° 451-2006/MINSA “Norma Sanitaria para la Fabricación de Alimentos a Base de Granos y otros, destinados a Programas Sociales de Alimentación”, (Fichas técnicas de alimentos PNAE – Qali Warma, 2014).

### **1.5. Productos fermentados lácteos.**

Mahaut, et al. (2004) menciona que las leches fermentadas se consumen desde la antigüedad, especialmente en algunos países orientales (Asia Europa central). El yogurt se extendió en los países occidentales desde principios del siglo XX a raíz de los trabajos realizados por Metchnikow (1990), investigador que llegó a las siguientes conclusiones.

- ✓ Una de las causas de envejecimiento sería la presencia de productos de putrefacción en el intestino.
- ✓ El consumo de leches fermentadas modifica el pH del medio ambiental y dificulta la acción de las bacterias putreficantes.

Todas las leches fermentadas tienen características en común: se obtiene por el desarrollo de una flora microbiana, que a su vez está compuesta por probióticos que puedan generar prebióticos de origen metabólico o de origen lácteo por degradación de los componentes de la leche (Mahaut et al., 2004).

- ✓ A las variaciones en la composición de la leche
- ✓ A la temperatura de incubación
- ✓ A la naturaleza de la flora microbiana, láctica u otra.

Según Walstra, et al. (2001) menciona sobre el aspecto nutricional y funcional de las leches fermentadas en:

- ✓ **Digestibilidad.** Proteína grasa; la digestibilidad puede mejorar como consecuencia de la pre digestión de los componentes que llevan a cabo los equipos enzimáticos de las bacterias lácticas. Para las personas que padecen algún problema intestinal, esta pre digestión resulta beneficiosa. La proteína de las leches fermentadas coagula en el estómago en forma de partículas más finas que la leche normal, lo que también mejora la digestibilidad. Los jugos gástricos de los bebés contienen poco ácido láctico, por lo que en ocasiones se añade ácido láctico (dextro rotatorio) a las leches maternizadas.

Lactosa. Las personas con intolerancia a la lactosa digieren un producto fermentado como el yogur mucho mejor que la leche normal. La actividad lactasa de las bacterias de yogur y también la estimulación de la lactasa de la mucosa intestinal por el yogur, son los principales responsables de la digestión de la lactosa.

- ✓ **Modificación del pH.** El consumo de las leches fermentadas casi no aumenta el pH, del contenido estomacal y, por tanto, disminuye el riesgo de supervivencia de

patógenos. Este efecto es especialmente importante para las personas que segregan pocos jugos gástricos, como los bebés y muchos ancianos.

## **1.6. El Yogur.**

La palabra “yogurt” se deriva de la palabra “jugurt” de origen turco, pero este producto de sabor ácido y aroma suave también es conocido con las denominaciones como Jugurt (Turco), Kissel (Balcanes), Zabady (Egipto), Roba (Irak), Cieddu (Italia), Iogurte (Brasil y Portugal), Yogurt/Yaort/Yourt/Yaourti/Yahourth (Resto del mundo), a pesar de que no existen documentos disponibles que prueben el origen del yogurt, la creencia de su beneficio en la salud y nutrición humana existió desde las antiguas civilizaciones. (Tamime y Robinson, 1985).

Se define el yogurt como el producto de la leche coagulada obtenida por fermentación láctica mediante la acción de los microorganismos *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, a partir de la leche pasteurizada, nata pasteurizada, leche concentrada, leche parcial o totalmente desnatada y pasteurizada, con o sin adición de leche en polvo (Vicente, 2001 y Ordoñez, 2001).

Según Ordoñez (2001) especifica que la fecha de caducidad, debe expresarse en el envase y no debe sobre pasar en 24 días la de fabricación, siempre que no se abuse de la temperatura de almacenamiento. A más de 10°C, la vida útil se calcula en unos pocos días ya que el producto alcanza un grado de acidez excesivo porque *Lb. Delbrueckii subsp. Bulgaricus* puede continuar metabolizando la lactosa y alcanzarse hasta un 2.5% de ácido láctico.

Según Walstra et al. (2001) menciona, que el yogurt es la más popular de todas las leches fermentadas. Se fabrica con composiciones muy distintas (contenido de grasa y extracto seco), y puede ser natural o con sustancias añadidas, como frutas, azúcar, agentes geleficantes, etc. También se fabrica bebidas, helados de yogurt. La estructura física del

yogurt es una red de partículas de caseína agregadas, sobre lo que se ha depositado parte de las proteínas del suero que han desnaturizado por el calor, la red engloba los globulos grasos y el suero. La consistencia del yogurt es aproximadamente proporcional al contenido de caseína elevado al cubo. Por lo tanto, la variación natural en el contenido de caseína, puede ejercer una gran influencia sobre la textura del yogurt. Cuanto mayor es el porcentaje de materia grasa, más débil es el gel, porque los glóbulos grasos interrumpen la red. El tratamiento térmico de la leche produce un importante aumento de la consistencia del yogurt. La precipitación de las proteínas séricas desnaturizadas aumenta el volumen de las partículas agregadas.

### 1.5.1. Composición de yogurt.

Según (Kosikowski, 1982) se detalla la composición del yogurt.

**Tabla 9: Composición de yogurt por 100 g de producto.**

Componentes	Contenido
Kcal	50
Lípidos	1.7 g
Proteínas	3.4 g
Azucares	5.2 g
Agua	89.0 g
Calcio	120 mg
Sodio	51 mg
Fósforo	94 mg
Hierro	Trazas
Potasio	143 mg

Fuente: Kosikowski (1982).

**Tabla 10: Concentración de aminoácidos libres (mg/ 10 ml) en el yogur**

<b>Aminoácido</b>	<b>Cantidad</b>
Alanina	1,17 - 3,80
Arginina	0,70 - 1,39
Ácido aspártico	0,70 - 1,20
Glicina	0,28 - 0,45
Ácido glutámico	4,80 - 7,06
Histidina	0,80 - 1,70
Isoleucina	0,15 - 0,40
Leucina	0,70 - 1,82
Lisina	0,80 - 1,11
Metionina	0,08 - 0,20
Fenilalanina	0,17 - 0,61
Prolina	5,40 - 7,05
Serina	1,50 - 2,90
Treonina	0,24 - 0,70
Triptófano	0,2
Tirosina	0,18 - 0,61
Valina	0,90 - 1,86
<b>Total</b>	<b>18,77 - 33,06</b>

Fuente: Tamime y Robinson, 1985.

La concentración final de aminoácidos (tabla 10) en el yogur elaborado con leche de vaca puede oscilar de 18,7 a 30 mg/100 ml y es posible que la acidez de estos yogures sea de un 1,0 -1,4 % de ácido láctico. Es importante señalar que la concentración de aminoácidos en el yogur depende de la proteólisis y la asimilación por las bacterias.

Algunos aminoácidos, como por ejemplo, el ácido glutámico, la prolina, y en menor grado la alanina y la serina, no son presumiblemente necesarios para los microorganismos del yogurt, por lo que se acumulan en el producto final en cantidades superiores al resto de los aminoácidos, que si son metabolizados por *S. thermophilus* y *L. bulgaricus* durante el crecimiento y la fermentación (Tamine y Robinson, 1985).

### 1.5.2. Importancia nutricional y terapéutica del yogur

Según Mahaut et al. (2004) menciona sobre la importancia nutricional y terapéutica del yogur lo siguiente.

- ✓ Mejora de absorción de la lactosa, la presencia de bacterias lácticas viables en el yogur permite una mejor asimilación de la lactosa a las personas que son deficitarias en lactasa.
- ✓ Aumento de la digestibilidad de las proteínas, el yogur es unas dos veces más fácil de digerir *in vitro* que la leche antes de la fermentación y contiene dos veces más de aminoácidos libre: estas características son el resultado del tratamiento térmico , de la acidificación, y de la actividad proteolítica de las bacterias.
- ✓ Actividad microbiana, el yogur tiene una acción preventiva contra las infecciones gastro intestinales. Además del ácido láctico, las bacterias del yogur producen sustancias antimicrobianas y probióticas.
- ✓ Estimulación del sistema inmune; la acción inmune reguladora del yogur es un efecto bien conocido. El papel que desempeña en el aumento de la producción de interferones y de inmunoglobulinas y sobre la activación de los linfocitos B se atribuye fundamentalmente a *Lb, bulgaricus*.
- ✓ Acción preventiva    contar los canceres del sistema digestivo; los *lactobacilos* modificarían las enzimas bacterianas que originan los carcinógenos (inductores de

los canceres) en el tracto digestivo, inhibiendo así la formación de estas sustancias pre cancerígenas.

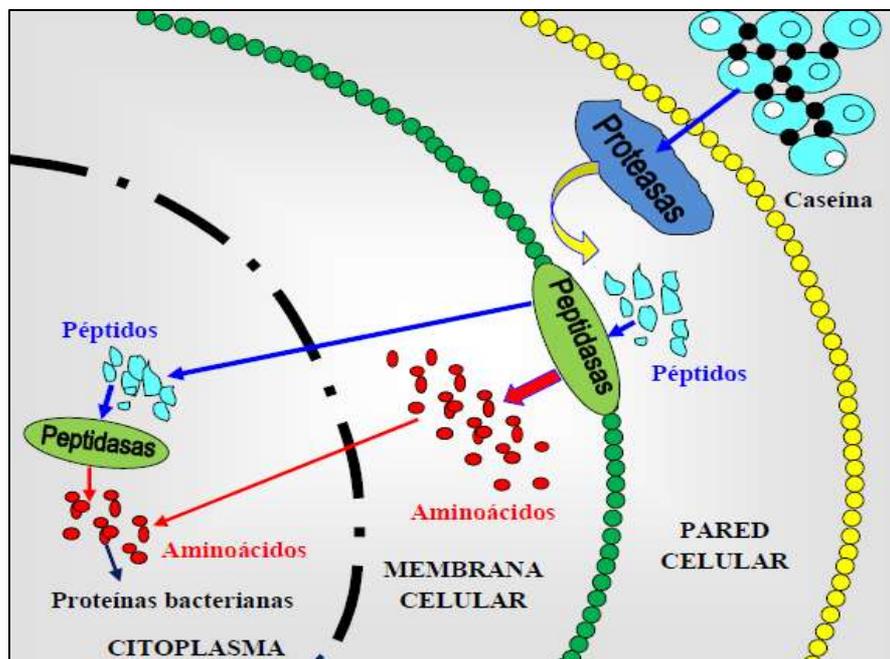
### **1.5.3. Desarrollo de las bacterias lácticas en la leche y estimulación del crecimiento**

#### **1.5.3.1. Desarrollo de las bacterias lácticas.**

Según Walstra et al. (2001) indica que Las bacterias ácido lácticas o bacterias lácticas, son los microorganismos utilizados en la producción de la leche y otros productos lácteos acidificados (fermentados). En la tabla 11 se relacionan los principales tipos de bacterias lácteas y en la tabla 12 se resume sus características más importantes. Todas las bacterias que forman parte de los cultivos iniciadores pertenecen a los géneros *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* y *Lactobacillus*. Son bacterias Gram-positivas, que tienen una pared celular muy gruesa. En base a su morfología, las bacterias lácticas pueden clasificarse en cocos y bacilos. En función de su temperatura óptima de crecimiento, se distingue entre los microorganismos mesófilos, más rápidamente a 20 – 30 °C, y los termófilos, que lo hacen a 35 – 45 °C.

Las bacterias lácticas son muy exigentes en sus necesidades nutritivas, la leche no contiene bastante cantidad de compuestos nitrogenados de disponibilidad inmediata (es decir, péptidos de bajo peso molecular y aminoácidos) para que las bacterias puedan crecer muy bien. Un requisito necesario para el desarrollo bacteriano es que las células contengan un sistema proteolítico formado por las enzimas asociadas a la pared y enzimas intracelulares. Las enzimas van hidrolizando consecutivamente las grandes moléculas proteicas hasta componentes fáciles de asimilar (ver figura 9) (Walstra et al., 2001)

**Figura 9. Degradación de la caseína por las bacterias lácticas**



Fuente: Walstra et al., (2001).

#### **1.5.4. Tipos de yogures.**

El yogurt se encuentra en el mercado, generalmente en dos presentaciones, como yogurt asentado y como yogurt batido. En el yogurt asentado, la estructura del gel es desarrollada durante la fermentación llevada a cabo dentro del envase, lo que determina un gel continuo semisólido; mientras que en el yogurt batido la estructura es formada durante la incubación a granel y desintegrada en los procesos posteriores para producir yogurt semiviscoso. El yogurt batido-bebible, es un yogurt de baja viscosidad, consumido normalmente como bebida refrescante (Tamime y Robinson, 1991).

El Yogur firme es obtenido a partir de la leche concentrada. La leche se calienta en una caldera abierta hasta que sea evaporada. Después, la leche se dejaba enfriar y cuando está a unos 50°C, se inocula con una pequeña cantidad de yogurt. Tras la fermentación se obtiene un gel firme y consistente (Walstra et al., 2001).

Tabla 11: clasificación de las principales bacterias lácticas que intervienen en la obtención de las leches y productos fermentados

Familia	Fermentación de la lactosa	Genero	Especies	Crecen a			Observaciones
				10 °C	45 °C	50 °C	
Streptococcaceae (cocos)	Homofermentativo	<i>Streptococcus</i>	<i>S. thermophilus</i>	-	+		Termófilos
			<i>L. lactis esp. lactis</i>	+	-		
		<i>Lactococcus</i>	<i>L. lactis esp. lactis biovar.</i>				Mesófilos lactococos
			<i>Diacetyllactis</i>	+	-		
			<i>L. lactis esp. cremoris</i>	+	-		
	Heterofermentativo	<i>Pediococcus</i>	<i>P. pentosaceus</i>	35 °C	40 °C	50 °C	Mesófilos
			<i>P. acidilactis</i>	+	+	+	
		<i>Leuconostoc</i>	<i>L. mesenteroides esp. cremoris</i>	10 °C	37 °C	45 °C	Mesófilos
			<i>L. lactis</i>	+	-	-	
				+	+	-	
Lactobacillaceae (bastoncitos)	Homofermentativo	<i>Lactobacillus</i>	<i>L. helveticus</i>	15 °C	45 °C		Termófilos
			<i>L. delbrueckii ssp. bulgaricus</i>	-	+		
			<i>L. delbrueckii ssp. lactis</i>	-	+		
			<i>L. acidophilus</i>	-	+		
	Heterofermentativo	<i>Lactobacillus</i>	<i>L. casei</i>	+	-		Mesófilos
			<i>L. plantarum</i>	+	-		
			<i>L. kefir</i>	+	-		
			<i>L. brevis</i>	+	-		
		<i>L. fermentum</i>	-	+		Termófilos	

Fuente: Walstra et al., (2001).

Tabla 12: Principales características de las bacterias lácticas descritas en la tabla 11

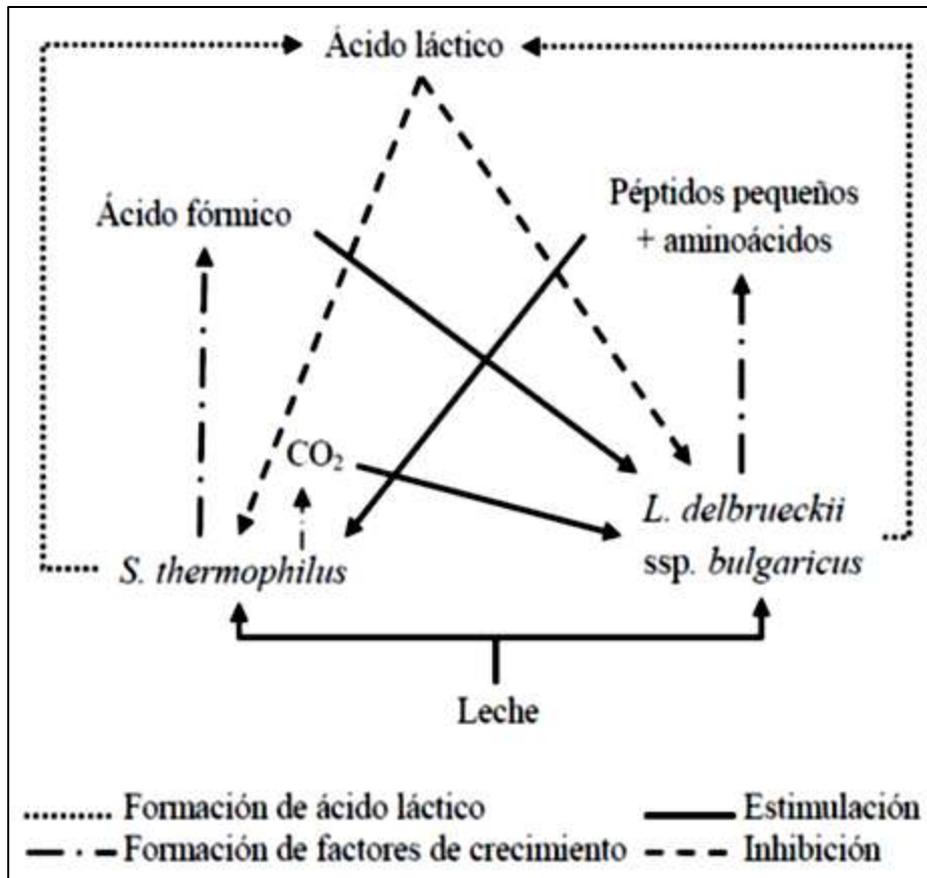
Característica	<i>Lactococcus lactis</i> ssp.			<i>Leuconostoc</i>			<i>Lactobacillus</i>			
	<i>Lactis</i>	<i>Lactis biovar diacetylactis</i>	<i>Crimoris</i>	<i>Mesenteroides</i> ssp. <i>Cremeris</i>	<i>Lactis</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i>	<i>Helveticus</i>	<i>Delbrueckii</i> ssp. <i>Lactis</i>	<i>Acidophilus</i>
Temperatura de crecimiento (C°)	8-10	8-10	8-10	4-10	4-10	20	22	20-22	18	20-22
Mínima	28-32	28	22	20-25	20-25	40	40-45	42	40	37
Óptima	40	40	37-39	~37	~37	50	52	54	50	45-48
Máxima	+	+	+			+	+	+	+	+
Homofermentativa										
Heterofermentativa										
Producción de ácido láctico % en la leche (24 h a la temperatura óptima)	~0.9	~0.9	~0.9	tr	~0.8	~0.9	~2.5	~2.5	~1.2	~1
Dextroglucosa L(+)	+	+	+					+		+
Levoglucosa D(-)				+	+	+	+	+	+	+
Citrato										
Metabolizado	+	+		+	+					
Formación de CO <sub>2</sub>		+		+	+					
Formación de diacetilo		+		+	+	tr	tr			
Formación de acetaldehído		+				tr	+			
Formación de exopolisacáridos	+/-		+/-			+	+			

Fuente: Walstra et al., (2001).

#### 1.5.4.1. Crecimiento de las bacterias lácticas.

La flora del yogurt está constituido por las bacterias lácticas termófilas *S. thermophilus* y *L. delbruekii* ssp. *bulgaricus*, para que el flavor se desarrolle satisfactoriamente, las dos bacterias deben encontrarse en un numero aproximadamente igual. Entre ellas se establece un fenómeno de mutua estimulación del crecimiento protocooperación, Las bacterias proteolíticas favorecen el crecimiento de los estreptococos por formación de péptidos pequeños y aminoácidos, principalmente valina. La leche contiene muy poca cantidad de estos aminoácidos, y los cocos, que son muy poco proteolíticos, producen acido muy lentamente. Los cocos potencian el desarrollo de los bacilos produciendo acido fórmico a partir del ácido pirúvico en condiciones anaeróbicas y formando rápidamente el CO<sub>2</sub>. El efecto estimulante del ácido fórmico no es detectable en la leche que ha sido calentado intensamente, porque en ella se ha formado ácido fórmico por descomposición térmica de la lactosa. Como resultado de la mutua cooperación durante el crecimiento de estas dos bacterias en la leche, la producción de ácido láctico es mucho más rápida de la que sería esperable en función del ácido que produce cada uno de los microorganismos cultivados individualmente. En el yogurt tiene lugar también un cierto fenómeno de antibiosis, ya que los cocos, no pueden seguir desarrollándose a partir del momento en el que se alcanza una determinada acidez. Los bacilos son más ácidosresistentes y su crecimiento no se detiene. Los efectos de la protocooperación y antibiosis tienen una importancia fundamental en el desarrollo de las bacterias del yogurt y sobre la calidad del producto final (ver figura 10). Tanto los estreptococos como los lactobacilos tienen una importante contribución en la determinación de las propiedades del yogurt. Es preciso evaluar las características de las cepas bacterianas utilizadas (Walstra et al., 2001).

**Figura 10. Fenómenos de estimulación e inhibición que se producen durante el crecimiento de las bacterias del yogurt**

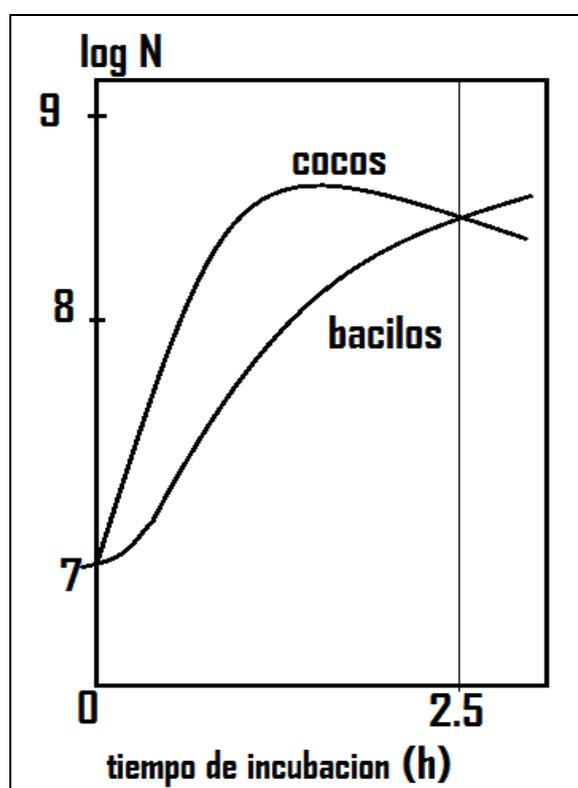


Fuente: Tomado de Walstra et al., (2001).

Según Walstra et al. (2001) la proporción óptima entre cocos y bacilos depende de las características de las cepas pero; normalmente es de 1:1. Esta relación se mantiene en el producto final. La proporción entre los dos microorganismos va cambiando. Inicialmente, los estreptococos crecen más de prisa debido a que los bacilos sintetizan factores de crecimiento, y también probablemente como consecuencia de la adición de estos compuestos con el inóculo (especialmente en la elaboración del yogurt firme o compacto). Después, el desarrollo de los cocos se hace más lento por efecto del ácido producido. Mientras tanto, los lactobacilos han empezado a crecer más rápidamente estimulados por los factores de crecimiento (CO<sub>2</sub> ácido fórmico) producidos por los estreptococos, como

resultado vuelve a restablecerse la proporción inicial y en ese momento, el yogur debería haber alcanzado la acidez deseada. Si la incubación se prolonga o el yogur no se refrigera correctamente, los lactobacilos serán las bacterias predominantes, tal como se muestra en la figura 11.

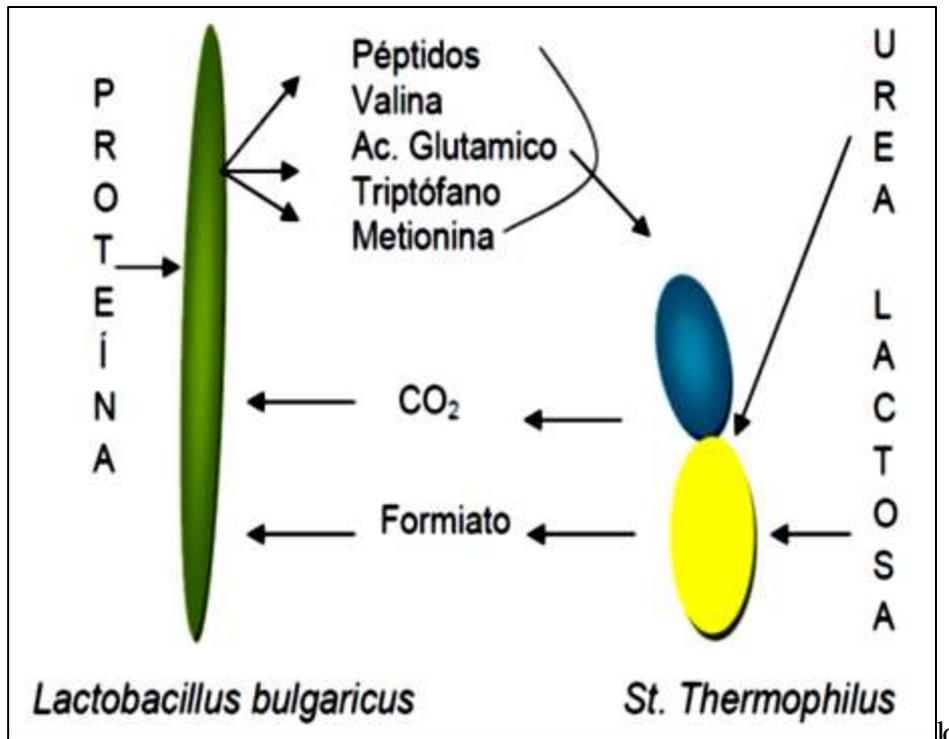
**Figura 11: Crecimiento de los cocos y los bacilos del yogur en leche que ha recibido un tratamiento térmico intenso y que se incubaba a 45 °C. Porcentaje de inóculo = 2.5 %. N = recuento en ml<sup>-1</sup>. Resultados aproximados.**



Fuente: Tomado de Walstra y col (2001).

Según Ordoñez (1998), indica que los *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* libera, a partir de las proteínas de la leche, diversos aminoácidos (entre ellos valina, ácido glutámico, triptófano y metionina) y algunos péptidos que estimulan el crecimiento de *St. Thermophilus*. A su vez esta bacteria produce formiato durante el metabolismo de la lactosa y CO<sub>2</sub> a partir de la urea presente en la leche. Ambos metabolitos estimulan el desarrollo de lactobacilo (ver la figura 12).

**Figura 12:** Factores que determinan el crecimiento simbiótico de *st. thermophilus* y *lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*



Fuente: Tomado de Ordoñez (1998).

#### 1.5.4.2. Factores que afectan el crecimiento y la reproducción de las bacterias durante la fermentación.

Según Walstra et al. (2001). los factores que afectan el crecimiento y la reproducción de las bacterias durante la fermentación son los siguientes.

- ✓ **Tiempo de incubación.** Un tiempo de incubación más corto, que implica una acidez menor, producirá un aumento en la proporción de estreptococos. La repetida transferencia de un cultivo de yogurt después de incubaciones cortas, puede llegar a hacer desaparecer los bacilos del cultivo. Por el contrario, los tiempos de incubación largos desequilibrarán la población con predominio del lactobacilo.
- ✓ **Porcentaje de inóculo.** El aumento del porcentaje del inóculo incrementa la velocidad de acidificación y en consecuencia, se alcanzara antes el nivel de acidez

que detiene el crecimiento de los cocos, lo que se traducirá en un mayor número de lactobacilos (para el mismo tiempo de incubación). Cuando el porcentaje inoculado es menor, la relación entre las bacterias se desplazara a favor de los estreptococos.

- ✓ **Temperatura de incubación.** La temperatura óptima de crecimiento de los bacilos es superior a la de los cocos, la incubación a más de 45°C desplazara el equilibrio a favor de bacilos, la incubación a menor temperatura favorecerá el desarrollo de los cocos.

### **1.5.5. Fermentación láctica.**

#### **1.5.5.1. Metabolismo glucídico**

Según Walstra et al. (2001), El metabolismo glucídico implica el transporte del azúcar hasta el interior de las células y su hidrolisis posterior.

*(1) Captación del azúcar por la célula bacteriana y formación de monofosfatos de hexosa;* durante el crecimiento de las bacterias en la leche, la lactosa debe ser transportada a través de la membrana celular. Existen para ello varios posibles mecanismos (figura 13)

- a. *Un sistema fosfoenol – piruvato fosfotransferencia dependiente (PEP/PTS).* La lactosa es transformada en lactosa –P y transportada al interior de la célula. Allí, un fosfo- $\beta$  galactosidasa (P- $\beta$ -gal), hidrolizan la lactosa-P en glucosa y galactosa-6-P. La glucosa es convertida en glucosa-6-P. Ambos azúcares fosfato son posteriormente metabolizados.
  - b. *Un sistema permeasa ATP – dependiente.* La lactosa es transportada como tal y es hidrolizada en glucosa y galactosa por una  $\beta$ -galactosidasa ( $\beta$ -gal o lactasa). La glucosa es a su vez convertida en glucosa-6-P. Las bacterias fermentadoras de galactosa forman también glucosa-6-P a partir de la galactosa por la ruta de Leloir.
- En general, las bacterias lácticas tienen ambos mecanismos de transporte, pero la

importancia relativa de cada uno de ellos es muy variable.

(2) *metabolismo posterior*. Las fermentaciones homofermentativas y heterofermentativas siguen rutas diferentes. Que se muestra en la (figura 13). En cada uno de las vías hay reacciones consecutivas que están catalizadas por diversas enzimas.

#### **1.5.5.1.1. Fermentación láctica homofermentativa.**

En la fermentación homoláctica, la lactosa entra en la célula mediante el sistema permeasa, por lo que no se encuentra fosforilada. La enzima  $\beta$ -D-galactosidasa escinde o hidroliza la lactosa en galactosa y glucosa. Esta última se cataboliza hasta lactato y la galactosa se excreta de la célula. Cuando se ha utilizado toda la glucosa disponible, *St. thermophilus* y *Lb. delbrueckii* subsp. *acidophilus* pueden fermentar la galactosa por la vía de Leloir (Ordoñez, 2001).

Según Walstra et al. (2001), el Azúcar se metaboliza vía glicolítica o ruta de Embden Meyehof; la galactosa-6-P sigue la ruta de la tagatosa. Los principales enzimas en el proceso de fermentación son:

- a. Aldolasas; necesarias para hidrolizar las hexosas difosfato o gliceraldehido-3-P
- b. Piruvato kinasa (PK), esencial para la formación de piruvato a partir de la PEP (la PEP pierde su capacidad fosforilante en el sistema PTS).
- c. Lactato dehidrogenasa (LDH), fundamental para la producción de ácido láctico a partir del piruvato.

La regulación de las actividades de todas estas enzimas controla la captación del azúcar para su metabolismo. Los factores determinantes son los siguientes:

- a. La formación de PEP activa la captación del azúcar a través del sistema PEP/PTS.
- b. Los metabolitos intermedios fosforilados hasta el gliceraldehido-3-P, especialmente las hexosas difosfato, activan la PK y la PDH.
- c. El NADH, formado durante la hidrólisis del gliceraldehido -3-P, debe ser oxidado

por la producción de ácido láctico a partir del piruvato.

Como resultado de estos factores, las bacterias lácticas esencialmente homofermentativas se comportan como “bombas de ácido láctico”: cuando la glicolisis es óptima, convierte entre el 90 y el 95 % del azúcar en ácido láctico.

#### **1.5.5.1.2. Fermentación láctica heterofermentativa.**

En la fermentación heteroláctica, *leuconostoc ssp.* Utiliza el sistema permeasa para introducir la lactosa en el interior de la célula y allí la desdobla en glucosa y galactosa mediante la  $\beta$ -D-galactosidasa. En resumen los *leuconostoc* producen equimolecularmente ácido láctico, CO<sub>2</sub> y etanol durante la fermentación (Ordoñez, 2001).

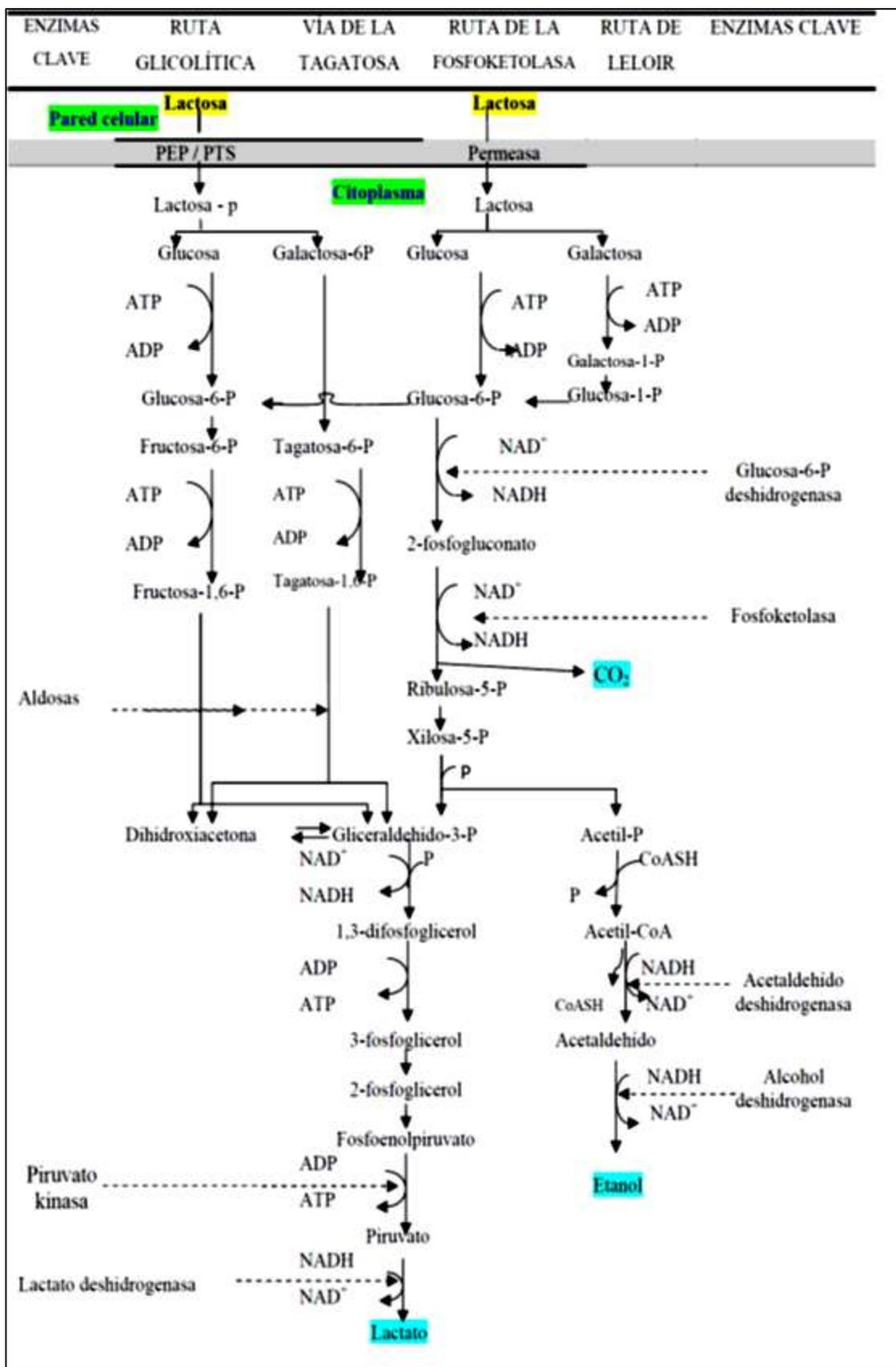
Las bacterias lácticas heterofermentativas carecen de aldolasas y por tanto no puede fermentar lactosa por la vía glicolítica. La presencia de glucosa -6-P-deshidrogenasa y de fosfoketolasa, permite el metabolismo por la ruta del 6-P-gluconato. Las fosfoketolasa hidroliza el 6-P-gluconato a CO<sub>2</sub> y pentosa-5-P, que a su vez, se convierte en gliceraldehido-3-P y acetil-P. La transformación del gliceraldehido-3-P en ácido láctico se realiza por la vía glicolítica; el acetil-P debe ser hidrolizado a etanol si no existen otros aceptores de hidrogeno (Walstra et al., 2001).

#### **1.5.5.2. Metabolitos**

Según Walstra et al. (2001), el *Streptococcus thermophilus* y *lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*, producen sustancias que además de contribuir a la estructura y consistencia del yogurt, determinan su flavor entre los principales compuestos formados son los siguientes.

- ✓ **Ácido láctico.** Los dos microorganismos forman ácido láctico a partir de la glucosa. La galactosa resultante de la hidrólisis de la lactosa no se metaboliza y por tanto, la concentración molar de galactosa aumenta paralelamente a la reducción del contenido de lactosa.

Figura 13: Metabolismo de la lactosa en las bacterias lácticas.



Fuente: Tomado de Walstra et al., (2001).

Casi toda la glucosa se descompone via homofermentativa. *St. thermophilus* forma ácido L (+) láctico, mientras que *lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*, lo produce forma D (-). Ambos isómeros se encuentran aproximadamente en la misma cantidad. El yogurt contiene un 0,7-0,9% p/p (80-100 mM) de ácido láctico. También generan CO<sub>2</sub>, ácido acético y etanol, pero en cantidades muy pequeñas.



- ✓ **Acetaldehído (etanal).** Este compuesto es fundamental en el aroma característico del yogurt. La mayor parte de este compuesto está sintetizado por los lactobacilos, principalmente de la treonina, que es un componente que se encuentra en baja concentración de forma natural en la leche. Además, en la proteólisis que se llevan a cabo los lactobacilos también se produce la treonina. El contenido en acetaldehído del yogurt es de aproximadamente 10 mg/kg (0.2 mM).
- ✓ **Diacetilo (CH<sub>3</sub>·CO·CO·CH<sub>3</sub>).** *St. Thermophilus* y en menor grado *lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*, producen diacetilo por una vía que probablemente sea la misma que siguen los *leuconostoc* y *lactococcus* ssp. *Lactis biovar*. Las bacterias del yogurt no metabolizan el ácido cítrico y por tanto, el ácido pirúvico formado en la fermentación de la lactosa es el único precursor del diacetilo. El yogurt contiene entre 0,8 y 1,3 mg/kg (0,01-0,02 mM) de diacetilo.
- ✓ **Polisacáridos.** Las bacterias del yogurt pueden formar una capa (pilosa) o glicocalix, que fundamentalmente son cadenas de polisacáridos constituidos por galactosa y otros glúcidos. Pueden secretarse parcialmente a la leche, en cuyo caso se denominan exopolisacáridos. Los polisacáridos desempeñan un papel importante

en la consistencia del yogurt, sobre todo en los yogures batidos.

**Tabla 13. Producción de compuestos carbonilo (ppm) por los cultivos del yogurt**

Microorganismo	Acetaldehído	Acetona	Acetoina	Diacetilo
<i>S. thermophilus</i>	1,0-8,3	0,2-5,2	1,5-7,0	0,1-13
<i>L. bulgaricus</i>	1,4-12,2	0,3-3,2	Traza-2,0	0,5-13
Cultivos mixtos	2,0-41	1,3-4,0	2,2-5,7	0,4-0,9

Fuente: Tamime y Robinson (1985).

### 1.5.6. Propiedades dietéticas y nutritivas del yogurt.

Los principales cambios químicos que afectan a los componentes del producto, están referidos a una disminución en el contenido de la lactosa y consecuente formación de ácido láctico, aumento en el contenido de péptidos y aminoácidos libres y cambios en las proporciones de los ácidos grasos y algunos cambios en el contenido de vitaminas (Jofre H., 1978).

- ✓ **Lactosa y ácido láctico:** En el caso de los productos lácteos fluidos fermentados, el nivel de lactosa presente en leche es reducido en un 20-30%, lo que convierte al producto en un alimento más aceptable en relación a la leche, en particular en aquellas personas que sufren de intolerancia a la lactosa. La galactosa es normalmente convertida a glucosa siendo utilizada como fuente de energía (FAO, 1983).
- ✓ **Proteínas:** La digestibilidad de los productos lácteos fermentados como el queso, yogurt, kéfir, leche acidófila y otros es aumentada en relación a aquella de la leche a partir de la cual fueron preparados. Este efecto es ocasionado por los siguientes fenómenos:

La formación de ácido láctico origina, a un determinado nivel, la precipitación de la caseína en finas partículas, las cuales son atacadas más fácilmente por enzimas digestivas presentes en el tracto en comparación con las partículas de caseína de

mayor tamaño presentes en la leche no fermentada.

La fermentación de la leche trae consigo un significativo grado de hidrólisis de las proteínas. El consecuente aumento en el contenido de aminoácidos y péptidos favorece la acción de las enzimas digestivas, lo que se traduce en un aumento del valor biológico y de la digestibilidad de las proteínas (Tamime, A. y Robinson R., 1985).

- ✓ **Materia grasa:** Las bacterias lácticas se caracterizan por poseer una actividad lipolítica restringida. Sin embargo, durante la elaboración y especialmente la maduración de productos fermentados, se manifiesta cierta actividad lipolítica atribuible a los cultivos lácticos empleados, que tiene como consecuencia una moderada liberación de ácidos grasos, lo cual afecta positivamente el valor nutricional del producto final (Anderson, 1968).
- ✓ **Minerales y vitaminas:** En los productos fermentados fluidos no ocurren prácticamente cambios en su contenido mineral en relación a la leche utilizada para su elaboración. Sin embargo, el calcio, fósforo y hierro tienen una mejor utilización, probablemente debido al efecto favorable del ácido láctico en la absorción de estos elementos (Tamime, A. y Robinson R., 1985).

#### **1.5.7. Propiedades físico organolépticas**

Entre las características de los productos lácteos fermentados que influyen sobre su aceptación entre los consumidores, se encuentran el sabor, olor, textura y consistencia (FAO, 1983).

La bebida láctea se distingue por un sabor típico y agradable por la presencia de suficientes cantidades de compuestos como diacetilo y acetaldehído y en menor grado a un adecuado balance de ácidos grasos volátiles (FIL-IDF, 1988).

Algunas propiedades físicas como consistencia, viscosidad y textura contribuyen a

determinar el grado de aceptación visual del producto y cuando éste toma contacto con el paladar. Así, el yogurt afianado debe poseer una consistencia de tipo firme, sin presentar escurrimiento, en tanto el yogurt batido debe presentar un coágulo suave, sin evidencia de granulaciones y exhibir adecuada viscosidad o resistencia al escurrimiento. Una textura cerrada, característica de ausencia de gas y exclusión de suero en la superficie del envase, son propiedades deseables (Tamime, A. y Robinson R., 1985).

## **1.6. Justificación**

De acuerdo con Mahaut et al. (2004), una de las causas de envejecimiento sería la presencia de productos de putrefacción en el intestino, El consumo de leches fermentadas modifica el pH del medio ambiental y dificulta la acción de las bacterias putreficantes, Todas las leches fermentadas tienen características en común: se obtiene por el desarrollo de una flora microbiana, que a su vez está compuesta por pro bióticos que puedan generar prebióticos de origen metabólico o de origen lácteo por degradación de los componentes de la leche.

Según Walstra, et al. (2001), menciona que el aspecto nutricional y funcional de las leches fermentadas, en la digestibilidad. Proteína grasa; puede mejorar como consecuencia del ligero pre digestión de los componentes que llevan a cabo los equipos enzimáticos de las bacterias lácticas. Para las personas que padecen algún problema intestinal, este pre digestión resulta beneficiosa. La proteína de las leches fermentadas coagula en el estómago en forma de partículas más finas que la leche normal; los jugos gástricos de los bebés contienen poco ácido láctico, por lo que en ocasiones se añade ácido láctico (dextro rotatorio) a las leche maternizadas. Las personas con intolerancia a la lactosa digieren un producto fermentado como el yogur mucho mejor que la leche normal. La actividad lactasa de las bacterias de yogur y también la estimulación de la lactasa de la mucosa intestinal por

el yogur, son los principales responsables de la digestión de la lactosa, el consumo de las leches fermentadas casi no aumenta el pH, del contenido estomacal y, por tanto, disminuye el riesgo de supervivencia de patógenos. Este efecto es especialmente importante para las personas que segregan pocos jugos gástricos, como los bebés y muchos ancianos.

La producción de yogures sustituidos en la provincia y la región, en la actualidad las empresas de alimentos no desarrollan procesos y tecnologías para la producción de productos funcionales, y el aprovechamiento de residuos de gran importancia nutricional y económica, como la harina de quinua (*Chenopodium Quinoa Willd*) y el lactosuero, esto debido al desconocimiento de la importancia nutricional y el efecto ambiental que causa al ser desechado como residuo. Donde Inda (2000) menciona que el lactosuero de leche es uno de los residuos más representativos de la industria lechera y uno de los contaminantes más severos que existen a nivel ambiental, constituye aproximadamente el 85% - 90% del volumen de la leche, cuyos componentes principales como la lactosa, calcio, sales minerales y proteínas lacto-séricas de bajo peso molecular solubles en su punto isoelectrico son retenidas en un 55%. La quinua tiene más nutrientes que el arroz, trigo, maíz y soya, porque contiene los 10 aminoácidos esenciales para el cuerpo, los cuales son vitales para el desarrollo de células del cerebro para el aprendizaje, memorización, raciocinio y crecimiento físico (Ugarte, 2001).

La investigación planteada contribuirá a generar un nuevo proceso tecnológico de un derivado lácteo sustituido con productos de gran importancia nutricional, económica y de impacto ambiental, como la quinua (*Chenopodium Quinoa Willd*), y el lactosuero. Asimismo, los resultados del estudio beneficiaría a todas a todos los consumidores de los derivados lácteos y a la industria alimentaria, además permitirá resolver el problema de la deficiencia alimentaria en la región. Así mismo la investigación servirá para determinar

parámetros de proceso y porcentajes óptimos de sustitución parcial, Por otro lado, mediante la investigación se desarrollará un método para medir las variables del estudio en el contexto local, pero con aplicaciones a otros ambientes de la región.

## **1.7. Objetivos**

### **1.7.1. Objetivo general.**

Determinar la influencia de la sustitución parcial de lactosuero y harina de quinua (*Chenopodium Quinoa Willd*) en las propiedades organolépticas y fisicoquímicas del yogur sustituido.

### **1.7.2. Objetivo específicos.**

1. Determinar la influencia de la sustitución parcial de lactosuero y harina de quinua (*Chenopodium Quinoa Willd*) en las propiedades organolépticas del yogur sustituido.
2. Determinar la influencia de la sustitución parcial de lactosuero y harina de quinua (*Chenopodium Quinoa Willd*) en las propiedades fisicoquímicas del yogur sustituido.
3. Determinar el porcentaje óptimo de lactosuero y harina de quinua (*Chenopodium Quinoa Willd*) en la elaboración de yogur sustituido.

## **1.8. Problema**

### **1.8.1. Problema general**

¿De qué manera, la sustitución parcial con lactosuero y harina de quinua (*Chenopodium Quinoa Willd*) influyen en las propiedades organolépticas y fisicoquímicas del yogur sustituido?

### **1.8.2. Problemas específicos**

1. ¿De qué manera, la sustitución parcial con lactosuero y harina de quinua (*Chenopodium Quinoa Willd*) influyen en las propiedades organolépticas del yogur sustituido?
2. ¿De qué manera, la sustitución parcial con lactosuero y harina de quinua (*Chenopodium Quinoa Willd*) influyen en las propiedades fisicoquímicas del yogur sustituido?
3. ¿Cuál es el porcentaje óptimo de lactosuero y harina de quinua (*Chenopodium Quinoa Willd*) en la elaboración de yogur sustituido?

### **1.9. Hipótesis**

#### **1.9.1. Hipótesis general**

La sustitución parcial con lactosuero y harina de quinua (*Chenopodium Quinoa Willd*) influyen positivamente en las propiedades organolépticas y fisicoquímicas del yogur sustituido.

#### **1.9.2. Hipótesis específicas.**

1. La sustitución parcial con lactosuero y harina de quinua (*Chenopodium Quinoa Willd*) influyen positivamente en las propiedades organolépticas del yogur sustituido
2. La sustitución parcial con lactosuero y harina de quinua (*Chenopodium Quinoa Willd*) influyen negativamente en las propiedades fisicoquímicas del yogur sustituido
3. El porcentaje óptimo en la formulación del yogur sustituido es de 50 % de lactosuero y 2 % de harina de quinua (*Chenopodium Quinoa Willd*)

## **II. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.1. Lugar de ejecución**

El desarrollo de la investigación se realizó en los laboratorios de química, procesos y control de calidad de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional José María Arguedas (UNAJMA), ubicada en la Av. 28 de julio N°. 1102 del Distrito de Talavera, Provincia de Andahuaylas del Región de Apurímac, en el Laboratorio de Análisis Químico de la Facultad de Ciencias Químicos, Físicas y Matemáticas de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC), ubicada en la Av. La cultura N° 733, Cusco – Perú y en el Laboratorio de Química y Procesamiento de Productos Agroindustriales de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac (UNAMBA).

### **2.2. Material de estudio.**

En el presente trabajo se requirió como materia prima de investigación, la leche fresca, el lactosuero y la harina de quinua precocida, el lactosuero se obtuvo de la elaboración de queso fresco, elaborado en el laboratorio de procesos de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional José María Arguedas (UNAJMA) y la leche fresca fue adquirido de los productores ganaderos del barrio de Chihuampata,

La harina de quinua precocida, fue procesado en la Empresa Agroindustrial el Andino E.I.R.L. del distrito de San Jerónimo de la provincia de Andahuaylas.

#### **2.2.1. Universo y/o Población**

Se consideró como universo y/o población 15 litros de lactosuero y 2 Kg de harina de quinua precocida y 5 litros de yogur como patrón; el lactosuero fue obtenido de la elaboración del queso fresco y el yogur se procesó en el laboratorio de procesos de la

Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial y la harina de quinua se procesó en la Empresa Agroindustrial el Andino E.I.R.L. del distrito de San Jerónimo de la provincia de Andahuaylas.

### 2.2.2. Muestra

Se consideró como muestra el lactosuero del primer desuerado de (400 ml, 500 ml y 600 ml), de la elaboración de queso fresco, y la harina de quinua precocida de (20 g, 30 g y 40 g) procesada de granos de quinua (*Chenopodium Quínoa Willd*) sin ningún rastro de ataque de plagas y 1L yogur como patrón.

### 2.3. Equipos, materiales, reactivos y material de estudio de laboratorio.

#### 2.3.1. Equipos.

Descripción	Marca	Unidad de medida	Cantidad
Balanza analítica Cap. 300 g	TRAVELER	Unidad	1
Termómetro digital de -50/150°C	KYNTEL	Unidad	5
Balanza Analítica portátil cap. 210 g de sensibilidad 0.001 g	ADVENTURER	Unidad	1
Potenciómetro con rango de medición -2,0 hasta 19,99.	POSTFACH	Unidad	1
Potenciómetro	HANNA	Unidad	1

Fuente: Elaboración propia.

#### 2.3.2. Maquinarias.

Descripción	Marca	Unidad de medida	Cantidad
Refrigeradora	BOSCH	Unidad	1
Incubadora de metal de un foco	HECHIZO	Unidad	1
Balanza electrónica	E - ACURA	Unidad	1

Fuente. Elaboración propia

### 2.3.3. Materiales de ensayo.

Descripción	Marca	Unidad de medida	Cantidad
Termómetros de mercurio -10 °C hasta 132 °C		Unidad	10
Termo Lactodensímetro 14 – 42 °C	QUEVENNE	Unidad	1
Vasos de precipitado de 50, 100, 250	ESCHOT	Unidad	10
Pipetas serológicas de 1, 2 y 5 ml	FORTUNA	Unidad	5
Probetas volumétricas de 10, 20, 50 y 100 mL	FORTUNA	Unidad	10
Matraz Erlenmeyer de 100, 250 y 500 mL	FORTUNA	Unidad	2
Fioles de 100, 250 y 500 mL	FORTUNA	Unidad	2
Pinzas		Unidad	2
Espátula de acero inoxidable mango de madera.	USBECK	Unidad	2
Pro pipetas	D&N.	Unidad	2
Varilla de vidrio marca fortuna	FORTUNA	Unidad	5
Rotulador	FABER-CASTELL	Unidad	2

Fuente: Elaboración propia

#### 2.3.4. Reactivos e insumos

<b>Descripción</b>	<b>Unidad</b>	<b>Cantidad</b>
Hidróxido de sodio (NaOH)	Gramos	200
Alcohol etílico (Etanol) (C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O) 96 °	Litros	1
Indicador fenolftaleína (C <sub>20</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub> )	Mililitros	50
Hidróxido de sodio 0.1 N	Mililitros	500
Agua destilada	Litros	5
Azúcar	Kilogramos	5
Cuajo	Gramos	10

Fuente: Elaboración propia.

#### 2.3.5. Utensilios.

<b>Descripción</b>	<b>Unidad</b>	<b>Cantidad</b>
Ollas de acero inoxidable	Unidad	3
Cocina industrial	Unidad	2
Balón de gas	Unidad	1
Baldes de polietileno de 15 litros	Unidad	2
Jarras de 5 litros	Unidad	2
Telas para filtración	Unidad	2
Bolas de polietileno 1 Kg	Unidad	2
Envases de polietileno de 1 L	Unidad	15
Cucharones de madera	Unidad	3
Cucharas de aluminio	Unidad	11

Fuente. Elaboración propia.

### 2.3.6. Indumentaria

Descripción	Unidad	Cantidad
Guantes quirúrgico	Caja * 100	1
Mandil	Unidad	2
Gorra de tela	Unidad	2
Barbijo	Caja * 100	1

Fuente: Elaboración propia.

### 2.3.7. Material de estudio.

Descripción	Unidad	Cantidad
Lactosuero	Litros	15
Harina de quinua	Kilogramos	2

Fuente: Elaboración propia.

## 2.4. Métodos de análisis.

### 2.4.1. Análisis fisicoquímico y proximal de la leche fresca.

Los análisis se fisicoquímico y proximal efectuaron en el Laboratorio de Química y Procesamiento de Productos Agroindustriales de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac.

El análisis proximal se realizó de acuerdo al método descrito por la NTP 2001 y AOAC 2000 – 2001,

**NOTA:** Los procedimientos de los métodos se detallan en el apéndice 01.

- ✓ **Densidad.-** Se determinó directamente utilizando el lactodensímetro a 20 °C.

- ✓ **pH.-** Para realizar esta medición se usó el potenciómetro digital marca SCHOTT, el cual fue calibrado previamente con buffer a pH = 4,0 y pH = 7,0. El valor se obtuvo introduciendo directamente el electrodo dentro de la muestra.
- ✓ **Acidez Titulable.-** Se determinó de acuerdo al método 16.023 (A.O.A.C., 1984). Basado en una titulación con NaOH 0.1 N. Se mide 9 ml de leche fresca en un vaso precipitado de 100 mL, se incorporaron tres gotas de fenolftaleína al 1% y se titula con NaOH 0.1 N, hasta obtener una coloración rosada. La acidez se expresa como porcentaje de ácido láctico, teniendo la siguiente relación:

$$\% \text{ acidez titulable} = \frac{G * N * 0.09}{V} * 100$$

Donde:

G: gasto de NaOH,

N: normalidad de NaOH 0.1N

V: Volumen tomado de la muestra.

#### 2.4.2. Análisis fisicoquímico del lactosuero

Se realizó de acuerdo al método descrito por la NTP 2001 y AOAC 2000 – 2001, en el Laboratorio de Análisis Químico de la Facultad de Ciencias Químicas, Físicas y Matemáticas de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC),

- ✓ Humedad: Método NTP 206.011
- ✓ Proteína micro kjeldahl: Método AOAC 935.39C
- ✓ Grasa: Método NTP 206.017
- ✓ Cenizas: AOAC 935.39B
- ✓ Carbohidratos: Diferencia de la composición % de humedad, ceniza, proteína y grasa.
- ✓ Acidez (ácido láctico): NTP 206.013

- ✓ pH. Potenciómetro.

### 2.4.3. Análisis fisicoquímico del yogur.

Los análisis se efectuaron en el Laboratorio Procesamiento de Productos Agroindustriales de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional José María Arguedas.

- ✓ **pH.**- Se determinó con el Potenciómetro, marca: HANNA instruments, pH 211.
- ✓ **Acidez.**- Se determinó de acuerdo al método 16.023 (A.O.A.C., 1984). Basado en una titulación con NaOH 0,1 N. Se pesa aproximadamente 5 g de muestra en un matraz Erlenmeyer de 250 mL, posteriormente se añadió agua destilada y se agitó vigorosamente, se incorporaron tres gotas de fenolftaleína al 1% y se tituló con NaOH 0,1 N, hasta obtener una coloración rosada. La acidez se expresó como porcentaje de ácido láctico, teniendo la siguiente relación: (1mL de NaOH 0,1N = 0,009 g de ácido láctico).

$$\%acidez = \frac{(mL\ de\ NaOH) * (Normalidad\ de\ NaOH) * 9}{Peso\ de\ la\ muestra\ gr} * 100$$

- ✓ **Análisis químico del yogur óptimo.** Se realizó de acuerdo al método descrito por la NTP 2001 y AOAC 2000 – 2001, en el Laboratorio de Análisis Químico de la Facultad de Ciencias Químicas, Físicas y Matemáticas de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC),
  - Humedad: Método NTP 206.011
  - Proteína micro kjeldahl: Método AOAC 935.39C
  - Grasa: Método NTP 206.017
  - Cenizas: AOAC 935.39B
  - Carbohidratos: Diferencia de la composición % de humedad, ceniza, proteína y grasa.

## 2.5. Metodología experimental

### 2.5.1. Materia prima

- ✓ La quinua (*Chenopodium Quinoa Willd*) de variedad blanca Junín, se adquirió de productores del distrito de Pacobamba de la Provincia de Andahuaylas.
- ✓ La leche fresca, se adquirió de productores de leche fresca de Chihuampata del distrito de Talavera de la provincia de Andahuaylas.
- ✓ Lactosuero; se obtuvo de la elaboración del queso fresco.

### 2.5.2. Obtención de harina precocida de quinua.

Antes de realizar los procesos de investigación, se procedió la obtención de harina precocida de quinua, éstos procesos se realizaron en la Empresa Agroindustrial el Andino E.I.R.L. del distrito de San Jerónimo de la provincia de Andahuaylas, bajo el diagrama de flujo de la empresa.

- ✓ **Quinua Desaponificado.**

Se obtiene granos de quinua desaponificado, con un humedad comercial de 12 a 14 % de humedad

- ✓ **Pre tostado.**

Esta etapa consiste en someter los granos un precocido de alta temperatura a corto tiempo con la finalidad de hacerlos más digestibles, inactivando enzimas y antinutrientes, bajando la carga bacteriana. Temperatura y Tiempo: 100-130 °c por 35-40 min

- ✓ **Enfriado** Luego de realizado la etapa de Pretostado se deja enfriar el producto por un espacio de ½ hora como mínimo con la finalidad de que el producto pueda entrar al proceso siguiente totalmente frío, evitando de que el producto pueda

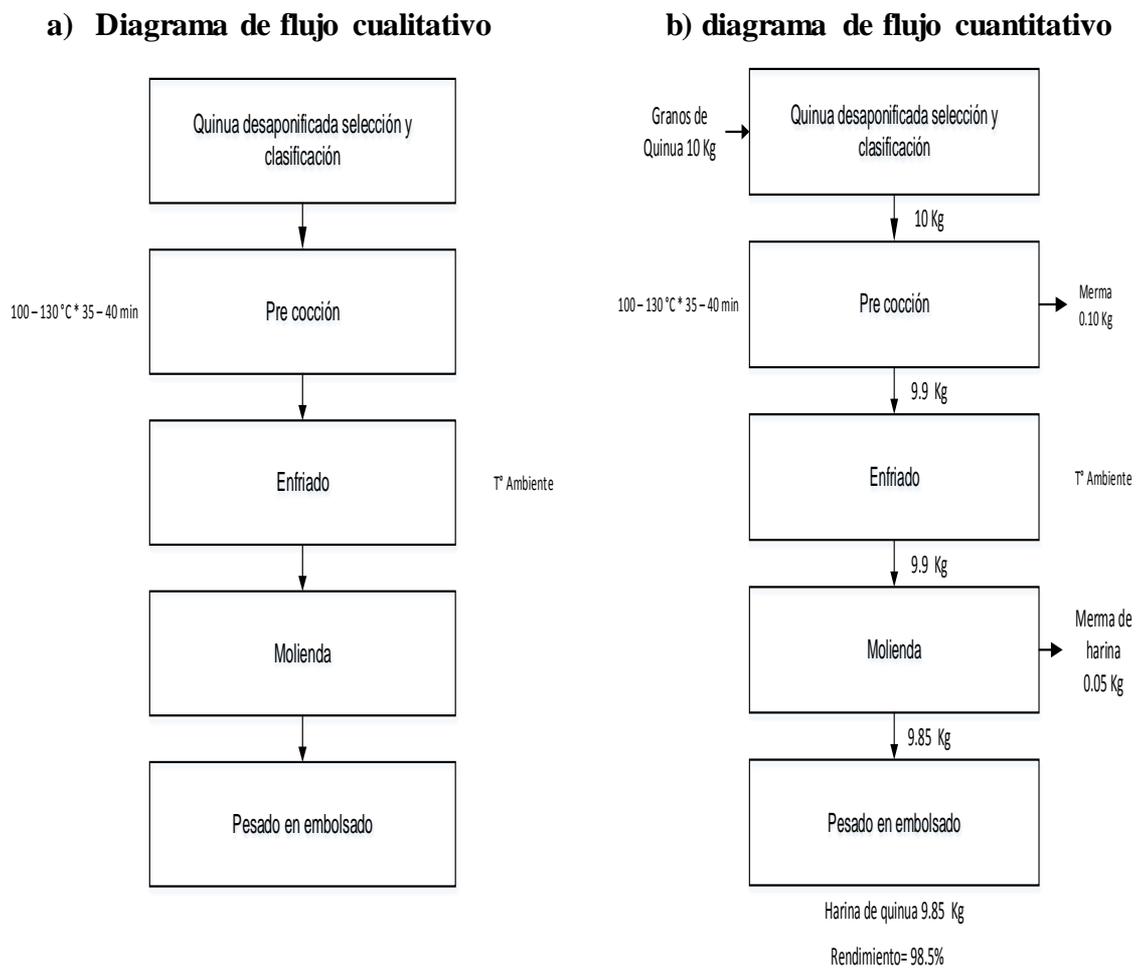
generar acidez durante el almacenado (temperatura final de enfriado ambiente 12-15 °C, tiempo total requerido para el enfriamiento entre 30 a 60 min).

✓ **Molido:**

Esta operación consiste en una molienda fina a un tamaño de partícula adecuada.

Esta etapa se realiza mediante una máquina llamada molino de rodillos.

**Figura 14: Diagramas de flujo para la obtención de harina de quinua precocida.**



Fuente: Elaboración propia.

✓ **Pesado y Embolsado.**

Esta operación consiste en realizar un empacado hermético del producto final a fin de protegerlo del medio ambiente y evitar su posible contaminación el sellado deberá ser a una temperatura aproximada de 175 °C – 195 °C.

### 2.5.3. Obtención de lactosuero.

Antes de realizar los procesos de investigación, se procedió la obtención de lactosuero, la obtención se basó en la elaboración de queso fresco este proceso se realizó en laboratorio de procesos de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, Las atapas de elaboración se tomó como referencia algunos procedimientos de Walstra, et al., (2001).

- ✓ **Recepción de leche;** la leche es recibida baldes transparentes, luego es sometida a un análisis físico químico
- ✓ **Filtrado;** La leche que se recepciona se filtra haciendo pasar a través de una tela fina (organza) previamente lavada y desinfectada a una olla de acero inoxidable. Esta operación es necesaria para eliminar las impurezas y suciedad gruesa de la leche.
- ✓ **Tratamiento térmico;** La pasteurización se realiza a 65 °C durante 30 minutos, este tratamiento térmico asegura la destrucción de bacterias patógenas tales como salmonellas, brucellas, mycobacterium, tuberculosis, coliformes stafilococcus y otras como streptococcus.
- ✓ **Enfriamiento;** Seguidamente se enfría la leche hasta 36 °C para adicionar el cloruro de calcio, y el cuajo.
- ✓ **Adición del Cloruro de Calcio;** se adiciona cloruro de calcio a la leche, después de la pasteurización para reponer el calcio “perdido”
- ✓ **Adición del cuajo;** se adiciona cuajo en poco de agua en una cantidad igual al doble de cuajo utilizado. La leche debe estar a 35°C; se añade el cuajo y se remueve y se deja en reposo a esta temperatura por 40 minutos.
- ✓ **Coagulación;** La coagulación de la leche en la elaboración de queso se realiza gracias a la acción del cuajo sobre la caseína y a la presencia de calcio libre (Ca<sup>++</sup>).

Cuando se pasteuriza la leche, hay una cierta precipitación del calcio libre y la leche disminuye su capacidad de coagulación, el objetivo es retener las proteínas y atrapar la mayor parte de la grasa, mientras que casi todo el resto de los componentes, incluyendo el agua, deben eliminarse prácticamente en su totalidad.

**Figura 15: Diagrama de flujo para la obtención de lactosuero**



Fuente: Tomado de Walstra, et al., (2001).

- ✓ **Corte de la cuajada;** Se comprueba la formación del coágulo haciendo un pequeño corte con un cuchillo donde el corte debe ser parejo y no debe manchar el cuchillo. Se corta la cuajada en forma vertical, horizontal en forma de cubitos de 0.5 cm de ancho.
- ✓ **Reposo;** Luego de realizado el corte de la cuajada, ocurre un lento y progresivo proceso de exudación de las paredes de los granos de cuajada, fenómeno llamado sinéresis. Este reposo dura unos 5 minutos.
- ✓ **Primer batido,** El primer batido se realiza durante 15 minutos aproximadamente, moviendo la paleta muy suavemente en forma circular y de ocho; la temperatura ideal del batido es de 34 a 35°C.
- ✓ **Reposo;** Luego del primer batido, la cuajada se deja en reposo durante 5 minutos,
- ✓ **Primer desuerado,** Una vez que todos los granos de cuajada están en el fondo, se extrae el todo el suero necesario.
- ✓ **Almacenamiento;** El lactosuero obtenido se almacena en una refrigeradora comercial, para evitar el descenso del pH.

#### 2.5.4. Preparación del cultivo madre.

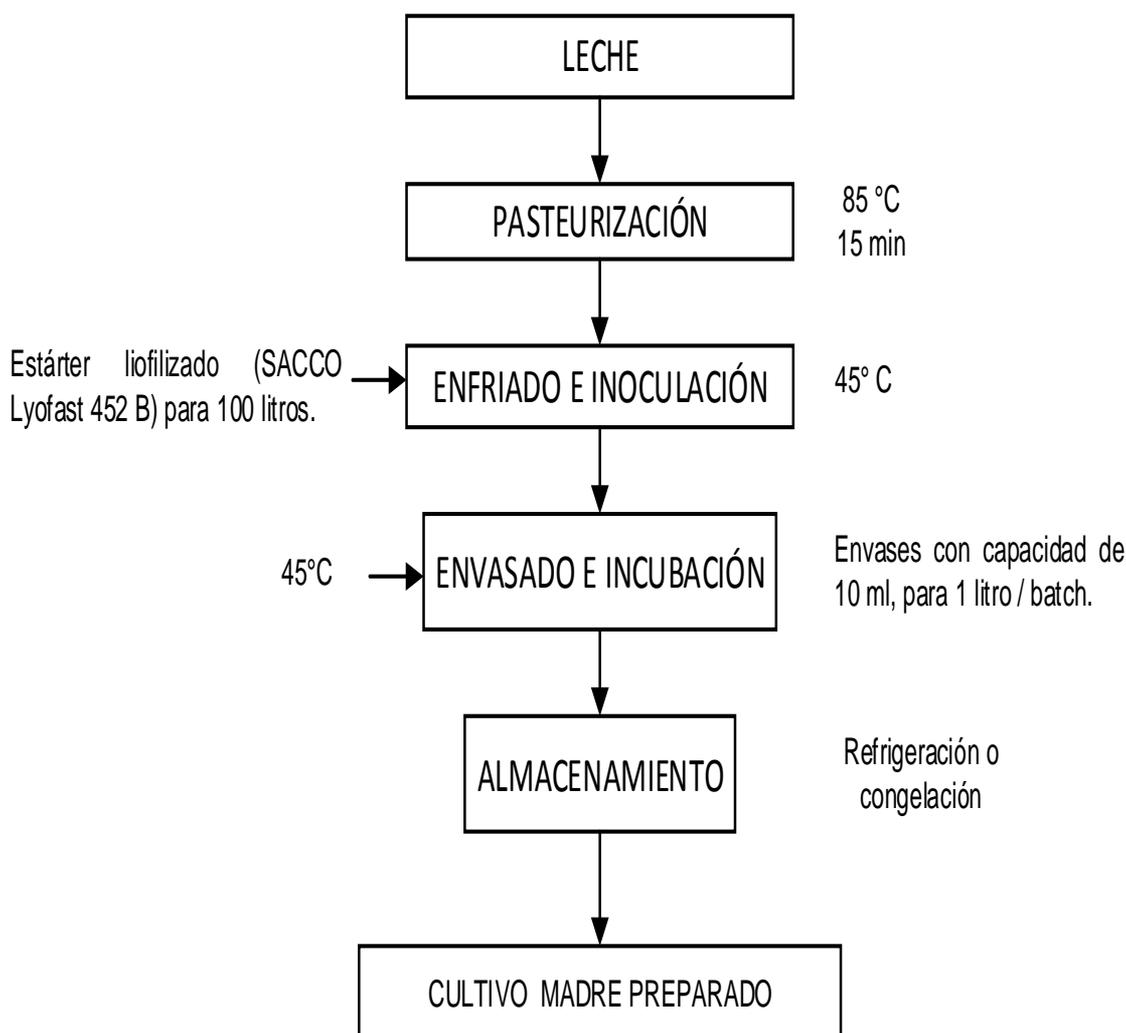
Para la preparación del cultivo madre, se utilizó el cultivo liofilizado comercial marca (SACCO Lyofast 452 B), para ello se procedió según el diagrama de bloques descrito por (Condori, 2010); tal como se muestra en la figura 16.

- ✓ **Leche;** es la principal ingrediente para la preparación del cultivo de madre, por lo que es recepcionada bajo condiciones estrictas de control de calidad.
- ✓ **Pasteurización;** Esta operación se efectuó en una olla de acero inoxidable, sometiendo a un tratamiento térmico la leche a una temperatura de 85 °C por 15 minutos.
- ✓ **Enfriamiento e inoculación;** Se enfrió hasta una temperatura de 45 °C y se

inoculó rápidamente el estárter liofilizado (SACCO Lyofast 452 B).

- ✓ **Envasado e incubación;** Un sobre de starter rinde a 100 litros, para elaborar en pequeñas cantidades, el cultivo preparado se envasó en envases de 10 ml para elaborar 01 litros/ batch, inmediatamente se incubó a temperatura de 45 °C por 2,5 - 3 horas; para que la relación de cocos: bacilos sea (1:1).

**Figura 16: Diagrama de bloques para la preparación de cultivo madre.**



Fuente: Tomado de (Condori, 2010).

- ✓ **Almacenamiento;** El cultivo madre preparado se refrigeró a 5 – 7 °C, para no activar las bacterias lácticas hasta el momento de su utilización. Si se quiere almacenar el cultivo por semanas o meses, se recomienda su congelación.

### 2.5.5. Evaluación de la fermentabilidad de las bacterias lácticas.

Antes de realizar el procesamiento final, se evaluó la fermentabilidad de las bacterias lácticas, tomando 150 mL de muestra cada una hora, para determinar la producción de ácido láctico, pH, en función al tiempo durante la fermentación en el proceso de incubación, los cuales determinan la aceptabilidad del producto terminado.

- ✓ La acidez se determinó por titulación con NaOH 0,1 N, expresado en porcentaje de ácido láctico.
- ✓ El pH se determinó, con el Potenciómetro, marca: HANNA instruments, pH 211,

### 2.5.6. Obtención de yogur sustituido parcialmente con Lactosuero y Harina de Quinoa (*chenopodium quinoa willd*).

Esta etapa de investigación se desarrolló en el Laboratorio de Procesos Agroindustriales de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la UNAJMA, las operaciones unitarias se aplicó teniendo como base, el proceso de la elaboración de yogur batido mediante sustitución parcial de leche fresca con extracto de kiwicha (*Amaranthus caudatus*) (Condori, 2010). Los procesos para este trabajo se efectuaron, siguiendo el flujograma descrito en la figura 17. El diagrama de bloques es de doble entrada,

#### ✓ **Materia prima e insumos**

Leche fresca

Harina de quinoa precocida

Lactosuero

Azúcar blanca refinada

Cultivo láctico (SACCO LYOFAST)

- ✓ **Recepción y control de calidad.** En esta etapa del proceso se determinó la calidad de la leche fresca, mediante los análisis fisicoquímicos de Acidez, pH y

densidad regulando la temperatura a 20 °C. Así mismo el lactosuero es recepcionada mediante el análisis de acidez y pH

- ✓ **Filtración de leche fresca.** Se filtró la leche con la ayuda de una tela especial para eliminar impurezas macroscópicas, etc. El lactosuero es filtrada también con una tela especial para retener coágulos de queso.

**Pasteurización.** La leche fresca se somete al tratamiento térmico a una temperatura de 85 °C por 15 minutos, para destruir los microorganismos patógenos. Este proceso se desarrolló en ollas de acero inoxidable mediante agitación continúa, en esta operación se adiciona azúcar blanca, previamente homogeneizada. Según Inda (2000) indica que las proteínas lactoséricas se pueden desnaturalizar elevando la temperatura a un valor suficientemente alto y generalmente ya se comienzan a ver algunos efectos entre 60 y 70 °C.

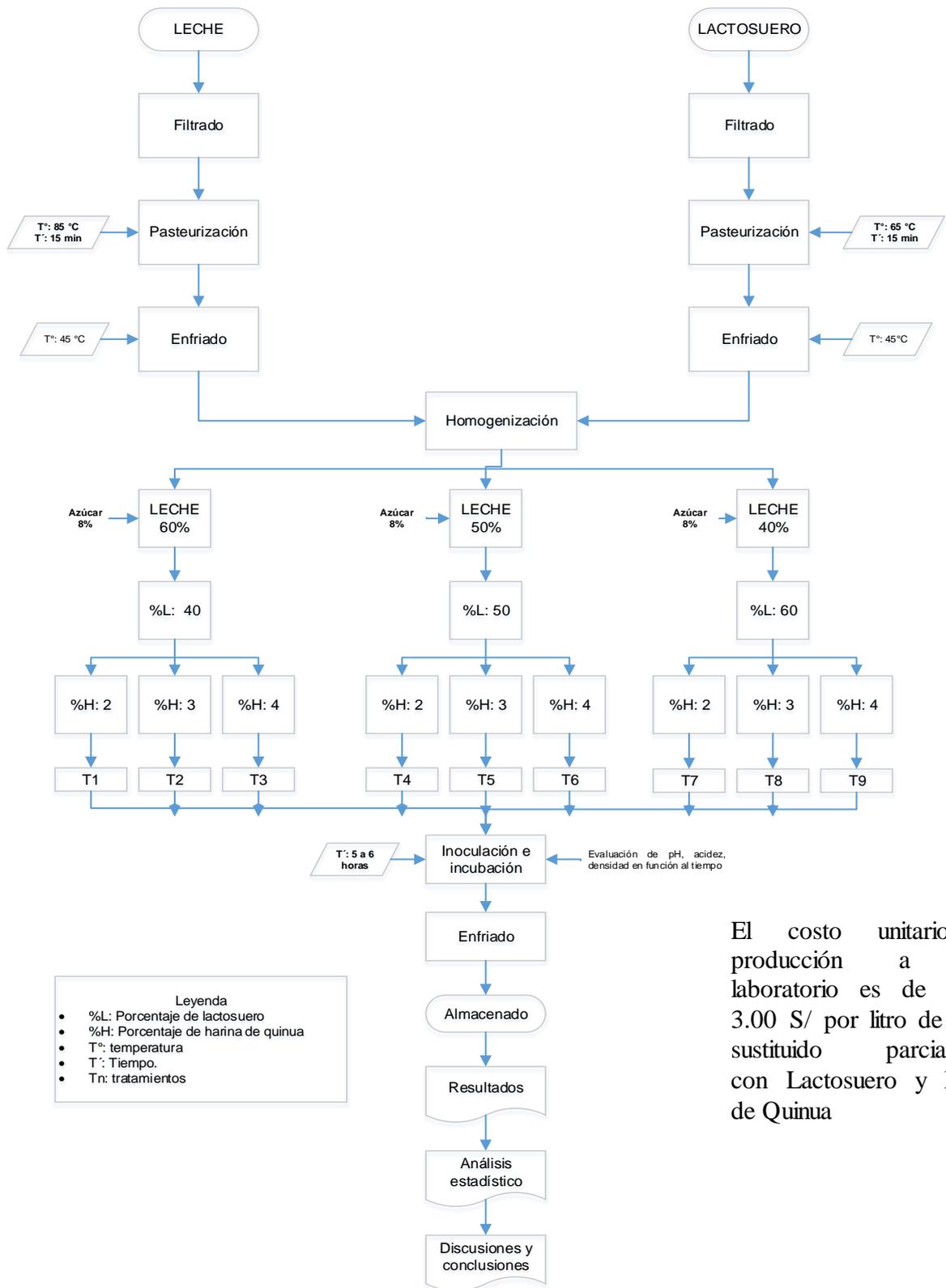
Tomando lo indicado el lacto suero también será sometido a una pasteurización de una temperatura de 65 °C por un periodo de tiempo de 15 min, con la finalidad de paralizar el descenso de la acidez del lacto suero, y a la vez eliminar restos de calcio incrementados durante la elaboración de queso fresco, estos factores influyen de manera significativa en la inoculación durante la elaboración del yogur sustituido.

- ✓ **Homogenización.** La homogenización de los porcentajes de lactosuero y la leche se desarrolla en función al volumen total por tratamiento que es de 3000 ml, los porcentajes de harina de quinua precocida se adicionan en base al volumen total y el azúcar blanco se incorporara a cada tratamiento el 8%.
- ✓ **Pre Enfriamiento.** Una vez finalizado el tratamiento térmico, la leche y el lactosuero deben enfriarse hasta la temperatura de incubación de 45 °C, posteriormente se inicia el proceso de incubación con el inóculo de los

fermentos. Este proceso tiene por objeto proporcionar las condiciones de temperatura y tiempo para que se desarrolle óptimamente el cultivo inoculado responsable de la fermentación láctica y formación de compuestos responsables del sabor y aroma del yogur sustituido.

- ✓ **Inoculación.** Se adicionó el cultivo madre preparado a cada tratamiento, y se agitó cuidadosamente.
- ✓ **Incubación.** - Se efectuó en una incubadora de material diseñado con tecnopor, controlando la temperatura de 43 a 45 °C por un tiempo de 5 - 6 horas tomando en consideración experiencias de otras investigaciones. realizado la inoculación con cultivo madre preparado, hasta que el pH de yogurt alcance un valor de 4 a 4,5 y una acidez de 0.70 % y 0.80 % de ácido láctico. Durante la incubación se evaluó el comportamiento de algunas propiedades fisicoquímicas como; la acidez, el pH y la densidad en función al tiempo por cada tratamiento.
- ✓ **Batido.-** El yogurt sustituido se homogeneizó cuidadosamente
- ✓ **Enfriado.** El enfriamiento del yogurt sustituido parcialmente con lactosuero y harina de quinua se desarrollara por medio de la refrigeración. El enfriamiento del coágulo comienza inmediatamente después de alcanzar un pH aproximado de 4.6 o una concentración de ácido láctico del 0.9% (Tamime y Robinson, 1991).
- ✓ **Almacenamiento.** El almacenamiento del yogurt sustituido parcialmente con lactosuero y harina de quinua precocida y el yogurt patrón se dio en una refrigeradora comercial a temperaturas inferiores a 10 °C y su mantenimiento a ésta temperatura será hasta el momento del análisis organoléptica y fisicoquímica.

**Figura17: Diagrama de bloques procedimental para la elaboración de yogur parcialmente sustituido con lactosuero y harina de quinua precocida.**



El costo unitario de producción a nivel laboratorio es de aprox. 3.00 S/ por litro de yogur sustituido parcialmente con Lactosuero y Harina de Quinua

Fuente: Elaboración propia

### 2.5.7. Evaluación del análisis sensorial.

La evaluación sensorial de las muestras del yogur obtenido se efectuó aplicando el análisis sensorial orientado hacia el producto, que son: análisis discriminativos para determinar diferencias entre las muestras con respecto al patrón, descriptivos para categorizar entre todos los tratamientos, mediante jueces para análisis discriminativos sencillos.

Se realizó un sondeo sensorial para ello, se utiliza un método de aceptación con escala ideal, basado en la prueba de justo-correcto, La aceptación del producto se evaluó basándose en las características sensoriales como; apariencia, sabor, consistencia, color y olor, con muestras codificadas, entregadas al azar, utilizando una escala hedónica de 5 puntos (Arcila y Mendoza, 2006; Castañeda *et al.*, 2009), lo cual se muestra en el tabla 14. La evaluación sensorial permitirá guiar el desarrollo de formulación del yogur sustituido.

**Tabla 14. Escala hedónica para la evaluación sensorial de los atributos de apariencia, sabor, consistencia, color y olor.**

<b>Puntaje</b>	<b>Escala de medición</b>
5	Me gusta mucho
4	Me gusta moderadamente
3	No me gusta ni me disgusta
2	Me disgusta moderadamente
1	Me disgusta mucho

La degustación de las muestras se realizó, con 28 jueces no entrenados previamente adiestrados en la técnica a emplearse en la evaluación sensorial, los jueces fueron los estudiantes regulares y 06 estudiantes egresados de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, que pertenecen al tipo de juez para análisis discriminativos sencillos.

Luego de obtener los datos del resultado del análisis fisicoquímico y sensorial se utilizó los software estadísticos STATGRAPHICS Plus 16.1, para probar el ANOVA y el MINITAB 16 para desarrollar gráficos de contorno, y el Software MICROSOFT EXEL 2013, se utilizó para la optimización respectiva mediante modelos matemáticos ajustándose al  $R^2$  y al error media estándar (MEA), así obtener el producto óptimo para su posterior estudio del análisis fisicoquímico del producto final.

#### **2.5.8. Determinación del análisis químico proximal del yogur óptimo parcialmente sustituido.**

La cuantificación de análisis químico proximal, se realizó en el laboratorio del análisis químico de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC) en la Facultad de Ciencias Químicas y Matemáticas.

### **2.6. Análisis estadístico para el análisis de datos.**

#### **2.6.1. Análisis estadístico.**

Según Gutiérrez y de la Vara (2008). El presente trabajo de investigación tiene el diseño factorial  $3^k$  es decir, un arreglo factorial de k factores que tienen tres niveles cada uno. Específicamente la investigación es un diseño factorial  $3^2$ .

#### **2.6.2. El diseño factorial $3^2$**

Este diseño consiste en  $3^2 = 9$  tratamientos diferentes, diferentes, que corresponden a todas las posibles maneras en que se pueden combinar dos factores en tres niveles cada uno. Sean A y B los factores, cada uno con tres niveles, a los cuales se les suele llamar *bajo*, *medio* y *alto*, ver tabla 15 y 16 (Gutiérrez y de la Vara, 2008).

**Tabla N° 15: Diseño factorial 3<sup>2</sup> en tres notaciones útiles**

<b>Tratamiento</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>A</b>	<b>B</b>
1	bajo	bajo	-1	-1	0	0
2	medio	bajo	0	-1	1	0
3	alto	bajo	1	-1	2	0
4	bajo	medio	-1	0	0	1
5	medio	medio	0	0	1	1
6	alto	medio	1	0	2	1
7	bajo	medio	-1	1	0	2
8	medio	medio	0	1	1	2
9	alto	medio	1	1	2	2

Fuente: Gutiérrez y de la Vara (2008).

**Tabla N° 16: Matriz de diseño experimental.**

<b>Tratamientos</b>	<b>% Lactosuero</b>	<b>% de Harina de Quinoa</b>
<b>T1</b>	40	2
<b>T2</b>	50	2
<b>T3</b>	60	2
<b>T4</b>	40	3
<b>T5</b>	50	3
<b>T6</b>	60	3
<b>T7</b>	40	4
<b>T8</b>	50	4
<b>T9</b>	60	4

Fuente: Elaboración propia.

**Tabla N° 17: Diseño de procesos experimentales (Variables dependientes e independientes de la investigación).**

Variables								
Independientes		Dependientes						
% Lactosuero	% Harina de Quinoa	Características organolépticas					Características Físicoquímicas	
40	2	Sabor	Consistencia	Apariencia	Color	Olor	Acidez	pH
50	3							
60	4							

Fuente. Elaboración propia.

### 2.6.3. Análisis de diseño experimental 3<sup>2</sup>

El modelo estadístico para el diseño 3<sup>2</sup> se puede escribir considerando el efecto individual y de cada factor y de la interacción entre ambos; y queda como sigue (Montgomery, 2004).

$$Y_{ij} = \mu + \gamma_i + \delta_j + (\gamma\delta)_{ij} + \varepsilon_{ijk} \dots \dots \dots Ec 01$$

Con:

Porcentaje de Lacto suero  $i = 40, 50, 60.$

Porcentaje de Harina de quinua  $j = 2, 3, 4.$

Dónde:

$\mu$  : Media general.

$\gamma_i$  : Efecto del % de lactosuero con su nivel i.

$\delta_j$  : Efecto de la harina de quinua con su nivel j.

$(\gamma\delta)_{ij}$  : Efecto de la interacción de ambos tratamientos en los niveles ij.

$\varepsilon_{ijk}$  : Error aleatorio, que se supone que sigue una distribución normal con media cero y varianza constante  $\sigma^2(N(0, \sigma^2))$  y son independientes entre si.

$n$  : Número de repeticiones en cada tratamiento.

Es decir los efectos de los modelos son desviaciones relacionadas con la media global. Por ello los datos para el desarrollo de la investigación teniendo en cuenta las variables dependientes e independientes en la elaboración del yogur sustituido.

- ✓ Variables independientes; 2 variables de entrada (% de lacto suero, % de harina de quinua)
- ✓ Variables dependientes; variables de salida (propiedades organolépticas, propiedades fisicoquímicas).

Numero de repeticiones ( $n=3$ ).

Por lo cual se estima las siguientes hipótesis sobre las cantidades optimas del % de lacto suero y % de harina de quinua precocida de modo que permitirá la elaboración de un yogur sustituido con las propiedades organolépticas y fisicoquímicas similares al yogur comercial.

$H_0$  : Influencia del % de harina de quinua = 0  $\rightarrow$  El % harina de quinua no influye significativamente en las características organolépticas y fisicoquímicas del yogur sustituido.

$H_A$  : Influencia del % de harina de quinua  $>0$   $\rightarrow$  El % de harina de quinua influye significativamente en las características organolépticas y fisicoquímicas del yogur sustituido.

$H_0$  : Influencia del % de lacto suero = 0  $\rightarrow$  El % de lacto suero no influye significativamente en las características organolépticas y fisicoquímicas del yogur sustituido.

$H_A$  : Influencia del % de lacto suero > 0  $\rightarrow$  El % de lacto suero influye significativamente en las características organolépticas y fisicoquímicas del yogur sustituido.

$H_0$  : Influencia (% de lacto suero)\* (% de harina de quinua) = 0  $\rightarrow$  La interacción (% de lacto suero)\* (% de harina de quinua) no influye en las características organolépticas y fisicoquímicas del yogur sustituido.

$H_A$  : Influencia (% de lacto suero)\* (% de harina de quinua) > 0  $\rightarrow$  La interacción (% de lacto suero)\* (% de harina de quinua) influyen significativamente en las características organolépticas y fisicoquímicas del yogur sustituido.

Estas hipótesis se probaran con el ANOVA tal como se muestra en la tabla 18.

**Tabla 18: ANOVA para el diseño  $3^2$**

<b>FV</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>F<sub>0</sub></b>	<b>Valor-p</b>
A	SC <sub>A</sub>	2	CM <sub>A</sub>	CM <sub>A</sub> /CM <sub>E</sub>	P(F>F <sub>0</sub> )
B	SC <sub>B</sub>	2	CM <sub>B</sub>	CM <sub>B</sub> /CM <sub>E</sub>	P(F>F <sub>0</sub> )
AB	SC <sub>AB</sub>	4	CM <sub>AB</sub>	CM <sub>AB</sub> /CM <sub>E</sub>	P(F>F <sub>0</sub> )
Error	SC <sub>E</sub>	3 <sup>2</sup> (n-1)	CM <sub>E</sub>		
Total	SC <sub>T</sub>	N3 <sup>k</sup> -1			

Fuente: (Montgomery, 2004; Gutiérrez y de la Vara ,2008).

### III. RESULTADOS

#### 3.1. Resultado del análisis físico químico de la materia prima.

En esta parte de la investigación se detalla los resultados del análisis fisicoquímico de la leche fresca y del lactosuero.

##### 3.1.1. Resultado del análisis fisicoquímico de la leche fresca.

**Tabla 19: Composición química de la leche fresca entera (en % base húmeda).**

Composición química	Leche fresca entera
Agua	87,2029 ± 0,254
Proteína*	3,3507 ± 0,238
Grasa	3,6200 ± 0,040
Carbohidratos	5,0283 ± 0,054
Cenizas	0,7981 ± 0,008

Fuente: Elaboración propia \*Nitrógeno x 6,38 para leche

En la tabla 19 y 20 se detalla la composición física química de la leche fresca entera, donde la determinación de la composición es determinante para evaluar el control de calidad y procesamiento, así obtener un producto lácteo que cumpla con las especificaciones técnicas mínimas.

**Tabla 20. Análisis fisicoquímico de leche fresca entera**

Características fisicoquímicas	Valores
pH	6,80
Densidad a 20 °C (g / ml)	1,030
% de Acidez, expresado en g de ácido láctico / 100 g de leche	0,17

Fuente. Elaboración propia

### 3.1.2. Determinación del análisis físico químico del lactosuero.

**Tabla 21: Análisis fisicoquímico del lactosuero.**

<b>Características fisicoquímicas</b>	<b>Valores</b>
Humedad %	90.52
Proteína %	0.95
Grasa %	0.91
Ceniza %	0.18
Carbohidratos %	7.44
pH	6.21
Acidez % (ácido láctico )	0.3

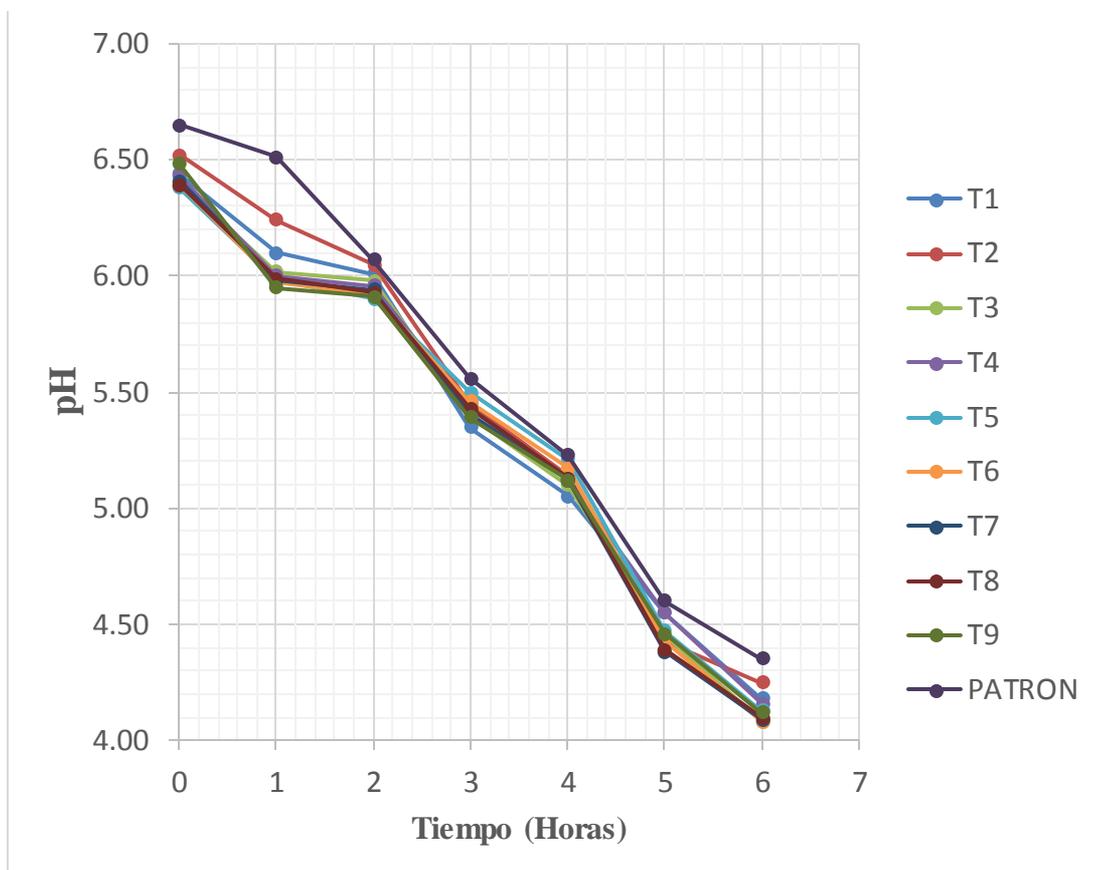
Fuente: Elaboración propia

Según la tabla 21, se muestra el análisis físico químico del lactosuero, en base húmeda, la composición físico química del lactosuero varía de acuerdo al proceso de obtención, generalmente los más conocidos son el lactosuero dulce, obtenido de la elaboración del queso fresco, y el lactosuero ácido que se obtiene de la elaboración de quesos maduros. El resultado de análisis fisicoquímico es de un lactosuero dulce, obtenido del primer desuerado del proceso de elaboración de queso fresco.

### 3.2. Resultados de la influencia del lactosuero y harina de quinua en las propiedades físico químicas del yogur sustituido.

En esta etapa de investigación, se estudió sobre el comportamiento de la fermentación láctica, porque la leche fresca ha sido sustituida parcialmente con nuevo producto, para ello; se evaluó la formación de ácido láctico y el comportamiento de pH en los diferentes tratamientos de yogurt sustituido, mediante sustitución parcial de leche y harina de quinua en función al tiempo. Esta evaluación se realizó en cada hora, durante la fermentación en el proceso de incubación a una temperatura de 43 – 45 °C, inoculado con 3 % de cultivo mixto de *S. thermophilus* y *L. bulgaricus* realizado la siembra con medio de cultivo previamente preparado.

**Figura 18: Comportamiento de pH en función al tiempo en los tratamientos y el patrón durante la fermentación.**



Fuente. Elaboración propia.

**Leyenda:**

**Tratamiento 1:** Muestra formulada con 40% de lactosuero y 2% de harina de quinua.

**Tratamiento 2:** Muestra formulada con 50% de lactosuero y 2% de harina de quinua.

**Tratamiento 3:** Muestra formulada con 60% de lactosuero y 2% de harina de quinua.

**Tratamiento 4:** Muestra formulada con 40% de lactosuero y 3% de harina de quinua.

**Tratamiento 5:** Muestra formulada con 50% de lactosuero y 3% de harina de quinua.

**Tratamiento 6:** Muestra formulada con 60% de lactosuero y 3% de harina de quinua.

**Tratamiento 7:** Muestra formulada con 40% de lactosuero y 4% de harina de quinua.

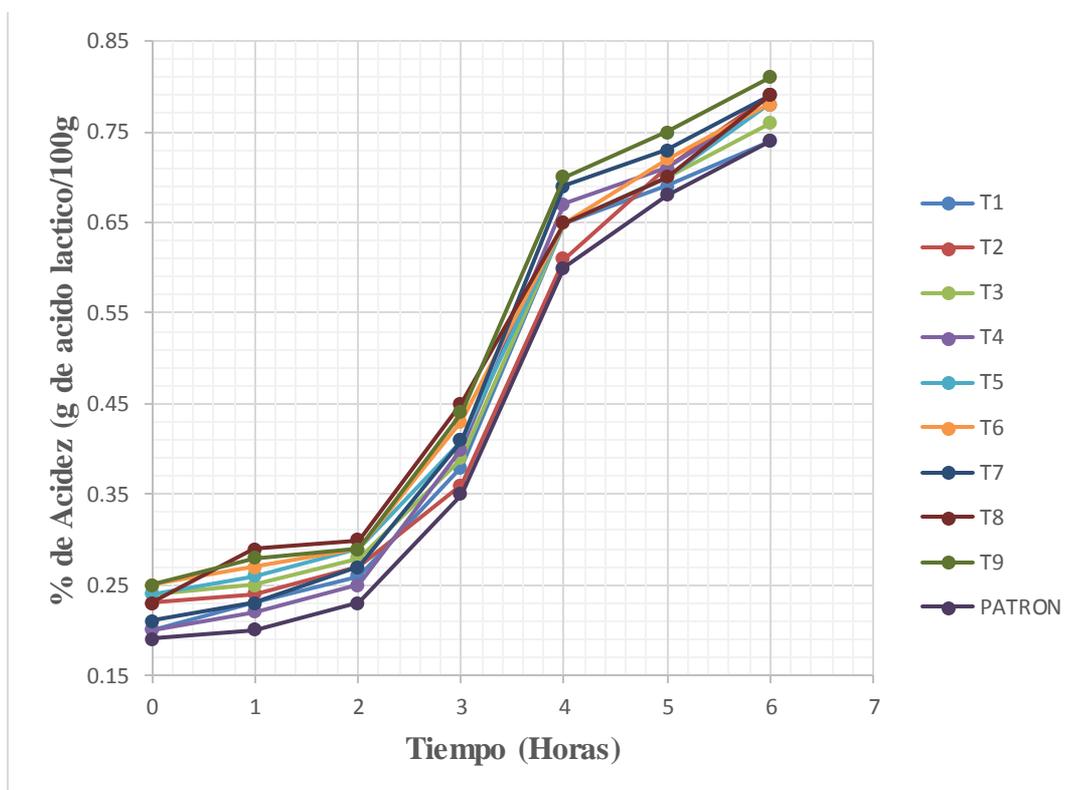
**Tratamiento 8:** Muestra formulada con 50% de lactosuero y 4% de harina de quinua.

**Tratamiento 9:** Muestra formulada con 60% de lactosuero y 4% de harina de quinua.

**Patrón:** Muestra 100% leche fresca entera.

Según la figura 18, se muestra el comportamiento del pH, en función al tiempo del yogur sustituido parcialmente, de los nueve tratamientos y el patrón, donde en 6 horas el pH, de los nueve tratamientos se asemeja al patrón, el rango que oscila en los tratamientos es de 4.08 a 4.25, y del patrón llega a 4.35, la evaluación se desarrolló cada una hora durante la fermentación con un potenciómetro digital.

**Figura 19. Producción de ácido láctico en función al tiempo en los tratamientos y el patrón, durante la fermentación.**



Fuente: Elaboración propia

En la figura 19 se muestra el comportamiento de la acidez de los nueve tratamientos respecto al patrón, en donde se observa que es variable la producción de ácido láctico por cada tratamiento por hora, la evaluación se realizó basado en una titulación con NaOH a 0.1 N. donde en 6 horas la producción de ácido láctico varía de 0.74 a 0.81 %, y del patrón llega a 0.74, esto debido al lactosuero y la harina de quinua.

### 3.2.1. Análisis de Varianza (ANOVA) para el diseño 3<sup>2</sup> de la influencia del lactosuero y harina de quinua en las propiedades físico químicas del yogur sustituido.

A continuación de se observara los Análisis de Varianza (ANOVA), para los propiedades físico químico (acidez, pH), del yogur sustituido con lactosuero y harina de quinua, de esta manera se prueba la hipótesis nula (H<sub>0</sub>) y la alterna (H<sub>a</sub>), el análisis se realizó con la aplicación del estadístico STATGRAPHICS Centurión XVI.I.

#### 3.2.1.1. Análisis de varianza para el porcentaje de ácido láctico.

**Tabla 22: Análisis de Varianza para ACIDEZ.**

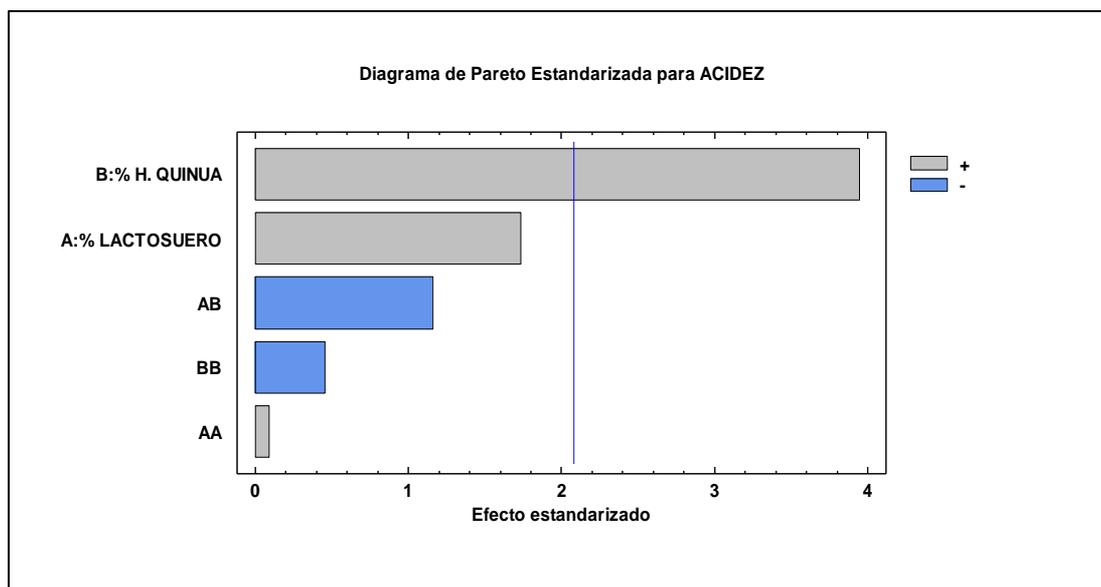
Fuente	Suma de Cuadrados	G L	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:% LACTOSUERO	0.0007	1	0.0007	3.01	0.0975
B:% H. QUINUA	0.0035	1	0.0035	15.54	0.0007
AA	0.0000	1	0.0000	0.01	0.9283
AB	0.0003	1	0.0003	1.34	0.2596
BB	0.0001	1	0.0001	0.21	0.6537
Error total	0.0047	21	0.0002		
Total (corr.)	0.0092	26			

Fuente: Elaboración propia

Nivel de significancia ( $\alpha = 0,05$ ).

**Interpretación:** El P-valor del % de harina de quinua es menor a 0.05, entonces existe una diferencia estadísticamente significativa, por lo tanto podemos decir que el porcentaje de harina de quinua si influye en la producción de ácido láctico, durante la fermentación de yogur sustituido, con un nivel del 95.0 % de confiabilidad. Se puede observar que el porcentaje de lactosuero y la interacción del porcentaje de lactosuero y harina de quinua fueron rechazados debido a que el P-valor no fue significativo.

**Figura 20: Diagrama de Pareto estandarizado para acidez.**



Fuente: Elaboración propia.

**Interpretación:** Según la figura 20, se observa el Diagrama de Pareto con desglose, donde el porcentaje de harina de quinua tiene mayor influencia en la producción de ácido láctico en comparación al porcentaje de lactosuero y de la interacción AB, BB, AA tienen poca influencia.

### 3.2.1.2. Análisis de varianza para el pH.

**Tabla 23: Análisis de varianza para el pH**

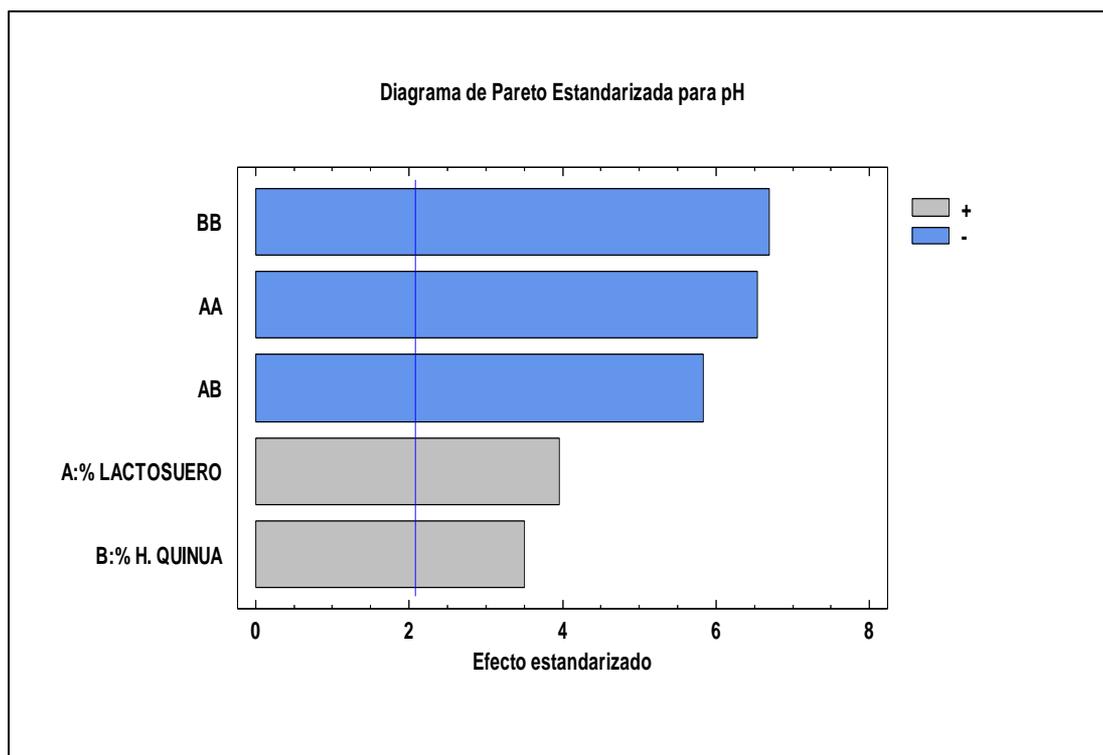
Fuente	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:% LACTOSUERO	0.0108	1	0.0108	15.65	0.0007
B:% H. QUINUA	0.0085	1	0.0085	12.29	0.0021
AA	0.0294	1	0.0294	42.77	0.0000
AB	0.0234	1	0.0234	34.05	0.0000
BB	0.0308	1	0.0308	44.83	0.0000
Error total	0.0144	21	0.0007		
Total (corr.)	0.1173	26			

Fuente: Elaboración propia

Nivel de significancia ( $\alpha = 0,05$ ).

**Interpretación:** Según la tabla 23 podemos observar estadísticamente significativo los efectos del porcentaje de lactosuero, harina de quinua y las interacciones AA, AB y BB ( $p < 0.05$ ), por lo tanto los factores A y B influyen significativamente en el pH del yogur sustituido.

**Figura 21: Diagrama de Pareto estandarizado para pH.**



Fuente: Elaboración propia.

En la figura 21, se observa que las interacciones, BB, AA y AB tienen mayor influencia, por lo tanto la interacción del porcentaje de lactosuero y harina de quinua, tiene mayor influencia en el pH del yogur sustituido, así también se observa que el porcentaje de lactosuero tiene mayor influencia que el porcentaje de harina de quinua pero no mayor que la interacción de ambos efectos.

### **3.3. Resultado de la influencia de las propiedades organolépticas de yogur sustituido con lactosuero y harina de quinua.**

Los resultados del análisis sensorial, con respecto al grado de aceptación, del yogur sustituido con lactosuero derivado de la fabricación de queso fresco y harina de

quinua, con cultivos exclusivamente las siguientes especies bacterianas termófilas: *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus* y se presentan en los siguientes cuadros:

Para la optimización de los (% de lactosuero y % harina de quinua) y para poder encontrar un modelo matemático adecuado, se utilizaron software estadístico, Excel y el Minitab 16, con el Excel se encontraron los modelos matemáticos óptimos haciendo la regresión lineal de los tratamientos con los valores promedios obtenidos por los panelistas y con el Minitab 16 se determina la área óptima mediante la gráfica de contorno y los puntos elevados de los atributos mediante la gráfica de superficie; la calidad de ajuste de los modelos de cada atributo, se evaluó a través del error medio absoluto (mea) y el coeficiente de determinación ( $R^2$ ).

### **3.3.1. Resultado del promedio aritmético para cada atributo por tratamiento.**

Estos resultados se obtuvieron después de realizar el análisis sensorial por panelistas, siendo los valores promedios para cada tratamiento, con estos valores promedios se encontraron los modelos matemáticos más adecuados para los atributos de apariencia, sabor, consistencia, color y olor, porque de estos atributos depende la aceptabilidad del yogur sustituido con lactosuero y harina de quinua, y en base a estos resultados se encontró un modelo matemático para su optimización del porcentaje de lactosuero y harina de quinua, para el análisis de estos datos se utilizó los programas estadísticos como Minitab 16, Excel 2013, STATGRAPHICS Centurion XVI.

Según la tabla 24 se observa los promedios aritméticos para cada atributo (Apariencia, Sabor, Consistencia, Color y Olor, en donde se puede observar el tratamiento de mayor aceptabilidad, sin embargo para determinar el mejor tratamiento se utilizó los datos y determino estadísticamente donde se detalla más adelante.

**Tabla 24: Resultados de los promedios aritméticos para para cada atributo.**

Tratamientos	% Lactosuero	% Harina de quinua	Apariencia	Sabor	Consistencia	Color	Olor
1	40	2	3.57	3.71	3.21	3.57	3.86
2	50	2	4.07	4.14	4.14	4.29	4.07
3	60	2	3.21	3.36	2.86	3.43	3.21
4	40	3	3.14	2.93	2.86	3.07	3.29
5	50	3	3.86	3.50	3.64	3.93	3.57
6	60	3	3.07	3.07	2.86	3.29	3.29
7	40	4	3.21	3.71	3.43	3.71	3.71
8	50	4	2.64	2.86	2.86	3.21	2.86
9	60	4	2.79	3.14	3.07	3.07	3.21

Fuente: Elaboración propia.

En la tabla 24 se muestra los resultados del promedio aritmético de la calificación de la evaluación sensorial por cada tratamiento, donde estos resultados sirvieron para determinar modelos matemáticos, graficas de contorno y el ANOVA de cada atributo.

**3.3.2. Resultado de la determinación de los modelos matemáticos para cada atributo.**

**Tabla 25: Determinación de modelos matemáticos para atributo de apariencia.**

N°	MODELO MATEMATICO	MEA	R <sup>2</sup>
1	$5.117 - 0.014*\%L - 0.369*\%H.Q$	0.79	0.53
2	$4.839 - 0.009*\%L - 0.280*\%H.Q - 0.002*\%L*\%H.Q$	0.78	0.53
3	$(-4.744) + 0.348*\%L + 0.363*\%H.Q - 0.002*\%L*\%H.Q - 0.004*\%L*\%L - 0.107*\%H.Q*\%H.Q$	0.57	0.69
4	$(-35.851) + 1.768*\%L + 8.143*\%H.Q - 0.423*\%L*\%H.Q - 0.019*\%L*\%L + 0.696*\%H.Q*\%H.Q - 0.016*\%H.Q*\%H.Q*\%L + 0.005*\%L*\%L*\%H.Q$	0.17	0.91

Fuente: Elaboración propia.

Donde.

**%L:** Porcentaje de lactosuero.

**%H.Q:** Porcentaje de harina de quinua.

**M.E.A:** Error medio absoluto.

**R<sup>2</sup>:** Coeficiente de determinación

Para el atributo de apariencia se determinaron 4 modelos matemáticos mediante una regresión lineal, atributo apariencia en función de los % de lactosuero y % de harina de quinua, por lo cual de estos 4 modelos matemáticos se escogió el modelo más adecuado tomando en cuenta que este modelo tenga **MEA** (error medio absoluto) menor y/o lo más cercano a cero y **R<sup>2</sup>** (coeficiente de determinación) mayor cercano a 1, por lo tanto según la tabla 26 el modelo matemático adecuado es el 4, porque este modelo tiene de **MEA 0,17** (error medio absoluto) es muy significativo de los tres modelos matemáticos iniciales, esto indica que la diferencia que existe del modelo experimental y el modelo

teórico para este caso la diferencia es mínima cercano a cero, por lo tanto este modelo experimental es casi igual al modelo teórico,

El modelo matemático 4 tiene **0,91** de **R<sup>2</sup>** (coeficiente de determinación), donde indica que en un **91.0 %** de los datos analizados de la apariencia tienen una correlación en este modelo matemático.

**Tabla 26: Determinación de modelos matemáticos para atributo de sabor.**

N°	MODELO MATEMATICO	MEA	R <sup>2</sup>
1	$4.786 - 0.013\%L - 0.250\%H.Q$	0.93	0.32
2	$3.982 + 0.003\%L + 0.018\%H.Q - 0.005\%L\%H.Q$	0.92	0.34
3	$2.315 + 0.182\%L - 1.911\%H.Q - 0.005\%L\%H.Q - 0.002\%L\%L + 0.321\%H.Q\%H.Q$	0.68	0.52
4	$(-28.054) + 1.696\%L + 3.321\%H.Q - 0.412\%L\%H.Q - 0.019\%L\%L + 1.839\%H.Q\%H.Q - 0.030\%H.Q\%H.Q\%L + 0.006\%L\%L\%H.Q$	0.00	0.93

Fuente: Elaboración propia.

Para el atributo de sabor se determinaron 4 modelos matemáticos mediante una regresión lineal, atributo sabor en función de los % de lactosuero y % de harina de quinua, por lo cual de estos 4 modelos matemáticos se escogió el modelo más adecuado tomando en cuenta que este modelo tenga **MEA** (error medio absoluto) menor y/o lo más cercano a cero y **R<sup>2</sup>** (coeficiente de determinación) mayor cercano a 1, por lo tanto según la tabla 27 el modelo matemático adecuado es el 4, porque este modelo tiene de **MEA 0,00** (error medio absoluto) es muy significativo de los tres modelos matemáticos iniciales, esto indica que la diferencia que existe del modelo experimental y el modelo teórico para este caso es cero, por lo tanto este modelo experimental es igual al modelo teórico,

El modelo matemático 4 tiene **0,93** de **R<sup>2</sup>** (coeficiente de determinación), donde indica que en un **93.0 %** de los datos analizados del sabor tienen una correlación en este modelo matemático.

**Tabla 27: Determinación de modelos matemáticos para atributo de consistencia.**

N°	MODELO MATEMATICO	MEA	R <sup>2</sup>
1	$4.238 - 0.012*\%L - 0.143*\%H.Q$	1.38	0.13
2	$4.238 - 0.012*\%L - 0.143*\%H.Q + 0.000*\%L*\%H.Q$	1.38	0.13
3	$(-6.738) + 0.488*\%L - 1.000*\%H.Q + 0.000*\%L*\%H.Q - 0.005*\%L*\%L + 0.143*\%H.Q*\%H.Q$	0.88	0.46
4	$(-54.048) + 2.589*\%L + 11.893*\%H.Q - 0.643*\%L*\%H.Q - 0.027*\%L*\%L + 1.036*\%H.Q*\%H.Q - 0.018*\%H.Q*\%H.Q*\%L + 0.007*\%L*\%L*\%H.Q$	0.11	0.95

Fuente: Elaboración propia.

Para el atributo de consistencia se determinaron 4 modelos matemáticos mediante una regresión lineal, atributo consistencia en función de los % de lactosuero y % de harina de quinua, por lo cual de estos 4 modelos matemáticos se escogió el modelo más adecuado tomando en cuenta que este modelo tenga **MEA** (error medio absoluto) menor y/o lo más cercano a cero y **R<sup>2</sup>** (coeficiente de determinación) mayor cercano a 1, por lo tanto según la tabla 28 el modelo matemático adecuado es el 4, porque este modelo tiene de **MEA 0,11** (error medio absoluto) es muy significativo de los tres modelos matemáticos iniciales, esto indica que la diferencia que existe del modelo experimental y

el modelo teórico para este caso la diferencia es mínima cercano a cero, por lo tanto este modelo experimental es casi igual al modelo teórico,

El modelo matemático 4 tiene **0,95** de **R<sup>2</sup>** (coeficiente de determinación), donde indica que en un **95.0 %** de los datos analizados de consistencia tienen una correlación en este modelo matemático.

**Tabla 28: Determinación de modelos matemáticos para atributo de color.**

N°	MODELO MATEMATICO	MEA	R <sup>2</sup>
1	$4.627 - 0.010*\%L - 0.214*\%H.Q$	0.87	0.24
2	$2.752 + 0.028*\%L + 0.411*\%H.Q - 0.013*\%L*\%H.Q$	0.81	0.29
3	$(-7.264) + 0.480*\%L - 0.304*\%H.Q - 0.013*\%L*\%H.Q - 0.005*\%L*\%L + 0.119*\%H.Q*\%H.Q$	0.45	0.61
4	$(-29.812) + 1.674*\%L + 2.321*\%H.Q - 0.312*\%L*\%H.Q - 0.019*\%L*\%L + 1.637*\%H.Q*\%H.Q - 0.030*\%H.Q*\%H.Q*\%L + 0.005*\%L*\%L*\%H.Q$	0.09	0.93

Fuente: Elaboración propia.

Para el atributo de color se determinaron 4 modelos matemáticos mediante una regresión lineal, atributo color en función de los % de lactosuero y % de harina de quinua, por lo cual de estos 4 modelos matemáticos se escogió el modelo más adecuado tomando en cuenta que este modelo tenga **MEA** (error medio absoluto) menor y/o lo más cercano a cero y **R<sup>2</sup>** (coeficiente de determinación) mayor cercano a 1, por lo tanto según la tabla 29 el modelo matemático adecuado es el 4, porque este modelo tiene de **MEA 0,09** (error medio absoluto) es muy significativo de los tres modelos matemáticos iniciales, esto indica que la diferencia que existe del modelo experimental y el modelo teórico para

este caso la diferencia es mínima cercano a cero, por lo tanto este modelo experimental es casi igual al modelo teórico,

El modelo matemático 4 tiene **0,93** de **R<sup>2</sup>** (coeficiente de determinación), donde indica que en un **93.0 %** de los datos analizados de color tienen una correlación en este modelo matemático.

**Tabla 29: Determinación de modelos matemáticos para atributo de olor.**

N°	MODELO MATEMATICO	MEA	R <sup>2</sup>
1	$5.083 - 0.019*\%L - 0.226*\%H.Q$	0.59	0.46
2	$5.619 - 0.030*\%L - 0.405*\%H.Q - 0.004*\%L*\%H.Q$	0.59	0.46
3	$4.774 + 0.042*\%L - 1.048*\%H.Q + 0.004*\%L*\%H.Q - 0.001*\%L*\%L + 0.107*\%H.Q*\%H.Q$ $(-25.036) + 1.518*\%L + 4.286*\%H.Q - 0.396*\%L*\%H.Q -$	0.57	0.49
4	$0.018*\%L*\%L + 1.536*\%H.Q*\%H.Q - 0.029*\%H.Q*\%H.Q*\%L + 0.006*\%L*\%L*\%H.Q$	0.05	0.96

Fuente: Elaboración propia.

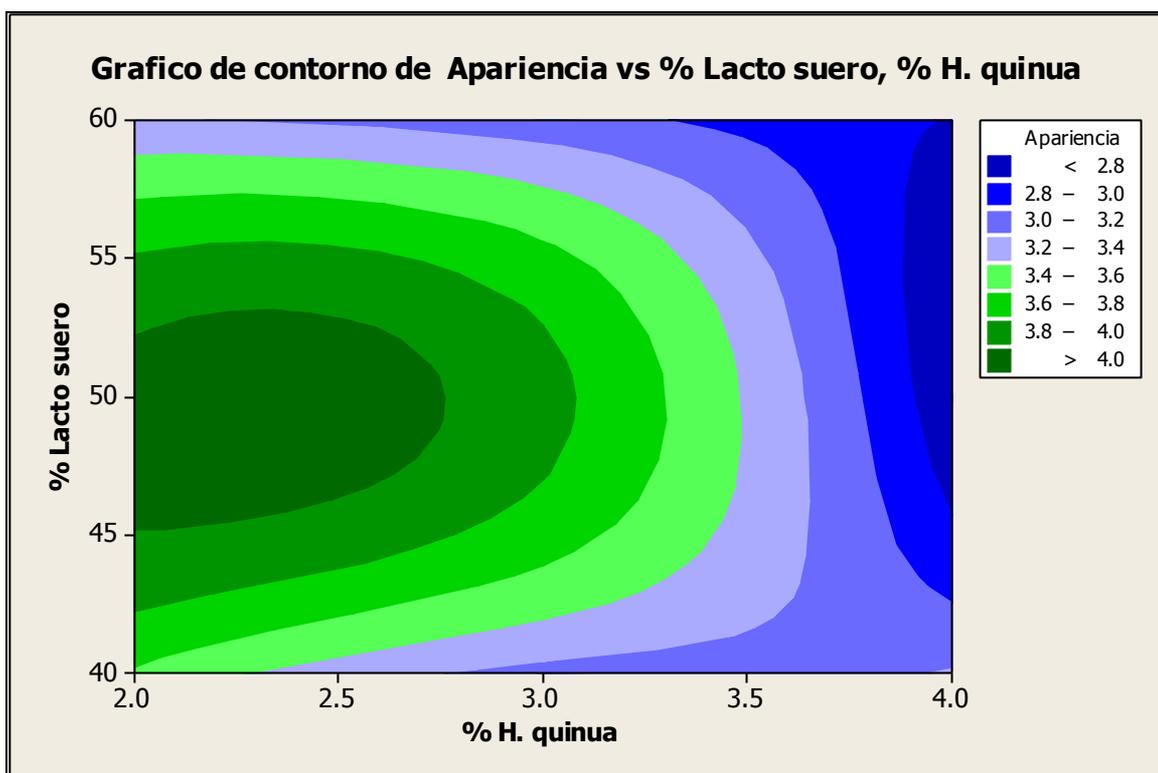
Para el atributo de olor se determinaron 4 modelos matemáticos mediante una regresión lineal, atributo olor en función de los % de lactosuero y % de harina de quinua, por lo cual de estos 4 modelos matemáticos se escogió el modelo más adecuado tomando en cuenta que este modelo tenga **MEA** (error medio absoluto) menor y/o lo más cercano a cero y **R<sup>2</sup>** (coeficiente de determinación) mayor cercano a 1, por lo tanto según la tabla 29 el modelo matemático adecuado es el 4 , porque este modelo tiene de **MEA 0,05** (error medio absoluto) es muy significativo de los tres modelos matemáticos iniciales, esto indica que la diferencia que existe del modelo experimental y el modelo teórico para este caso la diferencia es mínima cercano a cero, por lo tanto este modelo experimental es casi igual al modelo teórico,

El modelo matemático 4 tiene **0,96** de **R<sup>2</sup>** (coeficiente de determinación), donde indica que en un **96.0 %** de los datos analizados de olor tienen una correlación en este modelo matemático.

### 3.3.3. Resultados de la determinación de la gráfica de contorno para cada atributo

Haciendo uso del software Minitab 16 se determinaron graficas de contorno para cada atributo así obteniendo un área óptima de la interacción del porcentaje de lactosuero y harina de quinua en función a cada atributo, de esta grafica se sacaron las restricciones para aplicar en el modelo matemático adecuado obtenido de la regresión lineal y luego se optimizo el % de lactosuero y % harina de quinua que se va adicionar para la elaboración del yogur sustituido.

**Figura 22. Grafica de contorno de apariencia**

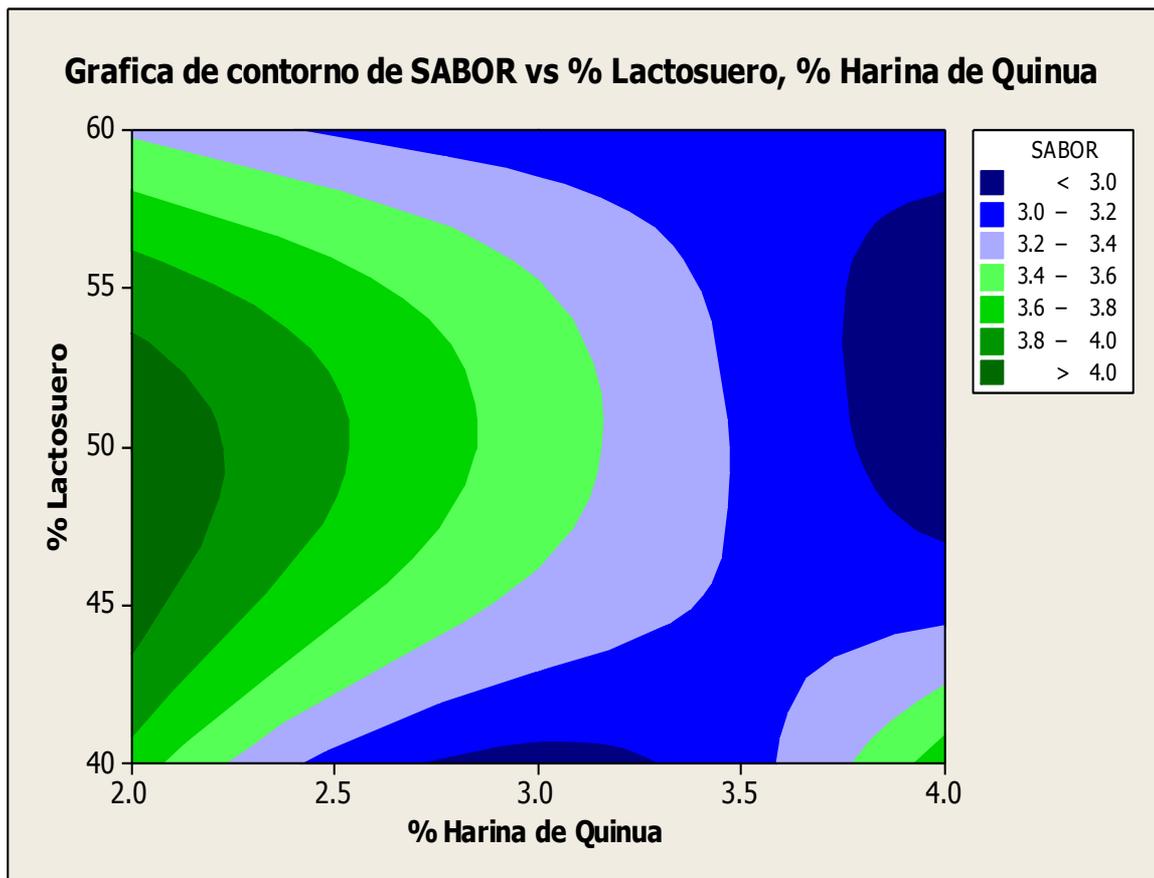


Fuente: elaboración propia.

En este caso el área óptima en la gráfica de contorno de apariencia en función del % de lactosuero y % de harina de quinua son lo siguiente: donde el % de lactosuero tiene

que ser mayor o igual a 42.5% pero menor o igual a 55% y el % de harina de quinua mayor o igual a 2% pero menor o igual a 3%, solo así obtendremos un calificativo de mayor o igual a 3.8 pero menor o igual a 5, por lo tanto se indica que en cualquier punto dentro de estos límites es adecuado para la elaboración de un yogur sustituido.

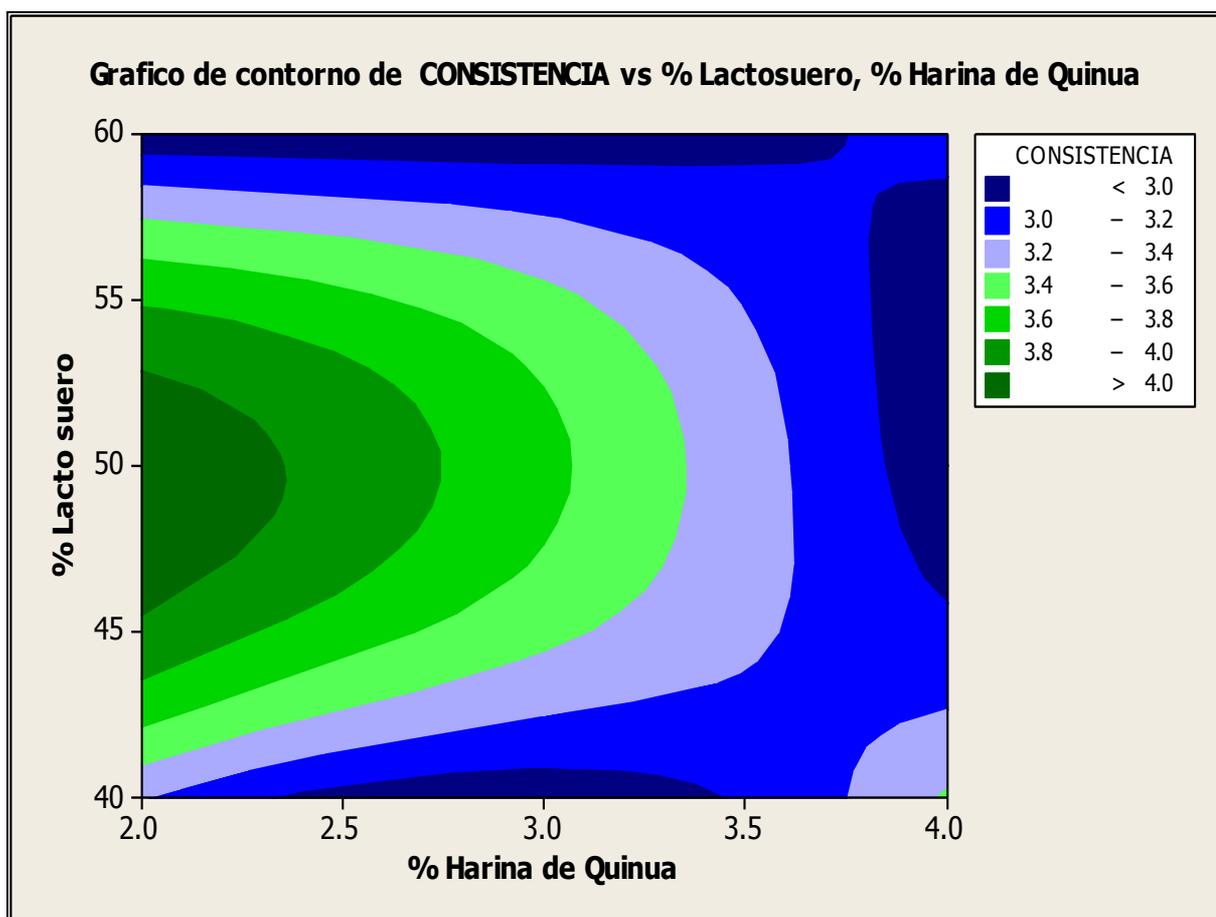
**Figura 23. Grafica de contorno de Sabor.**



Fuente: Elaboración propia.

En este caso el área optima en la gráfica de contorno de sabor en función del % de lactosuero y % de harina de quinua son lo siguiente: donde el % de lactosuero tiene que ser mayor o igual a 41% pero menor o igual a 55% y el % harina de quinua mayor o igual a 2% pero menor o igual a 2.5%, solo así obtendremos un calificativo de mayor o igual a 3.8 pero menor o igual a 5, por lo tanto se indica que en cualquier punto dentro de estos límites es adecuado para la sustitución de los mencionados productos en la elaboración de un yogur sustituido.

Figura 24. Grafica de contorno de consistencia.



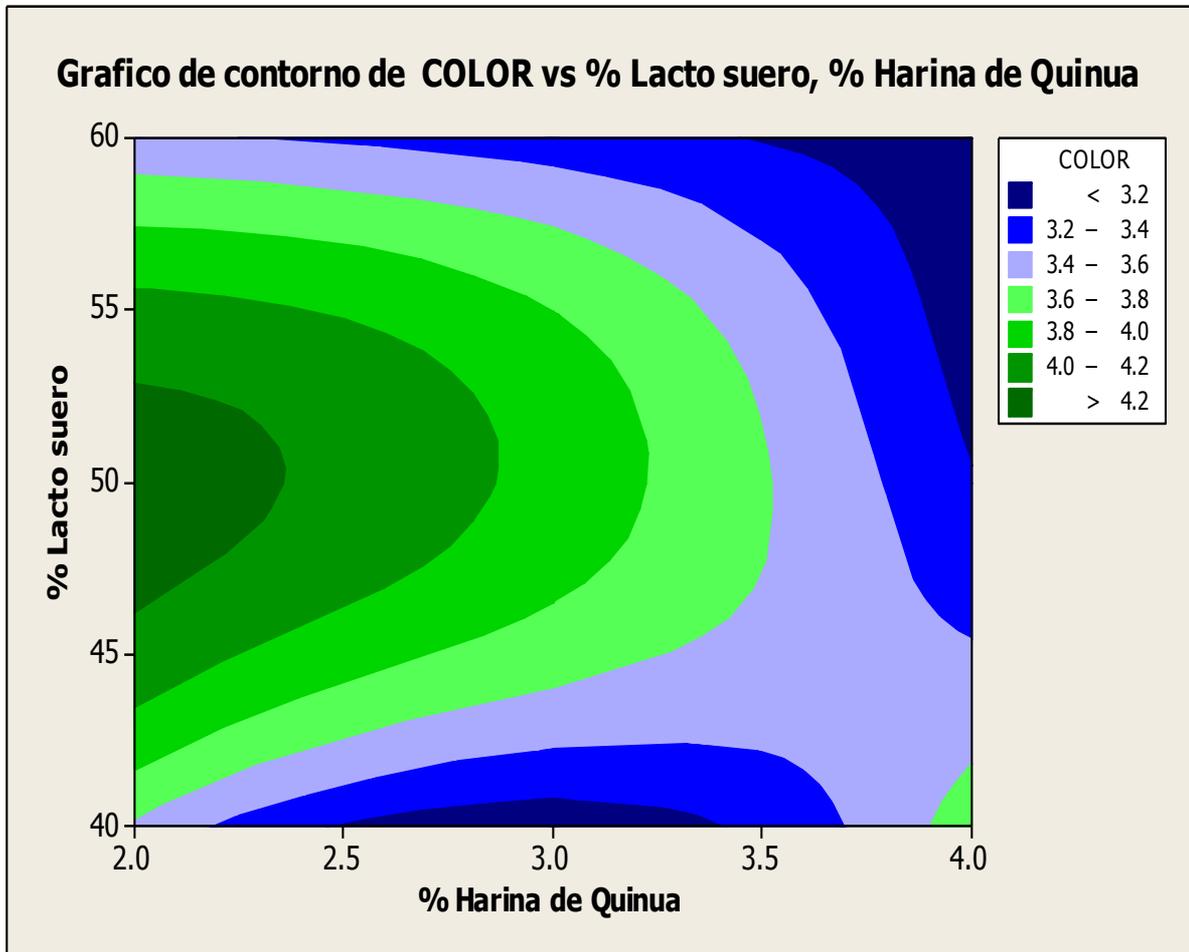
Fuente: Elaboración propia

En este caso el área óptima en la gráfica de contorno de consistencia en función del % de lactosuero y % de harina de quinua son lo siguiente: donde el % de lactosuero tiene que ser mayor o igual a 43.5% pero menor o igual a 55% y el % harina de quinua mayor o igual a 2% pero menor o igual a 2.8%, solo así obtendremos un calificativo de mayor o igual a 3.8 pero menor o igual a 5, por lo tanto se indica que en cualquier punto dentro de estos límites es adecuado para la elaboración de un yogur sustituido.

En la figura 25 el área óptima en la gráfica de contorno de color en función del % de lactosuero y % de harina de quinua son lo siguiente: donde el % de lactosuero tiene que ser mayor o igual a 43% pero menor o igual a 55% y el % harina de quinua mayor o igual a 2% pero menor o igual a 2.8%, solo así obtendremos un calificativo de mayor o igual a

4 pero menor o igual a 5, por lo tanto se indica que en cualquier punto dentro de estos límites es adecuado para la elaboración de un yogur sustituido.

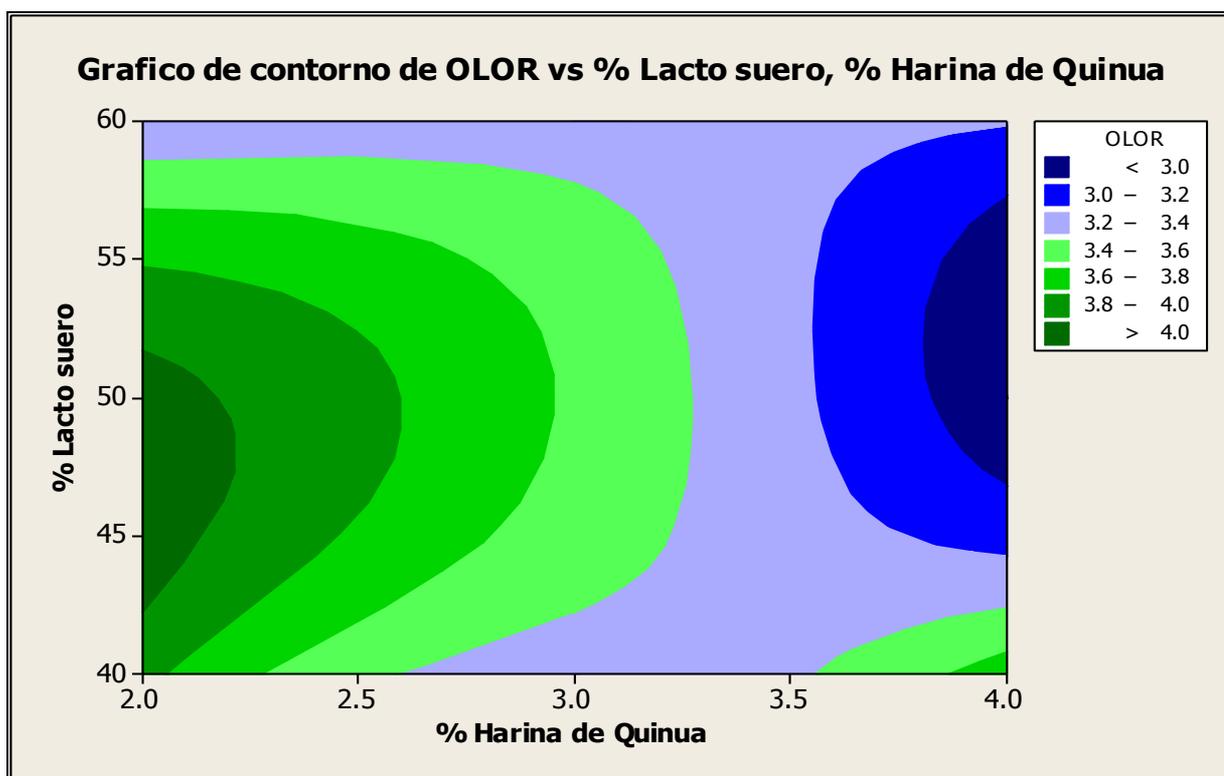
**Figura 25. Grafica de contorno de Color.**



Fuente: Elaboración propia

En la figura 26, el área optima en la gráfica de contorno de olor en función del % de lactosuero y % de harina de quinua son lo siguiente: donde el % de lactosuero tiene que ser mayor o igual a 40% pero menor o igual a 55% y el % harina de quinua mayor o igual a 2% pero menor o igual a 2.6%, solo así obtendremos un calificativo de mayor o igual a 4 pero menor o igual a 5, por lo tanto se indica que en cualquier punto dentro de estos límites es adecuado sustituir el porcentaje de los mencionados para la elaboración de un yogur sustituido óptimo.

Figura 26. Grafica de contorno de Olor.



Fuente: Elaboración propia.

### 3.3.4. Resultados de la optimización por cada atributo de cada uno de los modelos matemáticos.

Finalmente se encontró modelos matemáticos y se optimizo el porcentaje de lactosuero y harina de quinua para cada atributo teniendo en cuenta los atributos (apariencia, sabor, consistencia, color y olor).

Tabla 30: Optimización de apariencia.

**Leyenda:**

%L: Porcentaje de lactosuero  
% H.Q: Porcentaje de harina de quinua

APARIENCIA	%L	% H.Q.
4.2	49.0	2.0

Fuente. Elaboración propia.

Según la tabla 30 la optimización para el atributo de apariencia en la elaboración del yogur sustituido parcialmente es 49.0% de lactosuero y 2.0% de harina de quinua, así obteniendo la aceptación por encima de 4 (me gusta o me gusta mucho).

**Tabla 31: Optimización de sabor.**

<b>SABOR</b>	<b>%L</b>	<b>%H.Q.</b>
4.3	48.8	2.0

Fuente: Elaboración propia.

Según la tabla 31 la optimización para el atributo de sabor en la elaboración del yogur sustituido parcialmente es 48.8% de lactosuero y 2.0% de harina de quinua, así obteniendo la aceptación por encima de 4 (me gusta).

**Tabla 32: Optimización de consistencia.**

<b>CONSISTENCIA</b>	<b>% L</b>	<b>% H.Q</b>
4.24	49.29	2.00

Fuente: Elaboración propia.

Según la tabla 32 la optimización para el atributo de consistencia en la elaboración del yogur sustituido parcialmente es 49.29% de lactosuero y 2.0% de harina de quinua, así obteniendo la aceptación por encima de 4 (me gusta).

**Tabla 33: Optimización de color**

<b>COLOR</b>	<b>%L</b>	<b>%H.Q</b>
4.4	49.6	2.0

Fuente: Elaboración propia.

Según la tabla 33 la optimización para el atributo de color en la elaboración del yogur sustituido parcialmente es 49.6% de lactosuero y 2.0% de harina de quinua, así obteniendo la aceptación por encima de 4 (me gusta).

**Tabla 34: Optimización de olor**

<b>OLOR</b>	<b>%L</b>	<b>%H.Q</b>
4.2	47.5	2.0

Fuente: Elaboración propia.

Según la tabla 34 la optimización para el atributo de olor en la elaboración del yogur sustituido parcialmente es 47.5 % de lactosuero y 2.0% de harina de quinua, así obteniendo la aceptación por encima de 4 (me gusta).

### 3.3.4.1. Optimización general del yogur

Aplicando las restricciones obtenidas del grafica de contorno y de las optimizaciones de los atributos de apariencia y sabor consistencia, color y olor, en la ecuación general de optimización encontramos la siguiente formulación óptima, que para la elaboración de un yogur sustituido parcialmente se debe utilizar el 48.8% de lactosuero y 2.0 % de harina de quinua. La ecuación general es:

***Yogurt sustituido con lactosuero y harina de quinua =***

$$(-28.054) + 1.696 * \%L + 3.321 * \%H.Q - 0.412 * \%L * \%H.Q - 0.019 * \%L * \%L + 1.839 * \%H.Q * \%H.Q - 0.030 * \%H.Q * \%H.Q * \%L + 0.006 * \%L * \%L * \%H.Q$$

### 3.3.5. Resultado del análisis de varianza del análisis sensorial.

Para este caso se determinó los análisis de varianza, para cada atributo del análisis sensorial, en donde se evaluara los efectos significativos de cada factor.

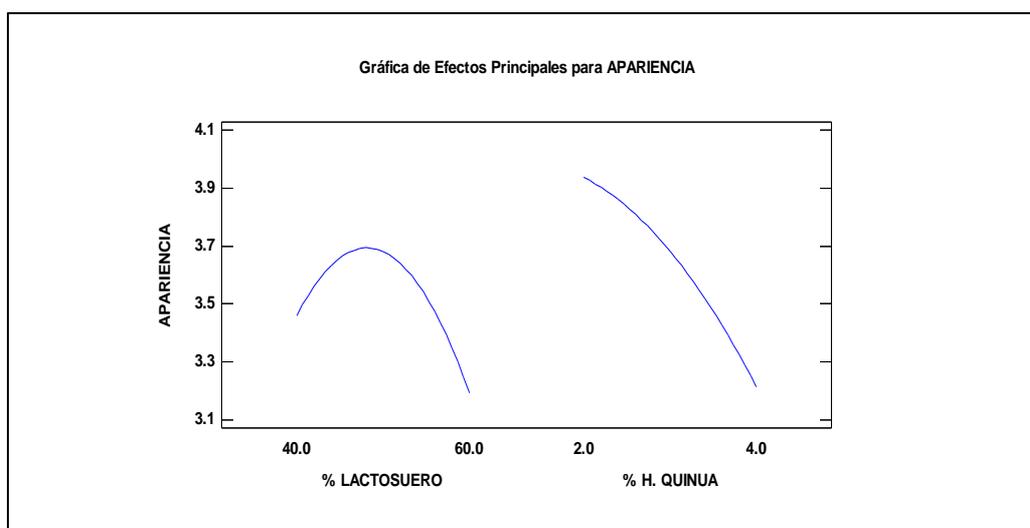
**Tabla 35: Análisis de varianza para apariencia.**

Fuente	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A:% LACTOSUERO	1.0785	2	0.5393	46.97	0.0000
B:% H. QUINUA	2.4140	2	1.2070	105.13	0.0000
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	1.5126	4	0.3782	32.94	0.0000
RESIDUOS	0.2067	18	0.0115		
TOTAL (CORREGIDO)	5.2119	26			

Fuente: Elaboración propia.

**Interpretación:** Según la tabla 35 el análisis de varianza podemos observar los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que 3 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre APARIENCIA con un 95.0% de nivel de confianza, por lo tanto el porcentaje de lactosuero y harina de quinua y la interacción influye en la apariencia del yogur sustituido.

**Figura 27: Efectos principales para apariencia.**



Fuente: Elaboración propia.

En la figura 27, se observa los efectos principales para apariencia donde la combinación 48% de lactosuero y 2% de harina de quinua se obtiene mejor apariencia en el yogur sustituido parcialmente.

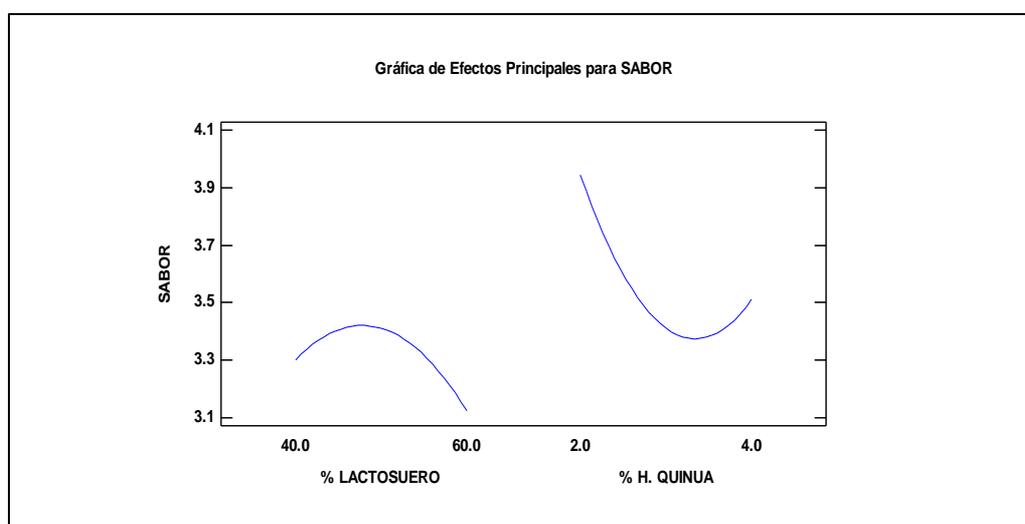
**Tabla 36: Análisis de varianza para sabor.**

Fuente	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A:% LACTOSUERO	0.3822	2	0.1911	12.90	0.0003
B:% H. QUINUA	1.4467	2	0.7233	48.83	0.0000
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	1.6911	4	0.4228	28.54	0.0000
RESIDUOS	0.2667	18	0.0148		
TOTAL (CORREGIDO)	3.7867	26			

Fuente: Elaboración propia

**Interpretación:** Según la tabla 36 el análisis de varianza podemos observar los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores, puesto que 3 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre SABOR con un 95.0% de nivel de confianza, por lo tanto los porcentajes de lactosuero y harina de quinua influyen significativamente en el sabor del yogur sustituido parcialmente.

**Figura 28. Efectos principales para sabor.**



Fuente: Elaboración propia.

En la figura 28, se observa los efectos principales para sabor donde la combinación de 49% de lactosuero y 2% de harina de quinua se obtiene mejor apariencia en el yogur.

**Tabla 37: Análisis de varianza para consistencia.**

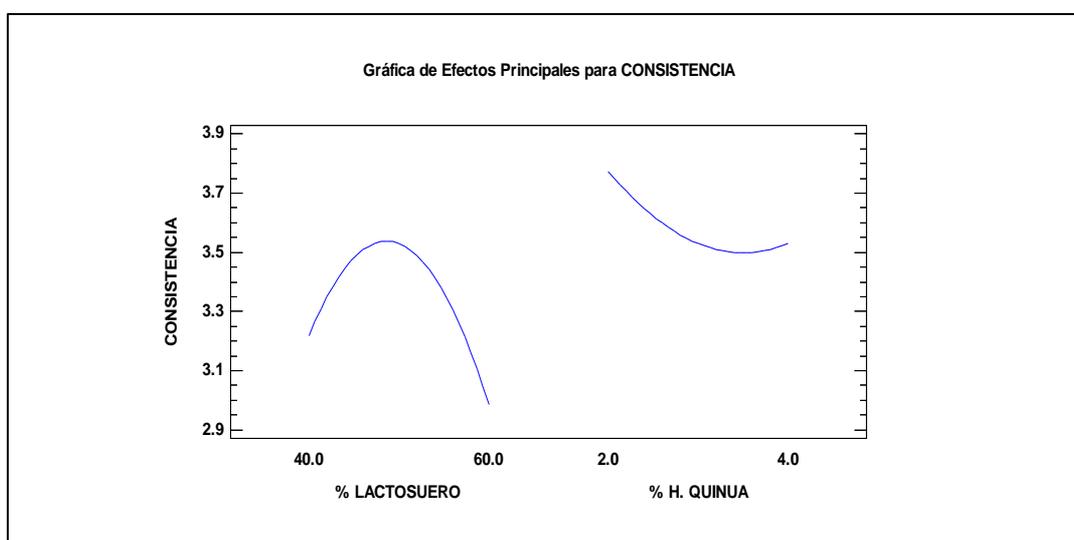
Fuente	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A:% LACTOSUERO	1.3430	2	0.6715	58.48	0.0000
B:% H. QUINUA	0.3585	2	0.1793	15.61	0.0001
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	1.9037	4	0.4759	41.45	0.0000
RESIDUOS	0.2067	18	0.0115		
TOTAL (CORREGIDO)	3.8119	26			

Fuente: Elaboración propia.

**Interpretación:** Según la tabla 36 el análisis de varianza podemos observar los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores, puesto que 3 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre CONSISTENCIA con un 95.0% de nivel de confianza, por lo tanto los porcentajes de lactosuero y harina de quinua influyen significativamente en la consistencia del yogur sustituido parcialmente.

En la figura 29, se observa los efectos principales para consistencia donde la combinación de 48% de lactosuero y 2% de harina de quinua se obtiene mejor consistencia en el yogur sustituido parcialmente. Además se puede observar a menor porcentaje de harina de quinua y aun porcentaje intermedio de lactosuero es mejor la consistencia.

**Figura 29. Efectos principales para consistencia.**



Fuente: Elaboración propia.

**Interpretación:** Según la tabla 38 el análisis de varianza podemos observar que los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores, puesto que 3 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre COLOR con un 95.0% de nivel de confianza, por lo tanto los

porcentajes de lactosuero y harina de quinua influyen significativamente en el color y olor del yogur sustituido parcialmente.

**Tabla 38: Análisis de varianza para color.**

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A:% LACTOSUERO	1.4985	2	0.7493	74.93	0.0000
B:% H. QUINUA	1.0541	2	0.5270	52.70	0.0000
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	1.4415	4	0.3604	36.04	0.0000
RESIDUOS	0.1800	18	0.0100		
TOTAL (CORREGIDO)	4.1741	26			

Fuente: Elaboración propia.

**Interpretación:** Según la tabla 39 el análisis de varianza podemos observar que los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores, puesto que 3 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre OLOR con un 95.0% de nivel de confianza, por lo tanto los porcentajes de lactosuero y harina de quinua influyen significativamente en el color y olor del yogur sustituido parcialmente.

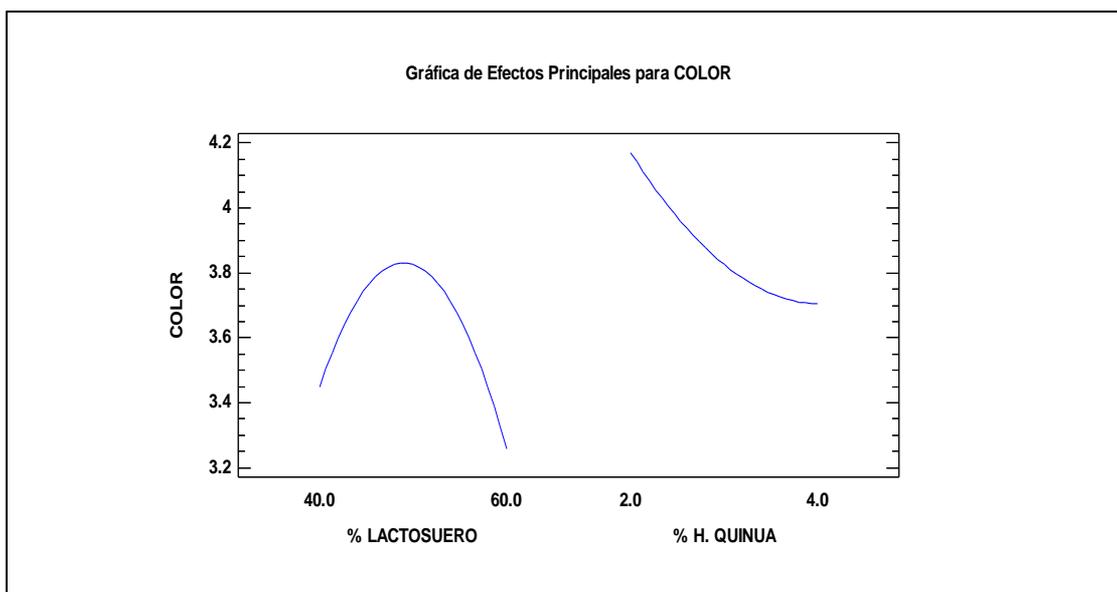
**Tabla 39: Análisis de varianza para olor.**

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A:% LACTOSUERO	0.6896	2	0.3448	35.81	0.0000
B:% H. QUINUA	1.0319	2	0.5159	53.58	0.0000
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	1.5859	4	0.3965	41.17	0.0000
RESIDUOS	0.1733	18	0.0096		
TOTAL (CORREGIDO)	3.4807	26			

Fuente: Elaboración propia.

En la figura 30, se observa los efectos principales para color donde la combinación de 49.9 % de lactosuero y 2% de harina de quinua se obtiene mejor color en el yogur sustituido parcialmente.

**Figura 30. Efectos principales para color.**



Fuente: Elaboración propia.

### 3.4. Resultado de la evaluación y caracterización del yogur óptimo.

En esta etapa de la investigación se realizó una caracterización fisicoquímica del yogur óptimo sustituido parcialmente, Además se evaluó de pH y acidez en función al tiempo, durante la fermentación en el proceso de incubación a una temperatura de 43 -45 °C, inoculado con 3 % de cultivo mixto de bacterias lácticas *S. thermophilus* y *L. bulgaricus*, realizado por siembra directa.

#### 3.4.1. Resultado del análisis físico químico del yogur óptimo.

En la tabla 40 de se muestra el resultado del análisis fisicoquímico de yogur optimo sustituido parcialmente, donde se determinó el porcentaje de humedad, proteína, grasa, ceniza, fibra y carbohidratos, se observa que el contenido de proteína es de 6.20%, superior a la yogur natural y al de la leche fresca.

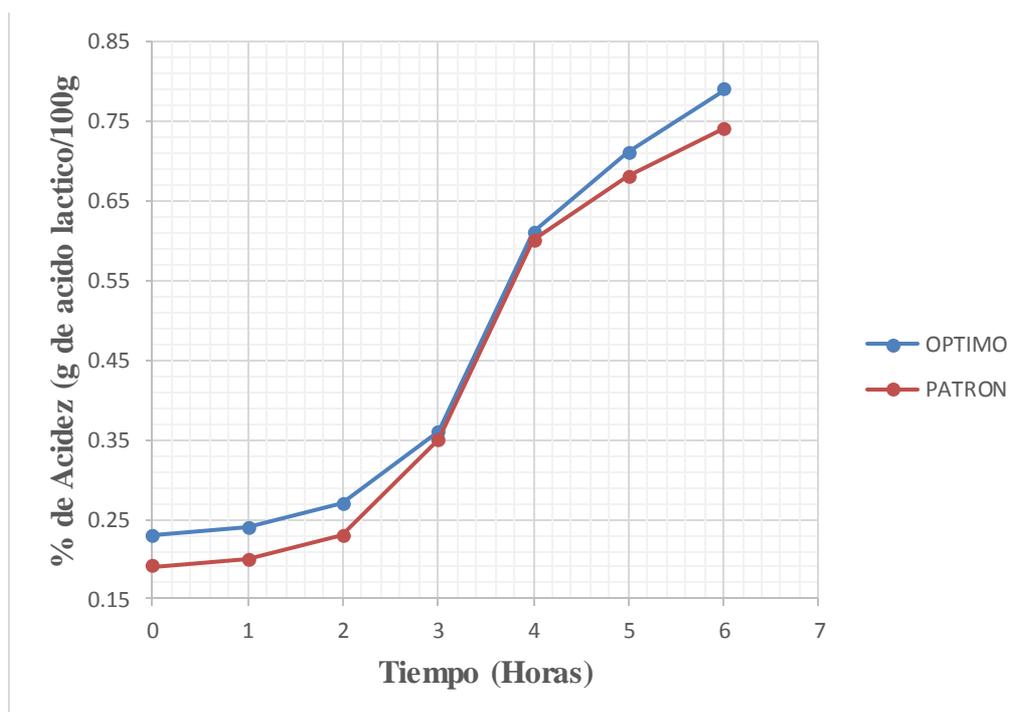
**Tabla 40: Resultado del análisis físico químico del yogur con la sustitución parcial del 48.8% de lactosuero y 2% de harina de quinua.**

Característica	Porcentaje %
Humedad	80.90
Proteína	6.20
Grasa	2.70
Ceniza	1.22
Fibra	0.24
Carbohidratos	8.98

Fuente: elaboración propia.

**3.4.2. Resultado del comportamiento de la acidez y pH del yogur sustituido óptimo y patrón en función al tiempo.**

**Figura 31: Comportamiento del acidez del yogur óptimo y patrón en función al tiempo.**

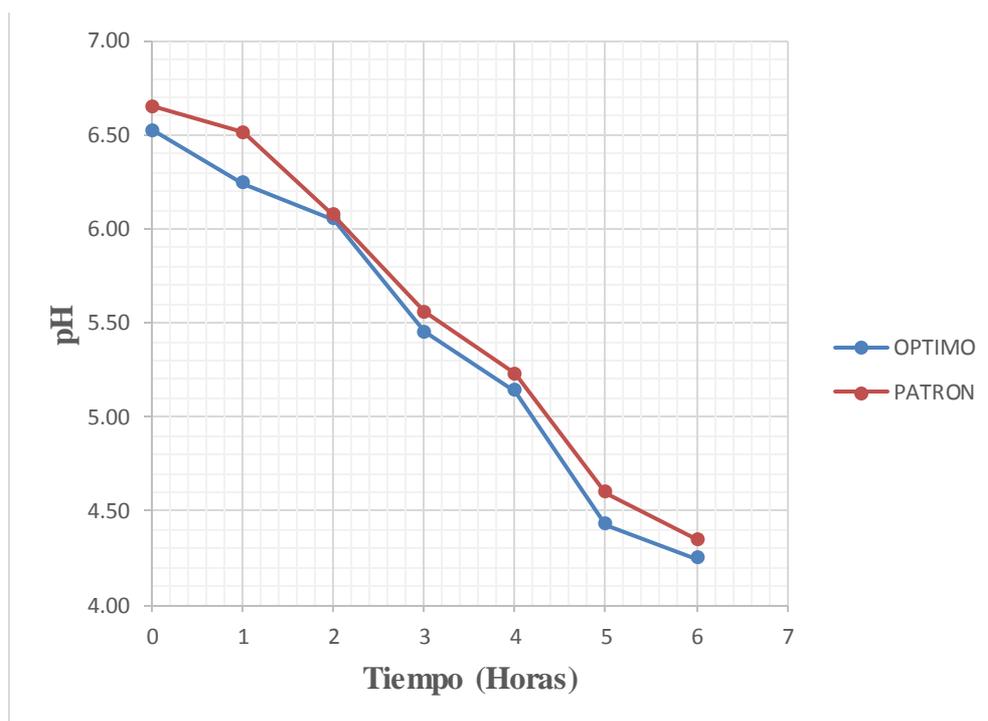


Fuente elaboración propia.

Según la figura 31, se evalúa las dos muestras, cada una hora durante la incubación, en donde se muestra que el incremento de la acidez de yogur optimo es con mayor, sin embargo del patrón es más lento, el porcentaje de ácido láctico inicial de yogur optimo y del patrón es de 0.23 y 0.19, donde el yogur optimo tiene mayor acidez por lo tanto el incremento de acidez es más rápido, el lactosuero influye significativamente en comportamiento de la acidez durante la incubación del yogur sustituido.

Según la figura 32, se muestra la variación de pH, en función al tiempo, donde se evaluó con un potenciómetro digital cada una hora durante la fermentación,

**Figura 32: Comportamiento de pH del yogur óptimo y patrón en función al tiempo.**



Fuente. Elaboración propia.

Además se observa que el pH, del yogur optimo al inicio es de 6.52 y del patrón es de 6.65, esto indica que el pH del yogur optimo durante las primeras desciende con mayor rapidez, a partir de segunda hora ambos mantienen similitud en el descenso del pH, después de seis horas el yogur optimo y patrón obtienen un pH, 4.25 y 4.35.

## IV. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

### 4.1. Resultado del análisis físico químico de la materia prima.

#### 4.1.1. Discusión de resultados para el análisis físico químico de la leche entera.

La composición de leche fresca y sus derivados han sido ampliamente estudiadas por distintos autores, según Mahaut Michel y col. (2004), se tiene 3,4 % de proteína; 3,7 % de grasa; 4,8 % de carbohidratos y 0,7 % de minerales. Mientras que Vicente (2001), reportó 3,3 % de proteína; 3,6 % de grasa y 4,8 % de hidratos de carbono.

Por otro lado Tamine y Robinson (1985), citan 3,48 % de proteínas; 3,98 % de grasa; 4,77 % de glúcidos; 0,75 % de minerales y 87,02 % de agua respectivamente. Los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación según la tabla 19 fueron: 3,3507 %  $\pm$  0,238 de proteína; 3,6200 %  $\pm$  0,040 de grasa; 5,0283 %  $\pm$  0,054 de carbohidratos y 0,7981 %  $\pm$  0,008 de cenizas respectivamente.

Según Walstra et al. (2001), indica que los principales factores que influyen sobre la composición y las propiedades de la leche son, los factores genéticos, la fase de lactación, los estados patológicos, la alimentación, los factores ambientales y de manejo. La composición fisicoquímica de la leche utilizada en el trabajo de investigación está dentro de los rangos, y similares a los datos obtenidos por otros autores.

En la tabla 20, se detalla los resultados de análisis fisicoquímicos determinados de la leche fresca para la investigación donde la densidad obtenida es de 1.030 (g / ml), estos valores se encuentran dentro de límite permitido por Norma Técnica Peruana NTP 202.001: 2003 (Leche y productos lácteos). Leche cruda – Requisitos. 4<sup>ta</sup> edición, que es mínimo de 1,0296 y máximo de 1,034 g/cm<sup>3</sup> con respecto a la densidad. Por otro lado, según Walstra et al, (2001), la densidad depende de la temperatura y de su composición química, así para leche fresca entera a 20 °C es de aproximadamente 1,030 Kg/m<sup>3</sup>; la densidad de la leche se eleva cuando incrementa el contenido en extracto seco magro, pero

disminuye conforme aumenta el contenido en materia grasa.

La acidez de leche fresca según la Norma Técnica Peruana NTP 202.001: 2003. (Leche y productos lácteos). Leche cruda – Requisitos. 4<sup>ta</sup> Edición, está dado como mínimo de 0,14 % y máximo hasta 0,18 %; en este trabajo realizado se determinó 0,17 %. Según estos resultados la leche fresca analizada, tiene las características fisicoquímicas adecuadas para su transformación en sus derivados, especialmente para el yogur tipo batido.

#### **4.1.2. Discusión de resultados para el análisis fisicoquímico del lactosuero.**

Según Badui, 1990; menciona que básicamente existen dos tipos de suero, que se diferencian por su pH: el llamado suero dulce que proviene de la mayoría de los quesos madurados que contiene; 6.5% de sólidos totales, 4.9% de lactosa, 0.8% de proteínas, 0.56 de cenizas, 0.15 % de ácido láctico, 6.2 de pH y el suero ácido contiene 5.2 % de sólidos totales, 4.3% de lactosa, 0.6% de proteína, 0.46 de cenizas, 0.75% de ácido láctico, 4.6 de pH; los lactatos y los fosfatos que contienen actúan como amortiguador de pH y el equilibrio ácido – base influye en muchas de sus propiedades como son la estabilidad y la precipitación térmica y en la operación de muchos de los procesos empleados como la ultrafiltración y la desmineralización.

En el trabajo de investigación los resultados obtenidos del lactosuero dulce obtenido de la elaboración del queso fresco fueron los siguiente; Humedad 90.52%; Proteína 0.95%; Grasa 0.91%; Ceniza 0.18%, Carbohidratos 7.44%, pH, 6.21 y Acidez (% ácido láctico) 0.3, en comparación de las investigaciones realizadas por los autores los valores se encuentran dentro de los datos mencionados, a excepción del contenido de la grasa, esto debido a que el contenido de grasa en la leche utilizado en la investigación está por encima de 3.62%,

Inda (2000); señala que la composición fisicoquímica de lactosuero varía significativamente de acuerdo al proceso de obtención; no todos los lactosueros son iguales. Una de las diferencias principales entre ellos es su composición, que depende no solamente de la composición de la leche para quesería y del contenido de humedad del queso sino, de manera muy significativa, del pH al que el lactosuero se separa de la cuajada, según menciona la composición de un lactosuero típico es, 0.9 de proteínas, 0.3% de grasa, 5.1% de lactosa, 0.5% de sales minerales y 6.8% sólidos totales, además el lactosuero contiene un poco más del 25 % de las proteínas de la leche, cerca del 8 % de la materia grasa y cerca del 95 % de la lactosa.

En el aspecto nutricional el lactosuero tiene un contenido proteico bajo, la proteína de suero posee un alto valor biológico, contiene la mayor cantidad de aminoácidos esenciales (400 mg/g) siendo superior al huevo, y posee 32 mg/g de aminoácidos azufrados con un valor superior al de la carne y la caseína comparados nutricionalmente (Londoño *et al.*, 2008; Smithers, 2008).

Según Spreer (1991), menciona que las proteínas hidrosolubles, en el lactosuero tienen un alto valor biológico como; las albuminas: representan el 75% de las proteínas solubles, que contiene tres constituyentes; la  $\alpha$ -lactoalbúmina, la  $\beta$ -lactoalbúmina y la seroalbúmina, con propiedades anticancerígenos; la globulinas: constituyen del 10 al 12% de las proteínas séricas, son de gran importancia inmunológica y las proteosas-peptonas: son proteínas muy resistentes al tratamiento térmico y ácido, poseen actividad antimicrobiana.

## **4.2. Discusión de resultados de la influencia del lactosuero y harina de quinua en las propiedades fisicoquímicas del yogur sustituido parcialmente.**

### **4.2.1. Discusión de resultados para el comportamiento de pH en función al tiempo en los tratamientos y el patrón durante la fermentación.**

El pH juega un rol muy importante, porque a través ello se produce la desnaturalización de las proteínas y la solubilidad del fosfato cálcico coloidal, en donde a pH menores de 4,9 ocurre la reacción entre la caseína y el calcio, la primera tiene carga negativa y el segundo una carga positiva, formándose así una agregación a la que se llama el coagulo. Además se dan otras reacciones bioquímicas y fisicoquímicas como la interacción entre proteína-proteína, proteína-grasa llegando al punto isoelectrico de la leche (Ordoñez 1998, Walstra et al., 2001).

Según la figura 18, la variación de pH, durante la fermentación en función al tiempo de nueve tratamientos es significativo. Los valores de pH en 6 horas de incubación fueron 4.18 en tratamiento 1; 4.25 en tratamiento 2; 4.08 en tratamiento 3; 4.16 en tratamiento 4; 4.13 en tratamiento 5; 4.08 en tratamiento 6; 4.09 en tratamiento 7; 4.10 en tratamiento 8; 4.12 en tratamiento 9 y 4.35 en el patrón respectivamente,

Walstra et al. (2001), menciona que el yogur es más consistente cuanto más bajo es su pH, los valores normales oscilan entre 4.1 y 4.6, la reducción del pH, debido a la producción de ácido láctico, causa la desestabilización micelar de la caseína a pH 5.1 a 5.2 ocurriendo una completa coagulación a pH de 4.6.

La disminución del pH tiene una relación inversa con la producción de acidez, este efecto se da cuando se produce la simbiosis durante la reproducción entre *S. thermophilus* y *L. bulgaricus* (Tamine y Robinson 1985, Ordoñez 1998, Walstra 2001 y Mahaut, 2004).

Según Badui, 1990; menciona que básicamente existen dos tipos de suero, que se diferencian por su pH: el llamado suero dulce tiene 6.2 de pH. La leche utilizada en la

investigación tiene un pH, de 6.80, donde al homogenizarse con el lactosuero su pH, disminuirá. Por lo tanto la sustitución de lactosuero y harina de quinua, influyen significativamente en el descenso del pH, del yogur sustituido.

#### **4.2.2. Discusión de resultados para el comportamiento de % de acidez (g de ácido láctico/100g) en función al tiempo en los tratamientos y el patrón durante la fermentación.**

Según Walstra et al. (2001), menciona que el yogur está constituida por dos bacterias lácticas termófilas *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus*, entre ellas se establece un fenómeno de mutua estimulación del crecimiento (prootocooperacion). Las bacterias proteolíticas (*Lactobacillus*) favorecen el crecimiento de los estreptococos por formación de péptidos pequeños y aminoácidos, principalmente valina. La leche contiene muy poca cantidad de estos aminoácidos, y los cocos, que son muy poco proteolíticos, producen ácido muy lentamente. Los cocos potencian el desarrollo de los bacilos produciendo ácido fórmico a partir del ácido pirúvico en condiciones anaeróbicas y formando rápidamente CO<sub>2</sub>. Como resultado de la mutua cooperación durante el crecimiento de estas dos bacterias en la leche, la producción de ácido láctico es mucho más rápida de lo que sería esperable en función del ácido que produce cada uno de los microorganismos cultivados individualmente, los cocos no pueden seguir desarrollándose a partir del momento en el que se alcanza una determinada acidez; los bacilos son más acidorresistentes y su crecimiento no se detiene.

En el presente trabajo de investigación, la producción de ácido láctico en función al tiempo; se efectuó hasta que el % de acidez tenga como mínimo un 0,6 % según la NTP 202.092: (Leche y productos lácteos). Este valor alcanzó a los 6,0 horas de incubación a una temperatura de 43 - 45 °C inoculados con cultivo madre previamente preparado. Los resultados fueron, 0.74 % de acidez en tratamiento 1, 0.79 de acidez en tratamiento 2, 0.76

de acidez en tratamiento 3, 0.78 de acidez en tratamiento 4, 0.78 de acidez en tratamiento 5, 0.78 de acidez en tratamiento 6, 0.79 de acidez en tratamiento 7, 0.79 de acidez en tratamiento 8, 0.81 de acidez en el tratamiento 9 y en el patrón 0.74 de acidez.

Además Mahaut y col. (2004), citan que la incubación se realiza a temperaturas entre 42 y 45 °C durante un tiempo entre 2 horas 30 minutos y 3 horas 30 minutos. El objetivo de esta fase es alcanzar una acidez de 100 – 120 °D en los yogures batidos. Sin embargo, en el presente trabajo, los resultados no concuerdan en la producción de ácido láctico en el tiempo mencionado con una incubación a la misma temperatura.

Tamine y Robinson (1985), estudió el comportamiento de cepas puras y mixtas de cultivos de yogurt sembrado e incubados a 40 °C en leche desnatada esterilizada en autoclave y sembrada con un 2,0% de cultivo. La mayor producción de acidez de 1 ,02 % de ácido láctico se llegó con siembra de cultivo mixto. *S. thermophilus* tuvo 0,65 % y *L. bulgaricus* 0,45 % después de 8 horas de incubación.

Según Walstra et al. (2001), menciona que la proporción óptima entre cocos y bacilos normalmente es de 1:1, esta relación se mantiene en el producto final. La proporción entre los dos microorganismos va cambiando, inicialmente, los estreptococos crecen más deprisa debido a que los bacilos sintetizan factores de crecimiento, después el desarrollo de los cocos se hace más lento por efecto del ácido producido, mientras los lactobacilos han empezado a crecer rápidamente estimulados por el CO<sub>2</sub> ácido fórmico producidos por los estreptococos; finalmente se restablece la proporción inicial y en ese momento, el yogur debería haber alcanzado la acidez deseada. Existen factores que modifican las condiciones de fermentación como; el tiempo de incubación, porcentaje de inóculo y la temperatura de incubación.

La demora de la producción de ácido láctico en la investigación es debido a la presencia de algunas sustancias en el lactosuero, según Marth (1973), menciona que en

algunos estudios se reportó la presencia de sustancias estimulantes e inhibidoras en el lactosuero; favorecen el desarrollo del *Streptococcus faecalis*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus leichmanis*, *Lactobacillus casei* y estreptococos lácticos heterofermentativos. Por otro lado, al menos algunas veces, se inhibe el desarrollo de *Lactobacillus casei*, *Staphylococcus aureus*, *Aerobacter aerogenes*, *Alcaligenes viscolactis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fragi*, *Pseudomonas flourecens*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus cremoris*, *Lactobacillus lactis* y *Streptococcus thermophilus*.

#### **4.3. Resultado de la influencia de las propiedades organolépticas de yogur sustituido parcialmente con lactosuero y harina de quinua.**

Los resultados obtenidos del análisis organoléptico del yogur sustituido, después de desarrollar el análisis estadístico, se determinó la influencia de los porcentajes de lactosuero y harina de quinua, donde a mayor porcentaje de lactosuero y harina de quinua el yogur sustituido tiene menor aceptabilidad, por ello según la optimización a través de los modelos matemáticos, se obtuvo un yogur sustituido óptimo con 48.8% de lactosuero y 2.0 % de harina de quinua, donde según la escala hedónica, obtiene un calificativo de 4 (me gusta) a más.

Según el análisis de varianza los valores de P-valor son menores a 0.05 para los dos factores esto nos indica que los porcentajes de lactosuero de 20, 30, y 40% y harina de quinua de 2, 3 y 4% influyen en la propiedades organolépticas del yogur sustituido, tal como indica en tabla 35, 36, 37, 38 y 38 del análisis de varianza.

Según Morales et al, (2000). El yogurt elaborado con la mezcla Leche descremada y Extracto estéril de garbanzo 80:20 con el estabilizante Ultra Sperse M (2 %), presentó una media de nivel de agrado de 5.6 (bueno).

Según Condori, (2010). Muestra que la máxima aceptación del yogur, que fue formulada con una dilución de 20 % de harina de kiwicha en agua y con una sustitución de

40 % de extracto en leche fresca. El valor que alcanza al máximo puntaje es de 5,6 el cual representa a una calificación de entre “me agrada poco y me agrada mucho”.

Por lo tanto la sustitución parcial de yogur influye en las propiedades organolépticas, dependiendo de tipo de alimento a sustituir.

#### **4.4. Discusión de resultados del análisis físico químico de yogur óptimo sustituido parcialmente.**

Según la tabla 40, se muestra que el yogur optimo sustituido con lactosuero y harina de quinua, tiene las siguientes características fisicoquímicas, 80.90% de humedad, 6.20% de proteína, 2.70% de grasa, 1.22% de ceniza, 0.24 de fibra y 8.98% de carbohidratos. Según Condori, (2010). El yogur batido optimo con la sustitución parcial 20 % de dilución de harina de kiwicha en agua y con 40 % de sustitución del extracto en leche fresca, contiene 3.23% de proteína, 3.28% de grasa, 14.97% de carbohidratos, 77.54% de humedad, 0.39% de fibra, 0.60% de cenizas. Morales et al. (2000). En la elaboración de un yogurt extendido con garbanzo (*Cicer arietinum L.*), inoculado con *St. thermophilus* y *L bulgaricus* obtuvo resultados del análisis fisicoquímico del yogur extendido con garbanzo (80:20, leche descremada: extracto estéril de garbanzo), 85.4% de humedad, 1.1% de ceniza, 8.0% de proteína, 0.58% de grasa, 4.8% de carbohidratos.

El contenido de las propiedades fisicoquímicas de yogures sustituidos varía en función a los tipos de productos que se sustituyen, tal como se menciona anteriormente, según Morales et al. (2000). El contenido de proteína en el yogur extendido es de 8.0%, esto debido al aporte de proteína del garbanzo y el contenido de grasa es de 0.58% debido a que se utilizó leche descremada.

Según, Condori, (2010), determino el análisis fisicoquímico del yogur natural a base de leche fresca entera con contenido proximal de 3.76% de proteína, 3.67% de grasa,

14.10% de carbohidratos, 77.81% de humedad, 0% de fibra, 0.66% de cenizas y (Kosikowski, 1977) detalla que la composición del yogur, Lípidos 1.7%, Proteínas 3.4%, Azúcares, 5.2%, y Agua 89.0%.

Entonces el contenido del 6.20% de proteína, en el yogur sustituido con lactosuero y harina de quinua, es mayor al contenido de proteína del yogur a base de leche fresca (Condori, 2010, Kosikowski, 1977); 3.76%, 3.4% de proteína; esto debido a que la quinua contiene (Tapia, 2007), 13.81% de proteína, lo cual aporta un buen porcentaje.

#### **4.4.1. Discusión de resultado del comportamiento de la acidez y pH del yogur óptimo sustituido parcialmente y patrón en función al tiempo.**

En la figura 31, se ve que las bacterias lácticas inoculadas directamente en la leche fresca se activan más lentamente durante las primeras horas que en la leche sustituida con harina de quinua, en la leche sustituida las bacterias lácticas desarrollan rápidamente, respecto a lo dicho se menciona según Walstra *et al.* (2001), que las bacterias proteolíticas favorecen el crecimiento de los estreptococos por formación de péptidos y aminoácidos, principalmente la valina; la leche contiene muy poca cantidad de estos aminoácidos, y los cocos son muy poco proteolíticos, producen ácido muy lentamente; las bacterias lácticas son muy exigentes en sus necesidades nutritivas, la leche no contiene bastante cantidad de compuestos nitrogenados de disponibilidad inmediata (es decir, péptidos de bajo peso molecular y aminoácidos) para que las bacterias puedan crecer muy bien. Frente a lo mencionado se concluye que el aporte de aminoácidos de la harina de quinua contribuye en la disponibilidad inmediata de compuestos nitrogenados y se produce con mayor rapidez de ácido láctico. La producción de acidez alcanza en 6,0 horas de incubación a una concentración de 0,74 % en el patrón y 0,79 % en el yogur óptimo, expresado en gramos

de ácido láctico. Estos resultados coinciden con los datos reportados Walstra et al. (2001), el yogur contiene un 0,7 – 0,9% de ácido láctico

En la figura 32, Se observa la velocidad de acidificación en función al pH donde el yogur sustituido tiende a disminuir su pH con mayor rapidez, el yogur sustituido ha alcanzado en seis horas a un pH de 4.25 y el yogur patrón alcanzó a un pH de 4.35, según datos obtenidos por (Condori, 2010) durante la obtención de un yogur batido con la sustitución parcial de leche fresca con extracto de kiwicha el pH del yogur sustituido es de 4.47 y del yogur patrón de 4.47, con incubación de 6 horas, según Walstra y col. (2001), el yogur es más consistente cuanto más bajo es su pH. Los valores normales oscilan entre 4,1 y 4,6.

En el yogur patrón el descenso del pH se da más lentamente que con el yogur sustituido con lactosuero y harina de quinua, durante las primeras horas. Esta diferencia se debe a en el yogur sustituido ya existe los aminoácidos libres y algunos péptidos aportados por la harina de quinua que estimulan el crecimiento de los cocos, en donde posteriormente este último estimula el crecimiento de los bacilos, tal como fue citado por (Tamine y Robinson 1985, Ordoñez 1998, Walstra 2001 y Mahaut 2004).

## V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

### 5.1. Conclusiones

- ✓ Se ha determinado que la sustitución parcial de lactosuero y harina de quinua influyen en las propiedades organolépticas fisicoquímicas del yogur sustituido,
- ✓ Se ha determinado a través de la evaluación cuantitativa, y la prueba del ANOVA, la influencia de la sustitución parcial de lactosuero y harina de quinua en las propiedades organolépticas del yogur sustituido parcialmente como en la apariencia, sabor, consistencia, olor y color, donde se obtiene que los valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre estos, con un 95.0% de nivel de confianza; donde a mayor porcentaje de harina de quinua yogur se hace menos aceptable, en caso del lactosuero en un nivel medio tiene mayor aceptabilidad.
- ✓ Se ha evaluado la influencia de la sustitución parcial de lactosuero y harina de quinua en las propiedades fisicoquímicas de yogur sustituido, en donde el tiempo de incubación es de seis horas y según el análisis estadístico se obtiene que los valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre acidez y pH con un 95.0% de nivel de confianza, la composición química del yogur sustituido parcialmente tiene un alto contenido de proteína de 6.20%, mayor que de cualquier tipo de yogur comercial.
- ✓ Se ha determinado el porcentaje óptimo de 48.8% de lactosuero y 2.0% de harina de quinua para la sustitución parcial de yogur, a través de modelos matemáticos, utilizando restricciones de graficas de contorno.

## 5.2. Recomendaciones

- ✓ Desarrollar estudios de mercado de yogures sustituidos con lactosuero y harinas de cereales andinos.
- ✓ Realizar estudios microbiológicos y evaluar la vida útil del yogur sustituido.
- ✓ Realizar la cuantificación de aminoácidos del yogur, la digestibilidad y el valor biológico del mismo, con el fin de completar el estudio de investigación y así ofrecer el producto al mercado.
- ✓ Evaluar de las propiedades fisicoquímicas de yogures sustituidos con harinas extruidas de quinua, kiwicha, maca etc.
- ✓ Utilizar los saborizantes naturales, para mejorar la aceptabilidad organoléptica del yogur sustituido
- ✓ Incentivar y capacitar a las empresas productoras de quesos, a dar valor agregado al lactosuero como materia prima.
- ✓ Evaluar el impacto económico, social y ambiental que podría generar la industrialización del lactosuero en la región de Apurímac.

## VI. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

1. Albarrán, R. (1993). Estudio de Algunos Componentes Químicos, Caracteres Morfoanatómicos y Patrones Proteicos en Semillas de dos Ecotipos de Quinoa (*Chenopodium quínoa Willd*). Memoria de Tesis para optar título Profesional de Ingeniero Agrónomo, Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción, Chillán - Chile.
2. Arcila, N. y Mendoza, Y. (2006). Elaboración de una bebida instantánea a base de semillas de amaranto (*Amaranthus cruentus*) y su uso potencial en la alimentación humana. Rev. Fac. Agron, Vol 23.
3. Badui, S. (1977). Revista Tecnología Alimentos, enero febrero, Propiedades y Uso del Suero de Leche.
4. Badui, S. (1990). Química de los alimentos. México: Editorial Alhambra Mexicana, S.A.
5. Barrial, A. (2014). Influencia del pH en la extracción de aislado proteico de quinua (*Chenopodium quínoa Willd*) de las variedades blanca Junín y rosada Junín, Memoria de tesis para optar el título Profesional de Ingeniero Agroindustrial, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional Jose Maria Arguedas de Andahuaylas – Perú.
6. Bombser, (2003). Eat your whey: it may protect against prostate cancer, recuperado de: [www.eurekalert.org/pub-releases](http://www.eurekalert.org/pub-releases).
7. Blanco, T. (2003). Alimentos Bromatología; Fundación Ajinomoto para el desarrollo de las comunidades, impreso en Lima-Perú.
8. Braverman, J.; Berk, Z. (1980). “Introducción a la Bioquímica de Alimentos” México. Editorial El Manual Moderno.

9. Canahua, A., Valdivia; A., Mujica, (2003). Beneficios Nutritivos y Formas de Consumo de la Quinoa (*Chenopodium quinoa Willd*) y de la Kañihua (*Chenopodium pallidicaule Aellen*). Primera edición, Puno - Peru.
10. Castañeda, B., Manrique, R., Gamarra, F., Muñoz A., y Ramos, F. (2009). Formulación y elaboración preliminar de un yogurt mediante sustitución parcial con harina de tarwi (*Lupinus mutabilis Sweet*). Medicina Naturista, vol. 3, 8.
11. Condori, E. (2010). Obtención de yogurt batido mediante sustitución parcial de leche fresca con extracto de kiwicha (*amaranthus caudatus*). Memoria de tesis para optar el título Profesional de Ingeniero Agroindustrial, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac, Abancay – Perú.
12. Cheftel J.C. (1976). Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos. España: Editorial Acribia
13. Choez, J. y Morales, F. (2000). Elaboración de una bebida hidratante a base de lactosuero y enriquecida con vitaminas. Escuela superior politécnica del litoral (ESPOL). Ecuador, 8.
14. Early y Ralph, (2004), Tecnología de los Productos Lácteos, 2da edición. Zaragoza: Editorial Acribia
15. FAO (1983). Equipo Regional de fomento y capacitación en lechería para América latina. Manual de cultivos lácticos y productos fermentados.
16. FAO, (2004b). Chapitre 7 Lactosérum. Recuperado de: <http://www.fao.org/docrep/t4280f/t4280f0h.htm>.
17. FIL-IDF. (1988). Quality control of fermented milks. Capítulo X. Doc 227. Centro experimental de la leche. Milano.
18. Furtado, M. (1999), Principias Problemas dos Queijos: Causas e Prevenção. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora.

19. Gillies, M.T. (1974), *Whey Processing and Utilization*, Noyes Data Corporation, New Jersey.
20. Gutiérrez E. (2006). Desarrollo de una bebida de suero dulce derivado de la fabricación de queso fresco, fermentada con cultivos *Lactobacillus helveticus* y *Streptococcus salivarius var thermophilus* (TCC-20), adicionada con cultivos probióticos *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* LC-01. Memoria de tesis para optar el grado de licenciatura en Tecnología de Alimentos, Escuela de Tecnología de Alimentos Universidad de Costa Rica, Facultad de Ciencias Agroalimentarias,, Costa Rica.
21. Inda, C, (2000), *Optimización de Rendimiento y Aseguramiento de Inocuidad de la Industria de Quesería*, Organización Estados Americanos. México.
22. Industria Alimenticia, (1992). *Lactosuero, Origen, Composición y aprovechamiento*. Julio
23. Jelen, P. (2009). *Whey based functional beverages*. Editorial Woodhead Publishing Limited,
24. Jofre, H. (1978). *Algunos productos fermentados y su tecnología de elaboración*. Centro tecnológico de la leche. Valdivia. Chile.
25. Keating, P. (2002). *Introducción a la Lactología*, México: Limusa
26. Kosikowski, F. (1982). *Cheese and Fermented Milk Foods*, 2 ed., Kosikowski and Associates, New York.
27. Lescano, R. (2007). *Cultivo de Kañiwa*. En resúmenes curso Pre-Congreso. IX Congreso Internacional de Cultivos Andinos “Oscar Blanco Galdos” Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. Centro de Investigación en Cultivos Andinos.

28. Londoño, M., Sepúlveda, J., Hernández, A., Parra, J. (2008). Bebida fermentada de suero de queso fresco inoculada con *Lactobacillus casei*. Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín 61(1), 13.
29. Maubois, J, 2002. Protéines du lait, protéines de toujours, protéines d'avenir, In: *lactoprotéines et lactopeptides: propriétés biologiques*. Ed. Pierre Jouan. INRA. Editions, Paris.
30. Mahaut M., Jeantet R., brulé G. y Schuck P. (2004). Productos Lácteos Industriales. Zaragoza-España: Editorial ACRIBIA, S.A
31. Marshall E. y Tamime, Y. (1997), *Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk*, Blackie Academic & Professional, Second Edition, London.
32. Marth, E. (1973), Aprovechamiento del suero por fermentación, Julio/ Agosto, 1973.
33. Miranda, O., Fonseca, P., Ponce, I., Cedeño, C., Rivero, L., Vázquez, L. (2007). Elaboración de una bebida fermentada a partir del suero de queso. Características distintivas y control de calidad. Rev Cubana Aliment Nutr 12(2), 6.
34. Montgomery, D. (2004). *Diseño y Análisis de Experimentos*, 2da. Edición. México, Editorial Limusa, S.A.
35. Morales, J., Cassís, L., Cortés, E. (2000). Elaboración de un yogurt con base en una mezcla de leche y garbanzo (*Cicer arietinum*). Rev. ALAN (50)1, 14.
36. Mujica, A.; Izquierdo, J.; Marathe, J. (2001). *Cultivos Andinos FAO- Versión 1.0*. Capítulo I. Origen y descripción de la quinua. Recuperado de: <http://www.rlc.fao.org/es/agricultura/produ/cdrom/contenido/libro03/cap1.htm#5>.
37. Mulder, H. Walstra, P. (1974). *The Milk Fat Globule. Emulsion science as applied to milk products and comparable foods*. Volume 19, Issue 4, pages 380–381.

38. National Digestive Diseases Information Clearinghouse (NDDIC), (2009). Lactose Intolerance, recuperado de. [www.metsol.com/assets/sites/2/Foods\\_containing\\_lactose](http://www.metsol.com/assets/sites/2/Foods_containing_lactose).
39. Ordoñez A. J. (2001). Tecnología de los Alimentos. Madrid – España: Editorial Síntesis. Vol. II.
40. Parra, R. (2009). Whey: Importance in the food industry. Revista Facultad Nacional Agronómica de Medellín 62(1):
41. Pino, A. (1998). Contenido de proteínas, saponinas y algunas características del almidón en semillas de quinoa sembradas en diferentes fechas localidades Tesis (Ingeniero Agrónomo). Concepción, Chile. Universidad de Concepción, Facultad de Agronomía.
42. Prego, I.; Maldonado, S.; Otegui, M. (1998). Seed Structure and Localization of Reserves in *Chenopodium quinoa* Annals of Botany.
43. Primo, Y. (1998). Química de los Alimentos. Madrid – España: Editorial Síntesis,
44. Programa Nacional de Alimentación Escolar Qali Warma. (2014). Ficha técnica de alimentos, Perú.
45. Rivella, (2011). Rivella international. Disponible en: <http://www.rivella.com/com> [21 febrero 2011]
46. Salis, A. (2005). Cultivos Andinos; ¿Alternativa alimentaria popular? CEDEP - Ayllu, Cusco-Perú.
47. Salcines, F. (2009). Cadena Agroalimentaria de la Quinoa y la Maca Peruana y su Comercialización en el Mercado Español. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Madrid – España.
48. Sepúlveda, J.; Thomet, M.; Palazuelos, P.; Mujica, M. (2004) La Kinwa Mapuche. Recuperación de un cultivo para la alimentación, Temuco - Chile.

49. Smithers, G. (2008). Whey and whey proteins - from 'gutter-to-gold'. International Dairy Journal.
50. Spreer, E. (1991). Lactología Industrial, Caracteres composición y estructura de la leche, Editorial Acribia, Segunda edición, Zaragoza.
51. Tapia, M.; (2007) Cultivos andinos Subexplotados y su aporte a la alimentación. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. FAO. Santiago- Chile.
52. Tapia, M.; Gandarillas, H.; Alandia, S.; et al. (1979). La Quinoa y la Kañiwa: Cultivos Andinos Editorial IICA. Bogotá - Colombia.
53. Tamime A. y Robinson R. (1985). Yoghurt Science and Technology. Pergamon Press Ltd. Oxford, England.
- 54.
55. Tapiero, H; Mathe, G; Couvreur, P. y Tew, K. (2002). Glutamine and glutamate. Biomed Pharmacother.
56. Ugarte, M. y Terrazas, F. (2001). Una herencia de Bolivia para el mundo; Fundación PROINPA. Bolivia.
57. USDA, (2011). Nutritional properties of whey, lactose and milk minerals products. US Dairy Export Council, USA,
58. Walstra P., Geurts T., Noomen A., Jellena A. y Van Boekel M.A.J.S. (2001). Ciencia de la Leche y Tecnología de Productos lácteos. Editorial Acribia, S.A. (Zaragoza-España).
59. Wisconsin Center for Dairy Research, 2002, Dairy Pipeline, June 2002, Volume 14, Number 2, KJ. Burrington.
60. Vicente A. (2003). Manual de Industrias Lácteas. Editorial Mundi - Prensa. Madrid – España.

61. Vicente A. y Madrid, J. (2001). Nuevo Manual de Industrias alimentarias. Editorial Mundi - Prensa. Madrid – España.
62. Zamudio, T. (2003). Quinoa Programa Panamericano de Defensa y Desarrollo de la Diversidad biológica cultural y social. Buenos Aires, Argentina. ProDiversitas. Recuperado de: <<http://www.prodiversitas.bioetica.org/quinoa.htm>> [consulta: 23 abril 2014].
63. Zemel, M. (2003). Functional properties of whey, whey components and essential amino acids: Mechanism-underlying health benefits for active people. Journal on Nutritional Biochemistry.
64. ADEX/USAID/MSP/COSUDE, 2006. Estudio de la demanda de quinoa. Lima - Perú.

# **ANEXOS**

## VII. ANEXO

### ANEXO 01: Fotografías de los equipos utilizados durante la investigación



**Foto 01: Incubadora**



**Foto 02: Balanza analítica portátil de 100 g**



**Foto 03. Potenciómetro pH211 HANNA instruments**



**Foto 04: Acondicionamiento de materiales e insumos**

**ANEXO 02: Fotografías del procesamiento del yogur sustituido con lactosuero.**

	
<p><b>Foto 01: Preparación de leche y lactosuero por tratamiento</b></p>	<p><b>Foto 02: Adición de harina de quinua</b></p>
	
<p><b>Foto 03: Proceso de Incubación</b></p>	<p><b>Foto 04: Evaluación de la acidez</b></p>

**ANEXO 03: Fotografías del yogur sustituido parcialmente con lactosuero y  
harina de quinua**



**Foto 01: yogur sustituido parcialmente después de la incubación**

**Foto 02: Yogur sustituido parcialmente después de ser refrigerado y agitado.**



**Foto 03: Comparación de color y apariencia del yogur sustituido parcialmente**

**Foto 04: Yogur sustituido parcialmente (lactosuero y harina de quinua optimo y patrón (leche fresca)**

## **CARTILLAS DE EVALUACIÓN ORGANOLÉPTICA**

**ANEXO 04: CARTILLAS UTILIZADAS EN LA EVALUACIÓN SENSORIAL**

**Formato 01.** Hoja de calificaciones para una categorización cuantitativa según apreciaciones hedónicas para APARIENCIA.

Nombre del juez:.....Fecha:.....

Muestra evaluada:....., tratamiento N°.....

Se la presenta nueve tratamientos de yogur sustituido con lactosuero y harina de quinua para que las compare en cuanto a su aceptabilidad. Una de las muestras está marcada con “P” y las otras con códigos. Deguste cada muestra y compárela con el patrón “P”, clasificándola según la escala escribiendo su código en el casillero correspondiente.

**APARIENCIA**

Escala de medición	Puntaje	Clasificación de muestras								
		T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
Me gusta mucho	5									
Me gusta moderadamente	4									
No me gusta ni me disgusta	3									
Me disgusta moderadamente	2									
Me disgusta mucho	1									

Nota: Por favor enjuagarse la boca después de cada prueba, por lo menos unos 10 segundos.

Comentario:

.....  
 .....

**Formato 02.** Hoja de calificaciones para una categorización cuantitativa según apreciaciones hedónicas para SABOR

Nombre del juez:.....Fecha:.....

Muestra evaluada:....., tratamiento N°.....

Se le presenta nueve tratamientos de yogur sustituido con lactosuero y harina de quinua para que las compare en cuanto a su aceptabilidad. Una de las muestras está marcada con “P” y las otras con códigos. Deguste cada muestra y compárela con el patrón “P”, clasificándola según la escala escribiendo su código en el casillero correspondiente.

**SABOR**

Escala de medición	Puntaje	Clasificación de muestras								
		T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
Me gusta mucho	5									
Me gusta moderadamente	4									
No me gusta ni me disgusta	3									
Me disgusta moderadamente	2									
Me disgusta mucho	1									

Nota: Por favor enjuagarse la boca después de cada prueba, por lo menos unos 10 segundos.

Comentario:

.....  
 .....

**Formato 03.** Hoja de calificaciones para una categorización cuantitativa según apreciaciones hedónicas para CONSISTECIA.

Nombre del juez:.....Fecha:.....

Muestra evaluada:....., tratamiento N°.....

Se le presenta nueve tratamientos de yogur sustituido con lactosuero y harina de quinua para que las compare en cuanto a su aceptabilidad. Una de las muestras está marcada con “P” y las otras con códigos. Deguste cada muestra y compárela con el patrón “P”, clasificándola según la escala escribiendo su código en el casillero correspondiente.

**CONSISTENCIA**

Escala de medición	Puntaje	Clasificación de muestras								
		T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
Me gusta mucho	5									
Me gusta moderadamente	4									
No me gusta ni me disgusta	3									
Me disgusta moderadamente	2									
Me disgusta mucho	1									

Nota: Por favor enjuagarse la boca después de cada prueba, por lo menos unos 10 segundos.

Comentario:

.....  
 .....

**Formato 04.** Hoja de calificaciones para una categorización cuantitativa según apreciaciones hedónicas para COLOR.

Nombre del juez:.....Fecha:.....

Muestra evaluada:....., tratamiento N°.....

Se le presenta nueve tratamientos de yogur sustituido con lactosuero y harina de quinua para que las compare en cuanto a su aceptabilidad. Una de las muestras está marcada con “P” y las otras con códigos. Deguste cada muestra y compárela con el patrón “P”, clasificándola según la escala escribiendo su código en el casillero correspondiente.

**COLOR.**

Escala de medición	Puntaje	Clasificación de muestras								
		T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
Me gusta mucho	5									
Me gusta moderadamente	4									
No me gusta ni me disgusta	3									
Me disgusta moderadamente	2									
Me disgusta mucho	1									

Nota: Por favor enjuagarse la boca después de cada prueba, por lo menos unos 10 segundos.

Comentario:

.....  
 .....

**Formato 05.** Hoja de calificaciones para una categorización cuantitativa según apreciaciones hedónicas para OLOR.

Nombre del juez:.....Fecha:.....

Muestra evaluada:....., tratamiento N°.....

Se le presenta nueve tratamientos de yogur sustituido con lactosuero y harina de quinua para que las compare en cuanto a su aceptabilidad. Una de las muestras está marcada con “P” y las otras con códigos. Deguste cada muestra y compárela con el patrón “P”, clasificándola según la escala escribiendo su código en el casillero correspondiente.

**OLOR.**

Escala de medición	Puntaje	Clasificación de muestras								
		T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
Me gusta mucho	5									
Me gusta moderadamente	4									
No me gusta ni me disgusta	3									
Me disgusta moderadamente	2									
Me disgusta mucho	1									

Nota: Por favor enjuagarse la boca después de cada prueba, por lo menos unos 10 segundos.

Comentario:

.....  
 .....

## **PROCESAMIENTO DE DATOS.**

**ANEXO 05: RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN HEDÓNICA PARA CADA  
ATRIBUTO.**

**Resultado 01: Apariencia**

<b>Panelista</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>	<b>T5</b>	<b>T6</b>	<b>T7</b>	<b>T8</b>	<b>T9</b>
1	4	4	3	3	4	3	4	3	3
2	4	4	4	3	4	3	3	3	2
3	3	3	3	4	4	4	3	3	3
4	4	4	4	3	3	4	4	3	4
5	3	5	3	4	4	3	2	3	3
6	4	4	3	2	4	3	3	2	2
7	4	5	4	3	4	3	4	2	3
8	3	4	3	3	4	4	4	3	3
9	4	3	4	3	4	4	3	2	3
10	5	5	3	4	4	4	4	3	3
11	4	4	3	3	4	2	2	3	2
12	3	4	3	3	4	3	4	2	4
13	3	4	2	3	3	2	3	3	2
14	2	4	3	3	4	1	2	2	2
15	4	5	4	3	4	3	4	2	3
16	3	4	3	3	4	4	4	3	3
17	4	3	4	3	4	4	3	2	3
18	5	5	3	4	4	4	4	3	3
19	4	4	3	3	4	2	2	3	2
20	3	4	3	3	4	3	4	2	4
21	3	4	2	3	3	2	3	3	2
22	2	4	3	3	4	1	2	2	2
23	4	4	3	3	4	3	4	3	3
24	4	4	4	3	4	3	3	3	2
25	3	3	3	4	4	4	3	3	3
26	4	4	4	3	3	4	4	3	4
27	3	5	3	4	4	3	2	3	3
28	4	4	3	2	4	3	3	2	2

**Resultado 02: Sabor.**

<b>Panelista</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>	<b>T5</b>	<b>T6</b>	<b>T7</b>	<b>T8</b>	<b>T9</b>
1	4	4	4	2	3	2	4	2	3
2	3	4	2	3	3	3	3	3	3
3	4	4	4	4	4	4	4	4	4
4	3	4	3	4	4	4	4	3	4
5	4	5	4	3	3	4	4	3	3
6	3	4	3	3	3	2	3	2	2
7	4	4	3	3	3	3	4	3	4
8	3	4	4	3	4	3	3	3	4
9	4	4	3	3	4	3	4	3	3
10	4	5	5	4	4	3	3	3	2
11	5	4	4	2	4	4	4	4	3
12	4	4	3	3	3	2	4	2	3
13	4	4	3	2	4	3	4	3	3
14	3	4	2	2	3	3	4	2	3
15	4	4	4	2	3	2	4	2	3
16	3	4	2	3	3	3	3	3	3
17	4	4	4	4	4	4	4	4	4
18	3	4	3	4	4	4	4	3	4
19	4	5	5	4	4	3	3	3	2
20	5	4	4	2	4	4	4	4	3
21	4	4	3	3	3	2	4	2	3
22	4	4	3	2	4	3	4	3	3
23	3	4	2	2	3	3	4	2	3
24	4	5	4	3	3	4	4	3	3
25	3	4	3	3	3	2	3	2	2
26	4	4	3	3	3	3	4	3	4
27	3	4	4	3	4	3	3	3	4
28	4	4	3	3	4	3	4	3	3

**Resultado 03: Consistencia.**

<b>PANELISTA</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>	<b>T5</b>	<b>T6</b>	<b>T7</b>	<b>T8</b>	<b>T9</b>
1	3	4	3	2	4	3	4	2	3
2	4	5	4	4	3	4	4	4	4
3	2	5	3	3	4	2	4	3	3
4	3	4	3	4	4	3	4	3	4
5	3	5	4	3	3	4	3	3	3
6	3	4	2	3	5	3	2	2	3
7	3	3	2	3	4	3	4	3	3
8	3	4	3	3	3	3	4	3	3
9	4	3	3	3	4	4	3	3	4
10	3	5	5	3	3	3	4	5	3
11	4	4	2	3	4	2	3	2	2
12	4	4	2	2	3	2	3	2	3
13	4	4	2	2	4	2	4	3	3
14	2	4	2	2	3	2	2	2	2
15	4	3	3	3	4	4	3	3	4
16	3	5	5	3	3	3	4	5	3
17	4	4	2	3	4	2	3	2	2
18	3	4	3	2	4	3	4	2	3
19	4	5	4	4	3	4	4	4	4
20	2	5	3	3	4	2	4	3	3
21	3	4	3	4	4	3	4	3	4
22	4	4	2	2	3	2	3	2	3
23	4	4	2	2	4	2	4	3	3
24	2	4	2	2	3	2	2	2	2
25	3	5	4	3	3	4	3	3	3
26	3	4	2	3	5	3	2	2	3
27	3	3	2	3	4	3	4	3	3
28	3	4	3	3	3	3	4	3	3

**Resultado 04: Color.**

<b>PANELISTA</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>	<b>T5</b>	<b>T6</b>	<b>T7</b>	<b>T8</b>	<b>T9</b>
1	4	4	4	2	4	3	4	3	4
2	4	4	3	3	4	3	3	4	2
3	4	5	4	4	4	4	4	3	3
4	3	4	3	3	4	4	4	3	3
5	4	5	4	3	4	4	4	3	4
6	3	4	3	3	4	2	3	4	3
7	4	5	3	4	4	3	4	3	4
8	3	4	4	3	4	4	3	3	3
9	3	4	3	4	4	3	4	4	3
10	3	4	4	3	4	3	3	3	2
11	4	4	4	2	4	4	4	4	3
12	4	4	3	3	4	3	4	3	3
13	4	5	3	3	4	3	4	3	3
14	3	4	3	3	3	3	4	2	3
15	4	5	3	4	4	3	4	3	4
16	3	4	4	3	4	4	3	3	3
17	3	4	3	4	4	3	4	4	3
18	4	4	4	2	4	3	4	3	4
19	4	4	3	3	4	3	3	4	2
20	4	5	4	4	4	4	4	3	3
21	4	5	3	3	4	3	4	3	3
22	3	4	3	3	3	3	4	2	3
23	3	4	3	3	4	4	4	3	3
24	4	5	4	3	4	4	4	3	4
25	3	4	3	3	4	2	3	4	3
26	3	4	4	3	4	3	3	3	2
27	4	4	4	2	4	4	4	4	3
28	4	4	3	3	4	3	4	3	3

**Resultado 05: Olor.**

<b>PANELISTA</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>	<b>T5</b>	<b>T6</b>	<b>T7</b>	<b>T8</b>	<b>T9</b>
1	4	4	4	3	4	3	4	2	3
2	3	4	2	3	3	3	3	3	3
3	4	4	3	4	4	4	4	4	4
4	4	4	3	4	3	4	4	3	3
5	4	5	2	3	4	4	4	3	3
6	3	4	3	4	3	3	3	2	2
7	4	4	3	3	3	3	4	3	4
8	3	4	4	3	4	3	3	3	4
9	4	4	3	3	5	3	4	3	3
10	4	4	5	4	4	3	3	3	3
11	5	4	4	3	3	4	4	3	3
12	4	4	3	3	3	3	4	3	4
13	4	4	3	3	4	3	4	3	3
14	4	4	3	3	3	3	4	2	3
15	4	5	2	3	4	4	4	3	3
16	3	4	3	4	3	3	3	2	2
17	4	4	4	3	4	3	4	2	3
18	3	4	2	3	3	3	3	3	3
19	4	4	3	3	5	3	4	3	3
20	4	4	5	4	4	3	3	3	3
21	5	4	4	3	3	4	4	3	3
22	4	4	3	4	4	4	4	4	4
23	4	4	3	4	3	4	4	3	3
24	4	4	3	3	3	3	4	3	4
25	3	4	4	3	4	3	3	3	4
26	4	4	3	3	3	3	4	3	4
27	4	4	3	3	4	3	4	3	3
28	4	4	3	3	3	3	4	2	3

## **RESULTADOS DEL ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO**

# ANEXO 11: ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DEL YOGUR SUSTITUIDO.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, FÍSICAS Y MATEMÁTICAS

Av. de la Cultura 722  
Pabellón C - Of. 106

Apartado Postal 921 - Cusco Perú  
Teléfono - fax - modem: 224831

UNIDAD DE PRESTACIONES DE SERVICIO DE ANALISIS QUIMICO  
DEPARTAMENTO ACADEMICO DE QUIMICA  
INFORME DE ANALISIS

Nº0020-15-LAQ

SOLICITANTE: LUCIO PICHIHUA ROMAN  
INSTITUCION: UNIVERSIDAD NACIONAL JOSE MARIA ARGUEDAS  
ANDAHUAYLAS  
MUESTRA : YOGURT SUSTITUIDO CON LACTO SUERO Y HARINA DE  
QUINUA.  
FECHA : C/14/01/2015

RESULTADO ANALISIS FISICOQUIMICO:

Humedad %	80.90	NTP 206.011
Proteína %	6.20	AOAC 935.39C
Grasa %	2.70	NTP 206.017
Ceniza %	1.22	AOAC 935.39B
Fibra %	0.24	FAO 14/7
Carbohidratos %	8.98	Diferencia
Acidez % (Ac.Láctico)	0.64	NTP 206.013

\*  
Cusco, 21 de Enero 2015

Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco  
Unidad de Prestación de Servicios Analíticos

*Melquerios Herrera Arce*  
RESPONSABLE DEL LABORATORIO  
DE ANALISIS QUIMICO

**ANEXO 12: ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DEL LACTOSUERO.**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, FÍSICAS Y MATEMÁTICAS**  
Av. de la Cultura 733 - Pabellón "C" Of. 106 1er. piso - Telefax: 224831 - Apartado Postal 921 - Cusco Perú

**UNIDAD DE PRESTACIONES DE SERVICIO DE ANÁLISIS QUÍMICO**  
**DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE QUÍMICA**  
**INFORME DE ANÁLISIS** Nº0544-15-LAQ

**SOLICITANTE:** LUCIO FICHIEVA ROMAN  
**E.PROFESIONAL:** INGENIERIA AGROINDUSTRIAL  
**INSTITUCION:** UNIVERSIDAD NACIONAL JOSE MARIA ARGUEDAS  
**MUESTRA :** LACTO SUERO  
**FECHA :** 0/18/08/2015  
**RESULTADO ANALISIS FISICOQUIMICO:**

Humedad %	90.52	NTP 206.011
Proteína %	0.95	AOAC 935.390
Grasa %	0.91	NTP 206.017
Ceniza %	0.18	AOAC 935.39B
Carbohidratos %	7.44	Diferencia
Acidez % (Ac.Láctico)	0.52	NTP 206.013
pH	4.50	Potenciométrico

Cusco, 25 de Agosto 2015

  
**Melquiades Herrera Arévalo**  
RESPONSABLE DEL LABORATORIO DE ANÁLISIS QUÍMICO



## VIII. APÉNDICE

### APÉNDICE 01.

#### DETERMINACIÓN DE ANÁLISIS QUÍMICO DE LA LECHE FRESCA ENTERA

##### 1. Determinación de humedad

Método (NTP 209.264 – 2001)

##### 2. Determinación de cenizas

Método (NTP 209.265 – 2001)

###### 2.1. Tratamiento de la muestra

Para la determinación de cenizas, en la leche se deberá realizar un tratamiento especial, es decir evaporar y luego carbonizar antes de introducir al equipo de mufla, los pasos de operación y cálculo, son las mismas ya descritos anteriormente.

##### 3. Determinación de proteínas por micro Kjeldahl

Método 12.1.07 (A.O.A.C, 2000)

###### 3.1. Alcance y campo de aplicación

El método es aplicable a alimentos en general.

###### 3.2. Fundamento

El método se basa en la destrucción de la materia orgánica con ácido sulfúrico concentrado, formándose sulfato de amonio que en exceso de hidróxido de sodio libera amoníaco, el que se destila recibiendo en:

Ácido sulfúrico donde se forma sulfato de amonio y el exceso de ácido es valorado con hidróxido de sodio en presencia de rojo de metilo,

Ácido bórico formándose borato de amonio el que se valora con ácido clorhídrico

###### 3.3. Materiales y equipos

- ✓ Balanza analítica, sensibilidad 0.1 mg.
- ✓ Equipo Kjeldahl

- ✓ Manto calefactor o cocina para digestión
- ✓ pH metro
- ✓ matraz Erlenmeyer
- ✓ probeta y bureta

### **3.4. Reactivos**

- ✓ Ácido sulfúrico concentrado, p.a.
- ✓ Sulfato de potasio o sulfato de sodio, p.a.
- ✓ Sulfato cúprico, p.a.
- ✓ Solución de ácido sulfúrico 0,1 N.
- ✓ Solución de hidróxido de sodio al 30%. Disolver 300 g de NaOH y completar a 1 litro.
- ✓ Solución indicadora de rojo de metilo al 1% en etanol. Disolver 1g de rojo de metilo en 100 mL de etanol (95 %).
- ✓ Solución de hidróxido de sodio 0,1N. Tomar 4 g de NaOH y enrasar a 1 litro con agua recientemente hervida y enfiada. Valorar con ácido succínico.

### **3.5. Procedimiento del método**

#### **3.5.1. Digestión**

- ✓ Realizar la muestra en triplicado.
- ✓ Efectuar un ensayo en blanco usando una sustancia orgánica sin nitrógeno (sacarosa) que sea capaz de provocar la reducción de los derivados nítricos y nitrosos eventualmente presentes en los reactivos.
- ✓ Pesar 0,2 g de muestra homogeneizada (m), con una precisión de 0,1 mg en un matraz de digestión Kjeldahl.
- ✓ Agregar 3 perlas de vidrio, 1g de sulfato de potasio o sulfato de sodio, 0,5 g de sulfato cúprico y 5 mL de ácido sulfúrico concentrado.

- ✓ Calentar en manta calefactora y una vez que la solución esté transparente, dejar en ebullición 15 a 20 min. más. Si la muestra tiende a formar espuma agregar ácido esteárico o gotas de silicona antiespumante y comenzar el calentamiento lentamente.
- ✓ Enfriar y agregar 5 mL de agua.

### 3.5.2. Destilación

- ✓ Preparar las soluciones de NaOH al 40 % y 50mL de una solución de ácido sulfúrico 0.1 N para un ensayo.
- ✓ Conectar el refrigerante y las soluciones correspondientes como NaOH al 40 % y agua destilada al equipo destilador kjeldahl.
- ✓ Finalmente poner el matraz al aparato de destilación, agregar lentamente en exceso NaOH al 40% al matraz, el equipo de kjeldahl es automático para este caso, solo se debe prender y presionar el botón de NaOH. antes de iniciar la destilación conectar 50 mL de una solución de ácido sulfúrico 0.1 N, con 4 a 5 gotas de rojo de metilo en un vaso de 250 ml para recibir el destilado. Finalmente destilar no menos de 150 ml.

### 3.5.3. Titulación

Titular el exceso de ácido con NaOH 0.1 N hasta color amarillo

### 3.5.4. Cálculo y expresión de resultados

$$\%N = \frac{14 * N * (Vb - Vm) * (Factor)}{M * 1000} * 100$$

Donde:

N: Normalidad del H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

Vb: Gasto NaOH 0,1 N en el blanco y Vm: Gasto NaOH 0,1 N en la muestra.

M: Masa de la muestra, en gramos

**Factor:**

6,25: para carne, pescado, huevo, leguminosas y proteínas en general

5,70: para cereales y derivados de soya

6,38: leche

**Repetibilidad del método:** La diferencia entre los resultados de dos determinaciones efectuadas una después de otra, por el mismo analista, no debe exceder 0,06 % de Nitrógeno o 0,38 % de proteína.

**4. Determinación de grasa**

Norma Internacional FIL-IDF 22: 1963. (**Método Gerber**)

**4.1. Principio**

Liberación total de la grasa por disolución de las sustancias proteicas, separación de la grasa por centrifugación y posterior medida volumétrica de ésta. Aplicable a leche natural, pasteurizada y esterilizada.

**4.2. Material y aparatos**

- ✓ Pipetas aforadas de 11 ml.
- ✓ Dosificador de émbolo de 10 ml para el ácido sulfúrico.
- ✓ Baño de agua regulable a 65°C.
- ✓ Centrífuga Gerber.
- ✓ Butirómetros original Gerber.
- ✓ Tapones de caucho.
- ✓ Centrífuga de gerber
- ✓ Empujador metálico.

**4.3. Reactivos**

- ✓ Ácido Sulfúrico 90 -91% según Gerber RE

✓ Alcohol iso-Amílico según Gerber mezcla de isómeros RE

## **5. Procedimiento**

Colocar en el butirómetro 10 ml de Ácido Sulfúrico 90 -91% según Gerber RE y agregar 11 ml de leche con cuidado y lentamente para que no se mezclen, observándose claramente la separación de ambas capas, ácida y de leche.

Agregar a continuación 1 ml de Alcohol iso-Amílico según Gerber mezcla de isómeros RE (con dosificador) y cerrar el butirómetro. Agitar enérgicamente, envuelto en un paño para evitar posibles proyecciones hasta la total disolución de la fase proteica de la leche. Verter y dejar en reposo algún tiempo para observar mejor si la disolución ha sido completa. Llevar a la centrifuga durante 5 minutos. Sacar de la centrifuga con cuidado para no mover la capa superior de grasa ya separada. Colocar en el baño (65 °C) durante 5 minutos. Sacar y leer rápidamente.

## **6. Cálculo**

Se lee con rapidez directamente en la escala del butirómetro.

## **7. Determinación de carbohidratos**

Por diferencia de la composición % de humedad, ceniza, proteína y grasa.