

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	15
2. OBJETIVOS	17
2.1 OBJETIVO GENERAL	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3. ALCANCE DE LA INVESTIGACIÓN	18
4. MARCO TEÓRICO	19
4.1 ESTADO DEL ARTE Y ANTECEDENTES	19
4.2 MARCO CONCEPTUAL.....	23
4.2.1 Lactosuero	23
4.2.2 Kéfir	26
4.2.3 Panela	27
5. METODOLOGÍA	32
5.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN	32
5.2 SUMINISTRO DE LA MATERIA PRIMA, INSUMOS Y CULTIVOS	32
5.3 ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DEL LACTOSUERO	33
5.4 ESTANDARIZACIÓN Y ELABORACIÓN DEL KÉFIR CON ADICIÓN DE CULTIVOS LÁCTICOS.....	33
5.5 DISEÑO EXPERIMENTAL	34
5.6 ELABORACIÓN DEL KÉFIR	35
5.7 VERIFICACIÓN DE LA CALIDAD DEL PRODUCTO TERMINADO POR MEDIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICOS, MICROBIOLÓGICOS.	38
5.7.1 Determinación De pH	38

5.7.2 Determinación De Acidez Titulable	39
5.7.3 Análisis Sensorial	39
5.7.4 Determinación de grasa por el método de Gerber NTC 4722	41
5.7.5 Análisis microbiológicos	41
5.7.6 Determinación De Sinéresis.....	41
5.7.7 determinación de vida útil	42
5.7.8 Análisis estadístico	42
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
6.1 Análisis Fisicoquímicos	43
6.1.1 Análisis del lacto suero	43
6.1.2 Análisis de pH	43
6.1.3 Análisis de Acidez.....	46
A continuación en la tabla 10 se muestra el porcentaje de acidez durante el tiempo de fermentación del kéfir, este procedimiento al igual que el pH se realizó cada hora por triplicado.....	46
6.1.4 Análisis sensorial.....	49
6.1.5 Determinación de grasa	53
6.1.6 Análisis microbiológicos	54
6.1.7 Determinación de sinéresis.....	55
6.1.8 Vida útil	56
CONCLUSIONES	53
RECOMENDACIONES.....	54
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Composición media del lactosuero	24
Tabla 2. Composición química promedio de la caña de azúcar	28
Tabla 3. Composición promedio de la panela	30
Tabla 4. Diseño de mezclas simple para la elaboración de la bebida tipo kéfir	34
Tabla 5. Diseño experimental del kéfir con panela y lactosuero	35
Tabla 6. Código de las muestras	40
Tabla 7. Escala hedónica para evaluar la aceptabilidad del producto	40
Tabla 8. Componentes del lactosuero	43
Tabla 9. Comportamiento del pH durante 17 horas de fermentación	44
Tabla 10. Porcentaje de acidez durante 17 horas	47
Tabla 11. Análisis microbiológicos	55

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama del proceso de elaboración de bebida tipo kéfir con lactosuero y panela	36
---	----

LISTA DE GRAFICAS

Grafica 1. Variación del pH con respecto al tiempo durante la fermentación	45
Grafica 2. Variación del porcentaje de acidez con respecto al tiempo durante la fermentación	48
Grafica 3. Evaluación parámetro de acidez	50
Grafica 4. Evaluación parámetro sensación de viscosidad	51
Grafica 5. Evaluación parámetro presencia de alcohol	51
Grafica 6. Evaluación parámetro formación de espuma	52
Grafica 7. Evaluación parámetro olor	52

Grafica 8. Evaluación parámetro color	53
Grafica 9. Porcentaje de sinéresis durante 15 días a temperatura constante (6°C)	56
Grafica 10. Vida útil (pH)	57
Grafica 11. Vida útil (acidez expresada en % de ácido láctico)	58

1. INTRODUCCIÓN

La industria láctea es uno de los sectores más importantes de la economía de países en desarrollo e industrializados; aproximadamente del 90% del total de la leche utilizada en la industria quesera se obtiene el lactosuero el cual retiene cerca de 55% del total de ingredientes de la leche como la lactosa, proteínas solubles, lípidos y sales minerales (Aider *et al.*, 2009). Algunas posibilidades de la utilización de este residuo han sido propuestas, pero las estadísticas indican que una importante porción de este residuo es descartada como efluente el cual crea un serio problema ambiental (Aider *et al.*, 2009; Fernández, 2009), debido a que afecta física y químicamente la estructura del suelo, lo anterior resulta en una disminución en el rendimiento de cultivos agrícolas y cuando se desecha en el agua, reduce la vida acuática al agotar el oxígeno disuelto, lo cual es altamente contaminante (Ramírez, 2014).

Considerables esfuerzos han sido realizados en el pasado para explorar nuevas alternativas para la utilización de lactosuero y reducción de la contaminación ambiental (Koutinas *et al.*, 2009). Entre los productos de exitosa aceptación debido a sus bajos costos de producción, grado de calidad alimenticia y aceptable sabor, se encuentran las bebidas refrescantes (Londoño *et al.*, 2008), bebidas fermentadas, y alcohólicas, proteína unicelular, biopelículas, producción de ácidos orgánicos, concentrados de proteínas, derivados de lactosa entre otros (Koutinas *et al.*, 2009; Almeida *et al.*, 2009; Ramírez, 2014).

Dentro de las bebidas fermentadas se conoce el kéfir (yogur búlgaro), es un producto con propiedades probióticas, cuyo origen es la región del Cáucaso y combina bacterias con propiedades ácido lácticas, políticas y proteolíticas, levaduras (formación de etanol), envuelta en una matriz de polisacáridos, denominada kefiran; Los principales microorganismos en el kéfir son *Lactobacillus acidophilus* y la levadura (hongo unicelular) *Saccharomyces kéfir* (Lopitz, *et al.*,

2006), los cuales según Londero y otros, (2012) el número total de microorganismos y su composición relativa en los granos de kéfir es variable, dependiendo del origen y el método de cultivo de los granos, los sustratos utilizados y el tipo de leche.

Considerando el problema que puede generar el lactosuero en la contaminación que se crea por el vertido del lactosuero y dadas las actuales exigencias de conservación del medio ambiente, se presenta el siguiente trabajo de investigación donde se va a aprovechar esta materia prima en la elaboración de un producto fermentado con características funcionales como es el kéfir, utilizando como sustrato la panela el cual es un producto autóctono para ofertar una bebida con beneficios para el consumidor y para el desarrollo de la investigación en este campo. Por lo anteriormente expuesto se presenta el siguiente trabajo de investigación titulado: “efecto de la concentración de panela y lactosuero en la cinética de acidificación de una bebida tipo kefir” la cual se va a realizar en la ciudad de Cartagena en las Plantas Pilotos del programa de Ingeniería de Alimentos de la Universidad de Cartagena.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la concentración de panela y lactosuero en la cinética de acidificación de una bebida tipo kéfir

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estandarizar y laborar una bebida fermentada tipo kéfir a base de lactosuero y panela
- Caracterizar las propiedades bromatológicas del lactosuero y producto terminado
- Estudiar las propiedades de color y viscosidad
- Evaluar comparativamente los atributos sensoriales de las bebidas lácteas fermentadas mediante escala hedónica.

3. ALCANCE DE LA INVESTIGACIÓN

Esta investigación tiene como propósito elaborar una bebida fermentada tipo kéfir a base de lactosuero y panela, evaluar la cinética de acidificación, sus propiedades fisicoquímicas y microbiológicas, considerando que en la industria alimentaria, el lactosuero constituye una fuente económica de proteínas que otorga múltiples propiedades en una amplia gama de alimentos tales como mejorar la textura, realzar el sabor y color, la emulsificación y estabilización y muchas otras propiedades funcionales que mejoran su calidad (Ramírez 2014); que van a favorecer las condiciones finales de la bebida ofertando un producto con alto valor biológico.

Adicionalmente se estudiarán las propiedades de color y viscosidad que le pueden otorgar otros componentes como la panela y la leche en polvo en cada una de sus concentraciones.

Finalmente se evaluarán comparativamente los atributos sensoriales de las bebidas lácteas fermentadas mediante escala hedónica de aceptación.

La culminación de este proyecto permitirá la realización de otras investigaciones en el campo de industrias procesadora de lácteos dirigidas a poblaciones especiales, a la comunidad científica, y al programa de Ingeniería de Alimentos de la Universidad de Cartagena.

El interés de esta investigación es incentivar la innovación en el campo de alimentos funcionales con adición de cultivos lácticos (torula kefir) y optimización de procesamientos lácteos, con el aprovechamiento de subproductos de esta industria.

4. MARCO TEÓRICO

4.1 ESTADO DEL ARTE Y ANTECEDENTES

En estudios anteriores se ha demostrado que el lactosuero es un subproducto de la elaboración de queso con alto valor biológico y que además posee un elevado contenido de aminoácidos esenciales, sin embargo en la actualidad el lactosuero es tratado como un contaminante de la industria láctea y por consiguiente no es aprovechado en su totalidad en producción alimentaria; a continuación se referenciarán alguno de las investigaciones realizadas sobre la importancia del lacto suero, panela y kéfir :

- Ariyanti, D. y H. Hadiyanto. 2012 realizaron un estudio sobre **“Optimización de la producción de etanol a partir de suero de leche a través de Fed-batch fermentación utilizando Kluyveromyces marxianus”** el objetivo de este estudio fue examinar las condiciones de funcionamiento óptimas de temperatura sobre la producción de etanol a través de la fermentación fed-batch utilizando Kluyveromyces marxianus con variaciones de temperatura de 30°C, 35°C, 40°C, respectivamente. Los resultados mostraron que los más altos contenidos de biomasa y la concentración de etanol se logró a temperatura 30°C, con μ (0.186 / h), Y_p / s (0,21 g / g), y Y_x / s (0,32 g / g).
- Ferreira, 2014 y otros autores realizaron el siguiente trabajo de investigación: **“Selección de bacterias del ácido láctico a partir de granos de kéfir brasileñas para su uso potencial como cultivos iniciadores o probióticos”**, con el objetivo aislar bacterias de ácido láctico a partir de ocho granos de kéfir que se propagan en soluciones de leche o azúcar de cinco lugares diferentes en Brasil. En conclusión, varias bacterias

de ácido láctico que podrían ser utilizados en combinación con levaduras como cultivos iniciadores para tanto kefir leche y kefir agua de azúcar se caracterizaron, y las propiedades funcionales de varios de los lactobacilos aislados a partir de los granos de kéfir eran indicativos de su posible uso como probióticos en tanto kéfir y otros productos lácteos.

- Mosquera, 2012 **“Aprovechamiento del Suero de Quesería en la Obtención de una Bebida Fermentada a Partir de Mezclas con Jugo de Caña de Azúcar (*Saccharum officinarum*)”**. Esta investigación estudia el Aprovechamiento del suero de quesería en la obtención de una bebida fermentada a partir de mezclas con jugo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*). Se utilizaron levaduras liofilizadas (*Saccharomyces cerevisiae*) de dos marcas comerciales, La Reposterita de origen ecuatoriano y Saf-Instant de origen mexicano, compuesta también por monoestearato de sorbitán el cual actúa como emulsificante y estabilizante. La velocidad de fermentación se valoró en condiciones experimentales idénticas a temperatura ambiente. Esto se verificó al finalizar el proceso de fermentación y maduración ya que se obtuvo una bebida de buenas características sensoriales.

- Caro y León, 2014 **“inhibición del crecimiento de *aspergillus ochraceus* mediante “panela” fermentada con gránulos de kéfir de agua”**. el objetivo de esta investigación fue evaluar la capacidad antifúngica de soluciones de panela fermentadas a diferentes tiempos y temperaturas con kéfir de agua (KA) sobre *A. ochraceus*; se inocularon 10 μ L de una suspensión (3×10^7 conidios.ml⁻¹) de *A. ochraceus* en agar malta mezclado con sobrenadantes libres de células (SLC) de los productos fermentados, incubando a 25°C y midiendo diariamente el diámetro del micelio, con lo cual se determinó el efecto antifúngico sobre la tasa de crecimiento y la

fase de latencia. Se determinó la concentración de ácidos orgánicos (AO) en los SLC mediante HPLC. Los productos fermentados por mayor tiempo y temperatura tuvieron mayor concentración de (AO) y mayor descenso de pH siendo el SLC8 (pH: 2,8) el más inhibitorio. La solución de panela en agua fue adecuada para fermentación con gránulos de KA, obteniéndose metabolitos con propiedades antifúngicas como los AO.

- Díaz 2015, en su trabajo realizado sobre **“caracterización y elaboración de una mermelada a partir del peciolo del ruibarbo (*rheum rhabarbarum*), proveniente del departamento norte de Santander”** determino que la presencia de panela en estas formulaciones aumento el contenido de proteínas, calcio, potasio y hierro con alto valor biológico.
- Galindo y Pérez 2013, en su proyecto de investigación denominado **“estandarización y elaboración de queso crema con adición de lacto suero e inoculado con *lactobasillus casei*”**, concluyeron que la adición del lacto suero aumentaron el contenido de proteína y disminuyeron el porcentaje de grasa presentando un nuevo producto con propiedades funcionales.
- Corrales y España 2013, en su proyecto de investigación sobre **“estandarización en la elaboración de suero costeño elaborado en los municipios de Turbaco, Arjona y Carmen de Bolívar”** determinaron que el proceso del suero costeño en esos tres municipios vario en la formulación y que el suero costeño elaborado en el municipio de Arjona utilizaron los sólidos del lacto suero lo cual representó un incremento en los rendimientos, proteína y bajo los niveles de grasa

- Flórez y Peña 2013, “**elaboración y evaluación de una bebida refrescante y nutritiva para adultos mayores a base de lactosuero y enriquecida con vitamina c**”, en el cual se evaluaron dos factores porcentaje de lactosuero y porcentaje de pulpa de limón, a cada una de las mezclas se le realizaron los análisis fisicoquímicos de pH, acidez y sólidos solubles; las bebidas con un menor porcentaje de lactosuero presentaron pH y acidez más altos, los cuales disminuyeron a medida que se aumentó el porcentaje de lactosuero. el tratamiento con el mayor puntaje en la evaluación sensorial fue aquel con 15% de pulpa de limón y 50% de lactosuero.
- Marulanda 2012, en este proyecto de investigación sobre “**elaboración y evaluación de una bebida tipo yogurth a base de lactosuero dulce fermentada con *streptococcus salivarius ssp. thermophilus* y *lactobacillus casei ssp. Casei***” el objetivo fue lograr una aceptación por parte de los consumidores y demostrar que el lactosuero contiene los nutrientes necesarios para ser sometido al proceso de una bebida fermentada tipo yogurt, se evaluaron tres concentraciones de sólidos solubles 13%, 17% y 21%, además las muestras se sometieron a análisis microbiológicos para demostrar la supervivencia de las cepas utilizadas, pruebas fisicoquímicas para mostrar la eficacia de los microorganismos en el proceso de fermentación y por último las muestras fueron sometidas a un sondeo sensorial en el cual se encontró que no existe una preferencia generalizada hacia ninguna de las concentraciones en los diferentes aspectos evaluados tales como aroma, dulzor, acidez, textura y semejanza con yogurt comercial, aunque mostraron preferencia hacia la concentración de 17% de sólidos solubles.

Otros estudios han determinado que el kéfir se puede utilizar como espesante, estabilizante y emulsionante, agente formador de películas, sustituto de grasa o un agente gelificante (Rimada y Abraham, 2006; Wang *et al.*, 2008 y Piermaria *et al.*, 2011); adicionalmente su consumo en productos fermentados pueden contribuir a beneficios en la salud (Abraham *et al.*, 2010) en el sistema inmunológico con actividades antibacterianas y antitumorales (Medrano *et al.*, 2011 y Chen *et al.*, 2012).

4.2 MARCO CONCEPTUAL

4.2.1 Lactosuero

El lactosuero es definido como “la sustancia líquida obtenida por separación del coágulo de leche en la elaboración del queso”, es un líquido translúcido verde obtenido de la leche después de la precipitación de la caseína. Existen varios tipos de lactosuero dependiendo principalmente de la eliminación de la caseína, el primero denominado dulce, está basado en la coagulación por la renina a pH 6,5. El segundo llamado ácido resulta del proceso de fermentación o adición de ácidos orgánicos o ácidos minerales para coagular la caseína como en la elaboración de quesos frescos (Parra, 2009). La diferencia entre los dos tipo de lactosuero son el contenido de mineral, la acidez y la composición de la fracción de proteína de lactosuero.

Tabla 1. Composición media del lactosuero

COMPONENTES	LACTOSUERO DULCE	LACTOSUERO ÁCIDO
Agua	93-95%	93-95%
Extracto seco	5-7%	5-7%
Lactosa	4.5-5.3%	3.8-5.2%
Proteínas	0.6-1.1%	0.2-1.1%
Grasa	0.1-0.4%	0.1-0.5%
Sales minerales	0.5-0.7%	0.5-1.2%

Fuente: Guerrero, 2012

Aproximadamente, 9 kg de lactosuero resultan por cada kg de queso producido y el costo asociado con la disposición de este gran volumen de lactosuero es substancial. Ya que comprende el 80-90% del volumen de la leche durante el proceso de elaboración del queso y contiene cerca del 50% de los sólidos presentes en la leche original, incluyendo 20% de proteína y la mayor de lactosa, minerales y vitaminas hidrosolubles. El lactosuero está compuesto de lactosa (5%), agua (93%), proteínas (0,85%), minerales (0,53) y una mínima cantidad de grasa (0,36%) (Parra 2009).

Entre las principales fracciones proteicas de la leche liberadas en el suero, se encuentran en mayor cantidad las proteínas globulares solubles β -lactoglobulina (β LG) y β -lactalbúmina (α -LA) en una relación y como constituyentes menores seroalbúmina, inmunoglobulinas, lactoferrina, proteosaspeptona y transferrina; en total ellas representan el 98% de la proteína soluble. Esto es equivalente a 6 g por cada kilogramo de leche completa, empleada en la fabricación de los quesos. Todas estas proteínas están presentes en los tipos de lactosuero mencionados (Carrasco 2010).

El lactosuero causa contaminación ambiental debido a su alta DBO dentro de un rango de 30,000-50,000 mg/L, siendo su disposición difícil y costosa. La presencia

de lactosa en el lactosuero es la principal responsable para este valor de DBO alta (Parra 2009).

La producción de lactosuero a nivel mundial genera más de 145 millones de toneladas por año (Donoso *et al.*, 2009), lo anterior justifica el desarrollo de varios métodos de tratamientos para este residuo, a pesar de las diferentes posibilidades de la utilización de lactosuero, aproximadamente la mitad del producido a nivel mundial es descartado sin tratamiento (Donoso *et al.*, 2009).

El suero también puede aprovecharse en la producción de bebidas que se combinan con grasa de origen lácteo o vegetal o sustancias aromáticas, la fabricación de helados y en la producción de quesos (Fernández, 2009).

El suero de queso en algunos países se emplea en la elaboración de distintos productos tales como: suero en polvo desmineralizado con un 50% a un 90%, filtrado en polvo, lactosa hidrolizada, proteínas ultra filtradas, proteínas purificadas, bebidas refrescantes, saborizadas y fermentadas que sirven para la nutrición humana, animal, industrias farmacéuticas y alimentarias (Muñi *et al.*, 2005; Londoño, 2006; Panesar *et al.*, 2007; Marulanda 2013).

Las proteínas del lactosuero de la industria quesera desempeñan un importante papel nutritivo como una rica y balanceada fuente de aminoácidos esenciales 26% (Ha y Zemel, 2003; Ibrahim *et al.*, 2005), además, son de alto valor biológico (por su contenido en leucina, triptófano, lisina y aminoácidos azufrados); las proteínas del suero seroproteínas formadas por la lactoglobulina y lactoalbúmina, siendo esta última predominante en el suero, son proteínas de excelente calidad, con los aminoácidos esenciales en cantidades necesarias para el organismo humano y son fácilmente digeribles; la lactosa, único azúcar que se encuentra en la leche en cantidad apreciable (Galindo y Zamora 2014).

Las propiedades funcionales de este subproducto son usualmente atribuidas a la fracción proteica, la cual es una mezcla de diferentes proteínas con varias propiedades funcionales. Estas propiedades permiten ser usadas como ingrediente para varios propósitos en la industria alimenticia.

4.2.2 Kéfir

El kéfir es una bebida láctea tradicional originaria de las regiones del Cáucaso y de Europa del Este, producido por la adición directa de granos de kéfir de leche.

Las bacterias y levaduras que componen granos de kéfir están encerrados en un polisacárido conocido como kefiran y una matriz de proteína. Estos microorganismos son responsables de la fermentación alcohólica-ácido de la leche, la producción de un producto de leche fermentada con propiedades únicas.

Este producto también tiene una larga historia de los efectos beneficiosos para la salud, lo que ha contribuido de manera significativa al aumento en el consumo de kéfir y el interés en este producto en varios países occidentales (Leite *et al* 2013). Estudios recientes han determinado que el kéfir se puede utilizar como espesante, estabilizante y emulsionante, agente formador de películas, sustituto de grasa o un agente gelificante (Rimada y Abraham, 2006; Wang *et al.*, 2008 y Piermaria *et al.*, 2011); adicionalmente su consumo en productos fermentados pueden contribuir a beneficios en la salud (Abraham *et al.*, 2010) en el sistema inmunológico con actividades antibacterianas y antitumorales (Medrano *et al.*, 2011 y Chen *et al.*, 2012).

Además, los cultivos de kéfir pueden ser aplicadas para promover la seguridad alimentaria mediante la inhibición de coliformes y numerosos patógenos (Glibowski *et al* 2012).

4.2.3 Panela

La panela es un producto alimenticio obtenido a partir del proceso de evaporación de los jugos de la caña de azúcar, utilizado como bebida o como edulcorante y presentada bajo distintas formas. La panela se caracteriza por su alta concentración de azúcares, contenido de minerales y trazas de vitaminas (Mujica *et al.*, 2008; Guerra y Mujica 2010). La panela es un producto natural y artesanal, producido generalmente por pequeños productores rurales en plantas llamadas “trapiches” (molinos de caña). El proceso panelero consiste en moler la caña, separar las impurezas, calentar el jugo, descachazar (retirar la espuma del jugo de caña), evaporar hasta el punto de panela, realizar el batido y finalmente el envasado en unos moldes en forma de cubo donde se deja secar hasta que se solidifica. Este proceso se lleva a cabo en los trapiches es allí donde se concentran los sólidos solubles totales que existen en el jugo de la caña de azúcar, todo ello mediante la transferencia térmica en las hornillas y llevando a cabo la concentración de los jugos (Rodríguez, 2008)

La caña es la principal materia prima utilizada para la obtención de la panela, está compuesta esencialmente por agua y una parte sólida rica en fibra y en sólidos solubles. Entre los sólidos solubles de la caña sobresalen los azúcares como sacarosa, glucosa y fructuosa. La hidrólisis o rompimiento de la molécula de sacarosa a glucosa (dextrosa) y fructuosa (levulosa) se conoce con el nombre de inversión de la sacarosa. Este fenómeno se inicia en la misma planta, pero se acelera después del corte por efectos de la temperatura ambiente y del pH. La sacarosa es estable en medio alcalino, mientras que los azúcares reductores lo son en medio ácidos. La sacarosa se sintetiza en las hojas y se acumula en el tallo de la caña y su contenido aumenta con el tiempo, hasta alcanzar su óptimo de madurez, momento en el cual se inicia la inversión. (Mosquera *et al.*, 2007). La panela es producida a través de la evaporación de la caña de azúcar, la cual para

algunos autores es originaria de es el Nordeste de la India, específicamente la provincia de Bengala, de aquí el nombre de su capital, Gaura, de la palabra “Gur” que significa azúcar. Para otros es originaria de Nueva Guinea, y se extendió luego a Borneo, Sumatra y la India, posteriormente Alejandro Magno la llevó a Persia (331 A C), y los árabes la diseminaron en Siria, Palestina, Arabia y Egipto, de donde pasó a África y España (Osorio, 2007). Posee otros compuestos menores como minerales, proteínas, ceras, grasas y ácidos que pueden estar en forma libre o combinada (tabla 1). La proporción en la que se encuentra cada uno de estos compuestos está dada por la variedad, tipo de suelo, manejo agronómico, edad, factores climáticos, entre otros, que unidos a las deficiencias en el manejo de jugos, dificultan la fabricación de un producto totalmente homogéneo (Mosquera *et al.*, 2007).

Tabla 2. Composición química promedio de la caña de azúcar

COMPONENTES	%
Agua	74.5
Cenizas	0.5
Fibra	10
Azúcares (Sacarosa 12.5%, Glucosa 0.9% Fructosa 0.6%)	14
Grasa Y Ceras	0.2
Sustancias Nitrogenadas	0.4
Pectina	0.2
Ácidos Libres	0.08

Fuente: Carrera, 2004

La panela es conocida con diferentes nombres: en América del sur se conoce como “panel”, en Perú, Bolivia, Argentina y Chile se le denomina comúnmente como “chancaca”; en Venezuela, México y Guatemala se conoce como “papelón”; en Colombia, Ecuador, Guatemala y otros países de Centroamérica es conocida

como “panela”; en Japón es conocido con el nombre de “kokuto”; en Brasil es conocido como “rapadura” en la India y Pakistán este producto se llama “jaggery”, o a veces “gur” o “gul”. La FAO registra la ‘panela en sus cuentas como “azúcar no centrifugada” (Martínez, 2005) (Guerra y Mujica, 2010).

Este producto es un alimento tradicional en muchos países de América Latina y el Caribe, es considerado más valioso que el azúcar desde el punto de vista nutricional (Tabla 2), por su alta concentración de azúcares y por su aporte de carbohidratos, agua, grasas, compuestos proteicos, trazas de vitaminas y minerales que, como el calcio, el fósforo, el hierro, el sodio, el potasio y el magnesio, son muy importantes en la alimentación, en particular en la de la población infantil (Álvarez, 2000).

Dentro de los carbohidratos presentes en la panela se encuentra en mayor proporción la sacarosa con aproximadamente 80% y en menor cantidad los denominados azúcares reductores o invertidos como la glucosa y la fructosa los cuales poseen un mayor valor biológico que la sacarosa. Este valor nutricional depende de las condiciones del cultivo tales como: variedad de caña, tipo de suelo, características climáticas, condiciones de cosecha y poscosecha (edad, sistema de corte y apronte) y condiciones del proceso de producción (Corpoica, 2007).

Tabla 3. Composición promedio de la panela.

Componentes	Promedio
Humedad (g)	7.0
Carbohidratos (g/100g)	88.3
Sacarosa	79.4
Azúcar invertido	8.5
Sustancias nitrogenadas (g/100g)	
Nitrógeno total	0.08
Proteína	0.46
Grasa (g/100g)	0.21
Fibra (g/100g)	0.24
Ceniza (g/100g)	1.29
Minerales (g/100g)	
potasio	116.7
Calcio	172.8
Magnesio	61.7
Fosforo	60.4
Sodio	56.0
Hierro	5.3
Magnesio	1.2
Zinc	1.5
Flúor	5.7
Cobre	0.4

Fuente: Uería (2012).

Según la FAO, Colombia es el segundo productor después de la India (Osorio, 2007; Álvarez, 2000); otros países como Pakistán y China, y latinoamericanos como Brasil, México y Perú también producen panela, no obstante, su nivel de producción es mínimo. (Osorio, 2007; Martínez, 2005).

La producción de panela es una de las principales actividades agropecuarias de Colombia; actualmente ocupa el puesto 9 en contribución al valor de la producción superando a productos como el maíz, arroz seco, cacao, frijol, sorgo, plátano de exportación, tabaco, algodón, soya, trigo y cebada, entre otros (Martínez, 2005).

5. METODOLOGÍA

5.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

La presente investigación es de tipo experimental, debido a que se realizó un proceso estandarizado de elaboración de una bebida láctea fermentada tipo kéfir a partir de lacto suero y panela utilizando un método de mezclas simples para verificar la cinética de acidificación.

5.2 SUMINISTRO DE LA MATERIA PRIMA, INSUMOS Y CULTIVOS

Para realizar el proyecto de investigación, el lactosuero fue suministrado por la empresa Coolechera, ubicado en la ciudad de Cartagena.

La investigación se llevó a cabo en los laboratorios de las plantas piloto del programa de Ingeniería de Alimentos, Facultad de Ingeniería de la Universidad de Cartagena, sede Piedra de Bolívar.

Los cultivos lácteos certificados (tipo kéfir), fueron suministrados por la empresa Centro Agro lechero, de la ciudad de Bogotá.

La leche en polvo y los empaques se obtuvieron en el mercado local de la ciudad de Cartagena.

La panela utilizada fue suministrada por una finca panelera del municipio de Salazar de las palma Norte de Santander, situada a longitud al oeste de Greenwich 72° 49', Latitud Norte 7° 47'. Posteriormente esta materia prima e

insumos fueron trasladados a las Plantas Pilotos del programa Ingeniería de Alimentos para los diferentes procesos y análisis que se efectuaron en esta investigación.

5.3 ANÁLISIS FISCOQUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DEL LACTOSUERO

Los análisis fisicoquímicos del lacto suero se realizaron de acuerdo a la NTC 5098, NTC 666 del 1996 y la Resolución del Ministerio de Protección, Circular 588 del 2010, el porcentaje de grasa se realizó por el método de Gerber, NTC 4922 de 1999, la acidez NTC 4978 del 2001, sólidos totales NTC 4979 del 2001; proteína NTC 5025 del 2011; los análisis: punto de congelación, proteínas, grasa, lactosa, minerales, se realizaron por medio del equipo Analizador de leche MILKANALYSER, en las plantas Piloto de la Universidad de Cartagena, Programa de Ingeniería de Alimentos, sede Piedra de Bolívar.

Los análisis microbiológicos se realizaron de acuerdo a la norma establecida para esta tipo de materia prima, NTC 4519: estos son el recuento total de *coliformes totales*, *Mohos* y *levaduras*.

5.4 ESTANDARIZACIÓN Y ELABORACIÓN DEL KÉFIR CON ADICIÓN DE CULTIVOS LÁCTICOS.

Los sólidos totales donde la leche en polvo descremada se estandarizaron en todas las pruebas a un porcentaje del 18%; la panela y el lacto suero adicionado para la elaboración de este producto se manejó a un porcentaje de 10% donde finalmente los sólidos totales fueron del 28%, los cuales fueron previamente pasterizado en todas las muestras que se realizaron (80°C por 15 segundos), posteriormente este producto obtenido se ajustó a la temperatura de 30°C y se

efectuó una inoculación directa (DVS) de acuerdo a las especificaciones del fabricante y a la concentración de unidades formadoras de colonias (UFC), estas pruebas se realizaron por triplicado en todos los análisis establecidos.

Las variables que se manejaron son concentración de lacto suero y concentración de panela (tabla 4).

Cada una de las concentraciones en forma independiente y se verificaron: pH, Acidez, concentración de etanol

5.5 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se realizó un diseño de mezclas simple para la elaboración de la bebida tipo quéfir utilizando las siguientes combinaciones: 0%lactosuero/100%panela, 25%lactosuero/75%panela, 50%lactosuero/50%panela, 75%lactosuero/25%panela, 100%lactosuero/0%panela, las cuales se hicieron por triplicado (tabla 3)

Tabla 4. Diseño de mezclas simple para la elaboración de la bebida tipo kéfir

	LACTO SUERO (%)	PANELA (%)
1	0	100
2	25	75
3	50	50
4	75	25
5	100	0

Fuente: Autores

La formulación general del diseño experimental utilizando las diferentes concentraciones de lacto suero y panela (tabla 5) donde los valores de leche en

polvo descremada permanecieron constantes en todas las formulaciones que fue del 18 % y el otro 10% se distribuyó en las diferentes formulaciones de acuerdo a lo especificado.

Tabla 5: Diseño experimental del kéfir con panela y lactosuero

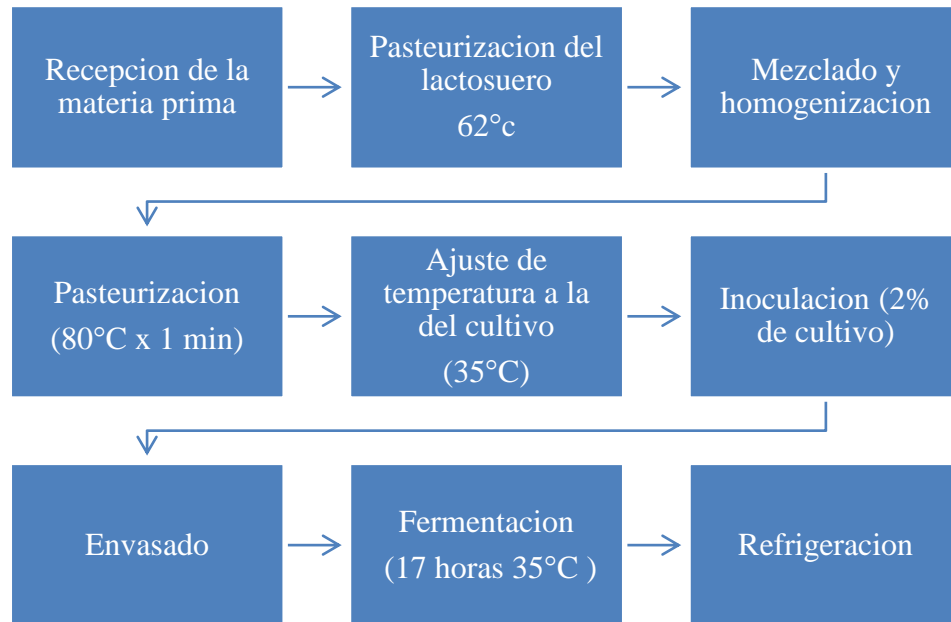
Ingredientes	Formulación 1	Formulación 2	Formulación 3	Formulación 4	Formulación 5
Leche en polvo descremada	18%	18%	18%	18%	18%
Panela	0	2.5%	5%	7.5%	10%
Lactosuero	10	7.5%	5%	2.5%	0%
Total	28%	28%	28%	28%	28%

Fuente: Autores

5.6 ELABORACIÓN DEL KÉFIR

Después de haber realizado las pruebas fisicoquímicas y microbiológicas del lactosuero, se realizó la optimización del proceso de elaboración de una bebida tipo kéfir con las investigaciones pertinentes que podemos apreciar en la figura1.

Figura 1.Diagrama del proceso de elaboración de bebida tipo kéfir con panela y lactosuero



Fuente: Autores

- **Pasteurización de Lactosuero:** esta operación se realizó con una temperatura de 62°C por un periodo de 30 min.
- **Mezclado y homogenización:** se realizó una mezcla de panela y leche en polvo descremada previamente diluida con cada uno de los diseños en sus diferentes porcentajes, el objetivo de esta operación es aumentar la homogeneidad de la mezcla.
- **Pasteurización:** durante esta etapa la mezcla que se realizó anteriormente es sometida a una temperatura de 80°C durante 1min.

- **Enfriamiento:** luego de la pasterización de las diferentes mezclas se enfriaron hasta una temperatura de 35°C requerida para el crecimiento óptimo de los microorganismos utilizados, además se le adiciono el lactosuero que se encuentra a la misma temperatura.

- **Inoculación:** es la etapa donde se realiza la siembra del cultivo en las mezclas anteriormente pasterizadas y enfriadas; los microorganismos utilizados fueron los siguientes:

➤ *Lactococcus lactis subsp. lactis, Lactococcus lactis subsp. cremoris, Lactococcus lactis subsp. lactis biovar. diacetylactis, Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris, Lactobacillus brevis Lactococcus lactis subsp. lactis, Lactococcus lactis subsp. cremoris, subsp. lactis biovar. diacetylactis, Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris, Lactobacillus brevis, Saccharomyces cerevisiae.*

- **Envasado:** el producto fue envaso en frascos de vidrio previamente esterilizados.

- **Fermentación:** cada una de las muestras preparadas previamente según las formulaciones establecidas en la tabla 4, se sometieron a un proceso de fermentación a temperatura constante en una incubadora durante 17 horas con una temperatura de 35°C, hasta llegar a los niveles establecidos en la producción de ácido láctico y etanol, durante este periodo cada hora se midieron los valores de pH y Acidez titulable.

- **Refrigeración:** una vez obtenidos los valores del pH y acidez se procedió a refrigerar cada uno de los frascos a temperatura de 6°C.

5.7 VERIFICACIÓN DE LA CALIDAD DEL PRODUCTO TERMINADO POR MEDIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICOS, MICROBIOLÓGICOS.

Los procedimientos de análisis que se utilizaron para el lactosuero son los recomendados y estipulados por el Instituto Colombiano de Normas Técnicas: ICONTEC, los cuales fueron realizados por el equipo analizador MILKANALYSER Serial 8163.

- Grasa : Metodo de gerber, NTC 4722
- pH: Por el método potenciométrico
- Cloruro: Metodo cualitativo, NTC 506
- Extracto seco , NTC 506
- Extracto seco desengrasado, NTC 506
- Densidad : Metodo de lactodensimetria, NTC 399
- Indice Lactométrico: Refractómetro de Bertuzzi, NTC 399
- Crioscópico °H , NTC 399
- Decreto 2997 DE 2007, suero

Después de realizados cada uno de los análisis, se compararon con los requisitos establecidos por el decreto 616 del 28 de Febrero 2006, para derivados lácteos.

5.7.1 Determinación De pH

La medición del pH se realizó de acuerdo con el método potenciométrico, técnica A.O.A.C. 943.02/90. Se tomaron 5 ml de kéfir y se midió el pH con ayuda del potenciómetro.

Este procedimiento se realizó cada hora por triplicado, durante el tiempo de incubación del kéfir.

5.7.2 Determinación De Acidez Titulable

Se determinó de acuerdo a la técnica oficial de AOAC (1999) por titulación. Se tomaron 9 ml de la mezcla y se colocaron en un matraz de 250 ml, se adicionaron 3 gotas de fenolftaleína y se tituló con hidróxido de sodio a 0,1 N. El porcentaje de acidez se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Acidez} = \frac{V * N * \text{Milieq} * 100}{M}$$

Este procedimiento se realizó cada hora por triplicado, durante el tiempo de incubación del kéfir.

5.7.3 Análisis Sensorial

El análisis se llevó a cabo mediante una prueba hedónica de aceptación de la bebida tipo kéfir, con un panel de jueces no entrenados de 40 personas seleccionados al azar a los cuales se les suministro un formato, en donde se evaluaron parámetros como: acidez, textura, sensación de viscosidad, aceptabilidad, olor y presencia de alcohol; en una escala categorizada de 1 a 5, donde 5 expresa el máximo valor de aceptación y 1 el mínimo (tabla 7). La bebida se presentó en vasos pequeños que contenían 15ml de cada diseño, identificados

con números aleatorios de 3 cifras. La evaluación fue realizada en el área de Evaluación Sensorial de las Plantas Pilotos de la Universidad de Cartagena.

En la tabla 5 se codifican las muestras evaluadas por los panelistas no entrenados, representados de 1 a 5 con códigos 143, 234, 398, 410 y 525 respectivamente.

Tabla 6: Códigos de las muestras.

Muestra	Código
1	143
2	234
3	398
4	410
5	525

Fuente: Autores

Tabla 7. Escala hedónica para evaluar la aceptabilidad del producto.

5	Me gusta mucho
4	Me gusta
3	Ni me gusta ni me disgusta
2	Me disgusta
1	Me disgusta mucho

Fuente: Autores

5.7.4 Determinación de grasa por el método de Gerber NTC 4722

El cual se realizó con el butirómetro de Gerber donde se tomaron 10ml del producto terminado posteriormente se adiciono ácido sulfúrico y 1ml de alcohol isoamílico.

5.7.5 Análisis microbiológicos

5.7.5.1 Coliformes totales

La determinación de Coliformes totales se realizó teniendo en cuenta la Norma Técnica Colombiana 4458 de 2007. Se realizaron diluciones seriadas desde 10⁻¹ hasta 10⁻³, luego se tomó 1 ml de cada dilución y se llevó a tubos con 9 ml de bilis lactosa verde brillante (BLVB), cada tubo contenía un tubo de fermentación invertido (Durham). Y se llevaron a incubación a 35°C por 24 horas.

5.7.5.2 Mohos y levaduras

Los Mohos y Levaduras se determinaron de acuerdo a lo establecido por la Norma Técnica Colombiana 4132 de 1997 se añadieron por duplicado en una caja de Petri esterilizadas previamente 1 ml de las diluciones selectas, posteriormente se agregó 15 ml de agar Sabouraud fundido y se homogenizo la muestra en las cajas de Petri, dejándolas solidificar, se llevó a incubación a una temperatura de 25°C por un tiempo de 48 horas

5.7.6 Determinación De Sinéresis

Para la determinación de sinéresis se trabajó con el método propuesto por Staffolo *et al.*, en el 2004. Se centrifugó 10 ml de la bebida tipo kéfir a 3000 rpm/min durante 20 minutos. La muestra que se obtuvo se dejó reposar por un minuto y luego se midió el suero desprendido. La sinéresis se expresó como porcentaje de volumen de suero drenado por cada 100 ml de kéfir. Para el cálculo se utilizó la Ecuación. La prueba se realizó la bebida tipo kéfir con la temperatura de almacenamiento de 15°C en los días 1, 4, 7, 10, 12 y 15.

$$\text{sinéresis} = \frac{\text{g de sobrenadante}}{\text{g de la muestra}} \times 100 \text{ (Ecuación 1)}$$

5.7.7 determinación de vida útil

La vida útil de la bebida tipo kéfir se realizó tomando el pH y acidez durante 15 días, las muestras se encontraban a dos temperaturas, una temperatura de 4°C y otra de 12°C. Los resultados se compararon con los valores permitidos por la ley.

5.7.8 Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron analizados mediante análisis normal de varianza (ANOVA) con un nivel de confianza del 95% mediante el programa de estadístico Statgraphic Centurión XVII.I.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Análisis Fisicoquímicos

6.1.1 Análisis del lacto suero

Tabla 8. Componentes del lacto suero

Componentes	Porcentaje %
Grasa	0.1 (+/- 01) %
Densidad	1.033 (+/- 003) gr/cm ³
Lactosa	4.73 (+/- 003) %
Proteínas	3.71 (+/- 004) %
Sólidos totales	9.05 (+/- 005) %
Sales	0.79 (+/- 003) %
Acidez	0.11 (+/- 001) % de ácido láctico

Fuente: Autores

En la tabla 8 se observan los resultados del análisis fisicoquímicos realizados al lactosuero utilizado para la elaboración de la bebida tipo kéfir. Los resultados obtenidos se comparan con los expuestos por Spreer (1991) en el que se muestra un intervalo reportado para la concentración en lactosa de 3.8 - 5.3%, materia grasa 0.1 –0.5 %, sólidos totales 5- 7% y proteína de 0.2% a 1.1%. Resultados que se asemejan a los obtenidos en este estudio; con respecto a los sólidos totales y proteína, se obtuvieron valores más altos. Esto, posiblemente a que parte de las proteínas presentes en la leche se filtraron en el proceso de extracción del lactosuero analizado.

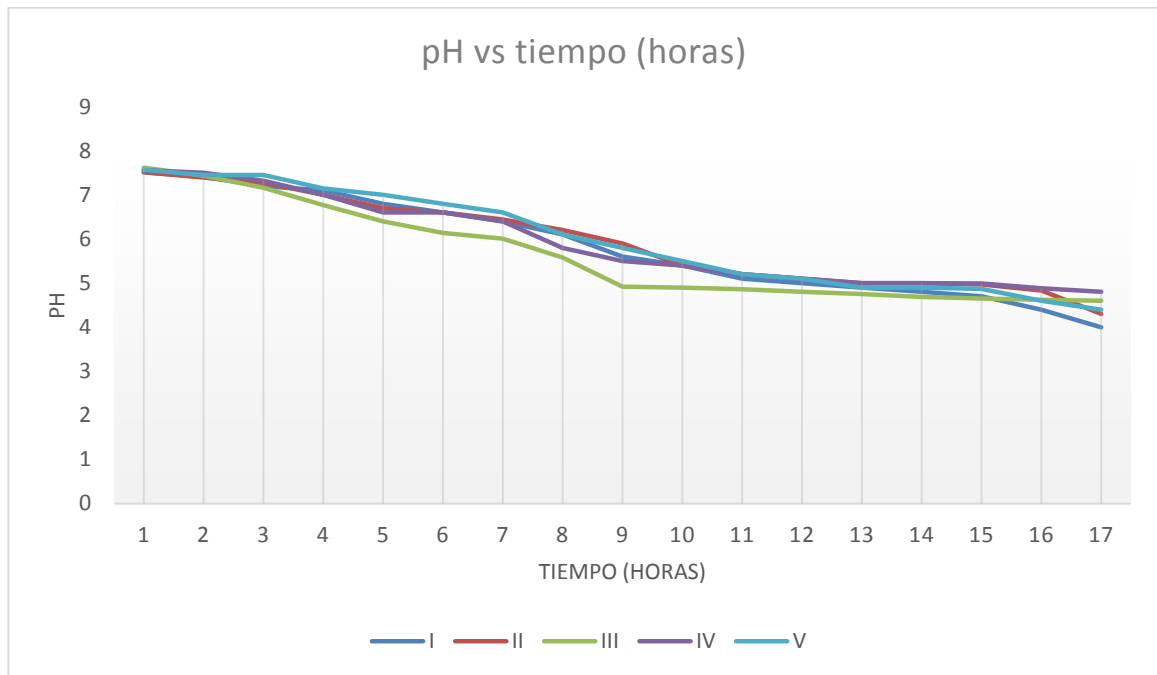
6.1.2 Análisis de pH

En la tabla 9 se puede observar el comportamiento del pH durante el proceso de fermentación, estos datos fueron realizados cada hora por triplicado.

Tabla 9.Comportamiento del pH durante 17 horas de fermentación

Tiempo (horas)	Diseño I	Diseño II	Diseño III	Diseño IV	Diseño V
1	7.51	7.52	7.62	7.56	7.57
2	7.41	7.39	7.44	7.50	7.45
3	7.2	7.28	7.16	7.32	7.35
4	7.1	7.00	6.77	7.00	7.15
5	6.8	6.7	6.4	6.6	7.0
6	6.6	6.6	6.14	6.6	6.8
7	6.4	6.44	6.01	6.4	6.6
8	6.1	6.2	5.58	5.8	6.1
9	5.6	5.9	4.92	5.5	5.8
10	5.4	5.4	4.9	5.4	5.5
11	5.1	5.2	4.86	5.2	5.2
12	5.0	5.1	4.8	5.1	5.1
13	4.9	5.0	4.75	5.0	5.0
14	4.8	5.0	4.69	5.0	4.9
15	4.7	4.97	4.65	4.99	4.87
16	4.4	4.83	4.62	4.88	4.6
17	4.0	4.3	4.6	4.8	4.4

Fuente: Autores

Grafica 1. Variación del pH con respecto al tiempo durante la fermentación

Fuente: Autores

El pH al transcurrir el tiempo descendió linealmente debido a la acción de los microorganismos productores de acidez sobre los carbohidratos existentes en la bebida. Este descenso es muy importante puesto que al disminuir los valores de pH durante la fermentación láctica son inhibidos los organismos indeseables como bacterias gram negativas y las formadoras de esporas Frazier (1978).

Los pH finales de las cinco muestras oscilaron entre 4.0 y 4.8 los cuales están dentro los parámetros establecidos de la norma para yogurt, además está acorde con los mostrados por Araujo (1997), cuyo pH final fue de 4.2 para los tres diferentes tipos de leche que este utilizó (leche entera, semidescremada y descremada). La diferencia significativa entre los datos finales pudo deberse a que el tiempo empleado de la fermentación en este proyecto de investigación se utilizaron 17 horas, mientras que el tiempo en la investigación de Araujo fue de 150 horas; otra razón para la diferencia puede atribuirse las distintas temperaturas que se utilizó durante el tiempo de fermentación, donde Araujo (1997) utilizó

temperatura de 32°C y en este proyecto de investigación se utilizó temperatura de 35°C

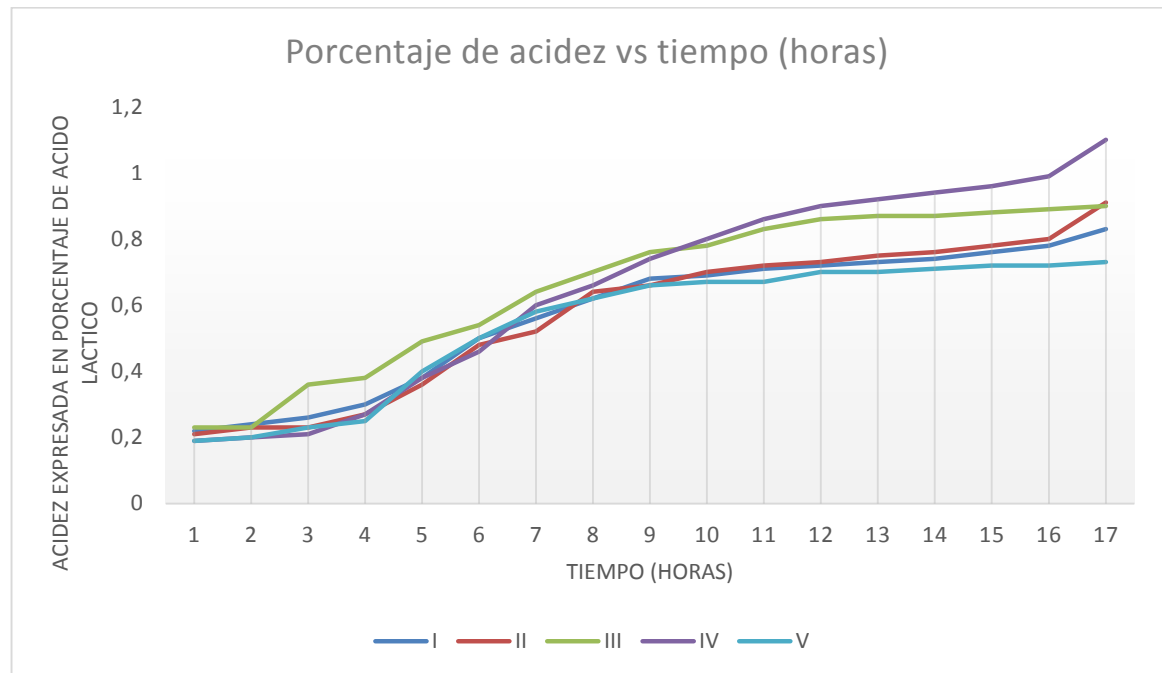
6.1.3 Análisis de Acidez

A continuación en la tabla 10 se muestra el porcentaje de acidez durante el tiempo de fermentación del kéfir, este procedimiento al igual que el pH se realizó cada hora por triplicado.

Tabla 10. Porcentaje De Acidez Durante 17 Horas

Tiempo (horas)	Diseño I	Diseño II	Diseño III	Diseño IV	Diseño V
1	0.22	0.21	0.23	0.19	0.19
2	0.24	0.23	0.23	0.2	0.20
3	0.26	0.23	0.36	0.21	0.23
4	0.30	0.27	0.38	0.27	0.25
5	0.38	0.36	0.49	0.38	0.40
6	0.50	0.48	0.54	0.46	0.50
7	0.56	0.52	0.64	0.60	0.58
8	0.62	0.64	0.70	0.66	0.62
9	0.68	0.66	0.76	0.74	0.66
10	0.69	0.70	0.78	0.80	0.67
11	0.71	0.72	0.83	0.86	0.67
12	0.72	0.73	0.86	0.90	0.70
13	0.73	0.75	0.87	0.92	0.70
14	0.74	0.76	0.87	0.94	0.71
15	0.76	0.78	0.88	0.96	0.72
16	0.78	0.80	0.89	0.99	0.72
17	0.83	0.91	0.90	1.10	0.73

Fuente: Autores

Grafica 2. Variación del % de acidez con respecto al tiempo durante la fermentación

Los porcentajes obtenidos oscilaron entre 0.73 y 1.1 los cuales están dentro de los rangos establecido en la norma para este tipo de producto NTC 805 de 2005, que estimula que el porcentaje mínimo de acidez debe ser de 0.60. Adicional, se confirma el proceso de fermentación en donde las bacterias usan la lactosa presente en el lacto suero para convertirla en ácido láctico Gonzales (2011); además estos cambios obtenidos en el pH y acidez ayudan a conservar el producto, mejoran su valor nutritivo y destruyen los factores anti nutricionales (García et al 1969), considerando que el kéfir es originario del Cáucaso Yakugaku (1992), cuyos gránulos están compuestos por una matriz de polisacáridos y proteínas (Toba,1990) y una micro flora compleja constituidas por bacterias lácticas y levaduras que generaron una acidez alta con valores bajos en pH esto nos indicó la presencia y activación de éstos microorganismos (Toba)

Comparando los porcentajes finales (entre 0.73 y 1.1) de ácido láctico de esta investigación con los resultados obtenidos por Araujo (1997) para los tres

diferentes (entera, semidescremada y descremada) tipos de leche, 0.86 y 0.78%, presentan diferencia muy mínima dado a la variación de contenido y composición de las leches y el kéfir.

Al confrontar las concentraciones de inóculo del cultivo y temperatura de fermentación se confirma que a mayor concentración de inóculo y mayor temperatura, los valores de pH y acidez deseados se realizan en un menor tiempo tal como se pudo verificar en la investigación realizada por Gutiérrez y otros autores (1997) donde utilizaron temperaturas de 24°C y su proceso de acidificación se obtuvo en 36 hora con una concentración de 2% P/v de inóculo y en el estudio realizado en esta investigación se trabajó con la misma concentración pero con una temperatura de 35°C por 17 horas.

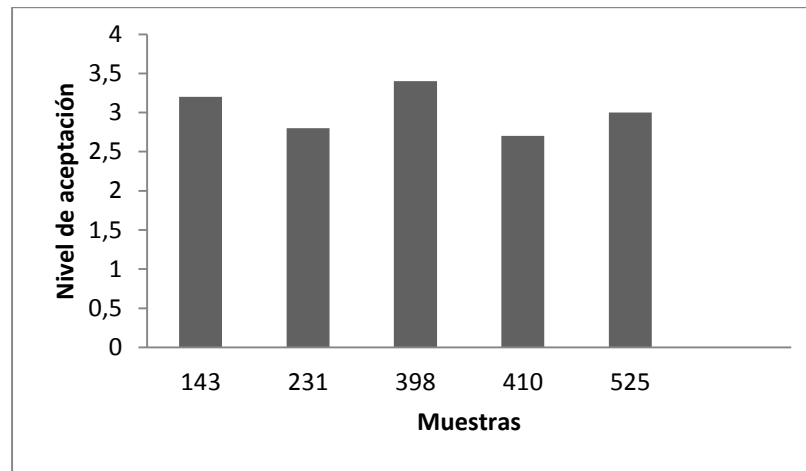
6.1.4 Análisis sensorial

La evaluación sensorial de la bebida tipo kéfir, fue realizada por 40 panelistas no entrenados, donde los parámetros evaluados fueron la acidez, sensación de viscosidad, color, olor, presencia de alcohol y formación de espuma. En las graficas (3-8), se pueden observar los resultados obtenidos por parámetro evaluado, con un nivel de significancia de $P < 0,05$.

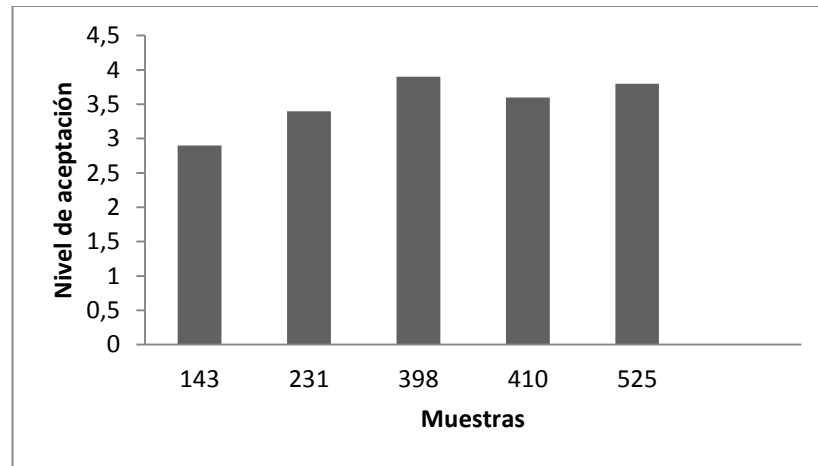
De acuerdo a los parámetros evaluados por los panelistas no entrenados, la muestra de bebida kéfir que tuvo mayor aceptación con referencia a la acidez fue la muestra 398, obteniendo un calificación de de 3.4 seguida de la muestra 143 con una calificación de 3.2 que no muestran una diferencia significativa. Osorio y Gamboa (2015), establecen que la panela y el lacto suero se componen de una alta concentración de carbohidratos que está directamente relacionada con el porcentaje de acidez de las bebidas fermentadas, reflejándose de esta manera sobre la aceptación de los panelistas con relación al gusto por la sensación de

acidez, en el que la muestra 398 fue la que obtuvo un porcentaje de acidez neutral de 0.90 respecto a las estudiadas. Con relación al parámetro de sensación de viscosidad, presencia de alcohol, olor y color; la muestra 398 fue la mejor calificada por los panelistas con valores de 3.9, 4, 3.9, 4.1 respectivamente. Sin embargo, la presencia o formación de espuma para esta muestra fue la más baja entre las evaluadas, formulada con un 50% de panela y 50% de lactosuero.

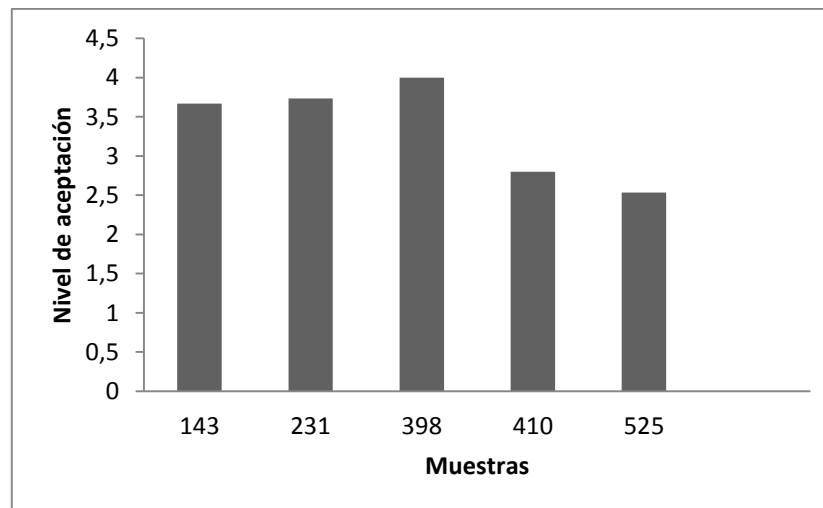
Grafica 3. Evaluación del parámetro de acidez



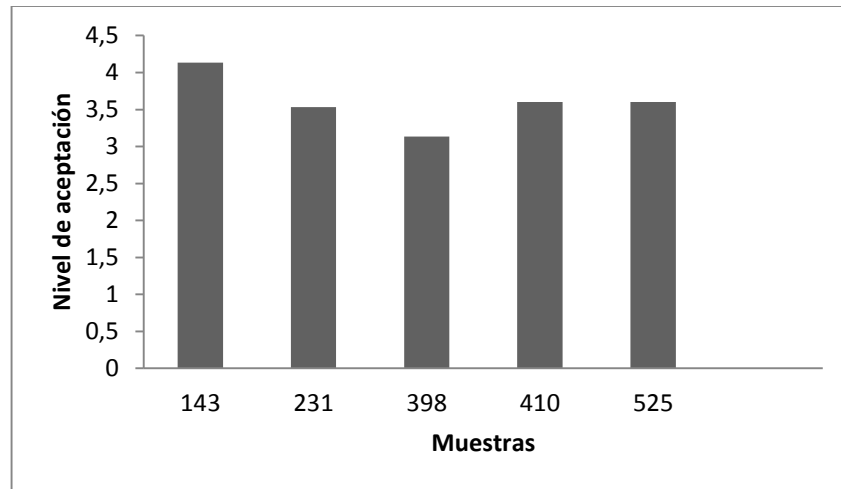
Fuente: Autores

Gráfica 4. Evaluación del parámetro de viscosidad

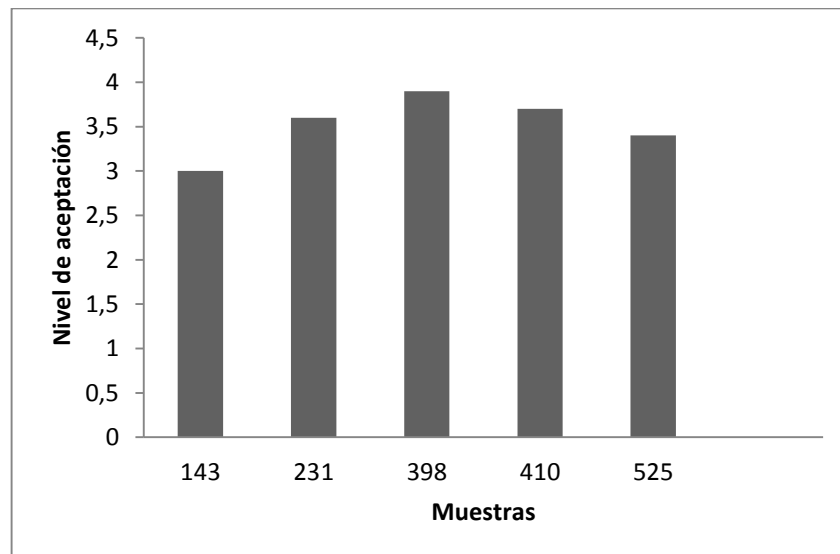
Fuente: Autores

Gráfica 5. Evaluación del parámetro presencia de alcohol

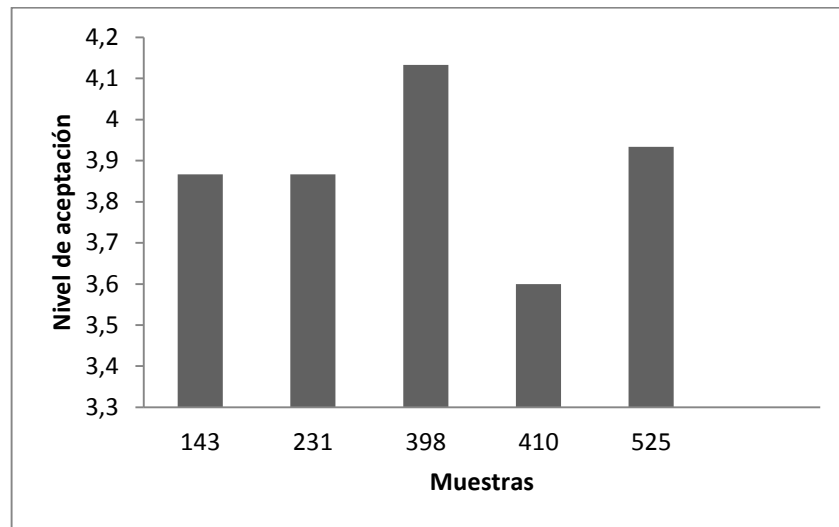
Fuente: Autores

Gráfica 6. Evaluación del parámetro formación de espuma

Fuente: Autores

Gráfica 7. Evaluación del parámetro de olor

Fuente: Autores

Gráfica 8. Evaluación del parámetro color

Fuente: Autores

Teniendo en cuenta los parámetros de alcohol y formación de espuma evaluados, se deben gracias a la acción de las bacterias ácido lácticas heterofermentativas que utilizan como fuente mayoritaria de sustrato los carbohidratos presentes en la bebida con la capacidad fermentar 1 mol de glucosa para producir 1 mol de ácido láctico, 1 mol de etanol y 1 mol de CO₂ (Parra, 2010; Devlieghere et al. 2004).

Para los parámetros de evaluación sensorial que se evaluaron en la bebida fermentada tipo kéfir, que no es conocida a nivel nacional, se pudo evidenciar que los panelistas asociaron el producto con un yogurt tradicional que por sus características y forma de elaboración cuentan con unas propiedades muy cercanas en cuanto a color, olor, viscosidad y acidez.

6.1.5 Determinación de grasa de la bebida tipo kéfir

La determinación de la grasa se realizó por medio del analizador de leche MILKANALYSER y corroborado por el método de Gerber NTC 4722 el cual dio un resultado de 0% de grasa que coincide con los rangos recomendados por la

Resolución 02310 del Ministerio de Salud de Colombia (1986), donde se establece que las grasas en las bebidas lácteas fermentadas que se pueden considerar como descremadas, pueden oscilar entre el 0,0% y el 0.8%, porcentajes normales de éste componente que nos indica que la materia grasa para la elaboración del producto fue manipulada adecuadamente (Simpfendöfer y Benavente, 1989 y Scott, 1991).

6.1.6 Análisis microbiológicos

Los análisis microbiológicos de Coliformes totales, Mohos y levaduras realizados al lacto suero pasteurizado y al producto final kéfir presentaron los siguientes resultados en La tabla 11. Lo cual nos indica que al compararlos con la norma NTC 805, en ambos casos presentan valores de por debajo de 100 NMP (0NMP) para Coliformes totales por cada 100 ml y para mohos y levaduras 0 UFC/ml. Estos resultados muestran que los productos finales obtenidos del suero pasterizado y del kéfir son aptos para el consumo humano, considerando que los Coliformes no son aciduricos y no pueden sobrevivir en condiciones acidas (Adams y Moss 1997 y De Oliveira *et al.*, 2005), adicionalmente las bacterias lácticas protegen al producto de los microorganismos patógenos su capacidad para mejorar la calidad y la inocuidad de muchos productos alimenticios.

Considerando que el kéfir es un producto fermentado como se puede apreciar en la figura 2 se observa que el pH desciende hasta un valor de 4.6 y la acidez expresada en porcentaje de ácido láctico subió 0.9 se puede decir que tiene un comportamiento similar a yogurt y se encuentran libres de patógenos, por lo cual acentúan el efecto inhibitorio de estas bacterias (Berrocal *et al.*, 2002; Aryana y McGrew, 2007).

Tabla 11. Análisis microbiológicos

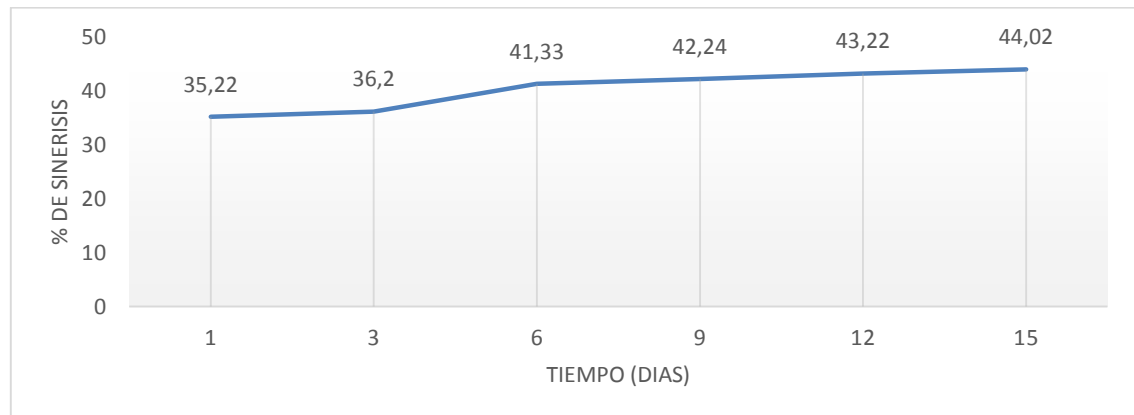
Tipo De Muestra	Coliformes Totales	Mohos Y Levaduras
kefir	0 NMP por cada 100 ml	0 UFC/ ml
lactosuero	0 NMP por cada 100 ml	0 UFC/ml
NTC 805	100 NMP por cada 100 ml	500 UFC/ml

Fuente: Autores

6.1.7 Determinación de sinéresis

A las muestras de kéfir se les realizó la prueba de sinéresis durante 15 días cada tres días (gráfica 9) a una temperatura constante de 6°C las cuales presentaron unos valores muy altos que oscilaron entre 35.22% y 44.02%, esto probablemente a que el contenido de lactosuero se relaciona directamente con el porcentaje de sinéresis en el producto (Gauche et al 2009), es decir que este componente está directamente relacionado con la sinéresis en los productos fermentados debido a la ausencia de proteínas o hidrocoloides capaces de estabilizar los sistemas gracias a sus capacidades de formar geles.

Al evaluar el comportamiento de la sinéresis con relación al tiempo se pudo observar que tuvo un incremento del 7.02% en las cuatro pruebas que se realizaron en los días 1-3-6 y 9; posteriormente se verificó que entre los días 9-12 y 15 su incremento fue de 1.78% lo cual nos indica que este incremento de porcentaje de sinéresis tiende a un valor constante.

Gráfica 9. Porcentaje de sinéresis durante 15 días a temperatura constante (6°C).

Fuente: Autores

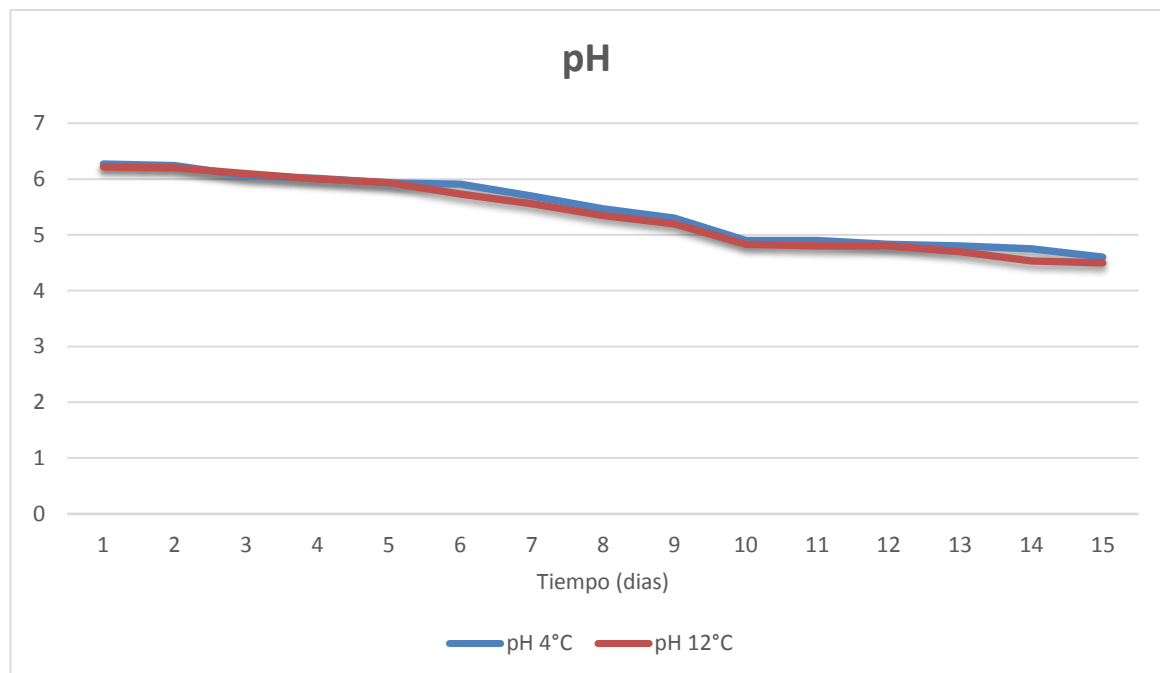
Debido a que en la elaboración de este tipo de bebida kéfir se utilizó el lactosuero el cual no tiene caseína y esta permita una estructura porosa, tienen excelente fijación de agua y son formadoras de gel (Ferrandini *et al.*, 2006), por lo que la disminución de estas proteínas pudo afectar la estabilidad del producto. Además, Castro *et al.*, (2009) establece que el incremento de lactosuero en bebidas lácteas batidas contribuye a la formación de geles ácidos con estructura abierta debido a la reducción de las interacciones moleculares, y por lo tanto son más susceptibles a la sinéresis.

6.1.8 Vida útil

Las graficas 10 y 11 muestra los valores de pH y acidez del kéfir almacenadas a 4 y 12°C. Dado que es muy poco lo estudiado y en Colombia no existe una ley con los valores permitidos de pH y acidez para la bebida tipo kéfir. Se hace comparación con los valores de la resolución 2310 de 1986, que estipula la acidez que debe tener un yogur siendo 1,5% expresada en ácido láctico. Mientras para el pH, no existe norma colombiana vigente que establezca los valores máximos permitidos para una bebida fermentada.

En lo relativo al pH de las dos muestras almacenadas a 4°C y 12°C y que fueron evaluadas cada día durante un periodo de 15 días tuvo un descenso del pH de 6.2 hasta 4.5 aproximadamente y tuvo un comportamiento muy similar principalmente en los seis primeros días donde el pH descendió de 6.8 a 6 y posteriormente el pH del kéfir almacenado a 12°C tuvo un mayor descenso que el almacenado a 4°C hasta el décimo día, finalmente el pH se mantuvo constante hasta el día 15 en las dos muestras; lo cual nos indica que su descenso de pH fue de 1.7 durante ese periodo, tal como lo analizaron Ordinola y Osorio (2015) donde evaluaron el comportamiento de dos tipos de yogures a diferentes temperaturas (4 °C y 19°C)y tiempo (35 días), donde se pudo verificar que los yogures almacenados a temperatura de 19°C se deterioraron rápidamente debido a la presencia de microorganismos o bacterias ácido lácticas y a los descensos de pH y su aceptación debido a su comportamiento demasiado ácido.

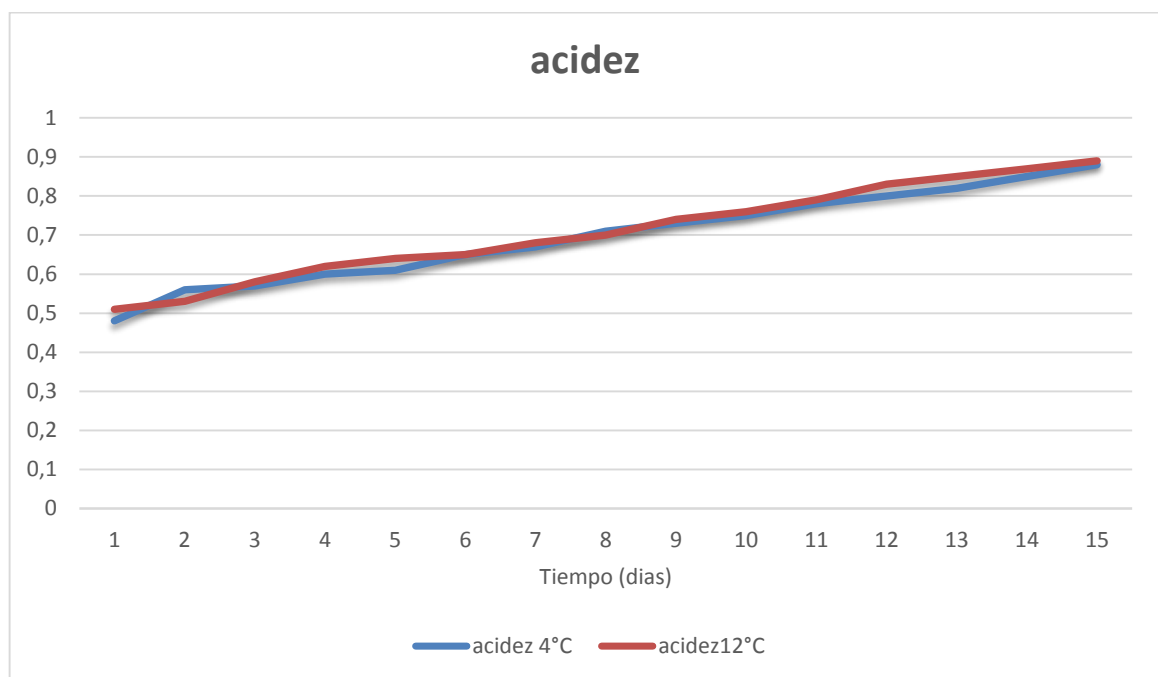
Gráfica 10.Vida útil (pH)



Fuente: Autores

Al complementar la parte de acidez como se puede apreciar en la figura 11 y se realizó el mismo estudio durante los 15 días tomando una muestra diaria por triplicado a dos temperaturas diferentes (4 y 12°C) se pudo apreciar que durante los nueve primeros días el comportamiento de la acidez en los dos parámetros fue muy similar y se incrementó de 0.5 hasta 0.7 y a partir del noveno día hubo un incremento significativo de la acidez los cuales oscilaron entre 0.75 y 0.8 expresado en porcentaje de ácido láctico donde el mayor valor se presentó en el kéfir a la temperatura de 12°C; sin embargo ambos presentaron un incremento de la acidez que no fue muy significativo lo que permite deducir que está dentro de los parámetros permitidos de las bebidas fermentadas tipo yogurt tal como los obtenidos por Ordinola y Osorio (2015)

Gráfica 11. Vida útil (acidez expresada en porcentaje de ácido láctico)



Fuente: Autores

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en esta investigación se puede concluir que:

- ✓ La formulación 3 (50% de panela y 50% de lacto suero) fue la que tuvo mayor aceptación por parte de los panelistas en los parámetros de evaluación sensorial evaluados con respecto a la acidez, viscosidad color, olor, formación de espuma y presencia de alcohol.
- ✓ El porcentaje final de acidez de este producto fue 0.90 expresado en porcentaje de ácido láctico, y pH 4.6 se encuentran dentro de los rangos establecidos por NTC 805 de 2005.
- ✓ Los valores de sinéresis con relación al tiempo fueron muy altos al compararlos con otros estudios, debido a que el lactosuero es muy inestable cuando se conserva a altas temperatura y también a que carece de caseína que permite una estructura porosa, excelente fijación de agua y formación de gel; debido a la disminución de estas proteínas se pudo afectar la estabilidad del producto.
- ✓ En lo referente a la vida útil en los dos parámetros evaluados durante los 15 días con relación al pH y acidez a la temperatura de 4 y 12°C se puede concluir que a estas temperaturas el producto obtenido reúne las condiciones exigidas por las NTC para el kefir
- ✓ Los resultados microbiológicos arrojados demostraron que este es un producto de buena calidad, con buenas condiciones higiénicas apto para el consumo humano de acuerdo a la NTC 805.

RECOMENDACIONES

- ✓ Estandarizar los procesos de fabricación del kefir para ser comercializado a nivel industrial.

- ✓ Realizar estudios geológicos del kefir (tipo de fluido, viscosidad aparente, energía de activación) como una investigación complementaria que permita tener mayor información técnica y funcional de este producto.

- ✓ Profundizar la utilización de otros sustratos que permitan verificar su comportamiento para el aprovechamiento industrial de este producto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abraham, AG., Medrano, M., Piermaria, JA. y Mozzi F. (2010). Nuevas aplicaciones de

Aider, M., D. Halleux and I. Melnikova. (2009). Skim acidic milk whey cryoconcentration and assessment of its functional properties: Impact of processing conditions. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*.

Adams, M. y Moss, M. (1997). *Microbiología de alimentos*. Zaragoza, España: Editorial Acribia. 547 p.

Almeida, K.E., A.Y. Tamime and M.N. Oliveira. (2009). Influence of total solids contents of milk whey on the acidifying profile and viability of various lactic acid bacteria. *LWT - Food Science and Technology*.

Álvarez Andrés (2000). *Panela en estados unidos*. Corporación Colombia internacional. Bogotá (Colombia). Publicación N°26.

Aranceta, J. y Serra, L. (2005). *Leche, Lácteos y Salud*. Madrid España: Editorial Médica Panamericana. 27 p.

Araujo J. y Hernandez H. (1997) Evaluación de pH y Acidez en kéfir con leches de diferentes contenidos de grasa. *Escuela Nacional de Ciencias Biológicas*. Mexico

Aryana, K. y P. McGrew. (2007). Quality attributes of yogurt with *Lactobacillus casei* and various prebiotics. *LWT – Food Sci. Technol.* 40 (10):1808-1814 p.

Berrocal, D., M.L. Arias, M. Henderson y E. Wong. 2002. Evaluación de la actividad de cultivos probióticos sobre *Listeria monocytogenes* durante la producción y almacenamiento de yogurt. *Arch. Latin. Nutr.* 52(4):375-380 p.

Castro, F.; Cunha, T.; Ogliari, P.; Teofilo, R.; Ferreira, M.; Prudêncio, E. 2009. "Influence of different content of cheese whey and oligofructose on the properties of fermented lactic beverages: Study using response surface methodology", *Food Science and Technology*, 42: 993-997 p. doi: 10.1016/j.lwt.2008.12.010

Caro C. y León A. (2014) inhibición del crecimiento de *aspergillus ochraceus* mediante "panela" fermentada con gránulos de kefir de agua. *VITAE, Revista De La Facultad De Química Farmacéutica* ISSN 0121-4004 / ISSN 2145-2660. Volumen 21 número 3, año 2014 Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. págs. 191-200

Carrasco C. y Guerra M. (2010). Lactosuero como fuente de péptidos bioactivos. *Anales Venezolanos de Nutrición* 2010; Vol 23(1): p.p. 42-49.

Carrera J. Manual (2004). Técnico: manejo y transformación de jugos de caña panelera. Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agropecuarias Cartagena de Indias, Junio de 2015

Chen, YP., Hsiao, PJ., Hong, WS., Dai, TY. And Chen, MJ.(2012). *Lactobacillus kefiranofaciens* M1 aislado de granos de kéfir de leche mejora la colitis experimental in vitro y in vivo. *Journal of Dairy Science*, 95 , pp. 63-74

Corpoica (2007). Guía tecnológica para el manejo integral del sistema productivo de caña de azúcar. Bogotá (Colombia).p.p. 65

Corrales M. y España L. (2012). Estandarización en la elaboración del suero costeño elaborado en el municipio de Turbaco, Arjona y el Carmen de Bolívar Universidad De Cartagena - Ingeniería de Alimentos. Cartagena (Colombia).

Devlieghere F.; Vermeiren L. y Debevere J. *New Preservation Technologies. Possibilities And Limitations*, "Review International Dairy Journal 2004 Vol. 14 p. 273-285

Diaz O. (2015). Caracterización y elaboración de una mermelada a partir del peciolo del ruibarbo (*rheum rhabarbarum*), proveniente del departamento norte de santander Universidad de Cartagena, Cartagena (Colombia) p.p.28-33.

Donoso, A., M. Carballa, G. Ruiz and R. Chamy. (2009). Treatment of low strength sewage with high suspended organic matter content in an anaerobic sequencing batch reactor and modeling application. *Electronic Journal of Biotechnology* 12(3):1-10.

Fernandez M. (2009). Production and Characterization of xantham gum by xanthomonas campestris using cheese whey as sole carbon source. Ed. Rev. Volumen 90. N°1. 119-123 p. *Journal of Food Engineering*. [Consultada el 15 de octubre del 2011].

Ferrandini E., Castillo M., López M.B., Laencina J. Structural models for the casein micelle. Departamento de Tecnología de Alimentos Nutrición y Bromatología. Universidad de Murcia. Campus Universitario de Espinardo. 30071 Murcia. Spain. 2 Department of Biosystems and Agricultural Engineering. University of Kentucky. 201 C. E. Barnhart Building. KY 40546-0276 Lexington. EEUU.

Ferreira D., Abatemarco M., Cicco S., Nicoli J., Cantini A. y Neumann E. (2014). Selección de bacterias del ácido láctico a partir de granos de kéfir brasileñas para su uso potencial como cultivos iniciadores o probióticos.

Florez A. y Peña S. (2013). Elaboración y evaluación de una bebida refrescante y nutritiva para adultos mayores a base de lactosuero y enriquecida con vitamina C. Universidad de Cartagena, Cartagena (Colombia), p.p. 17-29.

Gacrcia G., Quintero R. (1999). *Biocnologia Alimentaria*. Segunda edicion Ed. Limusa. Pp 313-321.

Galindo W. y Pérez D. (2013). Estandarización y elaboración de queso crema con adición de los sólidos del lactosuero e inoculado con *Lactobacillus casei*. Universidad de Cartagena, Cartagena (Colombia), p.p. 11, 27-32.

Glibowski P. y Kowalska A. (2012). Rheological, texture and sensory properties of kefir with high performance and native inulin. Department of Milk Technology and Hydrocolloids, University of Life Science in Lublin, Skromna 8, 20-704 Lublin, Poland

Guerra M. y Mujica M. (2010). Physical and chemical properties of granulated cane sugar “panelas”. *Ciência e Tecnologia d’Alimentos*. vol.30 no.1.

Gutierrez N., Quirino H., Caro I., Mateo J., Nevarez V. (1997) Efecto del porcentaje de inculo y del tiempo de incubacion sobre las características fisicoquímicas del kefir. *Universida Autonoma Del Estado De Hidalgo*. Mexico

Ha, E. and M. Zemel. 2003. Functional properties of whey, whey components, and essential amino acids: mechanisms underlying health benefits for active people. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 14(5): 251- 258.

Ibrahim, F., E. Babiker, N. Yousif and A. Tinay. 2005. Effect of fermentation on biochemical and sensory characteristics of sorghum flour supplemented with whey protein. *Food Chemistry* 92(2): 285-292.

Koutinas, A., H. Papapostolou, D. Dimitrellou, N. Kopsahelis, E. Katechaki, A. Bekatorou and L. Bosnea. (2009). Whey valorisation: A complete and novel technology development for dairy industry starter culture production. *Bioresource Technology*

Londero, A., Hamet, MF., Antoni, De ., Garrote, GL. And Abraham, AG. (2012). Los gránulos de kefir como titular para la fermentación de suero de leche a diferentes temperaturas: caracterización química y microbiológica. *Journal of Dairy Research*, 79, pp. 262-271

Londoño, M. (2006). Aprovechamiento del suero ácido de queso doble crema para la elaboración de quesillo utilizando tres métodos de complementación de acidez con tres ácidos orgánicos. *Perspectivas en nutrición humana. Revista Perspectivas en Nutrición Humana-Escuela de Nutrición y Dietética-Universidad de Antioquia.*

Lopitz F., Rementeria A., Elguezabal N. and Garaizar J. (2006). Kefir: symbiotic yeasts-bacteria community with alleged healthy capabilities. *Revista Iberoamericana de Micología* Apdo 699, E-48080 Bilbao (Spain). 23: 67-74.

Madoz Geminis papeles de salud. (2003). *Suero de leche*. [En línea] Recuperado el 29 de Noviembre de 2010, de http://www.herbogeminis.com/suero_de_leche.html

Martínez H. (2005). La cadena agroalimentaria de la panela en Colombia. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Documento de Trabajo No. 57

Marulanda M. (2012). Elaboración y evaluación de una bebida tipo yogurth a base de lactosuero dulce fermentada con *streptococcus salivarius ssp. thermophilus* y *lactobacillus casei ssp. Casei*. Universidad de Cartagena, Cartagena (Colombia), p.p.19, 33-36

Medrano, M., Pérez, PF .y Abraham, AG. (2008). Kefiran antagoniza los efectos citopáticos de *Bacillus cereus* factores extracelulares. *International Journal of Food Microbiology*, 122, pp. 1-7.

Medrano, M., Racedo, S., Rolny, I., Abraham, AG , y Pérez PF.(2011).Administración oral de Kefiran induce cambios en el equilibrio de las células inmunes en un modelo murino.*Diario de Agricultura y Química de Alimentos*, 59 , pp. 5.299-5.304

Ministerio de Salud, República de Colombia. Resolución Número 02310 de 1986 (24 de Febrero de 1986)

Mosquera C. (2012) Aprovechamiento del Suero de Quesería en la Obtención de una Bebida Fermentada a Partir de Mezclas con Jugo de Caña de Azúcar (*Saccharum officinarum*). Universidad Técnica de Ambato. Ambato (Ecuador). p.p. 33-35.

Mosquera S., Carrera J. y Villada H. (2007). Variables que afectan la calidad de la panela procesada en el departamento del Cauca. Facultad de Ciencias Agropecuarias 18 Vol 5 No.1

Mujica M., Guerra M. y Soto N. (2008). Efecto de la variedad, lavado de la caña y temperatura de punteo sobre la calidad de la panela granulada.

Muñi, A., G. Paez, J. Faría, J. Ferrer y E. Ramones. 2005. Eficiencia de un sistema de ultrafiltración/ nanofiltración tangencial en serie para el fraccionamiento y concentración del lactosuero. Revista Científica 15(4): 361–367

Ordinola E., Osorio L. (2015) “Viabilidad de las bacterias lácticas *Streptococcus salivarius* ssp *thermophilus* y *Lactobacillus Delbrueckii* ssp *bulgaricus* durante el almacenamiento a temperatura ambiente y refrigeración de cuatro marcas de yogures comerciales”. Revista Ingeniería, Ciencia, Tecnología e Innovación 2(2)

Osorio G. (2007). Manual: Buenas Prácticas Agrícolas -BPA- y Buenas Prácticas de Manufactura -BPM-en la Producción de Caña y Panela. Corpoica, Mana. Gobernación de Antioquia. p.p. 29

Panesar, P., J. Kennedy, D. Gandhi and K. Bunko. 2007. Bioutilisation of whey for lactic acid production. Food Chemistry 105: 1-14.

Parra, R. 2009. Lactosuero: importancia en la industria de alimentos. Revista Facultad Nacional de Agronomía 62(1): 4967-4982.

Parra R. 2010. Review Lactic Acid Bacteria: Funcional Role in the Foods. Grupo de investigation en Quimica y Tecnologia de los Alimentos. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias vol 8 N° 1.

Piermaria, J., Bosch, A., Pinotti, A., Yantorno, O., García, Abraham AG.(2011)Películas Kefiran plastificados con azúcares y polioles: barrera de vapor de agua y las propiedades mecánicas en relación a su microestructura analizada por espectroscopia de ATR / FT-IR Alimentos hidrocoloides, p.p. 25. 1261-1269

Polisacáridos de las bacterias del ácido láctico: un enfoque en Kefiran CS Hollingworth, hidrocoloides alimenticios (Ed.): Características, propiedades y estructuras, Nova Science Publishers, Hauppauge, Nueva York , pp 253-271.

Ramirez J. (2014). Uso de la fermentación para el aprovechamiento del lactosuero Escuela de Ingeniería de Alimentos - Universidad del Valle. Ciudad Universitaria Meléndez, Cali, Colombia.

Rimada, P. AG y Kefiran A., (2006).Kefiran mejora las propiedades reológicas de inducida gluconolactona geles de leche descremada. Diario Internacional de Lechería, 16 , pp. 33-39.

Rodriguez G. (2008). Diversificación productiva como sistemas alimentarios locales estrategia de activación: el caso de la agroindustria panelera en Colombia. Cuadernos Agriculturas: vol. 17(6), 572–576.

Spreer D. E. (1991). Lactología industrial. Acribia:Zaragoza, pp.527-549.

Toba T., Arihara k. y Adachi S. (1990) distribution of microorganisms with particular reference to encapsulated bacteria in kefir grains. *International Journal of Food microbiology*. 10 (3/4) 219-224

UERIA (unidad de evaluación de riesgos para la inocuidad de los alimentos), 2012. Concepto científico: Acrilamida en panela. Instituto nacional de salud. República de Colombia.

Wang, Y., Ahmed, Z., Feng, W., Li, Ch. and Canción, S. (2008). Propiedades fisicoquímicas de exopolisacáridos producidos por *Lactobacillus kefiranofaciens* ZW3 aislados de Tíbet kéfir. *Revista Internacional de Macromoléculas Biológicas*, 43, pp. 283-288.

Yakugaku Z. 1992 PHarmacologica study on kéfir a fermented milk product in Caucasus. *Pharmaceutical Sciences* 112: 489-495.