

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO-PUNO**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**



“OPTIMIZACIÓN DE NÉCTAR DE LACTOSUERO ENRIQUECIDO CON  
ZUMO DE NARANJA Y CONTROLADO CON RADIACIÓN  
ULTRAVIOLETA.”

**TESIS**

PRESENTADA POR:

**Bach. YONY INCAHUANACO COAQUIRA**

PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE:

**INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**PUNO - PERÚ**

**2013**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO - PUNO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL**

**“OPTIMIZACIÓN DE NÉCTAR DE LACTOSUERO ENRIQUECIDO  
CON ZUMO DE NARANJA Y CONTROLADO CON RADIACIÓN  
ULTRAVIOLETA.”**

**TESIS PRESENTADO POR:**

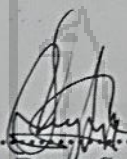
**Bach. Yony Incahuanaco Coaquira**

**PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE:**

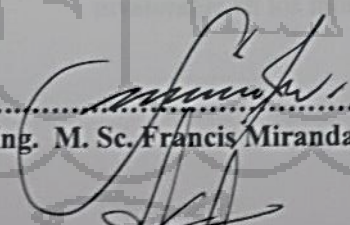
**INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**APROBADO POR EL JURADO REVISOR CONFORMADO POR:**

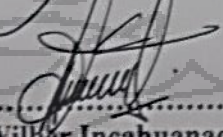
**PRESIDENTE**

  
.....  
**Ing. M.Sc. Roger Segura Peña**

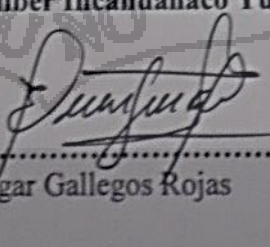
**PRIMER MIEMBRO**

  
.....  
**Ing. M. Sc. Francis Miranda Choque**

**SEGUNDO MIEMBRO**

  
.....  
**Ing. Wilber Incahuanaco Yucra**

**DIRECTOR**

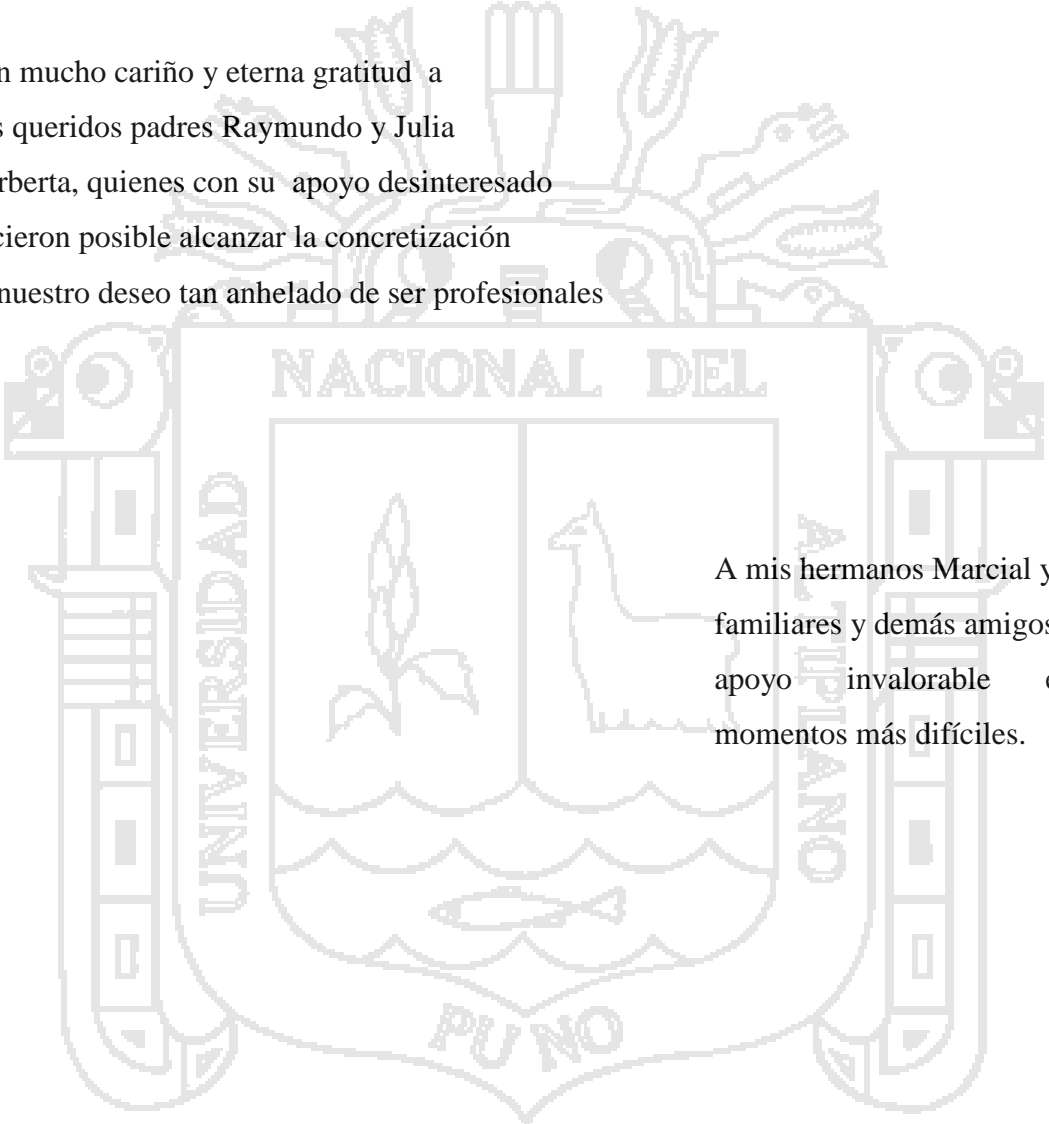
  
.....  
**Ing. Edgar Gallegos Rojas**

**Área: Ingeniería y tecnología**

**Tema: Desarrollo de procesos y productos agroindustriales sostenibles y eficientes**

## DEDICATORIA

Con mucho cariño y eterna gratitud a mis queridos padres Raymundo y Julia Norberta, quienes con su apoyo desinteresado hicieron posible alcanzar la concretización de nuestro deseo tan anhelado de ser profesionales



A mis hermanos Marcial y Edwin, familiares y demás amigos por su apoyo invaluable en los momentos más difíciles.

**Yony Incahuanaco Coaquira.**

## AGRADECIMIENTO

Con mucho reconocimiento a mis queridos padres, por su invaluable apoyo, dignidad y sacrificio en mi formación profesional.

Mi más sincero agradecimiento y reconocimiento a los docentes de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno, Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, por haber contribuido en nuestra formación profesional.

A mi Presidente de tesis Ing. M.Sc. Roger Segura Peña y demás miembros calificadores y director Ing. Edgar Gallegos Rojas, por su invaluable ayuda en todo momento.

A mis compañeros Fiorela Arohuanca, Priscila, Rosa Yobana, Deysi Robles, Antonio Otazú, Elmer Quiñones, Pedro Nicoyani, Godoy Tapia, Carlos Chevalier, y a todos con los que compartimos gratos momentos, así como en la elaboración y ejecución del presente proyecto de investigación.

## ÍNDICE GENERAL

	<b>Pág</b>
<b>I. Introducción</b>	1
<b>II. Revisión bibliográfica</b>	3
2.1 Características generales del lactosuero	3
2.1.1 Concepto y composición del lactosuero	3
2.1.2 Constitución de la fracción proteica del suero	4
2.1.3 Minerales y vitaminas	6
2.1.4 Productos industriales modificados	7
2.1.4.1 Lactosueros Brutos.	7
2.1.4.2 Lactosueros modificados	7
2.1.5 Proteínas del lactosuero	7
2.1.5.1 Estructura y factores de estabilidad de las proteínas del lactosuero	8
2.1.5.2 Obtención de determinados compuestos	9
2.1.5.3 Propiedades funcionales de las proteínas del lactosuero	11
2.1.6 Importancia y aprovechamiento del lactosuero no transformado	12
2.1.7 Aprovechamiento industrial	13
2.2 Las frutas	16
2.2.1 Definición	16
2.2.2 Características generales de las frutas	16
2.2.3 Clasificación de las frutas	16
2.2.4 Composición de las frutas	17
2.2.5 La naranja	17
2.2.6 Zumo de naranja	19
2.2.6.1 Características del zumo de naranja	19
2.2.6.2 Factores esenciales de composición y calidad	20
2.3 Estevia	21
2.3.1 Generalidades de estevia	21
2.3.2 Origen	22

2.3.3	Descripción botánica	22
2.3.4	Propiedades	23
2.3.5	Formas de utilización	23
2.4	Bebidas a base de lactosuero	24
2.4.1	Generalidades	24
2.4.2	Requisitos generales de la bebida refrescante	26
2.4.3	Requisitos microbiológicos de una bebida	26
2.5	El agua en la industria de bebidas	26
2.6	Radiación luz ultravioleta	27
2.6.1	Propiedades de la radiación ultravioleta	31
2.6.2	Mecanismos de la desinfección por radiación ultravioleta	32
2.7	Vida en anaquel	33
2.7.1	Definición	33
2.7.2	Principales factores que causan la pérdida de calidad de los productos alimenticios	35
2.7.3	Aplicación de la cinética en la predicción de la vida útil de un alimento	36
2.7.4	Determinación de vida en anaquel para alimentos	36
2.7.4.1	Evaluación de la vida útil sensorial en bebidas	36
2.7.4.2	Ensayos acelerados para estimar la vida útil de una bebida	37
2.8	Tipos de envases	38
2.8.1	Estabilidad en alimentos	39
<b>III.</b>	<b>Materiales y métodos</b>	40
3.1.	Lugar de ejecución.	40
3.2.	Materiales y equipos	40
3.2.1.	Materia prima	40
3.2.2.	Equipos	40
3.2.3.	Materiales de vidrio	41
3.2.4.	Reactivos	41
3.2.5.	Materiales diversos	41
3.3.	Metodología experimental.	41

3.3.1. Determinación de los parámetros óptimos de dilución de la bebida de lactosuero con zumo de naranja y estevia tratado con radiación UV.	42
3.3.1.1. Tratamiento preliminar de lactosuero.	42
3.3.1.2. Operaciones y tratamiento preliminar de naranja y obtención de zumo	44
3.3.1.3. Obtención de bebida de lactosuero con zumo de naranja v estevia tratado con radiación UV.	45
3.4. Metodología de los análisis	48
3.4.1. Análisis microbiológico de los productos finales	48
3.4.2. Composición química proximal de los productos finales	48
3.4.3. Análisis de Evaluación sensorial	50
3.5. Variables en estudio	51
3.6. Diseño experimental.	51
3.6.1. Factores en estudio	51
3.7. Diseño estadístico.	52
3.7.1. Modelo matemático	52
<b>IV. Resultados y discusiones</b>	54
4.1. Obtención y caracterización de los parámetros óptimos de dilución lactosuero, zumo de naranja y controlado con radiación UV.	54
4.1.1. Composición química del producto final	57
4.2. Resultado de la composición microbiológica aplicando la radiación UV C 280nm.	58
4.3. Resultados de evaluación sensorial.	59
4.3.1. Respecto al olor	59
4.3.2. Respecto al sabor	60
4.3.3. Respecto al color	61
4.3.4. Respecto al apariencia general	62
4.4. Resultados de la determinación de la vida útil de bebida obtenida	63
<b>V. Conclusiones</b>	66
<b>VI. Recomendaciones</b>	67
<b>VII. Bibliografía</b>	68
<b>VIII. Anexos</b>	72

## INDICE DE CUADROS

	<b>Pág</b>
Cuadro 01: Composición del lactosuero fresco	4
<i>Cuadro 02: Propiedades nutricionales comparadas de las proteínas del lactosuero de la caseína y de las proteínas del huevo. (g de aminoácidos esenciales/100 g de Proteína).</i>	5
<i>Cuadro 03: Parámetros biológicos</i>	5
<i>Cuadro 04. Composición media de lactosuero en polvo</i>	6
<i>Cuadro 05. Contenido en vitaminas del lactosuero</i>	6
<i>Cuadro 06: Aplicaciones de las proteínas de lactosuero</i>	8
<i>Cuadro 07: Propiedades funcionales de las proteínas de lactosuero</i>	11
<i>Cuadro 08: Composición de la naranja</i>	19
<i>Cuadro 09: Propiedades del zumo de naranja</i>	21
<i>Cuadro 10: Ingredientes y composición sugerida para una bebida refrescante de lactosuero de alto contenido energético</i>	25
<i>Cuadro 11: Requisitos microbiológicos</i>	26
<i>Cuadro 12: Valores fisicoquímicos del agua utilizada en la industria de bebidas</i>	27
<i>Cuadro 13: Dosis UV en <math>\mu\text{Ws}/\text{cm}^2</math>, para inactivar una población en un 90% y 99%</i>	33
<i>Cuadro 14: Causas y soluciones de la separación de fases en néctar</i>	39
<i>Cuadro 15: Variables independientes y dependientes en función a objetivos</i>	51
<i>Cuadro 16: Porcentajes en mezcla de lactosuero, agua y zumo de naranja</i>	51
<i>Cuadro 17: Cantidad de edulcorante</i>	52
<i>Cuadro 18: ANVA para la aceptabilidad de la formulación</i>	55
<i>Cuadro 19: Cuadro ordenado de pruebas de TUKEY</i>	56
<i>Cuadro 20: Determinaciones de las características químicas</i>	57
<i>Cuadro 21: Composición microbiológica de la bebida</i>	58
<i>Cuadro 22: ANVA para el atributo de olor de la bebida obtenida</i>	60
<i>Cuadro 23: ANVA para el atributo sabor de la bebida obtenida</i>	61
<i>Cuadro 24: ANVA para el atributo de color de la bebida obtenida</i>	61
<i>Cuadro 25: ANVA para el atributo apariencia general de la bebida obtenida</i>	62



<i>Cuadro 26: Tiempo de determinación de ácido láctico en 20 días a temperaturas de 10 °C, 20 °C y 30 °C</i>	63
<i>Cuadro 27: Estimaciones del coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) y la constante de velocidad (K)</i>	64
<i>Cuadro 28: Calculo de 1/T y ln(K)</i>	64



## INDICE DE FIGURAS

	<b>Pág</b>
Figura 01: Posibilidades de aprovechamiento del lactosuero	15
Figura 02: Vida útil de deterioro y descomposición	35
Figura 03: Flujo experimental de tratamiento preliminar del lactosuero	43
Figura 04: Flujo experimental de tratamiento preliminar de la naranja para obtener zumo	45
Figura 05: Flujo para obtención de bebida de lactosuero con zumo de naranja y estevia, tratado con radiación UV	47
Figura 06: Composición química de néctar de lactosuero enriquecido con zumo de naranja y controlado con radiación ultravioleta	57
Figura 07: Ln (K) versus 1/T para estimar vida útil de la bebida	65



## RESUMEN

El presente trabajo de investigación, optimización de néctar de lactosuero enriquecido con zumo de naranja, controlado con radiación ultravioleta. Cuyos objetivos específicos fueron los siguientes, obtención y caracterización de los parámetros óptimos de dilución lactosuero, zumo de naranja y controlado con radiación ultravioleta, determinar la región de la radiación ultravioleta más adecuada para inactivar la carga microbiana, determinar las características organolépticas de la bebida elaborado a base lactosuero enriquecido con zumo de naranja y controlado con radiación ultravioleta. La parte experimental se ejecutó en la planta de procesamiento de frutas y hortalizas de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial y los análisis microbiológicos se desarrollaron en laboratorio de Microbiología de la Escuela Profesional de Medicina Humana y en los laboratorios de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Altiplano Puno.

En la parte experimental se ha realizado las siguientes operaciones unitarias, recepción de la materia prima, tratamiento preliminar de lactosuero y zumo de naranja, Dilución, Estandarizado, Homogenizado, Radiación UV, Envasado, Etiquetado, Embalado y Almacenado. Para el objetivo uno y tres la muestra más representativa ha sido el tratamiento dos (T2) que corresponde a 30% de lactosuero, 50% de agua, 20% de zumo de naranja y 0.27gr/lit. De estevia, esta muestra ha sido seleccionado con análisis sensorial de la escala hedónica de 5 puntos, en donde se evaluó parámetros como: muy bueno, bueno, regular, malo, y muy malo. Para el objetivo dos se ha utilizado la radiación UV C con 280 nm de longitud de onda esto recomendado por varios autores específicamente por Morata, 2010 en efecto los microorganismos ha sido reducido la población inicial en forma significativa, específicamente el recuento de mesófilos aerobios viables de  $< 2$  ufc/g a  $< 1$  ufc/g, igual mente ha sido reducido el recuento de *Staphylococcus aureus* de  $< 10^2$  ufc/g a  $< 10^1$  ugc/g y los mohos, levaduras y *E. Coli* se encontraron ausentes.

## I. INTRODUCCIÓN

El sub producto en la elaboración de quesos como lacto suero en la región Puno es abundante y mal aprovechada. Por lo cual se debe realizar investigación como la presente, para poner una alternativa de solución a las problemáticas que enfrenta nuestro ecosistema. En el Departamento de Puno por la alta tasa de producción de leche por ende sus derivados específicamente transformación de quesos con tecnologías artesanales razón por lo cual no está siendo aprovechado el sub producto como lactosuero, al contrario está generando problemas ambientales con la eliminación de suero salado. Este sub producto puede ser aprovechado transformando en bebidas nutritivas y enriquecidas con zumo de naranja y edulcorado con estevia. Este producto líquido también es un gran alimento por el contenido nutricional, en cuanto a la presencia de aminoácidos. El coeficiente de utilización digestiva y el valor biológico son elevados y próximos de las proteínas del huevo. Para lo cual proponemos una alternativa para poder consumirlos directamente, producto que mantenga sus propiedades fisicoquímicas y sensoriales. Esta bebida nutritiva es tratada con rayos ultravioleta.

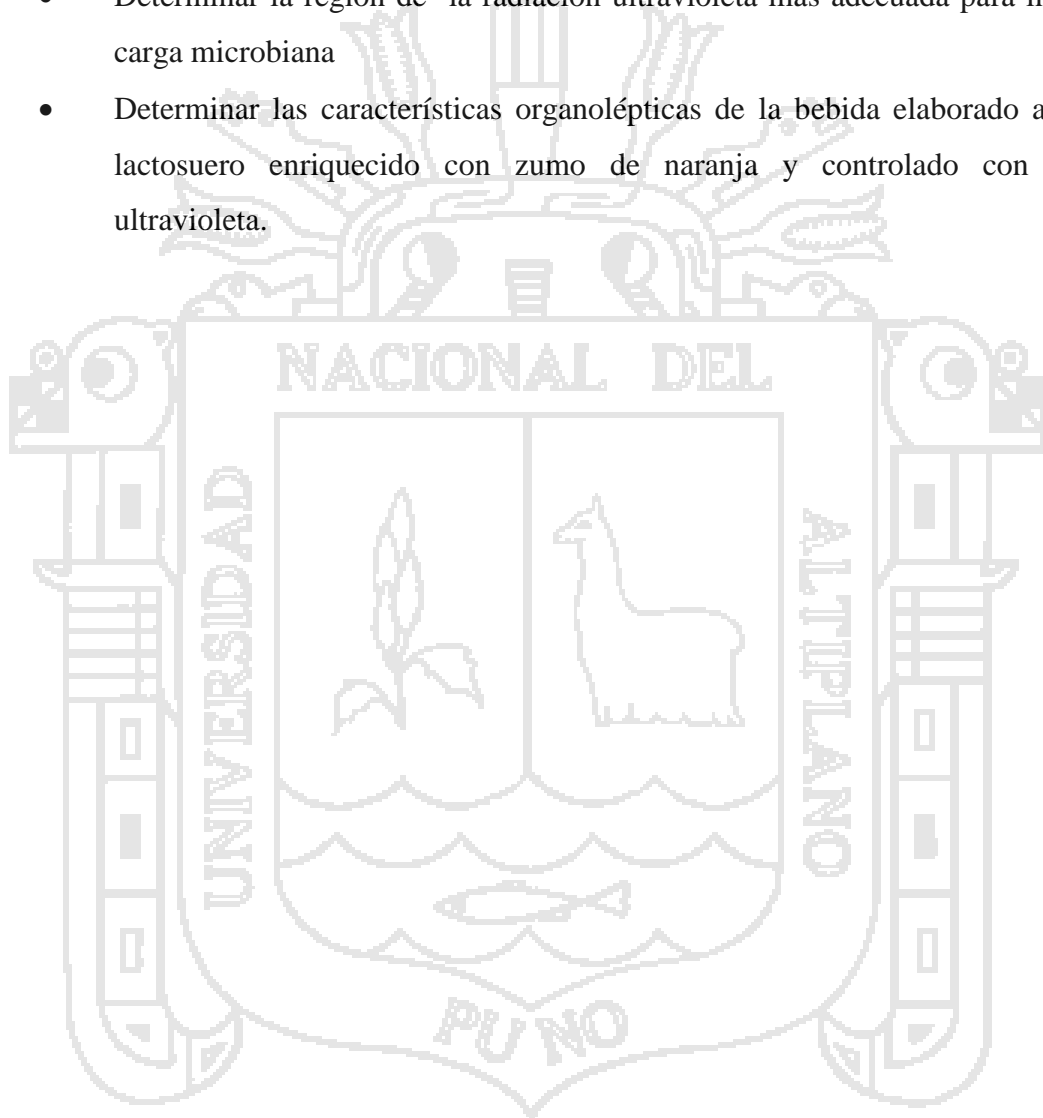
La naranja (*Citrus sinensis*) es uno de los alimentos de origen vegetal con composición nutritiva adecuada, es decir que presenta un adecuado balance de carbohidratos, vitaminas y minerales, necesarios para la alimentación humana.

La estevia (*estevia rebaudiana Bertoni*) se caracteriza por su contenido y su poder edulcorativo que sustituye a insumos usados para endulzamientos en bebidas y a la vez la propiedad más importante de la estevia se encuentra en sus hojas. Se trata del edulcorante natural llamado esteviosido que está constituido por una mezcla de ocho glúcidos diterpenicos (principalmente el esteviosido y el rebaudiosido, entre otros)

La técnica de la radiación ultravioleta ha sido aplicado en la industria de los alimentos en mayor de los casos con fines de desinfección y esterilización esta aplicación incluye también en la purificación del agua y recientemente la luz ultravioleta ha sido utilizado en superficie de los alimentos para obtener productos de calidad, además se ha incrementado el interés de la aplicación de la luz ultravioleta para reducir la carga microbiana en jugos de frutas y otros productos.

El presente trabajo de investigación ha sido elaborado en el laboratorio de microbiología de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial y cuyos objetivos ejecutados son los siguientes:

- Obtención y caracterización de los parámetros óptimos de dilución lactosuero, zumo de naranja y controlado con radiación ultravioleta.
- Determinar la región de la radiación ultravioleta más adecuada para inactivar la carga microbiana
- Determinar las características organolépticas de la bebida elaborado a base de lactosuero enriquecido con zumo de naranja y controlado con radiación ultravioleta.



## II. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

### 2.1 CARACTERISTICAS GENERALES DEL LACTOSUERO

#### 2.1.1. CONCEPTO Y COMPOSICIÓN DEL LACTOSUERO

El lactosuero de quesería es un subproducto líquido obtenido después de la precipitación de la caseína durante la elaboración del queso. Contiene principalmente lactosa, proteínas como sustancias de importante valor nutritivo, minerales, vitaminas y grasa. La composición y tipo de lactosuero varía considerablemente dependiendo del tipo de leche, tipo de queso elaborado y el proceso de tecnología empleado. La lactosa es el principal componente nutritivo (4,5 % p/v), proteína (0,8% p/v), y lípidos (0,5%). Si en la coagulación de la leche se utiliza enzimas el lactosuero se denomina dulce, y si se reemplaza la enzima por ácidos orgánicos se denomina ácido. Para la industria alimentaria, el lactosuero constituye una fuente económica de proteínas que otorga múltiples propiedades en una amplia gama de alimentos. Los productos del suero, incluyendo la lactosa, mejoran la textura, realzan el sabor y color, emulsifican y estabilizan, mejoran las propiedades de flujo y muestran muchas otras propiedades funcionales que aumentan la calidad de los productos alimenticios. Basados en el valor nutricional del lactosuero, un número de usos comerciales se han obtenido como etanol, ácidos orgánicos, bebidas no alcohólicas, bebidas fermentadas, biomasa, concentrados, aislados e hidrolizados de proteína, películas comestibles, medio de soporte para encapsular sustancias, producción de xantana, enzimas, separación de la lactosa para fines endulzantes en alimentos entre otras aplicaciones (Parra, 2009).

El lactosuero es un producto contaminante muy rico en lactosa que se genera como residuo durante el proceso de elaboración del queso. Esta sustancia, que alcanza un volumen de cientos de miles de litros al año en toda España, constituye un problema para el sector lácteo. Las pequeñas queserías deben contratar su recogida con grandes productores que disponen de plantas de tratamiento. En caso de verterse a los ríos, suponen un caldo de cultivo de bacterias que consumen gran cantidad de oxígeno, por lo que deterioran la calidad del agua. Expertos del CSIC han hallado una alternativa que permite aprovechar este residuo y formar compuestos químicos que se pueden utilizar tanto en la industria alimentaria como en la farmacéutica y cosmética. Durante la elaboración del queso se genera lactosuero, un residuo muy contaminante de gran carga orgánica. Hay dos alternativas para su gestión: someterlo a transformaciones biológicas encaminadas a su descontaminación o usarlo como base para la producción de compuestos de interés. El grupo de investigadores del Instituto de Agroquímica

y Tecnología de Alimentos (IATA) del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) se ha inclinado por esta última opción (Mayte, 2009).

El Lactosuero es un líquido que se obtiene por la coagulación de la leche en la elaboración del queso, una vez que se separan la cuajada del queso (la caseína) y la grasa. Según el procedimiento utilizado para separar la cuajada del queso, es decir, según que haya sido empleada la coagulación ácida o la coagulación enzimática (por el cuajo), se obtiene lactosuero dulce (por el cuajo) o lactosuero ácido (suero de Quark). El lactosuero ácido contiene lactato de calcio, mientras que el lactosuero dulce contiene una cantidad mayor o menor de calcio dependiendo de que la coagulación se haya realizado en mayor o menor medida por la acidez o por el cuajo (Spreer, 1996).

Cuadro 01: Composición del lactosuero fresco

COMPONENTE	SUERO DULCE	SUERO ACIDO
Agua	93-94%	94-95%
Extracto seco	6-7%	5-6%
Lactosa	4.5-5%	3.8-4%
Ácido láctico	TRAZAS	hasta 0.8%
Proteínas	0.8-1%	0.8-1%
Ácido cítrico	0.15%	0.1%
Cenizas	0.5-0.7%	0.7-0.8%
Valor de pH	6.45	5

Fuente: Spreer, (1996)

### 2.1.2. CONSTITUCION DE LA FRACCIÓN PROTEICA DEL SUERO.

Las proteínas no constituyen la fracción más abundante del suero, pero es la más interesante en los terrenos económico, nutricional, y de las utilizaciones potenciales. El lactosuero conserva las sustancias nitrogenadas de la leche, con excepción de las caseínas. Las proteínas

del lactosuero tienen en efecto un valor nutritivo superior al de las caseínas, debido al hecho de que son más equilibradas en aminoácidos (Linden y Lorient, 1994).

El coeficiente de utilización digestiva y el valor biológico son elevados y próximos a las proteínas del huevo como se puede apreciar en el Cuadro 02.

Cuadro 02: Propiedades nutricionales comparadas de las proteínas del lactosuero de la caseína y de las proteínas del huevo. (g de aminoácidos esenciales/100 g de Proteína).

AMINOACIDO	LACTOSUERO	HUEVO	EQUILIBRIO RECOMENDADO FAO
Treonina	6.2	4.9	3.5
Cisteína	1.0	2.8	2.6
Metionina	2.0	3.4	2.6
Valina	6.0	6.4	4.8
Leucina	9.5	8.5	7.0
Isoleucina	5.9	5.2	4.2
Fenilalanina	3.6	5.2	7.3
Lisina	9.0	6.2	5.1
Histidina	1.8	2.6	1.7
Triptófano	1.5	1.6	1.1

Fuente: Linden y Lorient. (1994)

Cuadro 03: Parámetros biológicos

Parámetros	Proteínas del lactosuero	Caseína	Proteínas del huevo
Coefficiente de eficiencia proteica	3.2	2.5-3.0	3.9
Utilización proteica neta (npu)	95	79	84
Valor biológico ( vb)	100	85	94
Digestibilidad real ( cud)	97	97	97



Fuente: Linden y Lorient. (1994)

Cuadro 04: Composición media de lactosuero en polvo

Propiedad	Lactosuero dulce	Lactosuero ácido
pH	6,4 - 6,6	4,4 - 4,5
Materia seca	70	66
Lactosa	51	42
Proteínas	6 - 7	6 - 7
Materia grasa	0,2	1,0
Materias minerales	4 - 5	7 - 8
Calcio	0,45	1,05
Fósforo	0,4	0,8
Ácido láctico	0	10

Fuente: (MAYTE, 2009)

### 2.1.3. MINERALES Y VITAMINAS

El contenido en minerales del lactosuero que es relativamente elevado en relación al extracto seco, es un escollo para su utilización en la alimentación humana animal y también para los tratamientos tecnológicos, sobre todo con vistas a la preparación de lactosa pura y de proteínas. Es así pues ventajoso el desmineralizarlo utilizando técnicas fisicoquímicas (filtración, ósmosis inversa, electrodiálisis, etc.). El lactosuero contiene la mayor parte de las vitaminas hidrosolubles presentes en la leche (Ver Cuadro 05); es particularmente rico en Riboflavina (que le da su color verdoso) y el contenido por litro en Vitamina B corresponde a la cobertura de una proporción apreciable de las necesidades cotidianas humanas (Linden y Lorient, 1994).

Cuadro 05: Contenido en Vitaminas del lactosuero

Vitamina	Concentración (mg/ml)	Necesidades diarias (mg)
Tiamina (Vit. B1)	0.38	1.5
Riboflavina ( Vit.B2)	1.2	1.5
Acido nicotínico (Vit.B3)	0.85	10-20
Ácido pantoténico (Vit. B5)	3.4	10
Piridoxina (Vit. B6)	0.42	1.5
Cobalamina (Vit. B12)	0.03	2
Ácido ascórbico (Vit. C)	2.2	10-75

Fuente: Linden y Lorient. (1994)

## **2.1.4. PRODUCTOS INDUSTRIALES MODIFICADOS**

### **2.1.4.1.LACTOSUEROS BRUTOS**

Las operaciones de concentración final y secado dependen de una forma importante de la calidad de los sueros de partida y de los tratamientos sufridos. Las pérdidas de calidad más importantes son por una parte, la fermentación láctica que transforma una parte de la lactosa en ácido láctico y que se corresponde igualmente con una proliferación importante de la flora total, y por otra, la degradación y desnaturalización de las proteínas séricas esencialmente ligadas a tratamientos térmicos (Linden y Lorient, 1994).

### **2.1.4.2. LACTOSUEROS MODIFICADOS**

#### **A) LACTOSUEROS DESMINERALIZADOS**

Esta operación consiste en retirar, a partir de un lactosuero dulce de muy buena calidad que contiene muy poco ácido láctico y minerales, una parte de los iones metálicos y del ácido láctico. Generalmente esta operación se efectúa por electrodiálisis o por intercambio iónico. De ella resulta un producto que contiene pocos minerales y cuyas propiedades organolépticas han sido mejoradas. La eliminación de los lípidos residuales mejora la conservación y el poder espumante y emulsificante (Linden y Lorient, 1994).

#### **B) LACTOSUEROS DESLACTOSADOS**

El lactosuero deslactosado en polvo es un subproducto de la fabricación de lactosa. Este proceso se hace mediante evaporación, enfriado y centrifugado. Las proteínas han sido así parcialmente desnaturalizadas por el tratamiento térmico y el contenido en minerales relacionado con el extracto seco es muy elevado. Este producto no es fabricado para la preparación de alimentos específicos y es generalmente utilizado en la alimentación animal (Linden y Lorient, 1994).

## **2.1.5. PROTEINAS DEL LACTOSUERO**

Las proteínas del lactosuero son frágiles y sus propiedades tecno funcionales pueden ser modificadas por los tratamientos aplicados al lactosuero. Una buena utilización de estas proteínas en los alimentos a los cuales son incorporados, necesita un buen conocimiento de su

estructura, de sus propiedades funcionales en función de diferentes factores (medio más o menos complejo, tratamientos, etc.) y de su comportamiento en el curso de las operaciones de preparación que nos encontramos en las diferentes industrias: Galletería, confitería, sopas y salsas, jugos, natas heladas, natillas, etc. como se puede mostrar en el Cuadro 06.

Cuadro 06. Aplicaciones de las proteínas de lactosuero

Productos	Funciones
Productos de panadería galletería	Aporte proteico, retención de agua, gelificante, textura (interacción con el gluten)
Pastas alimenticias	Emulsificante, espumante, retención de agua, gelificante.
Confitería, chocolate con leche	Emulsificante, aroma, textura y dispersabilidad.
Sopas, salsas	Espesante (Interacción con el almidón), emulsificante.
Platos cocinados	Espesante, emulsificante y retención de agua
Harinas lacteadas	Aporte proteico, solubilidad.
Bebidas lacteadas o de frutas	Soluble en caliente y/o pH ácido, espesante
Alimentos dietéticos e infantiles	Aporte proteico, solubilidad y espesante
Quesos naturales y fundidos	Emulsificante, espesante y gelificante.
Cremas, postres flanes y yogures	Emulsificante, Espesante y gelificante
Productos cárnicos (pátes, salchichas, hamburguesas)	Emulsificante, espesante, ligante, gelificante, retención de agua y de materias grasas.

Fuente: Linden y Lorient. (1994)

### 2.1.5.1. ESTRUCTURA Y FACTORES DE ESTABILIDAD DE LAS PROTEINAS DEL LACTOSUERO

#### A) CARACTERISTICAS ESTRUCTURALES

Las dos proteínas mayoritarias, la  $\beta$  - Lactoglobulina (50%) y la  $\alpha$  - Lactoalbúmina (22%), son moléculas globulares compactas con una secuencia primaria uniformemente repartida en

residuos polares (cargados o no) e hidrófobos. La estructura espacial de la  $\beta$ -Lactoalbúmina se asemeja a un cono muy compacto, mientras que la  $\alpha$ -Lactoalbúmina, muy similar a la lisozoma, tiene una forma casi esférica. Son moléculas muy pequeñas en comparación con las otras proteínas del lactosuero (seroalbúmina, enzimas e inmunoglobulinas, proteosa-peptonas)(Linden y Lorient, 1994).

## **B) FACTORES DE ESTABILIDAD**

La estructura de la  $\beta$ -Lactoglobulina depende del pH. Al pH de la leche, se forma un dímero mientras que aun pH inferior a 3.5 y superior a 7.5, los complejos se disocian en monómeros muy desplegados. La desnaturalización térmica se produce entre 50 y 75°C y provoca un desenmascaramiento de grupos SH y un desplegamiento de las moléculas (Spreer, 1996).

### **2.1.5.2. OBTENCIÓN DE DETERMINADOS COMPONENTES (FRACCIONAMIENTO)**

El fraccionamiento del lactosuero persigue principalmente los siguientes objetivos:

- Obtención de proteínas
- Obtención de Lactosa
- Desmineralización

Los procesos de obtención de lactosa y de desmineralización requieren que previamente se haya realizado la desproteización, por lo que se trata de una separación escalonada (Spreer, 1996).

#### **A) OBTENCIÓN DE PROTEÍNAS**

Según Spreer (1996),El lactosuero contiene de media un 0.8% de proteínas (albúminas y globulinas), lo que supone aproximadamente un 20% de la cantidad total de proteínas de la leche. La separación de las proteínas del suero puede realizarse por diversos procedimientos de separación, como:

##### **a) FILTRACIÓN**

La separación se realiza, a veces en unas máquinas de filtro vibratorio-oscilante. El lactosuero fresco (30-50°C y con un pH de 5.6-6.5) se introduce en un recipiente provisto con un mecanismo agitador, donde es removido constantemente para evitar la sedimentación de las

partículas de caseína. Luego se hace pasar el lactosuero, sin sobrepresión a la máquina de filtro vibratorio, realizándose la separación de la proteína por el movimiento vibratorio del filtro. Este método de separación de las proteínas tiene la ventaja de incrementar la efectividad del posterior desnatado del suero.

#### **b) ULTRAFILTRACION**

Ofrece la fundamental ventaja de mantener en su estado nativo a las proteínas, no alterándose éstas por efectos del calor ni por efectos de la acidez. Este proceso se realiza mediante membranas de acetato de celulosa.

#### **c) SEPARACIÓN POR PRECIPITACIÓN**

La precipitación de las proteínas puede provocarse de diferentes formas, por ejemplo con sales neutras, con hidróxido de hierro y de cobre, con colorantes (parto tiazina) o con extractos de plantas que contengan ácido tánico (taninos). En la práctica, el procedimiento más utilizado es el que combina la acción del calor con la acción de la acidez. Consiste en calentar el suero a 90-95°C, lo que provoca la coagulación de las proteínas, aquí se tiene que tener en cuenta el punto isoeléctrico de la caseína (pH=4.65). Para ello hay que hacer que el suero adquiera antes o durante el proceso de calentamiento un valor de pH entre 4.4 y 4.8.

**2.1.5.3. PROPIEDADES FUNCIONALES DE LAS PROTEINAS DE LACTOSUERO**

**CUADRO 07. PROPIEDADES FUNCIONALES DE LAS PROTEINAS DE LACTOSUERO**

<b>PROPIEDAD FUNCIONAL</b>	<b>FORMA DE ACCION</b>	<b>ALIMENTO</b>	
Solubilidad	Formación de compuestos disolvente solvente	Bebidas	En función de pH y el tratamiento térmico acumulado.
Ligado de agua	Puentes de hidrogeno en agua, secuestro de agua	Carnes, salchichas, pasteles y panes	Depende del estado de las proteínas en ese momento.
Viscosidad	Espesante, ligado en agua	Sopas, salsas, salsas ensaladas	Depende del estado previo de desnaturalización de las proteínas.
Gelificación	Formación de la matriz de proteínas y coagulación	Carnes, productos horneados de quesos.	En forma nativa forma un gelrígido, irreversible que retiene agua y grasa y da soporte a la estructura.
Emulsificacion	Formación y estabilización de las emulsiones grasas	Salchicha, salsas ensaladas, blanqueadores para café, sopas , biscochos, alimentos infantiles.	Accionan sobre la interfase aceite-agua.
Espumas/aireación	Formación de film estable	Pasteles aireados, postres rellenos aireados.	Proteína desligada difusión en film sobre la interfase aceite-agua.
Amorronamiento	Generación de reacciones de maillard	Panes, caramelos salsas , carnes para microondas.	Los grupos aminos de las proteínas reaccionan con la lactosa y otros azucares reductores.
Aroma	Reacciones de la lactosa con las proteínas lácteas	Pasteles, caramelos, salsa, sopas, productos lácteos	Reacción de la lactosa con la proteína.

FUENTE: Villalta (2001)

Según Linden y Lorient, (1994) las principales propiedades funcionales de las proteínas del lactosuero son:

**A) SOLUBILIDAD**

Esta propiedad es a menudo un criterio de calidad de los polvos, además está a menudo en relación con las otras propiedades tales como la viscosidad, aptitud para gelificar, emulsificar

o para la formación de espuma. Depende de factores como: pre-tratamiento de separación, métodos de concentración y secado, el pH, la fuerza iónica, la temperatura etc. La solubilidad resulta sobre todo fuertemente disminuida en el pH tras desnaturalización.

#### **B) ABSORCIÓN DE AGUA – HINCHAMIENTO**

Las proteínas del lactosuero absorben poco agua (0.5g/g) pero una termo desnaturalización (80°C – 45 segundos) mejora la capacidad de fijación.

#### **C) COAGULACIÓN-GELIFICACION**

La coagulación puede ser considerada como una agregación desordenada tal como la que se produce por termo desnaturalización al pH medio de las proteínas del lactosuero (4,9-5,2). La gelificación implica la formación de una red continua más o menos ordenada tras desplegamiento de las cadenas polipeptídicas. La firmeza de los geles depende: del pH, del Tratamiento térmico, de la concentración proteica y de los glúcidos presentes.

#### **D) PROPIEDADES EMULSIFICANTES**

Las propiedades son debidas a la facultad de reducir las tensiones interfasiales entre componentes hidrófilos e hidrófobos, está con frecuencia ligada a la solubilidad de la proteína en el agua.

#### **E) PROPIEDADES ESPUMANTES**

Estas propiedades resultan de un desplegamiento en la interfase agua / aire. El esponjamiento máximo y la estabilidad de las espumas proteicas del lactosuero son excelentes si las proteínas están purificadas y si el pH está próximo a la neutralidad. La termo desnaturalización es un factor de mejora.

### **2.1.6. IMPORTANCIA Y APROVECHAMIENTO DEL LACTOSUERO NO TRANSFORMADO**

#### **A. IMPORTANCIA**

Según Spreer (1996), Antiguamente el lactosuero se tendía a considerar un producto residual que, en parte, no se aprovechaba. Sin embargo el lactosuero es un sub producto rico en componentes valiosos cuya obtención, es decir, aprovechamiento, presenta una gran importancia para la economía de la industria láctea. Su importancia reside en los siguientes aspectos:

- a) Aprovechamiento completo y efectivo de la leche como materia prima.
- b) Obtención de componentes lácteos de alto valor para emplear en la industria alimentaria y como alimento para el ganado.
- c) Reducción de las aguas residuales conforme a lo dispuesto en las leyes de protección del medio ambiente (valor  $CBO_5$  del lactosuero = 30.000-60.000 mg de  $O_2$  por litro de aguas residuales).

## **B. APROVECHAMIENTO**

Según Spreer (1996), Una gran parte del lactosuero se destina, en forma de lactosuero entero no transformado, a la alimentación animal, casi exclusivamente para el cebo del ganado porcino. No obstante con la carne de los cerdos cebados con suero sólo se aportan para la alimentación humana del 20 al 40% de los nutrientes contenidos en el lactosuero. La ciencia de la nutrición animal busca constantemente nuevas maneras para aprovechar mejor el suero, lo que se consigue gracias a la obtención de componentes lácteos aislados, pero a la vez se ha de intentar destinar cada vez más componentes del suero a la alimentación humana.

## **C. BEBIDAS DE SUERO**

Según Spreer (1996), La elaboración de suero líquido supondría un aprovechamiento adecuado del lactosuero. El problema radica en que el característico sabor que presenta este producto y los efectos que provoca la lactosa en el organismo humano atraen poco a los consumidores, la solución a este problema se halla en la elaboración de bebidas de suero.

La adición al suero de aromas frutales, de proteínas vegetales y de permeados séricos reducidos en su contenido de lactosa, entre otras sustancias, se traduce en la obtención de productos completamente diferentes que, una vez esterilizados y envasados asépticamente, gozan en algunos países de una considerable acogida. Otra forma de reducir el contenido de lactosa es su desdoblamiento enzimático mediante una enzima, la lactasa Spreer (1996).

### **2.1.7. APROVECHAMIENTO INDUSTRIAL**

Según Spreer (1996), El tratamiento industrial ofrece dos posibilidades:

- a) Concentración de lactosuero completo
- b) Obtención de una serie de componentes aislados del lactosuero (fraccionamiento)



Según Spreer (1996), El rendimiento en componentes y la calidad de los productos acabados dependen en gran medida de la composición y de la naturaleza del suero. El suero presenta fundamentalmente dos problemas:

- El elevado contenido de agua, (>93%), cuya reducción implica un gran esfuerzo energético, que conlleva unos elevados costes.
- El suero es un producto que se deteriora fácilmente, debido al elevado contenido de gérmenes que presenta y al rápido desdoblamiento de los componentes que esto implica.

La norma TGL 31974 establece para el suero industrial los siguientes requisitos: Contenido de Grasa: como máximo 0.05%, Contenido de Lactosa: 4.4% (sólo para el suero dulce), Índice de SH: Hasta 12 para el suero dulce y >12 para el suero ácido, Densidad a 20°C: 1,023 – 025 g /cm<sup>3</sup>(Spreer, 1996).

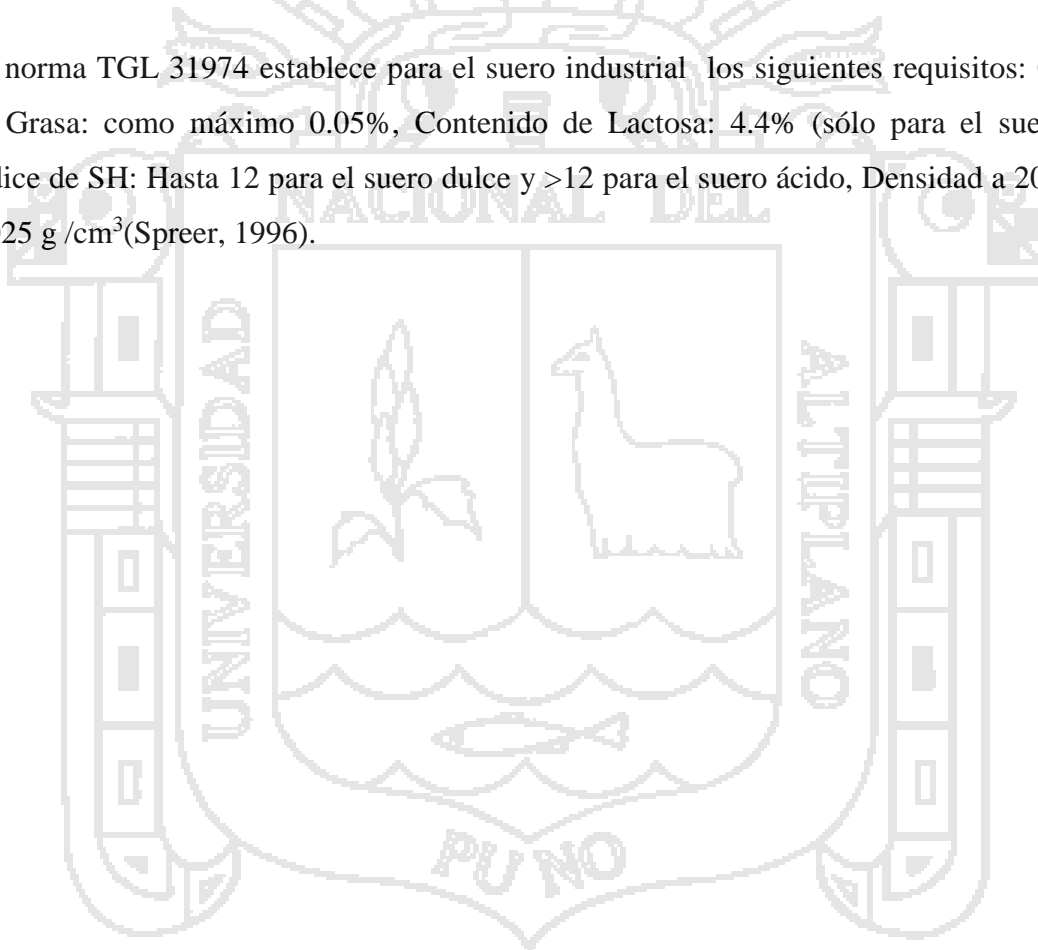
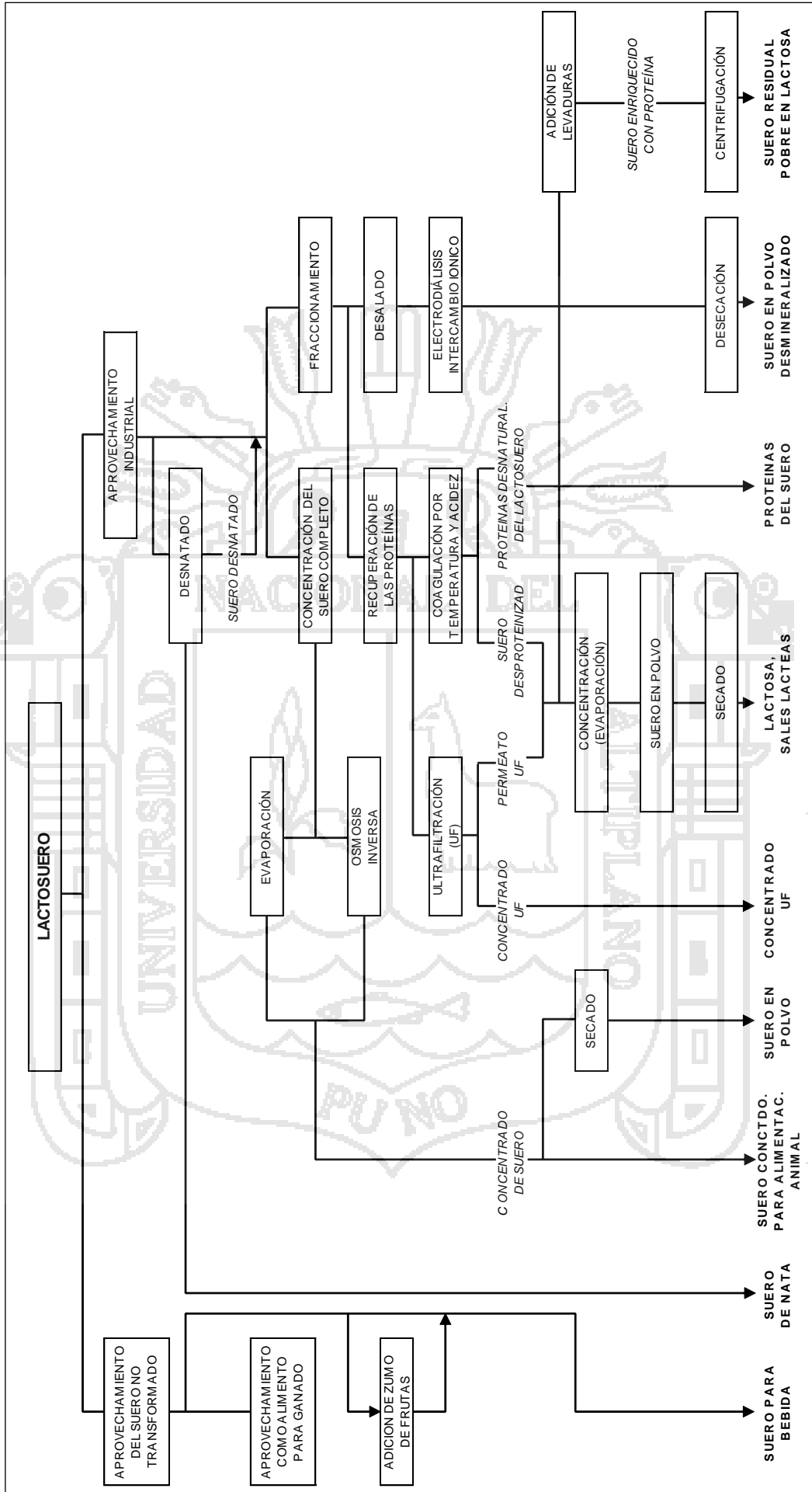


Figura 01. Posibilidades de aprovechamiento del lactosuero



Fuente: “Lactología Industrial”. (Spreer, 1996).

## **2.2. LAS FRUTAS**

### **2.2.1. DEFINICIÓN**

Las frutas son los alimentos vegetales que forman parte de la dieta alimenticia del hombre, estos son brindados generosamente por la naturaleza con amplia variedad de forma y gustos, se ha mejorado muchas especies por cultivo, hibridación y otros recursos genéticos, se consume según la especie, frescos tal como se cosecha, cocidos o conservados por distintos procedimientos tales como jugos, mermeladas, jaleas, postres, etc. (Chire, 2002).

Son alimentos de origen vegetal, con amplia variedad de sabores agradables, pueden satisfacer las necesidades ya que son gran fuente de proteínas, su gran facilidad por ser digeridas permite un descanso al sistema digestivo, desde el punto de vista nutritivo el ácido ascórbico es el único nutriente en el cual las frutas son ricas, también son fuente de fibra dietética y casi todos contienen cantidades pequeñas de caroteno (Chire, 2002).

### **2.2.2. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS FRUTAS**

Las frutas son ricas en carbohidratos, vitaminas y sales minerales. Las frutas entre más verdes contienen más almidón y menos azúcares, por lo tanto, si se consumen de esta manera debe ser previa cocción para hidratar el almidón y volverlo digerible (mermeladas, jaleas, etc.). En las frutas aumentan los azúcares con la maduración y disminuye el almidón, también bajan la acidez y el tanino; el agua, las proteínas y las cenizas se mantienen sin mayor variación. Las frutas con nada o muy poco almidón contienen disacáridos y monosacáridos de fácil digestión tolerados perfectamente por niños y ancianos. Las muy maduras, pueden llevar a fermentaciones alcohólicas, lácticas y acéticas, utilizadas en la industria de alcoholes y vinagres(Chire, 2002).

### **2.2.3. CLASIFICACIÓN DE LAS FRUTAS**

Según Chire, (2002).Frutas maduras proporcionan glucosas como los azucares principales, las frutas son gran fuente de vitamina y algunos minerales, existe una gran variedad de frutas a las cuales se las clasifica en tres grupos que son:

- **Frutas ácidas.**- Limón, toronja, pomelo, lima, naranja, mandarina, manzana, piña, durazno, melocotones, ciruela, cereza, guinda, capulí, fresa, frutilla, mora, melón, , guayaba, tumbo, membrillo, granada, maracuyá.
- **Frutas dulces.**- Higo, granadilla, pera, pacay, uva, chirimoya, papaya, tuna, mango, kiwi.
- **Frutas oleaginosas.**- Nuez, lúcuma, castaña, aceituna, almendra, maní, coco y palta.

#### 2.2.4. COMPOSICIÓN DE LAS FRUTAS

Según Chire, (2002). Las frutas contienen agua desde 75 a 90%, carbohidratos de 6 a 24%, proteínas, grasas, minerales, vitaminas, ácidos orgánicos y pigmentos. La acidez de las frutas tiene importancia en la elaboración de productos como mermeladas, néctares, etc.

#### 2.2.5. LA NARANJA

##### A) DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE LA NARANJA

Según Habibullah, (2002). El naranjo es un árbol que alcanza de 5 a 15 metros de altura, muy a menudo espinoso y de follaje denso, perenne, de un color verde generalmente oscuro, y de los brotes de un verde más claro. Tienen un tiempo de vida entre 200 a 300 años, pero comercialmente la vida está fijada entre 50 a 60 años.

Las frutas tienen color y formas variables, que van desde el amarillo verdoso hasta el anaranjado intenso, de la forma oblonga a la esférica, tienen tamaño diverso, con una corteza espesa a en relación con el tamaño.

Según Ticona, (2001). El naranjo se clasifica botánicamente en el siguiente orden taxonómico:

- Clase : *Dicotyledóneae*
- Sub orden : *Disciflorae*
- Orden : *Sapinales*
- Familia : *Rutaceae*
- Género : *Citrus*
- Especie : *Sinensis*

##### B) CARACTERÍSTICAS DEL FRUTO

La naranja como fruto es una Baya especial, formada por una piel externa más o menos rugosa y de color anaranjado, con abundantes glándulas que contienen un aceite esencial

perfumado, y una parte intermedia adherida a la anterior, blanquecina y esponjosa (fibra). Finalmente, posee una parte más interna y más desarrollada, dividida en una serie de gajos.

La piel externa se denomina Exocarpio o Pericarpio; la capa blanca se llama Mesocarpio, y el interior de la fruta que constituye la parte comestible es el Endocarpio, formado por 7 a 12 gajos carnosos y pequeñas vejigas rebosantes de zumo.

Su punto de maduración, viene marcada por la correcta proporción de azúcar y acidez. Cuanto más cálido es el lugar donde se cultiva la naranja, más proporción de azúcar contiene. Por eso en lugares algo fríos pueden desarrollarse buenos tamaños de naranjos, como se comprueba en Galicia, pero son poco dulces. (Habibullah, 2002).

El jugo de naranja es generoso en vitaminas. Junto a la gran cantidad de vitamina C que es altamente asimilable, se encuentran la vitamina A en forma de caroteno, B1, B2 y B6; también es muy rico en sales minerales, sobre todo Potasio y Calcio. De todas las frutas, la naranja, la mandarina y el limón son las que más calcio contienen. (Habibullah, 2002).

Otros componentes destacables son:

- Ácidos orgánicos como el Cítrico y el Málico, responsables de su acidez; azúcares en total más del 7%.
- Fibra (celulosa y pectina).
- Glucósido flavónicohesperidina, de efecto protector sobre los vasos sanguíneos y coadyuvante de la vitamina C.

La similitud en la composición de los frutos agrios se manifiesta especialmente los frutos cítricos cuyas semejanzas hacen que sus características no difieran mucho, solo algunas de ellas tal como se muestra en el Cuadro 8:

Cuadro 08: Composición de la naranja

<b>COMPONENTES DE LA NARANJA (%)</b>	
<b><u>Composición del fruto</u></b>	
Jugo de la pulpa	49.0
Pepa, fibra y celdilla	5.0
Cáscara	46.0
<b><u>Composición del jugo</u></b>	
Agua	87.6 – 90.7
Sólidos solubles	10.0
Sólidos insolubles	2.4

Fuente: (Habibullah, 2002).

## 2.2.6. ZUMO DE NARANJA

### 2.2.6.1. CARACTERÍSTICAS DEL ZUMO DE NARANJA

Zumo (jugo) sin fermentar, pero fermentable, destinado al consumo directo, obtenido por procedimiento mecánico del endocarpio de naranjas (*Citrus sinensis* (L), Osbeck), maduras y en buen estado, conservado por medios físicos exclusivamente. El zumo podrá contener hasta el 10% m/m de zumo de mandarina (*Citrus reticulata* Blanco). El zumo podrá haber sido concentrado y luego reconstituido con agua adecuada para conservar los factores esenciales de composición y calidad del zumo (Jordan, 1999).

El zumo (o jugo) de naranja es un zumo de frutas en forma de líquido obtenido de exprimir el interior de la naranjas (*Citrus sinensis*), generalmente con un instrumento denominado exprimidor. El mayor exportador de zumo de naranja es Brasil, seguido de Estados Unidos (principalmente Florida). Los usos culinarios del zumo de naranja son diversos y participan principalmente como refresco. El zumo de naranja es un producto alimenticio complejo compuesto de diversos ingredientes, hoy en día puede adquirirse exprimido en envases de tetra brick en casi cualquier supermercado. (Graumlich, Marcy, 1986).

El zumo de naranja fresco tiene un sabor frutal y ácido. Contiene gran cantidad de vitamina C (ácido ascórbico). Algunas fábricas añaden ácido cítrico o ácido ascórbico a sus productos, además de otros nutrientes como el calcio y la vitamina D. El zumo de naranja parece más nutritivo que las versiones sin pulpa debido a la existencia de flavonoides que existen en la pulpa.<sup>2</sup> La calidad del zumo de naranja se ve influenciada principalmente por factores microbiológicos, enzimáticos, químicos y físicos, que suelen ser los que comprometen las características organolépticas (aroma, sabor, color, consistencia, estabilidad y turbidez, separación de las fases sólidas/líquidas) así como las características nutricionales (vitaminas). En conjunto estos factores y sus alteraciones se producen durante la cadena de refrigeración, distribución y almacenamiento del producto. (Tocchini y Nisida, 1995)

#### 2.2.6.2.FACTORES ESENCIALES DE COMPOSICION Y CALIDAD

Según Jordan, (1999). Los factores esenciales de composición y calidad son:

- a) **Sólidos solubles:** El contenido de sólidos de naranja solubles del zumo (jugo) de naranja (con exclusión de los azúcares añadidos) no será menor del 10% m/m determinado con refractómetro a 20°C, sin corregir la acidez, y expresado en °Brix en las Escalas Internacionales de Sacarosa. Cuando el zumo se haya obtenido empleando zumo concentrado con la adición de agua, el contenido de sólidos solubles del zumo de naranja no será menor del 11% m/m, determinado con refractómetro a 20°C, sin corregir la acidez, y expresado en °Brix en las Escalas Internacionales de Sacarosa.
- b) **Azúcares:** Podrán añadirse uno o más de los azúcares sólidos definidos por la Comisión del Codex alimentarius. La cantidad total de azúcares añadida no excederá de 50 g/Kg.
- d) **Ácidos volátiles:** Sólo se permiten trazas de ácidos volátiles.
- e) **Aceites esenciales:** El contenido de aceites esenciales no excederá de 0,4 ml/Kg.
- f) **Propiedades organolépticas:** El producto deberá tener el color y sabor característicos del zumo (jugo) de naranja. Se permite la restitución de los componentes volátiles naturales del zumo de naranja a cualquier zumo de naranja del que se hayan extraído dichos componentes volátiles naturales del zumo de naranja.

Cuadro 09: Propiedades del Zumo de Naranja

Valores nutricionales por 100g.							
Agua	86,75	Cenizas	0,44g	Fibras	2,4g	Valor	47Kcal
Carbohidrat	11,75	Azucares	9,35g	Proteínas	940g	Lípidos	120mg
Oligoelementos							
Potasio	181m	Calcio	40mg	Fósforo	14mg	Magnesio	10mg
Hierro	100ug	Zinc	70ug	Cobre	45ug	Sodio	0mg.
Vitaminas							
Vitaminas C	53,2m	Vitamina B1	87ug	Vitamina B2	40ug	Vitamina B3	282ug
Vitamina B5	250ug	Vitamina B6	60ug	Vitamina B9	0	Vitamina B12	0
Vitamina A	225ug	Retinol	0	Vitamina E	0,18u	Vitamina K	0
Acidos Saturados							
Saturados	15mg	Mono-insaturados	23mg	Poli-insaturados	25mg	Colesterol	0

Fuente: Jordán, 1999

## 2.3. ESTEVIA

### 2.3.1. GENERALIDADES DE ESTEVIA

La Estevia (*Stevia rebaudiana B.*) es una planta dicotiledónea, del orden *campanulares*, familia *asteraceae*; *semiperenne* y oriunda del Paraguay; tiene un principio activo denominado *esteviósido* y *rebaudiósido* A. que al endulzar los productos de manera natural revoluciona el campo de los edulcorantes dada sus bondades terapéuticas ante enfermedades como la diabetes. Es usada, en bebidas, alimentos dietéticos y medicina; se presenta en el mercado en hoja seca entera y procesada en diferentes niveles: (picada, molida, pulverizada), filtrantes, jarabes, tinturas, extracto líquido o en polvo y en forma cristalizada (INCAGRO, 2008).



### 2.3.2. ORIGEN

Esta planta fue introducida al Perú hace una década y actualmente se ha incorporado en el portafolio de cultivos en pequeñas extensiones en Cajamarca, Amazonas, San Martín, Ucayali y Apurímac de manera orgánica. La stevia no se presenta como un cultivo que desplace a cultivos tradicionales como el café, maíz, etc., sino como un rubro complementario en la diversificación productiva y una alternativa económica para el minifundio permitiendo un ingreso adicional a los agricultores (INCAGRO, 2008)

### 2.3.3. DESCRIPCION BOTANICA

*Steviarebaudiana*, pertenece a la familia *Asteraceae*, es una planta herbácea perenne, tallo erecto, sub. leñoso, pubescente; durante su desarrollo inicial no posee ramificaciones, tornándose multicaule después del primer ciclo vegetativo, llegando a producir hasta 20 tallos en tres a cuatro años; puede alcanzar hasta 90 cm de altura en su hábitat natural y en los trópicos puede llegar a tener alturas superiores a 100 cm. La raíz es, pivotante, filiforme, y no profundiza, distribuyéndose cerca de la superficie (Shock, 1982).

La *Steviarebaudiana*, tiene hojas elípticas, ovales o lanceoladas, algo pubescentes; presentan disposición opuesta en sus estados juveniles, y alternas cuando las plantas llegan a su madurez fisiológica, previa a la floración. La flor es hermafrodita, pequeña y blanquecina; su corola es tubular, pentalobulada, en capítulos pequeños terminales o axilares, agrupados en panículas corimbosas (Shock, 1982).

La planta es auto incompatible, por lo que la polinización es entomófila; se dice que es de tipo esporofítico y clasificada como apodíctica obligatoria. El fruto es un aquenio que puede ser claro (estéril) u oscuro (fértil) y es diseminado por el viento. Se clasifica como una planta de día corto, situando el foto periodo crítico de 12 a 13 horas según el ecotipo (Monteiro, 1982).

Existen otras especies como: *Steviaeupatoria*, *S. obata*, *S. plummerae*, *S. salicifolia*, *S. serrata*. En Ecuador se han determinado *S.* y *S. bertholdii* en Chimborazo e Imbabura: *S. crenata*; en Loja *S. bertholdii*; en Pichincha, *S. anisostemma*, *S. crenata*, *S. dianthoidea*., en Tungurahua *S. tunguraguensis*. (Monteiro, 1982).

#### **2.3.4. PROPIEDADES**

La propiedad más importante de la Stevia se encuentra en sus hojas. Se trata del edulcorante natural llamado esteviósido, que está constituido por una mezcla de ocho glucósidos diterpénicos (principalmente el esteviósido y el rebaudiósido, entre otros). Los investigadores franceses Bridel y Lavielle, (1931), cristalizaron el principio edulcorante y llegaron a la conclusión de que el esteviósido, en su estado más puro, es 300 veces más dulce que la sacarosa y no posee efectos tóxicos para la salud. Demostraron que el esteviósido, compuesto por carbono, hidrógeno y oxígeno, es el edulcorante más dulce que existe en la naturaleza (Landazuri, 2009).

Las propiedades edulcorantes de la hierba dulce son ideales para satisfacer las necesidades de consumidores que deben controlar la ingesta de azúcares por padecer problemas de salud vinculados a desórdenes metabólicos como la diabetes. También para aquellas personas con dificultades para ingerir azúcar en exceso, ya sea por intolerancia o problemas vinculados a la obesidad. Stevia puede usarse en infusión y beberse como cualquier té o bien utilizar el preparado para endulzar otras bebidas o alimentos (Landazuri, 2009).

El extracto obtenido de la Stevia es usado como edulcorante de mesa y como aditivo para endulzar diversos tipos de preparados tales como bebidas, gaseosas, confituras, repostería, salsas, pickles, productos medicinales, de higiene bucal, gomas de mascar y golosinas (Landazuri, 2009).

#### **2.3.5. FORMAS DE UTILIZACION**

##### **A) USOS DE LA ESTEVIA COMO ENDULZANTE**

Los usos de la Stevia como edulcorante van desde las formas al natural hasta la forma cristalizada (steviósido). En la forma natural las hojas de stevia se usan como infusiones dulces, masticado como caramelos naturales; además de su uso pulverizado y micropulverizado. Las infusiones dulces obtenidas de las hojas de stevia se puede usar como agua de tiempo, edulzante de hierbas aromáticas, agua base para refrescos y limonadas, jugos de frutas y lácteos.

Las hojas al natural masticadas, provee un dulce natural inhibidor de la ansiedad por los caramelos, chocolates y otras formas de dulce; además de reducir la placa bacteriana. Las

hojas pulverizadas y micropulverizadas tienen importantes usos, tales como la elaboración de filtrantes los que permiten ser utilizados como endulzante de otras infusiones o bebido solo; la steviamicropulverizada al mezclarse con otras plantas medicinales de sabor amargo aumenta su palatabilidad y reduce el amargor hasta en un 50%; además en no influir en las propiedades como lo hacen el azúcar y otros edulcorantes. (Landazuri, 2009).

Es a pesar de ser de sabor dulce, no aumenta la concentración de glucosa en sangre (lo que hace apto para diabéticos). Por este motivo se lo utiliza como endulzante no calórico natural.

Endulza unas 250 a 300 veces más que la sacarosa, y no trae problemas de salud como los edulcorantes artificiales. Además, se le conocen las siguientes propiedades: Beneficioso para diabéticos no insulino-dependientes: Estimula en forma directa las células beta del páncreas, generando una buena cantidad de insulina en personas afectadas con diabetes tipo 2. Hipotensor: Posee un efecto hipotensor, propiedad que resulta beneficiosa a personas hipertensas (Landazuri, 2009).

## **2.4. BEBIDAS A BASE DE LACTOSUERO**

### **2.8.2 GENERALIDADES**

Se trata de bebidas económicas consistentes en lactosuero, agua, acidulantes, azúcares, saborizantes, colorantes, etc. Envasadas en plástico y dirigidas principalmente al segmento de mercado de niños. Las bebidas comerciales de este tipo contienen entre cerca de 30% y 90% de lactosuero (Jelen, 1997).

Son bebidas pasteurizadas y envasadas a temperatura no menor de la pasterización, bajo condiciones en que el ambiente del área de envasado sea de calidad microbiológica controlada. Desde el punto de vista comercial, pudiera ser de interés que estas bebidas estuvieran enriquecidas con vitamina C y con calcio (Jelen, 1997).

Este tipo de bebidas refrescantes se puede fabricar también a base de lactosuero residual desproteinizado resultante de la elaboración de requesón. En la práctica, este lactosuero contiene alrededor de 0.4% de proteína, menos de 0.1% de grasa y un poco más de 5% de lactosa y minerales. Debido al alto contenido de lactosa, su poder contaminante sigue siendo

penetrante como el lactosuero de quesería, por lo que sigue siendo importante darles uso, preferentemente que tenga valor agregado (Inda, 2000).

Una manera de hacer bebidas refrescantes es como la que se describe en el cuadro 10. El procedimiento consiste en filtrar el lactosuero para eliminar partículas pequeñas de queso, diluirlo 1:1 (una parte de lactosuero y una parte de agua purificada), añadir alrededor de 8% de azúcar (8 kg. de azúcar por 100 litros de bebida, añadir jugo de alguna fruta disponible (limón, naranja, toronja, maracuyá, mora, piña, mango, etc. Solos o en combinación) en cantidad de 10% o más, pasteurizar la bebida de la manera usual y 0°C) en un recipiente de plástico o vidrio, previamente higienizada que tenga tapa hermética de preferencia a base de rosca (Inda, 2000).

Cuadro 10: Ingredientes y composición sugerida para una bebida refrescante de lactosuero de alto contenido energético

<b>Ingredientes</b>	<b>Unidades</b>
Lactosuero	40%
Azúcar	8%
Jugo de frutas	10%
Sorbato de potasio	0.1%
Agua	40%
<b>Composición</b>	<b>Unidades</b>
Materia grasa	0-01%
Proteína	0.15%
Carbohidratos	11%
Minerales	0.1%
Sólidos totales	11.5%
pH	3-4%
Contenido energético	45.83 Kcal/100ml

Fuente: Inda, 2000.

De esta manera, por cada 100 litros de lactosuero residual, se obtendrá por lo menos 250 litros de bebida refrescante. En este caso se puede considerar el uso de un conservador, si la cadena comercial no garantiza que la bebida estará siempre en refrigeración a temperatura no mayor

de 4°C. Puesto que el lactosuero residual tiene un pH cercano a 5.5 y los jugos son de frutas ácidas, el conservador adecuado es el sorbato de potasio y la dosificación máxima es de 0.1% (100g por cada 100kg de bebida).

La función de un conservador es conservar una buena calidad que ya existe, pero no puede mejorar. Es decir, además de usar el conservador sigue siendo esencial usar buenas prácticas de manufactura –BPM (Inda, 2000).

### 2.8.3 REQUISITOS GENERALES DE LA BEBIDA REFRESCANTE

Debe elaborarse en buenas condiciones sanitarias, con frutas maduras, frescas y limpias sin restos de sustancias tóxicas. Puede prepararse con pulpas concentradas o con frutas previamente conservadas siempre que cumplan los requisitos mencionados. (Inda, 2000)

### 2.8.4 REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS DE UNA BEBIDA

**En el Cuadro 11, se observa los límites aceptables de microorganismos en la bebida.**

Cuadro 11: Requisitos microbiológicos

Agente microbiano	Limite por ufc/ml	
	m	M
Aerobios mesófilos	100	1000
Mohos y levaduras	10	30
Coliformes	0	0

Fuente: DIGESA- MS, 2004

**Dónde:** m = Límite mínimo aceptable      M= Límite máximo aceptable

## 2.9 EL AGUA EN LA INDUSTRIA DE BEBIDAS

El sector de la industria alimentaria es otro gran consumidor de agua algo de la cual se convierte en parte de producto terminado. El agua en el producto debe ser desde luego potable; además hay normas dentro de la industria que se refieren al efecto de la calidad del agua sobre sabor de la bebida terminada, en la industria de las bebidas no alcohólicas como néctares de fruta, jugos, etc. Es común el ablandamiento con cal del agua para reducir su dureza y su

alcalinidad, ya que esto destruye el sabor de los extractos de frutas ácidas. El agua tratada es filtrada y luego pasada a través del carbón activado como precaución final para remoción de cloro y cualesquiera sabores y olores residuales (Kemmer, 1982).

Cuadro 12: Valores Físicoquímicos del agua utilizada en la industria de bebidas.

Item	Parámetros	Unidad de Medida	Concentración o valor
1	Color	mg/L PL/C o escala	15
2	Turbiedad	Unidades Nefelométricas de Turbiedad	5 10
3	Olor		inofensivo
4	Sabor		inofensivo
5	Ion hidronios (i)	Valor pH	6.5 a 8.5
6	Conductividad	$\mu\text{S}/\text{cm}$	1500
7	Sulfato (ii)	mg/l como $\text{SO}_4$	400
8	Cloruro	mg/l Cl	400
9	Calcio	mg/l como Ca	30 – 150
10	Magnesio	mg/l como Mg	30 – 100
11	Sodio	mg/l como Na	200
12	Alcalinidad	mg/l como $\text{CaCO}_3$	25
13	Dureza total	mg/l como $\text{CaCO}_3$	100 – 500
14	Hierro	ug/l Como Fe	300

Fuente. INDECOPI, 2001.

## 2.10 RADIACION LUZ ULTRAVIOLETA

Los efectos de la radiación con luz UV sobre los microorganismos pueden variar de especie a especie y, entre cepas de la misma especie, del medio de cultivo, estado del cultivo, densidad de microorganismos y otras características como el tipo y composición del alimento. La radiación absorbida por el DNA puede tener el crecimiento celular y producir la muerte celular (Liltved y Indfald, 2000). La luz UV-C que absorbe el DNA causa un cambio físico de electrones que provoca la ruptura de los enlaces del DNA, retrasar la reproducción o muerte

celular (Anonymous, 2002a). Esto significa que el efecto bactericida de la UV-C es básicamente a nivel del ácido nucleico (Wright et al., 2000). Un enlace cruzado entre tiamina y citosina (Nucleotido de bases Pirimidicas) en la misma cadena de DNA ocurre por la radiación de UV-C. Los fotoproductos más comunes de DNA son dímeros ciclobutilpirimidina. (Guerrero y Barboza, 2009)

El cloro es el desinfectante más empleado para productos procesados en fresco, pero puede producir unos productos secundarios llamados cloraminas y trihalometanos, perjudiciales para el ser humano. Por ello, se están buscando alternativas al cloro tales como emplear “salas blancas” e irradiación ultravioleta visible corta (UV-C), entre otras.

La utilización de “salas blancas” como recintos técnicamente limpios, es una técnica innovadora que contribuye a frenar el crecimiento microbiológico, prolongando así la vida útil del producto. Con su aplicación, Con esa et al. (2005) redujeron en  $1 \log_{10} \text{ufc} \cdot \text{g}^{-1}$  la población psicrotrofa inicial de arilos de granada mínimamente procesados en fresco. Asimismo, se ha comprobado que la aplicación de radiación ultravioleta corta (UV-C, 254 nm) a diferentes productos vegetales, controla el crecimiento microbiano y retrasa los procesos asociados con su maduración y senescencia. Se ha citado la reducción de crecimiento de patógenos pos-cosecha en fresa (Marquenie et al., 2002), uva Nigro, etc, al., 1998), calabacín (Erkan, et al., 2001) y lechuga (Allende y Artés, 2003 a y b). Al parecer la radiación UV-C induce la acumulación de sustancias naturales antifúngicas que limitan el crecimiento microbiano. Según Lamikanra et al. (2002), al exponer melón cantaloupe a radiación UV-C se modifica la composición de los volátiles presentes, sintetizándose compuestos terpenoides cíclicos y acíclicos como las fitoalexinas  $\beta$ -ionona, 1,82 geranilacetona y terpenil acetato, responsables de la reducción en el crecimiento microbiano. (Allende y Artes, 2003).

Las tecnologías para el procesamiento y conservación de alimentos deben mantener las características del alimento como aun si encontrado frescos mientras proveen de aceptable y vida útil en anaquel, así mismo ofrecen seguridad microbiológica y valor nutricional. Los procesos no térmicos que han sido aplicados para la conservación de alimentos sin efecto colateral en tratamientos han sido intensamente estudiados y evaluados. Uno de los procedimientos es la irradiación al alimento con luz ultravioleta de onda corta (UVC). La luz ultravioleta ha sido reportada como un método efectivo para la inactivación de microorganismos. La tecnología ultravioleta ha sido conocida desde hace 60 años (López, 2001).

## A) TECNOLOGIA DE LUZ ULTRAVIOLETA

La foto reactivación puede ocurrir cuando las células donadas por UV-C se exponen a longitudes de onda mayores a 330nm (Liltved y Landfald, 2000). El daño ocurrido a nivel DNA se puede reparar por factores proteínicos (DNArepara genes) (Y ajima et al., 1995).

La separación del ácido nucleico con tratamiento con luz UV-C se puede foto reactivar (luz fluorescente) debido a la activación de la enzima fotoliasa que monomeriza los dímeros (separación de tiamina y otras piridinas) formados después del proceso de radiación. (Stevens et al., 1998).

Sin embargo un ambiente oscuro puede evitar la foto reactivación de productos irradiados. (Guerrero y Barboza, 2009)

Los distintos métodos de conservación de alimentos pretenden incrementar la vida útil de los productos durante su almacenamiento, idealmente, aplicando técnicas que logren impedir alteraciones microbiológicas pero manteniendo la calidad. La eficacia de estos métodos depende principalmente del cuidado de la higiene durante su producción, siendo su objetivo disminuir la carga microbiana y evitar su desarrollo. Para tal fin muchos productos son tratados térmicamente, técnica que muchas veces modifica las características, tanto sensoriales (textura, sabor y color), como nutricionales (pérdidas de vitaminas, principalmente) del alimento.

Debido a estos efectos adversos del tratamiento a altas temperaturas, se encuentran en desarrollo procesos no térmicos de conservación, también denominadas tecnologías suaves. Son poco agresivos y tienen la ventaja de ofrecer productos semejantes a los frescos y por lo tanto acorde con las demandas actuales del mercado, pero sin perder sus garantías en materia de inocuidad. (Dominguez y Parzanese 2004).

En Alimentos líquidos la radiación UV se utiliza para desinfectar agua, ya sea para ser comercializada como tal o en la industria de bebidas. Asimismo se emplea para desinfectar agua de proceso, por ejemplo en transporte de peces a criaderos, en la desinfección del agua que resulta de la depuración de moluscos; ya que no deja residuos químicos que puedan afectar la vida de los animales, asegurando una elevada reducción de microorganismos, sin alterar olor, color o pH. También, se utiliza para desinfectar y aumentar la vida útil de jugos de frutas

y verduras. Cabe destacar que el poder de penetración disminuye cuando se tratan líquidos que no son transparentes y/o con sólidos en suspensión. Los líquidos con buena transmitancia de luz no presentan inconvenientes en el tratamiento con radiación UV, la baja



transmitancia está asociada a la concentración inicial de microorganismos, partículas en suspensión, color y composición del producto. El agua por ser un líquido transparente tiene el mayor índice de transmisividad. Vale resaltar que el poder germicida de la radiación disminuye al aumentar la distancia desde la fuente de luz. Por esto, el tiempo de exposición, la dosis y el perfil de flujo son clave para lograr la reducción microbiana necesaria. Como ejemplo se puede mencionar que la penetración de luz UV en jugos es de aproximadamente 1mm para obtener una absorción del 90% (Sizer y Balasubramaniam, 1999). En estos alimentos es muy importante asegurar un flujo turbulento a fin de lograr una mayor eficiencia de contacto de la radiación con el producto. (FDA, 2004)

La luz es una radiación electromagnética (energía radiante), que viaja a través de longitudes de onda. Esta energía viaja a través de un camino lineal y en varias direcciones de su fuente emitida, que usualmente es una lámpara. Irradiación UVC es llamada irradiación UV germicida, ya que la mayoría de los microorganismos absorben la luz ultravioleta a una longitud de onda 254nm, la cual es la suficiente para causar un cambio físico en los electrones y un rompimiento de los puentes en el ácido desoxirribonucleico (ADN) previniendo su vida y reproducción (López, 2001).

Hace varios años se están investigando los efectos de la luz sobre bacterias y otros organismos, lo que comenzó a partir del concepto del daño celular causado por la incidencia de la radiación solar sobre organismos vivos. Posteriormente se estudió el efecto producido por radiaciones monocromáticas del espectro ultravioleta (UV). Las aplicaciones de este método comenzaron alrededor de 1901 cuando se logró producir luz artificialmente. Esta técnica se emplea para desinfectar aire, agua y superficies de materiales con posible contaminación biológica (virus, bacterias, esporas, mohos, levaduras). En la industria de alimentos se utiliza para desinfectar por ejemplo cintas transportadoras, láminas y tapas de cierre, envases; como también superficies de algunos alimentos sólidos entre los que se pueden mencionar frutas, verduras, pescados y líquidos como jugos y agua. Asimismo se emplea en acuicultura por ejemplo para protección del flujo y de la recirculación en acuarios de agua dulce o salada. En la actualidad el sistema más utilizado es continuo. Se compone de emisores de radiación encendidos en forma permanente que aplican luz UV sobre productos líquidos o sólidos. El principal uso de la técnica es el tratamiento de agua. (Wright y Cairns, 1998).

## B) APLICACIÓN DE RADIACION LUZ ULTRAVIOLETA

La aplicación más eficiente es el proceso de desinfección de agua con radiación UV, para obtener agua purificada y potable. Sin embargo puede ser utilizada para desinfectar otros líquidos, solo que la eficiencia del tratamiento depende de la capacidad de absorción de la luz UV cada uno (Shama, 1999).

Reportan una reducción de 5 logaritmos en bacterias y 1 a 1.5 en mohos y levaduras (flora nativa) en jugo de zanahoria: el jugo fue irradiado por 30 minutos a una temperatura de 10°C a diferentes velocidades de flujo. Bajo las mismas condiciones los mismos autores lograron una reducción de 5 logaritmos para bacterias y 2 para mohos y levaduras (flora nativa) en jugo de betabel (López, 2001).

## C) TRATAMIENTO DE BEBIDAS CON LUZ ULTRAVIOLETA

La acción letal de la luz ultravioleta en los microorganismos ha sido bien documentada. La aplicación práctica de la tecnología UV ha sido controversial debido al tipo y la intensidad de la radiación, los métodos y el efecto letal estimado, entre otros factores. Un estudio del poder germicida demostró que la luz UV un 30% y 85% de levaduras y un 33% y 77% de mohos fueron matados en jugo de manzana a través de varias capas variaban de 2 a 25nm de espesor. Los niveles de energía incidente de 253.7 inhibieron el 90% de microorganismos a 1.100mws/cm<sup>2</sup>. Acoplado a una refrigeración, la tecnología UV podría tener un significado comercial (Rahman, 1999).

### 2.10.1 PROPIEDADES DE LA RADIACIÓN ULTRAVIOLETA

Según Wright y Cairns, (2001). La radiación ultravioleta se caracteriza por las longitudes de onda muy cercanas a las de la luz del sol. Los parámetros más importantes de la radiación UV relacionados con la desinfección del agua son:

- a. **Longitud de onda:** El rango germicida se encuentra entre 240 y 280nm (nanómetros) y se obtiene la máxima eficiencia desinfectante cerca de los 260nm. Estos límites se encuentran dentro del rango denominado *ultravioleta - C* (100-280nm), que se diferencia del *ultravioleta - A* (315-400nm) y del *ultravioleta - B* (280-315nm).
- b. **Calidad del agua:** La temperatura del agua tiene poca o ninguna influencia en la eficacia de la desinfección con luz ultravioleta, pero afecta el rendimiento operativo de la lámpara de luz ultravioleta, cuando la misma está inmersa en el agua. La energía ultravioleta

es absorbida por el agua, pero en mucho mayor grado es absorbida por los sólidos en suspensión o disueltos, turbiedad y color. En el agua para consumo humano, la concentración de los sólidos en suspensión es generalmente inferior a 10 ppm, nivel al que empieza a experimentar problemas con la absorción de la luz ultravioleta. La turbiedad debe ser tan baja como sea posible y en todo caso, deben evitarse turbiedades mayores de 5 UTN.

**c. Intensidad de la radiación:** A menor distancia respecto al punto de emisión de los rayos, mayor será la intensidad de los mismos y por tanto la desinfección y/o esterilización será más eficiente. Con respecto a esta condición, existe una regla general que dice que no debe haber más de 75 mm para asegurar que cada porción de la misma sea alcanzada por los rayos adecuadamente.

**d. Tipo de microorganismos:** La radiación ultravioleta se mide en microvatios por centímetro cuadrado ( $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ ) y la dosis en microvatios segundo por centímetro cuadrado ( $\mu\text{Ws}/\text{cm}^2$ ) (radiación x tiempo). La resistencia al efecto de la radiación dependerá del tipo de microorganismo. No obstante, la dosificación de luz ultravioleta requerida para destruir los microorganismos más comunes (coliformes, pseudomonas, etc.) varía entre 6.000 y 10.000  $\mu\text{Ws}/\text{cm}^2$ .

**e. Tiempo de exposición:** Como cualquier otro tratamiento, el tiempo de exposición es vital para asegurar un buen desempeño. No es fácil determinar con exactitud el tiempo de contacto (ya que éste depende del tipo de flujo y de las características del equipo), pero el período debería estar relacionado con la dosificación necesaria (recordar la explicación y el concepto del C x T). De cualquier modo, las exposiciones normales son del orden de 10 a 20 segundos.

### 2.10.2 MECANISMOS DE LA DESINFECCIÓN POR RADIACIÓN ULTRAVIOLETA

El mecanismo de desinfección se basa en un fenómeno físico, por el cual las ondas cortas de la radiación ultravioleta inciden sobre el material genético (ADN) de los microorganismos y los virus, y los destruye en corto tiempo, sin producir cambios físicos o químicos notables en la bebida tratada. Se cree que la inactivación por luz ultravioleta se produce mediante la absorción directa de la energía ultravioleta por el microorganismo y una reacción fotoquímica intracelular resultante que cambia la estructura bioquímica de las moléculas (probablemente en las nucleoproteínas) que son esenciales para la supervivencia del microorganismo. Está demostrado que independientemente de la duración y la intensidad de la dosificación, si se

suministra la misma energía total, se obtiene el mismo grado de desinfección (Wright y Cairns, 2001).

En el Cuadro 13, se muestran los valores reportados por varias fuentes de dosis de energía ultravioleta para eliminar algunos microorganismos.

La mayoría de los equipos de desinfección ultravioleta utilizan una exposición mínima de 30.000  $\mu\text{Ws}/\text{cm}^2$ . Esto es adecuado para inactivar las bacterias y virus patógenos, pero quizá no sea suficiente para ciertos protozoos patógenos, quistes de protozoos y huevos de nematodos, que pueden requerir hasta 100.000  $\mu\text{Ws}/\text{cm}^2$  para su inactivación total.

Cuadro 13. Dosis UV en  $\mu\text{Ws}/\text{cm}^2$ , para inactivar una población en un 90% y 99%.

Microorganismos	90%	99%	Microorganismos	90%	99%
<b>BACTERIAS</b>					
<i>Bacillus anthracis</i>	4.5	8.7	<i>Salmonella enteritidis</i>	4.0	7.6
<i>Bacillus subtilis</i> , esporas	12.0	22.0	<i>Salmonella paratyphi</i>	3.2	0.0
<i>Bacillus subtilis</i>	7.1	11.0	<i>Salmonella typhi</i>	2.1	0.0
<i>Campylobacter jejuni</i>	1.1	0.0	<i>Salmonella typhimurium</i>	3.0	0.0
<i>Clostridium tetan</i>	12.0	22.0	<i>Shigella dysenteriae</i>	2.2	4.2
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	3.4	6.5	<i>Shigella flexneri</i>	1.7	3.4
<i>Escherichia coli</i>	3.0	6.6	<i>Shigella sonnei</i>	3.0	5.0
<i>Klebsiella terrigena</i>	2.6	0.0	<i>Staphylococcus aureus</i>	5.0	6.6
<i>Legionella pneumophila</i>	0.9	2.8	<i>Streptococcus faecalis</i>	4.4	0.0
<i>Sarcina lutea</i>	20.0	26.4	<i>Streptococcus pyogenes</i>	2.2	0.0
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	6.0	10.0	<i>Vibrio cholerae (V.comma)</i>	0.0	6.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5.5	10.5	<i>Yersinia enterocolitica</i>	1.1	0.0
<i>Coliformes fecales</i>	3.4	6.8			
<b>VIRUS</b>					
MS-2 Coliphage	18.6	0.0	Influenza virus	3.6	6.6
F-specific bacteriophage	6.9	0.0	Polio virus	5-8	14.0
Hepatitis A	7.3	0.0	Rotavirus	6-15	15-
<b>PROTOZOARIOS</b>			<b>LEVADURAS</b>		
<i>Giardia lamblia</i>	82.0	0.0	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	7.3	13.2

Fuente: Wright y Cairns, 2001.

## 2.11 VIDA EN ANAQUEL

### 2.11.1 DEFINICIÓN

Según Nuñez, (1998). La vida en anaquel define como:

La vida en anaquel de un alimento, comprende el periodo desde su elaboración hasta su consumo, en el cual es de calidad satisfactoria. Entonces la vida en anaquel esperada de un

alimento procesado depende de las condiciones ambientales a las que será expuesto este, así como el grado de calidad inicial que puede perder, antes de ser vendido al consumidor. Todos los productos, tienen una vida en anaquel variable y finito. Cualquier deficiencia en la vida en anaquel, ocasionará quejas del parte del consumidor, los cuales afectan la aceptación y ventas de los productos alimenticios de marca como:

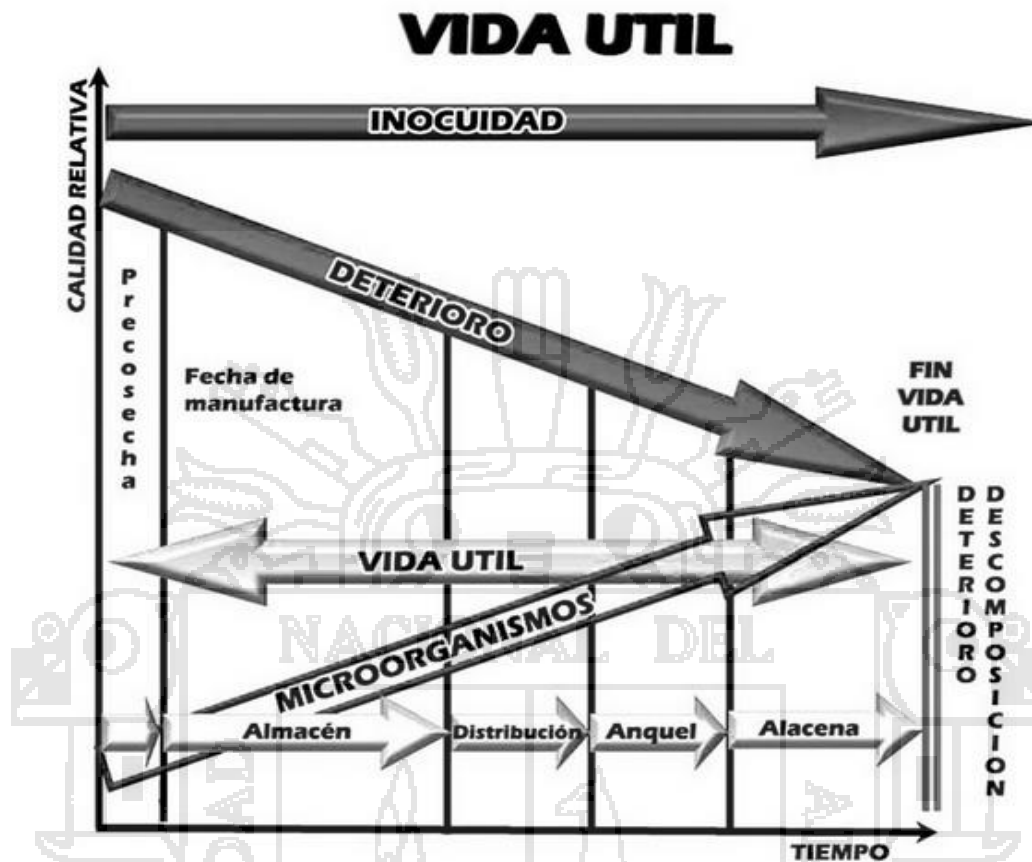
- Pérdidas de cualidades estéticas, por ejemplo, color, aroma, sabor, textura y apariencia general.
- Pérdida de valor nutritivo, esto es, pérdida de vitaminas y degradación de proteínas.

La vida útil o vida en almacén de un alimento, se define como el tiempo que transcurre hasta que el producto se convierte en inaceptable. La duración de la vida útil de un alimento dado depende de un número de factores, como método de procesado, envasado y condiciones de almacenamiento. En estos últimos años se han hecho numerosos esfuerzos para predecir la vida útil de los alimentos, donde los métodos de predicción son particularmente pertinentes en los nuevos productos que carecen de un historial de distribución, las predicciones se basan en el mecanismo de la alteración y en la frecuencia con que se producen (Potter, 1999).

Desde el punto de vista sensorial, la Norma ASTM E2454 (2005), define la vida útil como: El tiempo durante el cual las características y desempeño del producto se mantienen como fueron proyectados por el fabricante.

Sin embargo, para una misma categoría de alimentos, que son afines en composición, la vida útil sensorial no siempre es la misma. Para ilustrarlo, se puede considerar sólo la esencia de sabor aplicada. La permanencia de la intensidad del sabor, la aparición de sabores oxidados y otros factores relacionados con el deterioro varían dependiendo del tipo de sabor, la calidad de las materias primas utilizadas, el estado físico en el que fue aplicado, los solventes, la matriz del alimento (ejm. contenido graso), el proceso utilizado (ejm. tratamiento térmico), packaging, etc.

Figura 02. Vida útil de deterioro y descomposición



Fuente: Núñez, C. (1998).

### 2.11.2 PRINCIPALES FACTORES QUE CAUSAN LA PÉRDIDA DE CALIDAD DE LOS PRODUCTOS ALIMENTICIOS

Según Núñez, C. (1998), las influencias ambientales importantes que incluyen son:

- Temperatura
- Humedad
- Nivel de oxígeno
- Luz

Además indica que estas se clasifican en:

- Deterioro biológico
- Senescencia
- Deterioro microbiológico

- Deterioro químico: enzimático, oxidación de lípidos, pardeamiento no enzimático, etc.
- Deterioro físico: magullado o aplastado, marchitado, pérdida/ganancia de humedad, cambios de textura, endurecimiento.

### **2.11.3 APLICACION DE LA CINETICA EN LA PREDICCIÓN DE LA VIDA ÚTIL DE UN ALIMENTO**

La predicción de vida útil de un alimento puede abordarse de dos formas generales. El método más común consiste en seleccionar una simple condición abusiva, exponer el producto a ella, evaluarlo cierto número de veces durante un periodo de tiempo específico generalmente utilizados métodos sensoriales, que pueden ser completados con pruebas físico químicas y luego extrapolar los resultados (normalmente empíricos) a las condiciones de almacenamiento normales. El otro enfoque se asume que ciertos principios de cinética química se aplican con respecto a una dependencia de temperatura, como la reacción de Arrhenius y se utiliza un diseño más elaborado. Este segundo método es definitivamente más complejo y costoso pero se logra mejores resultados (Fennema, 2000).

### **2.11.4 DETERMINACIÓN DE VIDA EN ANAQUEL PARA ALIMENTOS**

La determinación de vida en anaquel de productos alimenticios constituye una de las principales determinaciones, que debe efectuar la industria, en la etapa de control de calidad del producto terminado. El límite de la vida en anaquel de productos alimenticios procesados, se puede determinar mediante evaluaciones organolépticas (sensoriales) utilizando panelistas (jueces) entrenados y mediante análisis fisicoquímicos (formación de compuestos indeseables) (Núñez, 1998).

#### **2.11.4.1 EVALUACIÓN DE LA VIDA ÚTIL SENSORIAL EN BEBIDAS**

El objetivo al determinar el final de la vida útil sensorial del alimento, es elegir un periodo lo más largo posible cuando se piensa desde el punto de vista económico de la empresa y a su vez se busca estar razonablemente seguro de que el consumidor no va a encontrar un sabor, textura y/o apariencia extraños antes de la fecha de vencimiento. En este sentido la Evaluación Sensorial puede considerarse una antes de la fecha de vencimiento. En este sentido la Evaluación Sensorial puede considerarse una herramienta eficaz al momento de

analizar y estudiar las características y la aceptabilidad de los alimentos a lo largo de su vida útil (Núñez, 1998).

#### **2.11.4.2 ENSAYOS ACELERADOS PARA ESTIMAR LA VIDA ÚTIL DE UNA BEBIDA**

**Esta metodología se utiliza para estimar la vida útil a temperatura normal de uso del alimento,** a partir de datos obtenidos a temperaturas superiores. La ventaja operativa que tienen estos métodos es que llevan menos tiempo que los ensayos de vida útil a temperatura normal de almacenamiento (Núñez, 1998).

El estudio se puede llevar a cabo tomando periodos de evaluación sensorial una vez por semana. A cada tiempo de evaluación es posible realizar una evaluación global de las bebidas, (en cuyo caso se preguntará al evaluador si encuentra algo diferente), o de otra manera, se puede conducir el estudio enfocándose en algún atributo en particular, (en cuyo caso se le va a pedir al panel que realice la evaluación enfocándose en algún parámetro específico). Por ejemplo, se puede pedir al evaluador que diga cómo evalúa la intensidad del sabor, el nivel de sabor oxidado, sensación de frescura o el sabor relativo a la fruta fresca, etc. El objetivo en todos los casos será que la bebida con el ingrediente de reemplazo presente una estabilidad igual o mayor que la bebida de mercado (Núñez, 1998).

Es vital que para los ensayos descriptivos en donde se evalúan las diferencias entre dos muestras y a la vez se cuantifican esas diferencias se utilicen paneles entrenados.

Teniendo en cuenta que el tiempo aproximado de vida útil de la bebida del ejemplo es de 6 meses, es interesante notar que el ensayo acelerado descrito es posible conducirlo en espacio de sólo un mes. De esta manera se podrá tener un cierto nivel de seguridad para realizar el lanzamiento del producto desarrollado, ya que el mismo fue evaluado sensorialmente para asegurarse de que la performance de la nueva bebida será igual o mejor que el producto actual. Sin embargo este tipo de ensayos a temperaturas más altas que la de uso no es posible de aplicar a todas las categorías de alimentos (Hough, 2010).



## 2.12 TIPOS DE ENVASES

Según Bureau y Multon, (1995). Los tipos de envases son:

### A) Vidrio

El vidrio posee cualidades propias, entre las cuales tenemos:

- Su inercia química lo hace particularmente apto para la conservación de los alimentos y permite las distintas operaciones de lavado y esterilización con calor.
- Su impermeabilidad constituye una barrera infranqueable a los líquidos, al vapor, a los gases, a los aromas y olores.
- Su transparencia tranquiliza al consumidor, requiere ver lo que compra.
- Sus grandes posibilidades de coloración le permite absorber los rayos de la luz y UV.
- Su rigidez y elevada resistencia mecánica le permiten resistir fuertes presiones internas; así como al choque, debido al paso por el embotellado de velocidad elevada e incluso en ciertas condiciones a los choques térmicos.
- Su precio de costo es relativamente bajo.

### B) PET (*Politeraftalato de etilenglicol*)

Este envase es utilizado en los sectores de cerveza, las bebidas gasificadas, néctares y zumos de frutas. Actualmente el principal campo de aplicación del PET reside en las bebidas carbónicas, debido a sus excelentes propiedades de deformación bajo presión y su buen comportamiento de barrera al CO<sub>2</sub>.

- Coextrusión, coinyección, aleación de resinas, tratamientos de superficie, estabilización por el calor.
- La propiedad esencial de este polímero es que es una excelente barrera a los gases y al oxígeno y tiene gran resistencia a la humedad.
- Estas propiedades permiten al PET incrementar su comercialización en el mercado de las bebidas gracias a una duración de conservación más larga y a una posible reducción de sus capacidades: 1 litro, 0.5 y 0.25 litros.

### C) POLIETILENO

En el campo de las bebidas el polietileno (PE) de alta y baja densidad y polipropileno (PP) se usa generalmente para las tapas, tiene un corto tiempo de conservación en la industria de los alimentos como leche pasteurizada y esterilizada y algunos zumos de frutas (frescos).

### 2.12.1 ESTABILIDAD EN ALIMENTOS

Durante el almacenamiento, los alimentos presentan varios cambios siendo los más importantes la pérdida de estabilidad en antioxidantes y en la sedimentación de solutos que se presentan en determinado tiempo de conservación.

#### A) SEDIMENTACIÓN

La sedimentación es un problema que presentan la mayoría de los néctares, se da por la presencia de sólidos en el fondo de los envases lo que da una apariencia desagradable a la vista de los consumidores. Para evitar este defecto se usan agentes emulsificadores como carboximetil celulosa (CMC), Gomas y pectinas, siendo el más utilizado en néctares el CMC por su afinidad con el agua y estabilidad durante la pasteurización, además proporciona cuerpo y palatabilidad al producto. (Fernández, 1994).

En el cuadro 14 se observan algunas causas de la separación de fases en los néctares y una posible solución a este defecto.

Cuadro 14: Causas y soluciones de la separación de fases en néctares.

Detalles	Causas	Solución
<b>Separación de Fases</b>	deficiente pulpeado y/o refinado	Controlar el tamaño del tamiz
	Excesividad cantidad de Agua	Incorporar el agua en la proporción correcta
	Falta a poca cantidad de estabilizante	Adicionar la Cantidad necesaria de estabilizante
	Inadecuada homogenización	Realizar una adecuada homogenización

Fuente: Fernández, (1994).

### III. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1 LUGAR DE EJECUCION.

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en las siguientes instalaciones:

La parte experimental se realizó en la planta de procesamiento de frutas y hortalizas de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, los análisis microbiológicos se desarrollaron en laboratorio de Microbiología de la Escuela Profesional de Medicina Humana, los análisis químicos y análisis sensorial se ejecutaron en laboratorio de Agua y Suelos, de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Altiplano Puno.

#### 3.2 MATERIALES Y EQUIPOS

##### 3.2.1. MATERIA PRIMA

La materia prima lactosuero han sido adquiridos del Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA) Illpa – Puno, de un proceso de elaboración de queso Paria Pasteurizado, del primer desuerado del proceso; para la investigación el lactosuero ha sido conservado bajo refrigeración a 5°C. La naranja de la variedad Valenciana y la estevia han sido adquiridos del Estación Experimental Tambopata de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Altiplano Puno.

##### 3.2.2. EQUIPOS

- Equipo de radiación UV. Capacidad 4lt/min. Marca PENTEK/STERILIGHT.
- Estufa H.W. Kessel S.A.
- Termómetro de capacidad de 100 – 150°C
- Balanza semianalítica de una capacidad de 5Kg. Marca SCOUT.
- Balanza electrónica analítica de capacidad 100gr.
- Potenciómetro marca ORION, modelo 4120.
- Acidómetro
- Refrigeradora
- Cronometro.

### 3.2.3. MATERIALES DE VIDRIO

- Matraz kitasato, capacidad de 200, 500, y 1000ml.
- Pipetas PIREX.
- Probeta, capacidad de 250ml, 500ml y 1 litro ERGON
- Tubos de ensayo, capacidad de 10ml, 50ml y 100ml ERGON
- Micro pipetas PIREX
- Buretas, de 100ml, 500ml. PIREX
- Termómetros PIREX
- Vasos de precipitados de 50ml, 100ml, 250 ml y 500 ml PIREX
- Matraces de 100ml, 250 ml y 500 ml PIREX

### 3.2.4. REACTIVOS

- Medios de cultivo
- Agar (Plate Count, VRB, OGY, PDA, Baird Parker)
- Ácido cítrico
- Hidróxido de sodio 0.1 N
- Fenolftaleína 1 N

### 3.2.5. MATERIALES DIVERSOS

- Envases
- Telas filtrantes
- Bidones
- Baldes
- Cocinas
- Espátula

## 3.3. METODOLOGIA EXPERIMENTAL.

La metodología experimental se realizó en función al diagrama de flujo mostrado en las figuras 3, 4 y 5.

### 3.3.1. DETERMINACION DE LOS PARAMETROS OPTIMOS DE DILUCION DE NECTAR DE LACTOSUERO ENREQUECIDO CON ZUMO DE NARANJA Y CONTROLADO CON RADIACION UV.

Los parámetros evaluados en la presente investigación fueron: análisis organoléptico (olor, sabor, color, apariencia general) los mismos se determinaron las diluciones (% de lactosuero, %agua, %zumo de naranja y cantidad de estevia) esto con referencia con antecedentes y trabajos previos.

Para el presente estudio de investigación se tomó como referencia los siguientes parámetros: 40, 30 y 20% de lactosuero, y 40, 50 y 60% de agua, 20% de zumo de naranja, 0.27, 0.30, y 0.33 gr/lit de Stevia esto en hojas secas micro pulverizadas.

Para evaluar el parámetro óptimo de cada variable indicada se tomó en cuenta la respuesta obtenida en cuanto a mayor aceptación por el consumidor con la evaluación organoléptica.

A continuación se presenta las operaciones unitarias que se procedieron para obtener la bebida a base de lactosuero con zumo de naranja y estevia tratado con radiación UV. Un producto final con características fisicoquímicas y microbiológicas aceptables.

#### 3.3.1.1. TRATAMIENTO PRELIMINAR DE LACTOSUERO.

Las operaciones unitarias para el tratamiento preliminar de lactosuero se muestran en la Figura 3.

**Materia prima.-** La materia prima es el lactosuero que ha sido obtenido de la coagulación de la leche en la elaboración del queso paria pasteurizado a 65°C por 30 min, el lactosuero ha sido obtenido del primer desuerado.

**Recepción y enfriamiento.-** Una vez obtenido el lactosuero o suero de la leche se ha conservado a una temperatura entre 4-6°C con la finalidad de que no adquiera del medio ambiente agentes contaminantes u olores extraños que pueden alterar las propiedades del producto.

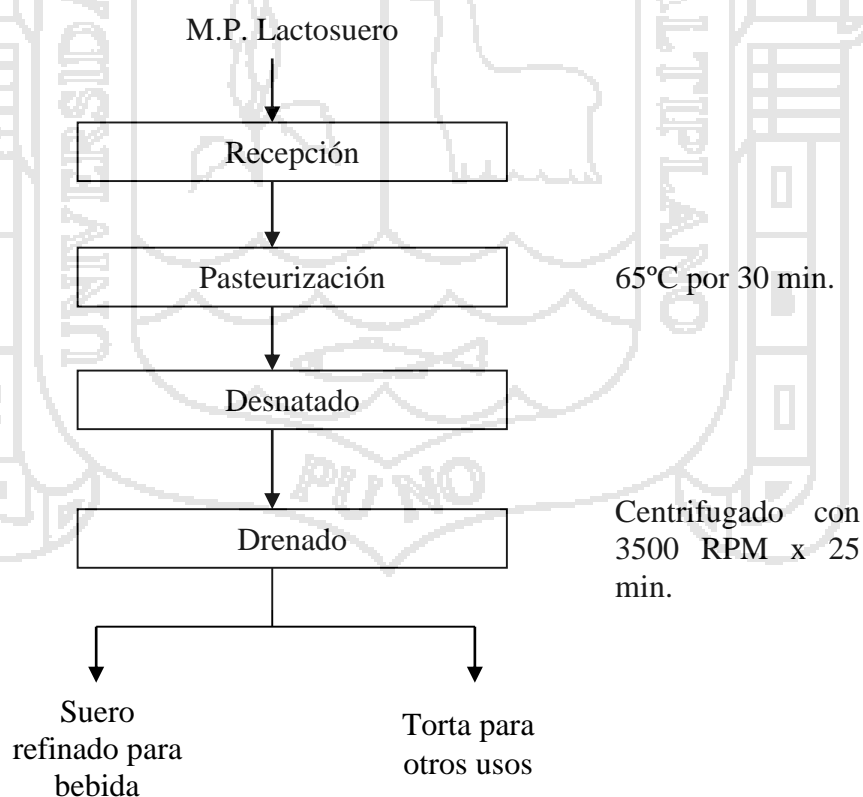
**Pasteurización.-** Antes de acondicionar el lactosuero para precipitado, se realizó un tratamiento térmico para eliminar ciertos microorganismos que pudieran encontrarse en el lactosuero, se sometió a una temperatura de 65 °C durante 30 min.

**Desnatado.-** Esta operación se realizó antes o después del pasteurizado, mediante el equipo de descremadora que pueden que pueden sustraer la grasa del lactosuero. Este equipo está provisto con un paquete de discos especiales para el desnatado del suero.

**Drenado.-** Se realizó en la centrífuga con la finalidad de poder separar la parte sólida de la parte líquida del producto precipitado, a una velocidad aproximada de 3500 RPM, durante 25 minutos.

**Separación de suero tratado.-** Es la etapa de separación de la parte sólida (torta) y líquida (suero refinado) esta última se utiliza en la obtención de bebida en diluciones respectivas propuestas.

Figura 3: Flujo experimental de tratamiento preliminar del lactosuero.



Fuente: Elaboración Propia (2012).

### 3.3.1.2. OPERACIONES Y TRATAMIENTO PRELIMINAR DE NARANJA Y OBTENCION DE ZUMO

**Materia prima.-** La materia prima es la naranja ha sido adquirido del estación experimental de Tambopata situado en la Provincia de Sandia del Distrito de San Juan del Oro, las naranjas han sido madurados fisiológicamente de la variedad valenciana.

**Recepción.-** Una vez cosechado se realizó la recepción de la materia prima en almacén para luego ser pesado y clasificado.

**Pesado.-** Se realizó el control de peso de la materia prima esto con la finalidad de obtener el rendimiento.

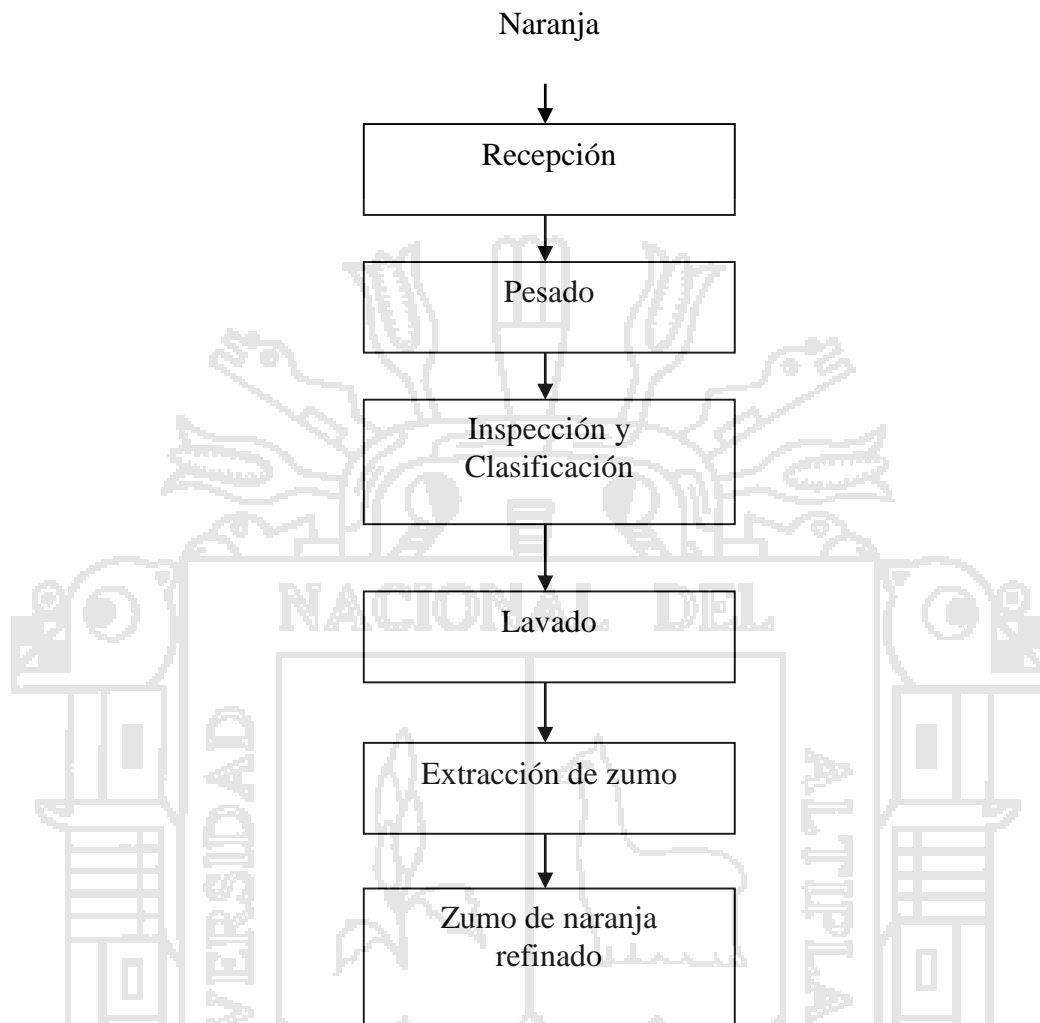
**Inspección y clasificación.-** Esta operación se realizó con la finalidad de seleccionar y clasificar las naranjas de acuerdo al tamaño y calidad fisiológica para obtener jugo adecuado para su proceso.

**Lavado.-** Se realizó lavado manual para eliminar las impurezas restos de desechos e impurezas con abundante agua clorada con 5 ppm.

**Extracción de jugo.-** Se realiza utilizando despulpadora de frutas, partido en mitades los frutos para facilitar la extracción de zumo separado de la cáscara y semillas y otros restos aumentando el rendimiento de zumo.

**Zumo refinado.-** Extracto tratado y separado de las partículas en el momento de despulpado para ser utilizado en la formulación propuesta.

Figura 04. Flujo experimental de tratamiento preliminar de la naranja para obtener zumo.



Fuente: Elaboración Propia (2012)

### 3.3.1.3. OBTENCION DE BEBIDA DE LACTOSUERO CON ZUMO DE NARANJA Y ESTEVIA TRATADO CON RADIACIÓN UV.

**Dilución.-** Se realizó con la finalidad obtener el producto con los parámetros obtenidos con concentraciones de lactosuero en proporciones de 40, 30 y 20%, agua en proporciones de 40, 50 y 60 % y zumo de naranja 20% para las tres diluciones.

**Estandarizado.-** Consiste en regular, formular, prepara e incorporar a la bebida las cantidades apropiadas de insumos como estevia en proporciones de 0.27, 0.30 y 0.33 gr/litro, para dar una buena palatabilidad. En este proceso de operación se realizó en análisis microbiológico, antes de ser sometido a las pruebas de radiación UV.



**Homogenizado.-** Agregar los insumos que contiene la bebida para garantizar la utilidad y conservación del producto final.

**Radiación UV.-** La aplicación de la radiación de Luz UV. En reactor para eliminar los microorganismos existen con la intensidad de la luz 255nm/0.28cc/hr. Ya que esto no altera en la composición fisicoquímica del producto.

Se empleó esterilizador con lámpara de luz ultravioleta (Philips, EE.UU.) marca Pentek/sterlight, modelo SCI - PF10, de 21.2cm de longitud con una intensidad de 1780  $\mu$  W/cm<sup>2</sup>, siendo el área de contacto de 328.9 cm<sup>2</sup> y el volumen de la muestra a tratar igual a 140 cm<sup>3</sup>. El tratamiento se realizó mediante la recirculación de la bebida.

La bebida se colocó en un recipiente o tanque de alimentación, esterilizado previamente. Se colocó una parrilla con agitación debajo del vaso de doble pared con un agitador magnético para mantener la muestra homogenizada.

Se trabajó con conexiones que conecta la entrada del esterilizador UV en alimentador para hacer recircular la bebida con la bomba a una velocidad de flujo de 1gl/min, teniendo contacto con la lámpara de luz ultravioleta y se tomaron muestras de 250 ml de la bebida tratada.

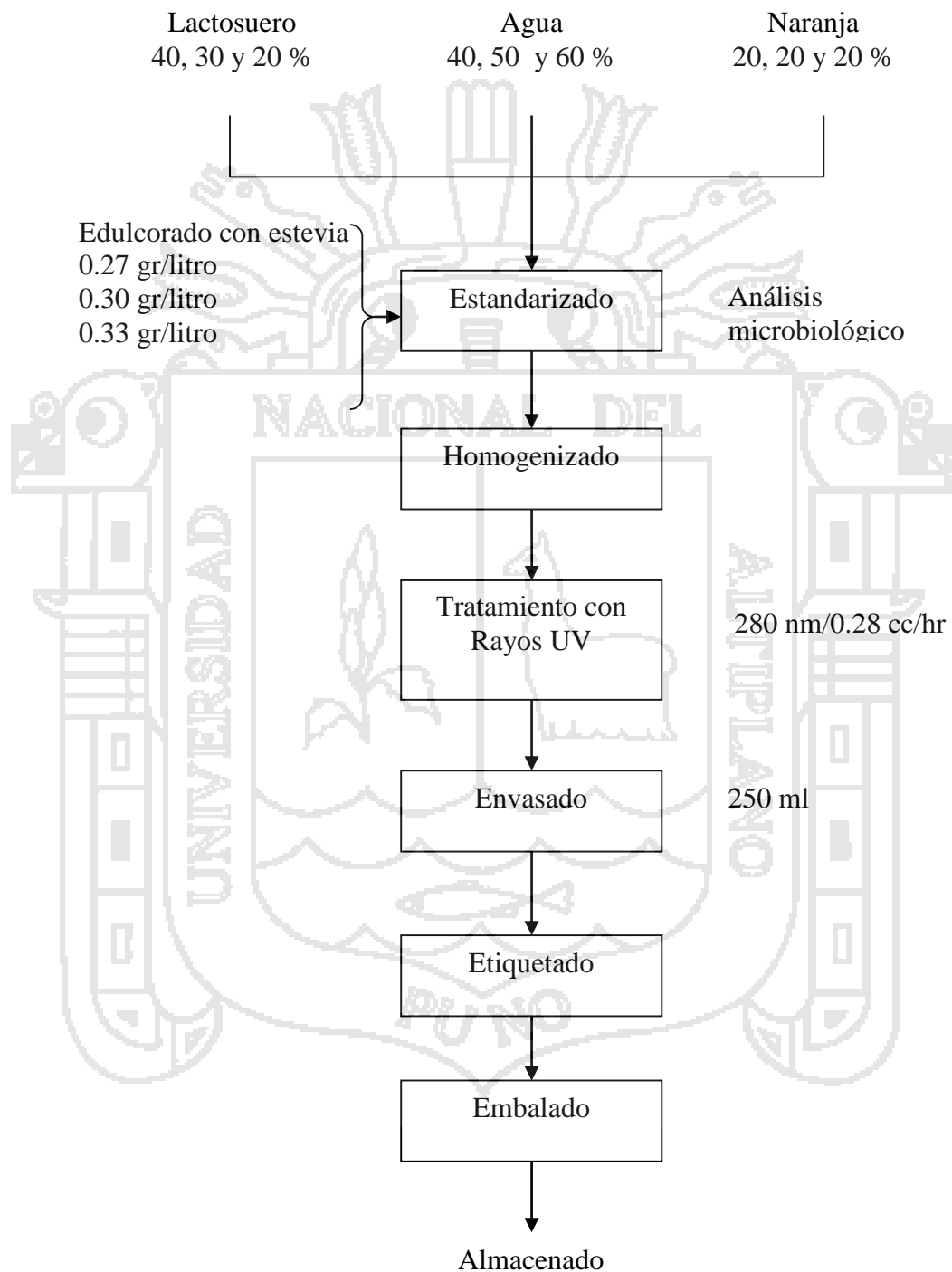
**Envasado.-** Se procedió a envasar en envases de botellas de vidrio. Inmediatamente después del tratamiento con Luz UV. Esto se efectuó para aislar a la bebida de los agentes contaminantes del medio ambiente, asegurando así su conservación. En presentaciones de 250 ml. Para luego determinar su vida útil en medios de conservación.

**Etiquetado.-** Se realizó con la finalidad de dar la presentación al producto final.

**Embalado.-** Se realiza para almacenamiento y transporte para puesta en centros comerciales y puntos de venta.

**Almacenado.-** Se mantiene a temperaturas menores a 4°C en refrigeración para darle un mayor tiempo de vida y sus características fisicoquímicas y organolépticas no sean alteradas

Figura 05. Flujo para obtención de bebida de lactosuero con zumo de naranja y estevia, tratado con radiación UV.



Fuente: Elaboración Propia (2012).

### 3.4. METODOLOGIA DE LOS ANALISIS.

#### 3.4.1. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LOS PRODUCTOS FINALES.

Se determinaron por el método de la Comisión Internacional para especificaciones microbiológicas de Alimentos (ICMSF), 2001. Este método se basa de que las células microbianas que contienen una muestra de alimento mezclada con un medio de cultivo que forma cada una de ellas una colonia para ello se mezclan diluciones de la muestra de alimento homogenizada con el medio. Después de incubar las placas en diferentes temperaturas y a tiempos variados, luego se calculan el número de bacterias, básicamente en número de colonias obtenidas que dan resultados significativos y no significativos en recuento de:

- Recuento de mesofilos aerobios viables
- Recuento de mohos y levaduras
- Recuento de *Staphylococcus aureus*
- *E. coli*

Los resultados han sido confrontados con la NTS 071 – MINSA 2008, “Criterios Microbiológicos de calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de Consumo Humano”, en el cual se señalan los criterios microbiológicos que deben cumplir los alimentos y bebidas en estado natural, elaborados o procesados, para ser considerados aptos para el consumo humano.

#### 3.4.2. COMPOSICIÓN QUÍMICO PROXIMAL DE LOS PRODUCTOS FINALES.

Se realizaron los siguientes análisis: El contenido de humedad, proteínas, grasas, Extracto libre de nitrógeno, fibra, ceniza, de acuerdo a los métodos citados por AOAC (1994).

**Humedad.-** Se realizó con la finalidad de determinar la cantidad de humedad que contiene el producto, el procedimiento consiste en pesar un vaso de 50ml y agregarle 10 gr de muestra, colocarlos en una estufa a 70 °C hasta llegar a un peso constante. Por diferencia de peso se obtiene la humedad de la muestra y luego se lleva a porcentaje: se utiliza la siguiente fórmula.

$$\% \text{ HUMEDAD} = \frac{\text{Pesototal} - \text{Peso final}}{\text{Pesomuestra}} * 100$$

**Proteína total.**-Se determinó mediante el método Micro Kjeldahl (% N x 6.25), con la finalidad de conocer el nitrógeno total. El procedimiento se basa en tres fases: digestión, destilación y titulación. Para lo cual se pesan 0,2 a 0,3 g de muestra, luego se le agregó 1 g de catalizador, luego 2,5ml de ácido sulfúrico concentrado seguidamente se coloca el balón a la cocina de digestión; Luego colocar la muestra digerida en el aparato de destilación, se la agregó 5ml de hidróxido de sodio concentrado e inmediatamente conectar el vapor para que se produzca la destilación. Conectar el refrigerante y recibir el destilado en un erlenmeyer de 125ml conteniendo 5ml de la mezcla del ácido bórico más indicadores de pH. La destilación termina cuando ya no pasa más amoniaco y hay viraje con ácido clorhídrico valorado (aprox. 0,005 N). Anotar el gasto.

La cantidad de nitrógeno de la muestra se obtiene por la siguiente fórmula:

$$\% \text{ NITROGENO} = \frac{\text{ml de HCl} \times \text{Meq del } N_2}{\text{Gramos de muestra}} \times 100$$

Para obtener la cantidad de proteína Bruta, se multiplica por el factor 6,25.

**Grasa.**- Tome 10 cc de ácido sulfúrico en el butirómetro. El ácido sulfúrico debe ser del tipo comercial con una densidad de 1.820 a 1.825. Para ajustar la densidad del ácido debe disponer de un buen densímetro para ácido calibrado entre 1.810 a 1.850, luego según la lectura del densímetro agregue agua en la cantidad que le indica la tabla. Agregue 11 cc de la muestra con precaución. Agregue 1 cc de alcohol amílico. Mezclar el contenido del butirómetro mediante sucesivas inversiones. Centrifugar por 5 minutos a 1,200 rpm. Efectuar la lectura.

**Cenizas.**-Se pesó 5 g de muestra en un crisol de porcelana previamente tarado, luego se incinera la muestra a 600°C durante 3 a 5 horas. El cálculo se realizó mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ deceniza} = \frac{\text{Pesodeceniza}}{\text{pesodelamuestra}} \times 100$$

**Fibra cruda.**-Se determinó mediante hidrólisis ácida, alcalina que consiste en pesar 3 g de muestra en un vaso de 600 ml hervir durante 30 minutos 200ml de ácido sulfúrico al 1,25 %.

Luego de 30 minutos hervirlo por 30 minutos más, filtrar lavando con agua destilada; luego poner a la estufa por tres horas y pesar, este peso se le llama P1; luego se coloca a la mufla para eliminar la materia orgánica obtener las cenizas y se pesan nuevamente.

$$\% \text{ Fibra cruda} = \frac{P1 - P2}{W} \times 100$$

**Extracto libre de nitrógeno.**- Se determinó por diferencia de peso después de que se han completado los análisis para ceniza, fibra cruda, extracto etéreo y proteína cruda todo en base seca.

$$\% \text{ ELN} = 100 - (\% \text{ ceniza} + \% \text{ fibra} + \% \text{ grasa} + \% \text{ proteína})$$

### 3.4.3. ANÁLISIS DE EVALUACIÓN SENSORIAL

Se realizó la evaluación sensorial de los tres tratamientos de la bebida para determinar las características organolépticas, utilizando la escala hedónica de 5 puntos, en donde se evaluó parámetros como: muy bueno, bueno, regular, malo, y muy malo, según Anexo I.

Según Ureña, A. y Giron (1999) indican que en comparaciones sensoriales donde varios jueces en una sola sesión degustan y califican cada una de varias muestras de un producto alimenticio, el arreglo de las calificaciones es conocido como un diseño de Bloque Completamente al Azar. Cada puntuación es determinada en el diseño para cada una de las muestras (tratamientos) y por cada uno de los jueces (bloques).

### 3.5. VARIABLES EN ESTUDIO

Cuadro 15: Variables Independientes y Dependientes en función a objetivos.

OBJETIVOS	VARIABLES INDEPENDIENTES				VARIABLES DEPENDIENTES
Objetivo 1	Lactosuero tratado (%)	Agua tratada (%)	Zumo de naranja (%)	Estevia (gr.)	- Evaluación sensorial - Análisis químico. Energía Proteína Grasa. Fibra Ceniza
	40	40	20	0.27	
	30	50	20	0.30	
	20	60	20	0.33	
Objetivo 2	Longitudes de honda La región de la radiación UV C (280 nm)				- Análisis microbiológico
Objetivo 3	Análisis sensorial del producto final en función a la formulación óptima.				- Evaluación Sensorial: Sabor Color Olor Textura

Fuente: Elaboración propia (2012).

### 3.6.DISEÑO EXPERIMENTAL.

Los factores en estudio considerados para la determinación de la bebida de lactosuero con zumo de naranja y estevia tratado con radiación UV de tres niveles de mezcla son como sigue:

#### 3.6.1. FACTORES EN ESTUDIO.

Cuadro 16: Porcentajes de mezcla de lactosuero, agua y zumo de naranja.

Nivel	Niveles		
	Lactosuero (%)	Agua (%)	Zumo de naranja (%)
1	40	40	20
2	30	50	20
3	20	60	20

Cuadro 17: Cantidad de edulcorante.

Nivel	Edulcorante (estevia en gr.)
1	0.27
2	0.30
3	0.33

Tratamientos:

T <sub>1</sub> = Nivel 1: Edulc. 1	40	40	20	0.27
T <sub>2</sub> = Nivel 2: Edulc. 1	30	50	20	0.27
T <sub>3</sub> = Nivel 3: Edulc. 1	20	60	20	0.27
T <sub>4</sub> = Nivel 1: Edulc. 2	40	40	20	0.30
T <sub>5</sub> = Nivel 2: Edulc. 2	30	50	20	0.30
T <sub>6</sub> = Nivel 3: Edulc. 2	20	60	20	0.30
T <sub>7</sub> = Nivel 1: Edulc. 3	40	40	20	0.33
T <sub>8</sub> = Nivel 2: Edulc. 3	30	50	20	0.33
T <sub>9</sub> = Nivel 3: Edulc. 3	20	60	20	0.33

### 3.7. DISEÑO ESTADÍSTICO.

En el presente trabajo de investigación se aplicó el Diseño Bloque Completo al Azar (DCBA), basado en un arreglo de 3 niveles de producto (lactosuero, agua y zumo de naranja), cada nivel con distintos porcentajes de proporción de mezcla y 3 niveles de factor de edulcorante (Stevia), cada uno con tres repeticiones, obteniendo 27 tratamientos (formulaciones). El comportamiento de cada uno de los variables en estudio se demostró a través de pruebas de DUNCAN, para determinar el comportamiento de los tratamientos.

#### 3.7.1. MODELO MATEMÁTICO.

El modelo lineal aditivo es el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \gamma_k + \varepsilon_{ijk}$$

$i = 1, 2, 3$  (Niveles de factor mezcla)

$j = 1, 2, 3$  (Niveles de factor Edulcorante)

$k = 1, 2, \dots, 10$  (bloques panelistas)

Dónde:

$Y_{ijk}$  = Variables de respuesta

$\mu$  = Constante media poblacional a la cual pertenece las observaciones.

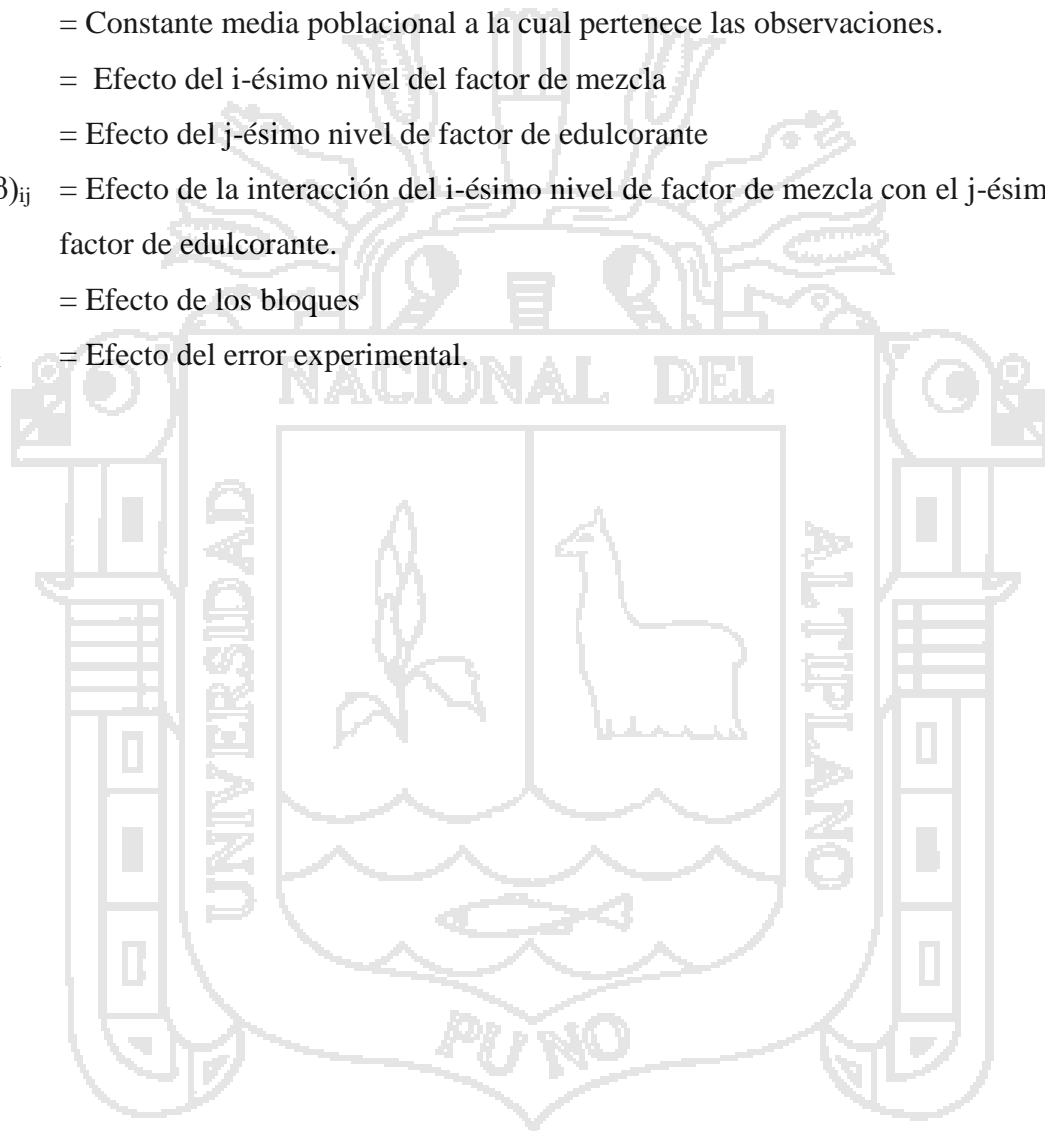
$\alpha_i$  = Efecto del  $i$ -ésimo nivel del factor de mezcla

$\beta_j$  = Efecto del  $j$ -ésimo nivel de factor de edulcorante

$(\alpha\beta)_{ij}$  = Efecto de la interacción del  $i$ -ésimo nivel de factor de mezcla con el  $j$ -ésimo nivel de factor de edulcorante.

$\gamma_k$  = Efecto de los bloques

$\varepsilon_{ijk}$  = Efecto del error experimental.





## IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 4.1. OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LOS PARÁMETROS ÓPTIMOS DE DILUCIÓN LACTOSUERO, ZUMO DE NARANJA Y CONTROLADO CON RADIACIÓN UV.

Para la presente investigación de optimización de néctar de lactosuero enriquecido con zumo de naranja y controlado con radiación ultravioleta, primeramente se realizó las operaciones y tratamiento preliminar de lactosuero y zumo de naranja. Donde el lactosuero ha sido obtenido de la coagulación de la leche en la elaboración del queso paria pasteurizado a 65°C por 30 min, el lactosuero como muestra se adquirió del primer desuerado del proceso de elaboración de queso tipo paria, con una temperatura promedio de 37°C, inmediatamente ésta temperatura ha sido variado a 4°C recomendado por Primo Y. E. 1997, esto con la finalidad de que no adquiera del medio ambiente agentes contaminantes u olores extraños que pueden alterar las propiedades del producto, luego ha sido pasteurizado a una temperatura de 65 °C durante 30 minutos, al mismo tiempo ha sido enfriado a 35°C y fue llevado a proceso de desnatado, después de esta operación se ha sometido a proceso de operación unitaria de drenado con la finalidad de poder separar la parte sólida de la parte líquida del producto precipitado, a una velocidad aproximada de 3500 RPM, durante 25 minutos después de esta operación la parte líquida (suero refinado) se llevó a la parte experimental de la presente investigación. Igualmente la naranja de variedad valencia ha sido sometida a un proceso de pre tratamiento como recepción, pesado, inspección y clasificación, lavado, extracción de jugo y se ha obtenido el zumo refinado esta última ha sido utilizado como insumo del presente estudio.

Para el presente estudio de investigación se tomó como referencia los siguientes parámetros: 40, 30 y 20% de lactosuero, y 40, 50 y 60% de agua, 20% de zumo de naranja, 0.27, 0.30, y 0.33 gr/lit de Stevia esto en hojas secas micro pulverizadas. Antes y después de todos los procesos de néctar de lactosuero enriquecido con zumo de naranja y controlado con radiación ultravioleta, ha sido sometido a un tratamiento con radiación UV de una longitud de onda 280 nm recomendado por Morata B. A. 2010.

Para evaluar el parámetro óptimo de cada variable indicada se tomó en cuenta la respuesta obtenida en cuanto a mayor aceptación por el consumidor con la evaluación organoléptica.

Para evaluar el empleo de insumos, se ensayaron con tres formulaciones distintas recomendados por Inda, (2000) y con tres cantidades de estevia (edulcorante), como se observa en el Cuadro 14 y 15, de los cuales se ha obtenido nueve tratamientos, cada uno con tres repeticiones, estas han sido analizado sensorialmente por un panel de 10 jueces, cuyos resultados se han sometido a una evaluación estadística utilizado el Análisis de Variancia que se muestra en el Cuadro 18.

Cuadro 18: ANVA para la aceptabilidad de la formulación.

F de V	GL	SC	CM	Fc	Ft		Sig.
					5%	1%	
Total	89	67,6					
Bloques (Panelistas)	9	1,82222	0,20246	0,8388	2,01	2,66	NS
Tratamientos (Formulaciones)	8	48,4	6,05	25,066	2,07	2,77	**
Error	72	17,3777	0,24135				

Fuente: Elaboración Propia (2012).

De acuerdo al análisis de variancia se observa que a nivel de panelistas no existen diferencias significativas estadísticamente, pero a nivel de tratamientos (formulación) si existen diferencias altamente significativas, lo que nos indica que algunas de las formulaciones son diferentes de los demás.

Estas diferencias pueden ser debido a la menor o mayor proporción de las cantidades de mezcla de algunos insumos o puede influir la cantidad del edulcorante que mejora la palatabilidad del producto.

Antes de proceder a la prueba de TUKEY previamente se estableció el coeficiente de variabilidad que es 0.15. Lo que significa que tenemos el camino abierto para elegir la prueba de TUKEY.

Cuadro 19: Cuadro ordenado de pruebas de TUKEY.

ORDEN DE MERITOS	TRATAMIENTOS	PROMEDIO	SIGNIFICANCIA AL 5%
I	2	4.4	a
II	5	4.0	a
III	8	3.8	a
IV	3	3.5	b
V	6	3.4	b
VI	9	3.3	b
VII	1	2.5	c
VIII	4	2.3	c
IX	7	2.2	c

Fuente: Elaboración Propia (2012).

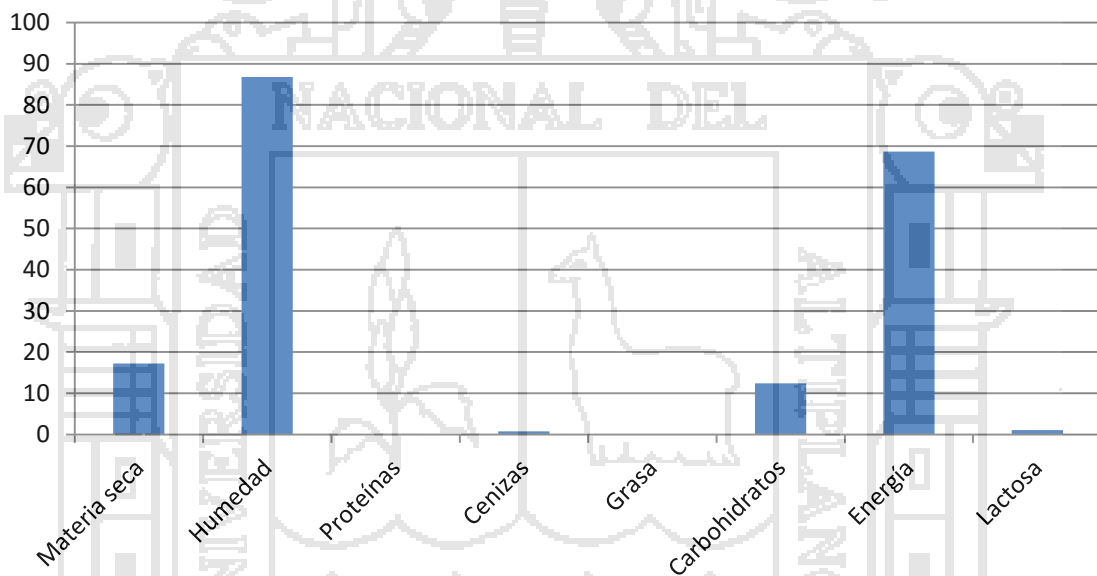
En este grupo de comparaciones, donde hemos contrastado el promedio que ocupa el primer lugar en orden de méritos es el tratamiento (T2) con los otros promedios, encontramos que dicho tratamiento es superior estadísticamente y con un 95% de seguridad y 5% de riesgo, dicha tratamiento corresponde a la formulación que contiene 30% de lactosuero, 50% de agua, 20% de zumo de naranja y 0.27 gr de harina de estevia micro pulverizada. Si observamos el Tratamiento (T5) corresponde a la misma formulación con la única diferencia de que varía la cantidad del edulcorante en este caso es 0.30 gr de harina de estevia micro pulverizada y así observamos que los tres primeros tratamientos son iguales con la única diferencia de que varían los edulcorantes, de igual manera se observa que los tratamientos (T3, T6 y T9) pertenecen a la misma formulación lo que si varia es el edulcorante.

Morata, 2010 menciona los efectos sobre las propiedades sensoriales de los alimentos, el principal problema en cuanto a propiedades sensoriales es que la radiación UV puede generar hidroperóxidos que pueden afectar a la fracción grasa o iniciar reacciones de oxidación en moléculas susceptibles, también menciona que los pigmentos susceptibles de ser oxidados por acción de hidroperóxidos o por radiación UV puede degradarse y dar lugar a pardeamientos. En general se ha observado que a las dosis utilizadas en preservación de alimentos no se producen diferencias significativas con los controles incluso en alimentos sensibles como zumo de frutas, sin embargo, es un problema a considerar cuando se apliquen dosis altas a productos sensibles.

**4.4.1. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL PRODUCTO FINAL.**

En el Cuadro 20 Se observan los resultados del análisis fisicoquímico del tratamiento T2 Las cuales tenía mayor aceptación durante la evaluación sensorial. El contenido de humedad de la bebida es 86.75% de los cuales se puede decir que está dentro de los parámetros de los néctares de fruta que según Jordán (1999) menciona de 86.75%, además menciona el mismo autor que el agua es como un componente principal para las bebidas enriquecidas con frutas. Los demás componentes son similares comparando con los de la naranja y lactosuero mencionado por Jordán (1999) y Spreer (1996).

Figura 06: Composición química de néctar de lactosuero enriquecido con zumo de naranja y controlado con radiación ultravioleta.



Fuente: Elaboración Propia 2012.

Cuadro 20. Determinaciones de características químicas.

Determinación	Magnitud	Bebida de lactosuero con zumo de naranja y estevia tratado con radiación UV.
Materia seca	%	17,25
Humedad	%	86,75
Proteínas	%	0,15
Cenizas	%	0,72
Grasa	%	0,00
Carbohidratos	%	12,38
Energía	Kcal./100ml	68,65
Lactosa	mg	1,054

FUENTE: Laboratorio de análisis de alimentos, agua y suelos F. C. A.- UNA-PUNO.

Morata, 2010. Menciona los efectos sobre las propiedades nutricionales de los alimentos, el papel que tiene la radiación UV en la activación de la vitamina D mediante una reacción fotoquímica, también indica la exposición de productos como la leche a radiación UV permite la activación de este factor que se denominó antirraquítico, este factor posteriormente se identificó como vitamina D3 y es el precursor de la hormona esteroidea cuya función principal es la regulación del metabolismo del calcio.

#### 4.5. RESULTADOS DE LA COMPOSICIÓN MICROBIOLÓGICA APLICANDO LA RADIACIÓN UV C 280 NM.

En el presente estudio optimización de néctar de lactosuero enriquecido con zumo de naranja y controlado con radiación ultravioleta, el producto se ha analizado microbiológicamente antes de ser sometido a la radiación UV C con 280 nm de longitud de onda recomendado por Morata B. A. 2010, y para hacer comparaciones de efectividad de radiación UV C en los microorganismos se ha sometido a este proceso y se llegó a los siguientes resultados como se muestra en el cuadro 21.

Cuadro 21. Composición Microbiológica de la bebida.

MICROORGANISMOS	MUESTRA	
	Antes	Después
Recuento de mesofilos aerobios viables	< 2 UFC/g	< 1 UFC/g
Recuento de mohos y levaduras	Ausente	Ausente
Recuento de Staphylococcus aureus	< 10 <sup>2</sup> UFC/g	< 10 <sup>1</sup> UFC/g
E. coli	Negativo	Negativo

FUENTE: Laboratorio de microbiología de medicina humana.- UNA-PUNO.

Según Morata, 2010, menciona que las células vegetativas de bacterias son significativamente más susceptibles a la radiación UV que los virus. También menciona que la resistencia a los tratamientos de preservación con UV C es muy variable dependiendo del tipo de microorganismo, estado fisiológico y mecanismos de reparación de célula. Gehr y Nicell 1996 ha observado una alta resistencia a UV de bacterias ambientales en estudios con coliformes termo tolerantes. La mayor o menor resistencia microbiana a la radiación UV es debida a la presencia de envoltas celulares densas que impiden el paso de la radiación al interior como

en el caso de las esporas, o bien a mecanismos de la reparación de ADN que suele ser el biopolímero más afectado por la radiación UV. Von Sonntag *et al* 2004. Menciona que los microorganismos a lo largo de la evolución han desarrollado distintos mecanismos de reparación del ADN dañado por efecto de la radiación UV del sol y describe dos mecanismos de reparación como reparación oscura y foto reactivación por lo cual la reparación oscura no precisa luz y se ha demostrado que sucede en casi todas las bacterias, supone la utilización de material enzimático de la célula para la reconstrucción de ADN dañado y la fotoreactivación sucede en condiciones de exposición prolongada a luz visible y esta específicamente dirigida a dímeros de piridina.

Morata 2010, menciona la aplicación más versátil de la radiación UV es el tratamiento continuo de alimentos líquidos, Oteiza *et al* 2005 mencionado por Morata 2010 trabajaron con zumos de frutas específicamente con naranja con diferentes capacidades de adsorción e inoculados con la cepa patógena de E. Coli y bajo diferentes condiciones de operación. Estos autores observaron que cuando trataban zumos inoculados con poblaciones de  $10^5 - 10^7$  ufc/ml y se les aplicaban dosis de UV C (254 nm) de 0 - 6 J  $\text{cm}^{-2}$  reduce la población inicial de forma significativa.

Por la razones mencionadas se puede apreciar en los resultados de análisis microbiológico de bebida, durante el almacenamiento a condiciones ambientales es aceptable, los resultados obtenidos está por debajo de los valores máximos exigidos por MINSA, de lo que ese puede decir que no hubo contaminación durante el proceso.

#### **4.6. RESULTADOS DE EVALUACION SENSORIAL.**

##### **4.6.1. RESPECTO AL OLOR**

Los resultados de la prueba sensorial respecto al olor se muestran en el anexo II .A partir de estos datos se realizó el ANVA a un nivel de 5% donde se concluye que existen evidencias estadísticas significativas entre los tratamientos en estudio debido a que F calculada es de 6.88 mayor que F tabular 3.55. Respecto a los panelistas no existen diferencias significativas debido a que F calculada es de 1.35 menor que F tabular que es igual a 2.46. Teniendo en cuenta sus apreciaciones de la bebida.

Cuadro 22. ANVA para el atributo de olor de la bebida obtenida

F de V	GL	SC	CM	Fc	Ft		Sig.
					5%	1%	
Total	29	19,366					
Bloques(panelistas)	9	5,366	0,596	1,352	2,46	3,6	N. S.
Tratamiento(formulaciones)	2	6,066	3,033	6,882	3,55	6,01	**
Error	18	7,933	0,440				

FUENTE: Elaboración propia (2012).

En el presente estudio para bloques, vemos que el valor de Fc es menor al Ft a nivel de 5%, esto nos indica que el valor calculado no sobrepasa el límite que nos indica la respectiva tabla; es decir que no tenemos la posibilidad de encontrar diferencia significativa en las posibles comparaciones que podamos hacer con los promedios de los bloques en estudio.

Para los tratamientos existe la posibilidad de encontrar diferencias significativas una de otra, por lo cual se realizó la prueba de Duncan a un nivel de significancia 0.05 (5%) presentando en el anexo II. del cual se concluye que entre los tratamientos (T3 y T1) no existen diferencias estadísticas significativas teniendo un puntaje de 2.2 y 2.3 en la escala hedónica “regular a bueno” lo que implica que los dos tratamientos son igualmente aceptadas seguida de T2 con un puntaje de 3.2 en la escala hedónica bueno a muy bueno esto nos sugiere que a medida se incrementa la dilución en concentración optima se aumenta ligeramente el grado de aceptación .

#### 4.6.2. RESPECTO AL SABOR.

Los resultados de la prueba sensorial respecto al sabor se muestran en el anexo II. A partir de estos datos se realizó el ANVA a un nivel de 5% donde se concluye que existen evidencias estadísticas significativas entre los tratamientos en estudio debido a que F calculada es de 18.27 mayor que F tabular que es igual a 3.55.

Respecto a los panelistas existen diferencias significativas debido a que F calculada es de 8.36 mayor q F tabular que es igual a 2.46. Teniendo en cuenta sus apreciaciones de la bebida.

Cuadro 23. ANVA para el atributo sabor de la bebida obtenida.

F de V	GL	SC	CM	Fc	Ft		Sig.
					5%	1%	
Total	29	15,866					
Bloques(panelistas)	9	9,2	1,022	8,363	2,46	3,6	**
Tratamiento(formulaciones)	2	4,466	2,233	18,272	3,55	6,01	**
Error	18	2,2	0,122				

FUENTE: elaboración propia (2012).

Para saber cuál tratamiento difiere significativamente una de otra se realizó la prueba de Duncan a un nivel de significancia 0.05 (5%) presentando en el anexo III . del cual se concluye que entre los tratamientos (T1 y T3) no existen diferencias estadísticas significativas teniendo un puntaje de 1.9 y 2.1 en la escala hedónica “malo a regular” lo que implica que los dos tratamientos son igualmente aceptadas seguida de T3 con un puntaje de 2.8 en la escala hedónica regular a bueno esto nos sugiere que a medida se incrementa la dilución en concentración optima se aumenta ligeramente el grado de aceptación .

#### 4.6.3. RESPECTO AL COLOR

Los resultados de la prueba sensorial respecto al color se muestran en el anexo II . A partir de estos datos se realizó el ANVA a un nivel de 5% donde se concluye que existen evidencias estadísticas significativas entre los tratamientos en estudio debido a que F calculada es de 28.24 mayor que F tabular que es igual a 3.55.

Respecto a los panelistas existen diferencias significativas debido a que F calculada es de 4.83 mayor que F tabular que es igual a 2.46. Teniendo en cuenta sus apreciaciones de la bebida.

Cuadro 24. ANVA para el atributo color de la bebida obtenida.

F de V	GL	SC	CM	Fc	Ft		Sig.
					5%	1%	
Total	29	12,666					
Bloques(panelistas)	9	4,666	0,518	4,827	2,46	3,6	**
tratamiento(formulaciones)	2	6,066	3,033	28,241	3,55	6,01	**
Error	18	1,9333	0,107				

FUENTE: elaboración propia (2012).



Para saber cuál tratamiento difiere significativamente una de otra se realizó la prueba de Duncan a un nivel de significancia 0.05 (5%) presentando en el anexo III. Del cual se concluye que entre los tratamientos (T1 y T3) no existen diferencias estadísticas significativas teniendo un puntaje de 2.4 y 2.3 en la escala hedónica “regula a bueno” lo que implica que los dos tratamientos son igualmente aceptadas seguida de T2 con un puntaje de 2.5 en la escala hedónica regular a bueno esto nos sugiere que a medida se incrementa la dilución en concentración optima se aumenta ligeramente el grado de aceptación .

#### 4.6.4. RESPECTO A LA APARIENCIA GENERAL

Los resultados de la prueba sensorial respecto a la apariencia general se muestran en el anexo II. A partir de estos datos se realizó el ANVA a un nivel de 5% donde se concluye que existen evidencias estadísticas significativas entre los bloques en estudio debido a que F calculada es de 9.88 mayor que F tabular que es igual a 2.46.

Respecto a los tratamientos existen diferencias significativas debido a que F calculada es de 27.73 mayor que F tabular que es igual a 3.55. Teniendo en cuenta sus apreciaciones de la bebida.

Cuadro 25. ANVA para el atributo apariencia general de la bebida obtenida.

F de V	GL	SC	CM	Fc	Ft		Sig.
					5%	1%	
Total	29	29,466					
Bloques (panelistas)	9	16,133	1,792	9,877	2,46	3,6	**
Tratamientos (formulaciones)	2	10,066	5,033	27,734	3,55	6,01	**
Error	18	3,2666	0,181				

FUENTE: elaboración propia (2012).

Para saber cuál tratamiento difiere significativamente una de otra se realizó la prueba de Duncan a un nivel de significancia 0.05 (5%) presentando en el anexo III. Del cual se concluye que entre los tratamientos (T3 y T1) no existen diferencias estadísticas significativas teniendo un puntaje de 1.9 y 2.4 en la escala hedónica “regula a bueno” lo que implica que los dos tratamientos son igualmente aceptadas seguida de T2 con un puntaje de

3.3 en la escala hedónica bueno a muy bueno esto nos sugiere que a medida se incrementa la dilución en concentración optima se aumenta ligeramente el grado de aceptación .

#### 4.7. RESULTADO DE LA DETERMINACION DE LA VIDA UTIL DE BEBIDA OBTENIDA

Para la determinación de vida útil de la bebida de lactosuero, con zumo de naranja y estevia tratado con radiación UV, se tomó la muestra que tuvo mayor aceptación durante la evaluación de porcentajes de insumo a utilizar para elaborar dicha bebida nutritiva, cuyo tratamiento corresponde al T2, que está constituida por la dilución de 30% de lactosuero, 50% de agua y 20% de zumo de naranja y 0.27gr/lit de estevia.

Para determinar la vida útil de la bebida obtenida se recurrió a la metodología de las pruebas aceleradas tomando como indicador el % de incremento de ácido láctico a diferentes temperaturas (10°C, 20°C y 30°C) por 20 días (0, 4, 8, 12, 16, y 20) cuyos resultados se muestran en Cuadro 24. Luego se realizó el cálculo de los coeficientes de determinación (R<sup>2</sup>) en el cual se determinó la reacción de orden cero  $n=0$ , se calculó también los constantes de velocidad para cada temperatura (K).

Cuadro 26. Tiempo de determinación de ácido láctico en 20 días a temperaturas de 10°C, 20°C y 30°C.

Temperatura (°C)	N° de Días					
	0	4	8	12	16	20
10	8.5	8.2	8.3	8.5	8.6	8.7
20	8.5	8.3	8.5	8.7	9.0	9.2
30	8.5	8.4	8.8	9.1	9.5	9.8

FUENTE:Elaboración propia (2012).

En este cuadro nos muestra que el ácido láctico determinada a 10°C muestra 8.7 °D almacenados durante 20 días, a una temperatura de 20°C en 20 días muestra un valor de ácido láctico de 9.2°D y a 30°C se nota un aumento de ácido láctico de 9.8 °D lo que puede causar toxicidad en caso que sea consumido el alimento en estas condiciones.

Los resultados calculados para el tiempo de vida en anaquel del producto bebida se calculó a través de la fórmula demostrado por Arrhenius mencionado por Labuza, (1998) y se muestra como a continuación se demuestra:

Cuadro 27. Estimaciones de coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) y las constantes de velocidad (K).

Temperatura	k	R <sup>2</sup>
10	0,31	0,958
20	0,36	0,989
30	0,52	0,978

FUENTE: Elaboración propia (2012).

Siguiendo la metodología para una reacción de orden 0, se calculó la inversa de la temperatura que previamente se transformó de grados Celsius a grados kelvin, así mismo se calculó el logaritmo neperiano de los valores K (constante de velocidad) como se muestra en el Cuadro 28. Con los valores se procedió a graficar la relación de Ln (K) versus 1/T tal como se muestra en la figura 08.

Cuadro 28. Cálculo de 1/T y Ln (K)

T°C	T°K	K	1/T	LnK
10	283,12	0,302	0,00353207	-1,17118298
20	293,12	0,35666667	0,00341157	-1,03095364
30	303,12	0,52	0,00329902	-0,65392647

FUENTE: Elaboración propia(2012).

La ecuación que describe a la recta de la figura 07 es:

$$\text{Ln}(K) = 6.385 - 2147/T \dots\dots\dots \text{ec. (1)}$$

Luego que se conoció la ecuación 1, Se procedió a determinar el valor de K (constante de velocidad en la reacción química) a una temperatura de 10°C (283.12°K).

$$\text{Ln}(K) = 6.385 - 2147 * (1/283.12^\circ\text{K})$$

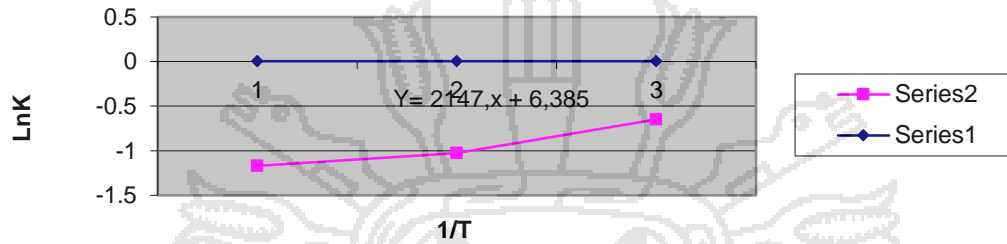
$$\text{Ln}(K) = -1.198$$

$$K = 0.302$$

Reemplazando los valores en la ecuación se tiene.22.1 Dias.

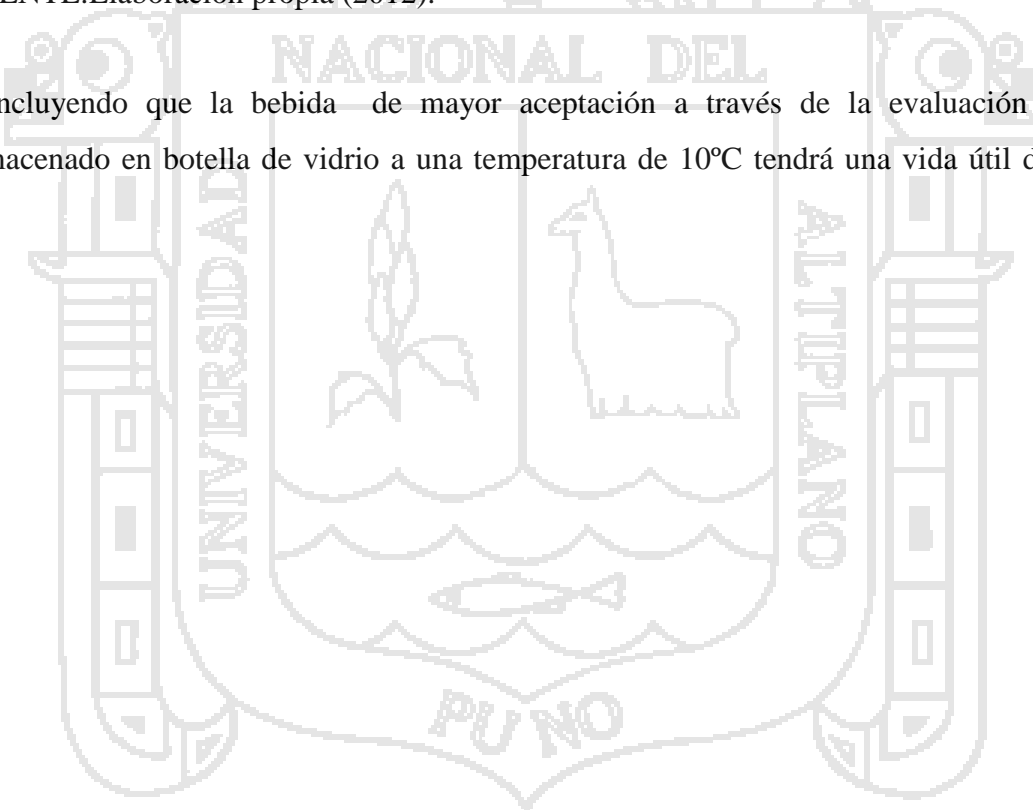
$$t_f = \frac{Q_f - Q_0}{K}$$

Figura 07. Ln (K) versus 1/T para estimar vida útil de la bebida.



FUENTE:Elaboración propia (2012).

Concluyendo que la bebida de mayor aceptación a través de la evaluación sensorial, almacenado en botella de vidrio a una temperatura de 10°C tendrá una vida útil de 22 días.



## V. CONCLUSIONES

- La disponibilidad del lactosuero como sub producto de la industria quesera, la disponibilidad de Naranja y estevia como edulcorante en la región Puno, son la base para formular y elaborar la bebida nutritiva y así dar un valor agregado generando un producto con nutrientes para su consumo humano y con bajo costos. La bebida obtenida con mayor aceptación con características organolépticas de olor, sabor, color, apariencia en general, concluyendo que la mejor fue la formulación (30% de lactosuero, 50% de agua, 20% de zumo de naranja y 0.27gr/lt. de estevia) irradiado con luz UV. Las características químicas determinadas del producto final está dentro de los parámetros de la bebida refrescante con excelente poder energético alimenticio conteniendo valor nutricional.
- En conclusión sea aplicado la radiación ultravioleta 280 nm de longitud de onda, esto recomendado por Morata, 2010, en el presente estudio los microorganismos ha sido reducido la población inicial en forma significativa, específicamente el recuento de mesófilos aerobios viables de  $< 2$  ufc/g a  $< 1$  ufc/g, igual mente ha sido reducido el recuento de *Staphylococcus aureus* de  $< 10^2$  ufc/g a  $< 10^1$  ugc/g y los mohos, levaduras y E. Coli se encontraron ausente. Y las características microbiológicas determinadas garantizan su consumo por estar dentro de los límites permisibles de las bebidas para consumo humano.
- Con los análisis sensoriales que se desarrollaron se ha obtenido la mejor formulación del néctar a base de lactosuero enriquecido con zumo de naranja y controlado con radiación UV C 280 nm de longitud de onda para reducir la carga microbiana, en ello la mejor formulación ha sido T2 que corresponde a 30% de lactosuero, 50% de agua, 20% de zumo de naranja y 0.27gr/lt. de estevia. El producto tiene vida útil de 22 días almacenadas a 10°C.

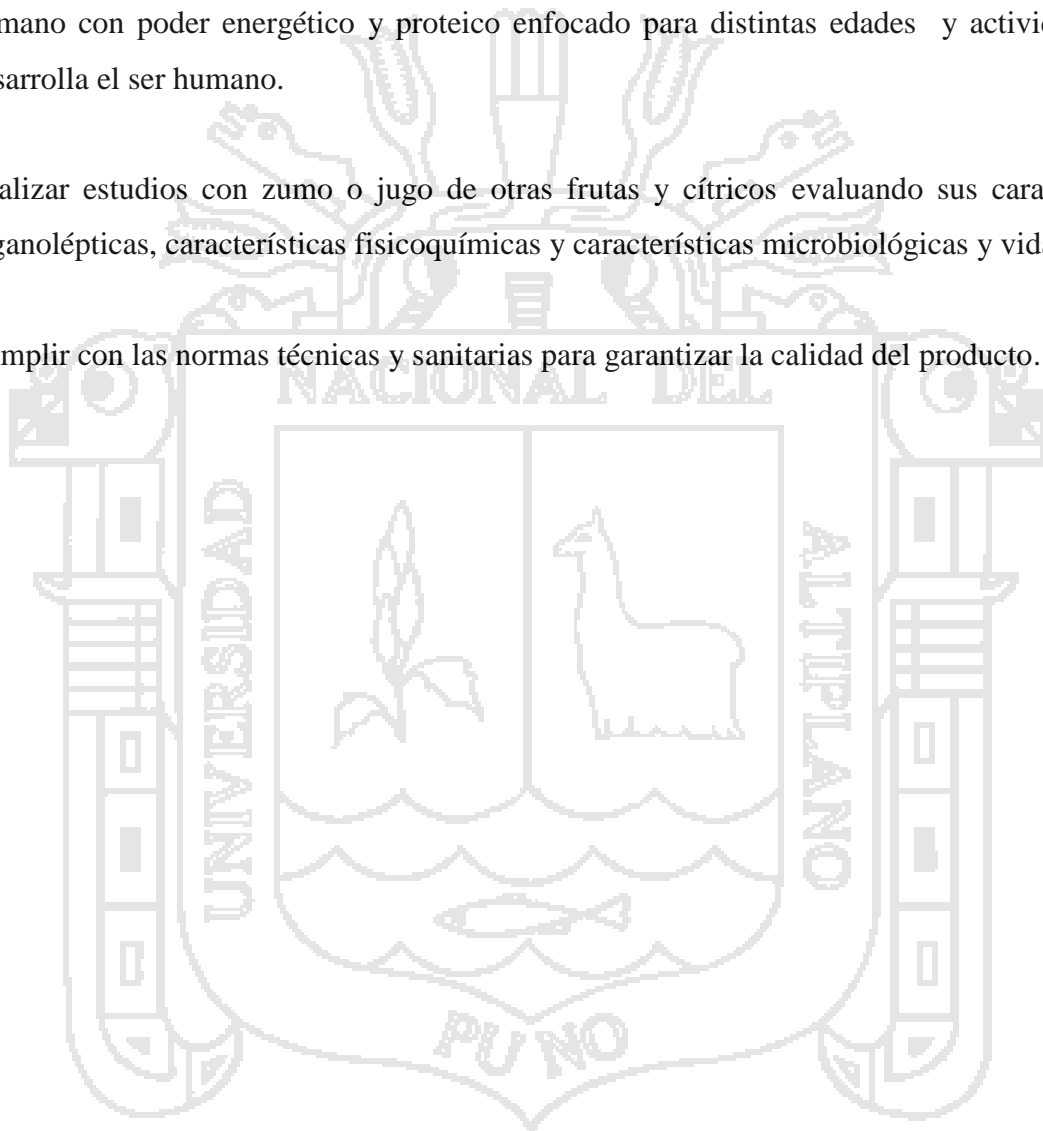
## VI. RECOMENDACIONES

Realizar estudios con distintas concentraciones de zumo de naranja para determinar la utilidad del producto y la influencia de la irradiación trabajando con distintas intensidades y tiempos.

Ampliar estudios para aprovechar el lactosuero en la elaboración de productos para consumo humano con poder energético y proteico enfocado para distintas edades y actividades que desarrolla el ser humano.

Realizar estudios con zumo o jugo de otras frutas y cítricos evaluando sus características organolépticas, características fisicoquímicas y características microbiológicas y vida útil.

Cumplir con las normas técnicas y sanitarias para garantizar la calidad del producto.



## BIBLIOGRAFIA

- AOAC. Official Methods of Analysis 1990. Association of Official Analytical Chemists International. Vols. 1 and 2. W. Horwitz (Ed). AOAC International, Washington, D.C.
- ALLENDE, A. AND ARTES F. 2003 "UV-C radiation as a novel technique for keeping quality of fresh processed" Publicado por la Universidad de la República, Facultad de Agronomía- Uruguay.
- CHIRE, M. 2002. Tesis Elaboración y Evaluación de bebidas nutritivas a base de cereales andinos y frutas variadas, UNA Puno, Perú.
- CHÓEZ A. y FERNANDA M. 2010. Elaboración de una bebida hidratante a base de lactosuero y enriquecida con vitaminas. Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción, Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL). Guayaquil, Ecuador
- DIGESA. MINISTERIO DE SALUD, 2004. "Art. 33. D.S. 29/65-SA de la legislación sanitaria para la fabricas y comercios de alimentos". Perú.
- DOMINGUEZ LAURA Y PARZANESE 2004 "Tecnología para la industria alimentaria la luz ultravioleta" Publicado por MINAGRI -Argentina
- FERNÁNDEZ, C. y NÚÑEZ, M. 1994. Durabilidad de los alimentos. Métodos de estimación. Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia. Ciudad de la Habana.
- F.D.A. 2004 "Kinetics of Microbial Inactivation for Alternative Food Processing Technologies –Ultraviolet Light" Publicado por MINAGRI, Argentina
- GONZÁLES, E. 2000. El cultivo de los Agrios. Madrid – España.
- GRAUMLICH, T.R., MARCY, J.E. & ADAMS, J.P..1986 "Aseptically packaged orange juice and concentrate: a review of the influence of processing and packaging conditions on quality" of Agricultural and Food Chemistry, Washington.
- GUERRERO BELTRAN J.A., BARBOSA CANOVAS G.V. 2009 "Ventajas y limitaciones del procesamiento de alimentos con luz ultravioleta" Publicado por la Universidad del Estado de Washington- E.E.U.U.

- HABIBULLAH, C. 2002, El naranjo la farmacia de Andaluz (1ra y 2da parte) Barcelona – España.
- INDA CUNNINGHAN, A. 2000. “Optimización de rendimiento y aseguramiento de la inocuidad en la industria quesera” Editorial Almendra – México
- INDECOPI, 2001 Instituto Nacional de Defensa del Consumidor de Propiedad Intelectual “Agua para Consumo”. Norma Técnica Peruana. Pág. 7.
- INCAGRO, 2008. “Manual técnico de producción de estevia, Cajamarca”
- JELLEN, P. 1997 “el Suero y el Queso”. Editorial Acribia – Zaragoza España.
- JORDÁN B. y MARÍA J. 1999. Constituyentes aromáticos del zumo de naranja. Efecto del procesado industrial, Universidad de Murcia, facultad de veterinaria, ciencia y tecnología de los alimentos.
- KEMMER F, 1982. “Manual de Agua su Naturaleza, Tratamiento y aplicaciones”. Impreso por Carvajal S. A.
- LANDAZURI A. y TIGRERO S. 2009. “Esteviarebaudiana, Planta Medicinal” Escuela politécnico del ejército, Departamento Ciencias de la Vida, Carrera de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias. Sangolqui – Ecuador, setiembre 2009.
- LINDEN, G. y LORIENT, D. (1994). “Bioquímica Agroindustrial”. Editorial Acribia. Zaragoza- España.
- LOPEZ, E. 2004. Conservación de jugo de sandía aplicando irradiación ultravioleta de onda corta. Universidad de las Américas Puebla Escuela de Ingeniería Departamento de Ingeniería Química y Alimentos. Mexico.
- LOPEZ M. 2001. “Shorte wave ultraviolet ligh irradiation effects on carrot” institute of foor technologists Annual Meeting. New Orleans, June.



- MAYTE PELAYO 2009 “Lactosuero, residuo a aditivo alimentario” Publicado por CONSUMER, España.
- MONICO, P. y PORTELA, M. 2008. Aceptabilidad y calidad nutricional de una bebida a base de zumo de naranja y suero de leche, conservado con calor o campos eléctricos pulsados de alta intensidad. Departamento de Tecnología de Alimentos, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agraria, Universidad de Lleida, Lleida, España. Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA, Buenos Aires, Argentina
- MONTEIRO, R. 1982. Taxonomía e biología da reprodução de *Steviarebaudiana*(Bert.) Bertoni. I Seminario Brasileiro sobre *Steviarebaudiana*Bertoni. IV 1. Resumos ITAL Campinas 9/82. Instituto de Tecnología de Alimentos, Sao Paulo. Pagliosa
- MORATA B-A. 2010. Nuevas Tecnologías de Conservación de Alimentos. 2da Edición A. Madrid. Vicente Ediciones. Madrid. España.
- NORMAS DEL CODEX 1971. El zumo (jugo) de naranja conservado por medios físicos exclusivamente codexstan 45 – 1981 (norma mundial)Anteriormentecac/rs 45-.
- NUÑES, C. y CHUMBIRAY, M. 1991 “Determinación de vida en Anaquel de Productos Alimenticios Procesos, mediante Pruebas aceleradas. Fundamentos en Vida en anaquel (SHELF-LIFE) de productos alimenticios. Universidad de Lima
- PALACIOS, S. 1998. “Estadística Aplicada”, Primera Edición, Editorial Educación y Cultura, Cochabamba – Bolivia.
- PARRA HUERTAS RICARDO ADOLFO 2009 “Lactosuero importancia en la industria alimentaria” Publicado por la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.
- RAMIA, A. NELSON, C. 2002. “Estudio Económico para la Producción de estevia” Honduras, Noviembre.

- RAHMAN, M. (1997) Light Energy in Food Preservation en “Handbook of Food Preservation” Ed. Rahman CRC. Pres. EE.UU.
- SHAMA, G. 1999. “Ultraviolet light, Inciclopedia of physical Sciencie and Technology”
- SHOCK, C. 1982. Experimental Cultivation of Rebaudi’s Stevia in California.  
AgronomyProg No. 122. Univ, of California, Davis.
- SPREER, E. 1996. “Lactología Industrial”. 2da Edición. Edit. Acribia. Zaragoza-España.
- TICONA, Z. 2001. Manual, la producción de cítricos, Oficina de Investigación. Facultad de Ciencias Agrarias. UNA – Puno.
- TOCCHINI, R.P., NISIDA, A.L.A.C. & MARTIN, Z.J.1995 “Industrializaçãõ de polpas, sucos e néctares de frutas”. Publicado por ITAL, Campinas, Brazil.
- VILLALTAJORDI.2001.”Propiedades funcionales de lactosuero y sus proteínas “Publicado por la BDN, Barcelona España.
- WATTS B. y YLIMAKI G. 1992. “Métodos Sensoriales Básicos para la Evaluación de Alimentos” Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo, Ottawa, Canadá.
- WRIGHT, H.B.; CAIRNS, W.L.1998 “Desinfección de agua por medio de luz ultravioleta” Publicado por OPS E.E.U.U.



# ANEXOS

**ANEXO I.**

**FICHA DE EVALUACION SENSORIAL**

**Ficha de escala hedónica.**

<b>PRUEBAS DE ESCALA HEDONICA</b>	
<b>Producto</b>	<b>Fecha</b>
<b>Panelista</b>	<b>Prueba</b>
<p><b>Instrucciones:</b> Ud recibirá una muestra codificada verifique el olor, sabor, color, aroma y apariencia general aplicando la siguiente escala de puntaje para cada muestra.</p> <p style="margin-left: 40px;">Excelente            5</p> <p style="margin-left: 40px;">Muy bueno           4</p> <p style="margin-left: 40px;">Bueno                 3</p> <p style="margin-left: 40px;">Regular               2</p> <p style="margin-left: 40px;">Malo                   1</p>	

FUENTE: Watts B. M, 1992.

Evaluación sensorial de características organolépticas

MUESTRA	OLOR	SABOR	COLOR	AROMA	APARIENCIA GENERAL	PUNTAJE
<b>T1</b>						
<b>T2</b>						
<b>T3</b>						
<b>observaciones:</b>						
.....						
.....						
.....						
.....						

FUENTE: Watts B. M, 1992.

## ANEXO II.

## RESULTADO DE LA EVALUACION SENSORIAL

PANELISTAS	TRATAMIENTOS									TOTAL BLOQUES
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	
1	2	5	4	3	3	3	2	4	3	29
2	3	4	3	3	4	3	3	4	3	30
3	3	5	3	2	4	4	2	4	4	31
4	2	4	4	2	4	4	2	4	3	29
5	3	4	4	2	4	3	2	4	3	29
6	3	4	4	3	5	4	3	3	3	32
7	2	5	4	2	4	3	2	4	3	29
8	2	4	3	2	4	4	2	4	4	29
9	2	5	3	2	4	3	2	3	3	27
10	3	4	3	2	4	3	2	4	4	29
Total Trat.	25	44	35	23	40	34	22	38	33	294
Prom.	2,5	4,4	3,5	2,3	4	3,4	2,2	3,8	3,3	3,26666667

CV 0.15039246

**RESULTADO DE PORCENTAJE DE EMPLEO DE INSUMOS PARA LA "OPTIMIZACIÓN DE NÉCTAR DE LACTOSUERO ENRIQUECIDO CON ZUMO DE NARANJA Y CONTROLADO CON RADIACIÓN ULTRAVIOLETA."**

**ANEXO III**

**Respecto a olor.**

PANELISTAS	TRATAMIENTOS			TOTAL BLOQUES
	T1	T2	T3	
1	3	2	1	6
2	2	3	3	8
3	1	3	2	6
4	3	4	3	10
5	1	3	2	6
6	3	4	2	9
7	3	3	2	8
8	3	3	2	8
9	2	4	2	8
10	2	3	3	8
Total Trat.	23	32	22	77
Prom.	2,3	3,2	2,2	2,56666667

Cv 8.5

**Respecto a sabor.**

PANELISTAS	TRATAMIENTOS			TOTAL BLOQUES
	T1	T2	T3	
1	2	3	2	7
2	2	3	2	7
3	3	4	3	10
4	2	3	3	8
5	2	3	2	7
6	2	2	2	6
7	2	3	2	7
8	2	2	2	6
9	2	3	2	7
10	2	3	2	7
Total Trat.	21	29	22	72
Prom.	2,1	2,9	2,2	2,4

Cv 7.00

**Respecto a color.**

PANELISTAS	TRATAMIENTOS			TOTAL BLOQUES
	T1	T2	T3	
1	2	3	2	7
2	3	4	3	10
3	2	3	2	7
4	3	4	2	9
5	2	3	2	7
6	2	3	2	7
7	3	3	2	8
8	2	3	3	8
9	3	4	3	10
10	2	3	2	7
<b>Total Trat.</b>	<b>24</b>	<b>33</b>	<b>23</b>	<b>80</b>
<b>Prom.</b>	<b>2,4</b>	<b>3,3</b>	<b>2,3</b>	<b>2,66666667</b>

Cv 6.9

**Respecto a apariencia general.**

PANELISTAS	TRATAMIENTOS			TOTAL BLOQUES
	T1	T2	T3	
1	2	3	2	7
2	3	4	2	9
3	4	5	3	12
4	3	4	2	9
5	3	3	2	8
6	2	3	1	6
7	2	4	3	9
8	2	3	2	7
9	1	2	1	4
10	2	2	1	5
<b>Total Trat.</b>	<b>24</b>	<b>33</b>	<b>19</b>	<b>76</b>
<b>Prom.</b>	<b>2,4</b>	<b>3,3</b>	<b>1,9</b>	<b>2,53333333</b>

Cv 8.6

## ANEXO IV.

## IMÁGENES EN EL LABORATORIO



MUESTRA 1,2y3





PANELISTAS EVALUANDO MUESTRA 1



EVALUANDO MUESTRA 2



AVALUANDO MESTRA 3



PANELISTAS LLENANDO FICHA



MEDICION DE pH



EVALUACION DE INDICE DE ACIDEZ



DETERMINANDO VISCOSIDAD



MUESTRAS TRATADO POR RADIACION UV.



MUESTRA DEL PRODUCTO 1

