

UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE



FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS

AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES

CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

**“OBTENCIÓN DE KEFIRÁN A ESCALA PILOTO A PARTIR DE SUERO
DE QUESO FRESCO Y GRÁNULOS DE KÉFIR”**

**Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Ingeniera
Agroindustrial**

**Autores: Katherin Mariuxi Pico Ayala,
Diana Adelaida Quintero Lucero**

Director: Ing. José Manuel Pais Chanfrau, PhD

Ibarra-Ecuador

2022

UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE



FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES

CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

“OBTENCIÓN DE KEFIRÁN A ESCALA PILOTO A PARTIR DE SUERO DE QUESO FRESCO Y GRÁNULOS DE KÉFIR”

Tesis revisada por los miembros del tribunal, por lo cual se autoriza su presentación
como requisito para obtener el título de:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

APROBADA

Ing. José M. Pais Chanfrau, PhD.

DIRECTOR DE TESIS

FIRMA

Ing. Jimmy Nuñez, Msc.

OPOSITOR

FIRMA

Ing. Hernán Cadena, PhD.

OPOSITOR

FIRMA



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA

AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

1. IDENTIFICACIÓN DE LA OBRA

En cumplimiento del Art. 144 de la Ley de Educación Superior, hago la entrega del presente trabajo a la Universidad Técnica del Norte para que sea publicado en el Repositorio Digital Institucional, para lo cual pongo a disposición la siguiente información:

DATOS DE CONTACTO	
CÉDULA DE IDENTIDAD:	1004028856
APELLIDOS Y NOMBRES:	Pico Ayala Katherin Mariuxi
DIRECCIÓN:	Av. Atahualpa 23-39 y Hernán Gonzáles de Saa - Ibarra
EMAIL:	kmpicoa@utn.edu.ec
TELÉFONO	0994223093
DATOS DE CONTACTO	
CÉDULA DE IDENTIDAD:	1751261759
APELLIDOS Y NOMBRES:	Quintero Lucero Diana Adelaida
DIRECCIÓN:	José Nicolás Hidalgo y Ramón Alarcón - Ibarra
EMAIL:	daquinterol@utn.edu.ec
TELÉFONO	0984612331

DATOS DE LA OBRA	
TÍTULO:	Obtención de kefirán a escala piloto a partir de suero de queso fresco y gránulos de kéfir
AUTOR (ES):	Pico Ayala Katherin Mariuxi; Quintero Lucero Diana Adelaida
FECHA:	12/05/2022
PROGRAMA:	<input checked="" type="checkbox"/> PREGRADO <input type="checkbox"/> POSGRADO
TITULO POR EL QUE OPTA:	Ingeniero Agroindustrial
ASESOR /DIRECTOR:	Ing. José Pais, PhD

2. CONSTANCIAS

El autor (es) manifiesta (n) que la obra objeto de la presente autorización es original y se la desarrolló, sin violar derechos de autor de terceros, por lo tanto, la obra es original y que es (son) el (los) titular (es) de los derechos patrimoniales, por lo que asume (n) la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldrá (n) en defensa de la Universidad en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los 13 días del mes de mayo de 2022

LOS AUTORES:



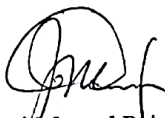
Pico Ayala Katherin Mariuxi
C.I. 1004028856



Quintero Lucero Diana Adelaida
C.I. 1751261759

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por las Srtas. Katherin Mariuxi Pico Ayala, con cédula de ciudadanía N.º 100402885-6 y Diana Adelaida Quintero Lucero, con cédula de ciudadanía N.º 1751261759 bajo mi supervisión.



Ing. José Manuel País Chanfrau, PhD

DIRECTOR DE TESIS

DEDICATORIA

A mis padres María Lucero y Alfonso Quintero por nunca dejarme sola, ustedes me inspiran cada día a no rendirme y me recuerdan que soy capaz de lograr todas mis metas. Son lo mejor que Dios me ha dado.

A mis amistades más cercanas, por siempre estar para mí y apoyarme.

Diana Q.

DEDICATORIA

A mi madre, por ser una mujer luchadora que a pesar de las adversidades con su sacrificio siempre ha salido adelante, quien en todo momento ha estado a mi lado siendo mi apoyo en cada paso que doy en mi vida, ella es quien me impulsa a continuar con mis sueños.

A mis hermanos, Kevin y Poli. A quienes los adoro y son por quienes cada día intento ser una mejor persona.

A mi familia, en especial a mi primo Andrés, mi tía Mercedes quienes han sido una parte muy fundamental para este logro, por nunca haber dudado de mí y siempre apoyarme hasta llegar a cumplir este escalón de mi vida.

Quiero dedicar este trabajo, también a Daniel Rosas, quien con su amor y confianza a estado a mi lado brindándome su apoyo.

Katherin P.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por bendecir mi vida, guiar cada uno de mis pasos y permitirme llegar a este momento en el cual culmino mi carrera universitaria.

Gracias a mis padres María y Alfonso, por su sacrificio, por brindarme una vida llena de amor y felicidad, por confiar en mi y ser mi apoyo incondicional, por motivarme a ser mejor cada día. A mi abuelita Adelaida por sus consejos y su inmenso amor. Gracias a mi hermano por ser mi cómplice, por acompañarme y cuidar de mí. A mi tío Ramón, por su generosidad y cariño.

Agradezco a los docentes de la Carrera de Agroindustria por compartir sus conocimientos y ser parte fundamental de mi formación profesional. Agradezco especialmente a nuestro tutor Ing. José Pais y a nuestros asesores Ing. Jimmy Nuñez e Ing. Hernán Cadena por su disposición para ayudarnos en el desarrollo de nuestra investigación, por guiarnos y corregirnos para ser mejores.

Finalmente quiero agradecer a mi amiga Katherin Pico, por su paciencia, por siempre ayudarme y por compartir conmigo este logro. A Paola Sandoval por su hermosa amistad, por siempre darme la mano y sostenerme, por quererme y apoyarme desde el primer momento. Gracias a mi amigo Ángel por su cariño y por haberme acompañado en todo este camino.

Diana Q.

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, a Dios por permitirme culminar una meta más en mi vida.

A mi madre y mis hermanos por ser mi apoyo. En especial a mi madre, por darme la vida, por ser incondicional y jamás dejarme, ella es mi fortaleza de cada día.

A mi director de tesis, Ing. José Manuel País por su guía, sus enseñanzas y su paciencia durante todo este trabajo de investigación, a mis asesores Ing. Jimmy Nuñez e Ing. Hernán Cadena por su apoyo y dedicación en el desarrollo de nuestra investigación.

A Diana Quintero por ser mi compañera y amiga, por su paciencia y perseverancia en todo este trabajo de investigación. A mis amigas, quienes me han apoyado en cada momento hasta llegar al final de este proceso.

Finalmente, a mis amistades más cercanas que siempre me dieron esa voz de aliento para seguir adelante.

Katherin P.

Índice

Capítulo I	1
INTRODUCCIÓN	1
1.2. Justificación	2
1.3. Objetivos	3
1.3.1. Objetivo General	3
1.3.2. Objetivos Específicos.....	3
MARCO TEÒRICO.....	4
2.1. Suero De Leche.....	4
2.1.1. Composición Nutricional Del Suero.....	4
2.1.2. Tipos de Suero	5
2.1.3. Suero Dulce de Leche	5
2.2. Gránulos De Kéfir.....	6
2.2.1. Lactosuero Fermentado Con Gránulos De Kéfir	7
2.3. Exopolisacáridos	8
2.4. Kefirán	9
2.4.1. Propiedades del Kefirán	10
2.4.2. Aplicaciones Y Usos Del Kefirán (ESP)	10
2.5. Escalado de Bioprocesos y Bioseparaciones	11
2.5.1. Etapa De Pretratamiento (Up-stream).....	14
2.5.2. Etapa De Tratamiento De Productos (Down-stream)	16
2.6. Bioproductos De Separación.....	17
2.7. Metodología De Escalado	17
2.7.1. Escalamiento empírico.....	18
2.7.2. Criterios de Escalamiento	18
2.7.3. Factores críticos que influyen en el escalamiento.....	20
Capítulo III.....	21
MATERIALES Y MÉTODOS	21
3.1. Caracterización Del Área De Estudio	21
3.1.1. Localización Del Experimento	21

3.2. Materiales y Equipos.....	21
3.2.1. Materia Prima E Insumos.....	21
3.2.2. Equipos	22
3.3. Metodología.....	22
3.3.1. Caracterizar el Lactosuero utilizando Análisis Físicoquímico.	22
3.3.2. Escalado del Proceso de Laboratorio de 0.2 L a 30 L para la Obtención de Kefirán. 23	
3.3.3. Evaluar la Concentración de Kefirán Obtenido del Proceso a Escala De 30L.	29
3.3.5. Analizar los grupos funcionales presentes en el kefirán obtenido, mediante Espectroscopía de infrarrojos por transformada de Fourier.....	30
Capítulo IV.....	32
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
4.1. Caracterización Físico Química del Suero de Queso Fresco	32
4.2. Escalamiento del Proceso de Laboratorio de 0.2 L a 30 L para la Obtención de Kefirán. 34	
4.2.1. Preparación del medio de cultivo.....	35
4.2.2. Producción de Kefirán	36
4.2.3. Etapa de Purificación	37
4.2.4. Obtención de kefirán en polvo por atomización.....	39
4.3. Evaluar la concentración de kefirán obtenido a escala de 30 L.....	40
4.4. Analizar los grupos funcionales presentes en el kefirán obtenido, mediante Espectroscopia de infrarrojos por transformada de Fourier.....	43
Capítulo V.....	48
Conclusiones y Recomendaciones.....	48
5.1. Conclusiones.....	48
5.2. Recomendaciones	49
BIBLIOGRAFÍA	50
ANEXOS	58
Anexo 1. Norma INEN 2594:2011 Requisitos suero de leche líquido.....	58

Índice de tablas

Tabla 1	Composición de lactosuero dulce y ácido.....	5
Tabla 2	Microbiota de kéfir presente en los granos o bebida	7
Tabla 3	Actividad Biológica del Kefirán	10
Tabla 4	Tipos de productos de cultivos de células y sus aplicaciones.....	15
Tabla 5	Productos de biotecnología	17
Tabla 6	Ubicación del área de estudio	21
Tabla 7	Análisis fisicoquímico para Lactosuero dulce	22
Tabla 8	Condiciones óptimas de fermentación a escala de laboratorio	26
Tabla 9	Formulación para fermentación a escala de laboratorio	27
Tabla 10	Nomenclatura de formulación.....	28
Tabla 11	Formulación para fermentación a escala de 30L	28
Tabla 12	Condiciones óptimas de Inactivación térmica	29
Tabla 13	Asignación de bandas o picos FTIR	30
Tabla 14	Caracterización fisicoquímica del lactosuero dulce.....	32
Tabla 15	Solución de sales 10X.....	35
Tabla 16	Crecimiento del inóculo (gránulos de kéfir) a las 48h de fermentación	36
Tabla 17	Kefirán obtenido de cada repetición posterior a la precipitación y lavados	38
Tabla 18	Comparación del rendimiento de kefirán obtenido a escala piloto y de laboratorio ...	38
Tabla 19	Condiciones para el secado por spray dryer	39
Tabla 20	% de humedad kefirán en polvo.....	40
Tabla 21	Concentraciones de glucosa ($\mu\text{g}/\text{ml}$).....	40
Tabla 22	Concentraciones de kefirán ($\text{mg Glu}/\text{ml}$).....	42

Índice de figuras

Figura 1 Estructura química del kefirán.	9
Figura 2 Operaciones de bioprocesos	12
Figura 3 Ejemplo de etapas en el proceso de escalado	14
Figura 4 Diagrama de flujo del proceso de obtención de kefirán a escala piloto	23
Figura 5 Diagrama instrumental del proceso de obtención de kefirán a escala piloto.	24
Figura 6 Diagrama de flujo del proceso de obtención de kefirán	26
Figura 7 Comparación del proceso de obtención de kefirán a escala de laboratorio y escala piloto	34
Figura 8 Porcentaje de crecimiento del inóculo durante las fermentaciones.....	37
Figura 9 Curva de calibración de glucosa para la concentración de kefirán	41
Figura 10	43
Figura 11 Espectro FTIR de muestras de kefirán a escala piloto.	44

Resumen

El lactosuero generado por la industria láctea es considerado como un residuo agroindustrial. Debido al desconocimiento de su composición nutricional, tiene un bajo índice de utilización para la elaboración de nuevos productos. La presente investigación tuvo como objetivo escalar el proceso de obtención de Kefirán a partir de suero de queso fresco y gránulos de kéfir, desde 0.2 L a 30 L, utilizando las condiciones óptimas a escala de laboratorio. El medio de cultivo estuvo constituido por 46% de suero, sacarosa al 88%, solución de sales 10X y agua destilada. La temperatura del lactosuero fue elevada previamente a 45°C para su centrifugación. Posteriormente se pasteurizó a 65°C por 30 minutos, suplementado e inoculado con gránulos de kéfir. La fermentación se desarrolló bajo condiciones anaerobias, con temperatura de 24°C y por un tiempo de 48 horas. Para la obtención de kefirán se realizó una precipitación alcohólica utilizando alcohol técnico en una relación 60:40, por un tiempo de 24 horas a 4°C; finalizado el tiempo de precipitación se centrifugó, separando el kefirán del alcohol para luego realizar 3 lavados. El kefirán fue secado mediante el método de atomización, obteniendo el producto final en polvo. Se calculó el rendimiento, obteniendo 2.41 ± 0.97 g/L de kefirán, valor que se encuentra por debajo de la producción de kefirán a escala de laboratorio. Además, se evaluó la concentración de kefirán obteniendo un valor promedio de 63.03 ± 2.861 mg Glu/ml, y se realizó un análisis de espectroscopia FTIR para determinar mediante sus grupos funcionales que el producto final es kefirán.

Palabras clave: Lactosuero, Kefirán, gránulos de kéfir, escalar.

Summary

Milk whey produced by dairy plants is considered as an agroindustrial waste. Due to lack of knowledge about its nutritional value, milk whey has a low utilization rate in the manufacture of new products.

The purpose of this research was to scale up kefir production process from fresh cheese whey and kefir grains, from 0.2 L to 30 L by applying optimal conditions tested on a lab scale. The culture medium was composed by 46% of sweet whey, 88% sucrose, salt solution 10x and distilled water. Whey was previously heated to 45 °C for centrifugation. Then it was pasteurized at 65°C for 30 min, supplemented and inoculated with kefir grains. Fermentation was developed under anaerobic conditions, with temperatures of 24 °C for 48 h.

Alcoholic precipitation was applied in order to obtain kefir. Technical ethyl alcohol was used in proportion of 60:40 at 4 °C for 24 h; subsequently, kefir was separated from the alcohol through centrifugation and washed three times. It was dried by spray method, obtaining kefir powder. The yield was calculated, reaching 2.41 ± 0.97 g/L, being less than the value obtained on lab scale. Also, kefir concentration was evaluated, reaching an average value of 63.03 ± 2.861 mg Glu/ml. The functional groups of samples were analyzed by FTIR spectroscopy, to determine that final product is kefir.

Keywords: milk whey, kefir, kefir grains, scale up

Capítulo I

Introducción

1.1. Problema

El suero de leche es el subproducto más abundante en la industria láctea, es un residual obtenido de la manufactura del queso (Urribarrí et al., 2004). Según la Corporación Financiera Nacional (2020), en el Ecuador se producen 5.5 millones de litros de leche diariamente; de los cuales el 48% se envía a la industria, el 35% de esta cantidad se destina a la producción industrial de queso, y aproximadamente el 12% de la leche total se destina a la producción artesanal de queso. A partir de la utilización de 1000 litros de leche se obtiene 100 kg de queso, generando 900 litros de lactosuero (Pais et al., 2017); subproducto que contiene proteínas, lactosa, minerales y vitaminas que conforman más del 50% de sólidos de la leche (Hernández y Ruiz, 2015). El gran volumen generado no se destina a la obtención de productos de alto valor agregado.

La falta de investigación sobre el lactosuero se evidencia en el desconocimiento de su valor nutricional y de cómo puede ser aprovechado para su aplicación en la industria; un porcentaje aproximado del 50% total del suero es llevado al tratamiento de aguas residuales, alrededor del 40% es utilizado para la alimentación animal y el 10% es destinado a otros usos (Koutinas, Menelaou y Nicolaou, 2014). En este sentido, es importante el estudio de este residual con el propósito de darle una mejor utilización.

Como alternativa para aprovechar el suero de la producción quesera, está la elaboración de kefirán a partir de gránulos de kéfir. Sin embargo, actualmente en el Ecuador existe únicamente una producción a escala de laboratorio y no se ha establecido un proceso adecuado para su producción a mayor escala.

1.2. Justificación

El suero lácteo o lactosuero posee un alto porcentaje de los nutrientes de la leche, los cuales son esenciales para la alimentación humana. Debido a esto, es importante la implementación de nuevas alternativas para su utilización en la elaboración de productos nutritivos con alto valor agregado, que ofrezcan mayor rentabilidad para la industria láctea.

El kéfir es una bebida viscosa y ligeramente carbonatada, la cual es producida por la fermentación de gránulos de kéfir y leche. Dichos gránulos son un consorcio de bacterias ácido-lácticas y levaduras, que se encuentran dentro de una matriz gelosa llamada kefirán (Patel y Prajapati, 2013).

El kefirán es un exopolisacárido estructurado químicamente por cadenas de glucosa y galactosa en proporciones iguales, el cual tiene varias aplicaciones en la industria alimentaria, principalmente como aditivo, espesante, estabilizador, emulsionante, sustitutivo de grasa y gelificante; también en elaboración de películas comestibles (Welman y Maddox, 2003).

La presente investigación tiene como propósito establecer el proceso de obtención de kefirán a escala piloto (30 L), para lo cual se utilizará suero líquido con gránulos de kéfir, de acuerdo con una tecnología existente en la Universidad Técnica del Norte a escala de laboratorio (0.2 L), lo cual permitirá dar un mejor uso a las grandes cantidades de este subproducto obtenido en la industria quesera.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo General

Obtener kefirán a partir de suero de queso fresco y gránulos de kéfir a escala piloto.

1.3.2. Objetivos Específicos

- Caracterizar el lactosuero utilizando análisis fisicoquímico.
- Escalar un proceso de laboratorio de 0.2 L a 30 L para la obtención de kefirán.
- Evaluar la concentración de kefirán a escala de 30 L.
- Analizar los grupos funcionales presentes en el kefirán obtenido, mediante espectroscopia FTIR.

Capítulo II

Marco Teórico

La reconsideración del valor del suero se debe a varios factores como la creciente atención a la seguridad ecológica de las fábricas de alimentos, el aumento de la deficiencia de la materia prima láctea y la invención de nuevas tecnologías y equipos de procesamiento. Hoy en día el nivel de procesamiento industrial de suero de leche se extiende, pero, sin embargo, todavía es relativamente bajo (Shershenkov & Suchkova, 2015).

2.1. Suero De Leche

Durante la fabricación de que queso, se precipita la caseína y el líquido restante es conocido como lactosuero (Lievore, y otros, 2015); es de color verde-amarillento, translucido, sabor débilmente dulce y un contenido de materia seca del 5.5 al 7% (Molero, Castro, & Briñez, 2017).

Este subproducto representa aproximadamente el 90% del volumen de leche y retiene alrededor del 55% de sus nutrientes, siendo los más abundantes la lactosa (4.5–5.0% p/v), proteínas solubles (0.6–0.8% p/v), lípidos y sales minerales (Magalhães, y otros, 2010).

2.1.1. Composición Nutricional Del Suero

Según Johansen (2002), citado en Lievore et al. (2015), la composición del suero de leche depende de varios factores, incluyendo el tipo de queso que se procesa, el método de precipitación de caseína, las temperaturas aplicadas en su tratamiento, las condiciones de almacenamiento, entre otras.

Las principales proteínas del lactosuero son: beta-lactoglobulina (β -Lg), alfa-lactoalbúmina (α -LA), inmunoglobulinas, seroalbúmina, peptonas proteasa, lactoferrasa y transferrina (Motta & Mosquera, 2015).

2.1.2. Tipos de Suero

El lactosuero dulce es obtenido a partir de la elaboración de quesos duros, semiduros y algunos quesos blandos, en los cuales se utiliza cuajo, presentando un pH de 5.6 - 6.3. (Motta & Mosquera, 2015). El suero ácido se obtiene de la producción de queso crema y el yogur colado y también se produce a partir de la acidificación química de leche en producción de caseína (Chen et al., 2016) y presenta un pH entre 4.4 a 5.1.

Tabla 1

Composición de lactosuero dulce y ácido

Componente	Lactosuero dulce (g/L)	Lactosuero ácido (g/L)
Sólidos totales	63.0-70.0	63.0 - 70.0
Lactosa	46.0-52.0	44.0 - 46.0
Proteína	6.0-10.0	6.0 - 8.0
Calcio	0.4-0.6	1.2 - 1.6
Fosfato	1.0-3.0	2.0 - 4.5
Lactato	2.0	6.4
Cloruros	1.1	1.1

Fuente: Panesar et al., 2007; Huertas 2009

2.1.3. Suero Dulce de Leche

El suero dulce es el resultado de la coagulación de las micelas de caseína, provocando una precipitación de las mismas y obteniendo así el queso.

Por tener una composición química más estable permite el procesamiento y obtención de subproductos con valor agregado, por lo cual este tipo de lactosuero más empleado en la industria alimentaria.

2.2. Gránulos De Kéfir

Según Olivo (2017) los gránulos de kéfir están compuestos por bacterias y levaduras de varias especies, estas coexisten en asociaciones simbióticas. Tienen en su composición nutrientes como vitamina B y K, triptófano, calcio, fosforo y magnesio. Contienen 4.4% de grasa, 12.1% de cenizas, 45.7% de polisacáridos, 27% de proteína insoluble, 1.6% de proteína soluble, 5.6% de aminoácidos libres. Al inocular gránulos de kéfir utilizando leche como medio de cultivo, esta se transforma en leche fermentada acidificada y carbonatada con baja cantidad de alcohol. (Rosa et al., 2017).

Para la fermentación se utiliza como inóculo un 3% p/v de gránulos, los cuales se incuban a 25°C por 20 a 24 h. Después de cada período de fermentación, se da un aumento entre 3 - 3.5% en la biomasa. Los cultivos de bacterias y levaduras de los gránulos de kéfir se encuentran incrustados en estructuras de polisacáridos. Durante la fermentación se produce ácido láctico y se forman exopolisacáridos, siendo el kefirán el más importante (Guzel-Seydim, Seydim, Karaca, & Gün, 2018).

“La población de levaduras en el grano sintetiza metabolitos bioactivos esenciales para su crecimiento y para inhibir microorganismos, patógenos y contaminantes alimentarios” (Olivo et al., 2017).

Tabla 2*Microbiota de kéfir presente en los granos o bebida*

Microorganismos	
Bifidobacterias	Bacterias ácido acéticas
<i>Bifidobacterium spp.</i>	<i>Lb. Acetobacter lovaniensis</i>
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Lb. Acetobacter syzygii</i>
<i>Bifidobacterium breve</i>	<i>Lb. Acetobacter orientalis</i>
<i>Bifidobacterium choerinum</i>	<i>Lb. Gluconobacter japonicas</i>
<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Lb. Gluconobacter frateurii</i>
Bacterias ácido lácticas	Levaduras
<i>Lactococcus (Lc.) lactis</i>	<i>Lb. Saccharmyces (S.) cerevisiae</i>
<i>Lc. lactis subsp. lactis</i>	<i>Lb. S. martiniae</i>
<i>Lc. lactis subsp. Cremoris</i>	<i>Lb S. unisporus</i>
<i>Lactobacillus (Lb.) kefiranofaciens</i>	<i>Lb. Candida humilis</i>
<i>Lb. kefiranofaciens subsp. Kefirgranum</i>	<i>Lb. Candida incospicua</i>
<i>Lb. kefiranofaciens subsp. Kefiranofaciens</i>	<i>Lb. Candida maris</i>
<i>Lb. kefiri</i>	<i>Lb. Klu. Lactis</i>
<i>Lb. kefir</i>	<i>Lb. Candida kefyr</i>
<i>Lb. casei</i>	<i>Lb. Candida colliculosa</i>

Fuente. (Rodriguez, Noriega, Lucero, & Tejada, 2017)**2.2.1. Lactosuero Fermentado Con Gránulos De Kéfir**

Según (Huertas, 2009, citado en Carrera, 2019), para disminuir el contenido de lactosa del lactosuero se realiza una fermentación con microorganismos de kéfir, dando como resultado la producción de ácido láctico y metabolitos que influyen en el sabor, textura, solubilidad y dulzura del producto final.

Se puede crear productos a partir de la fermentación de suero de leche y gránulos de kéfir, lo cual permite el aprovechamiento de este subproducto. Entre las alternativas está la

producción de kefirán, películas comestibles, polisacáridos, bebidas fermentadas, leudantes, starters para la producción de queso y proteínas celulares.

2.3. Exopolisacáridos

En varias investigaciones (Delaware Vuyst & Deegest, 1999, citado en Moura et al., 2016) concluyeron que los exopolisacáridos (EPS) son polímeros extracelulares que consisten en cientos o miles de residuos de monosacáridos que pueden ser producidos por plantas, bacterias, levaduras, hongos y algas y brindan protección contra ambientes hostiles a los productores. En la mayoría de los casos, los EPS protegen contra el secado celular, el estrés osmótico, la fagocitosis, la presencia de antibióticos o componentes tóxicos, los ataques de fagos y la depredación por protozoos. Estos polímeros de alto peso molecular son ampliamente explotados industrialmente, especialmente en las industrias de alimentos, química y farmacéutica, debido a sus propiedades de emulsificación, estabilización, floculación, control de cristalización, inhibición de la sinéresis, encapsulación, formación de película y eliminación de materiales pesados.

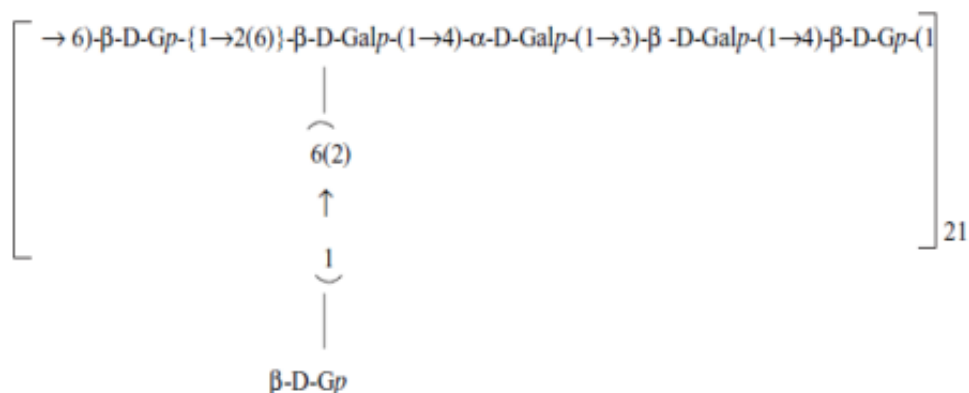
Para (Badel, Bernardi y Michaud, 2011, citado en Moura et al., 2016) los exopolisacáridos de las bacterias del ácido láctico (LAB) han atraído un interés especial entre la comunidad científica porque son producidos por microorganismos de grado alimenticio, que generalmente se reconocen como seguros (GRAS) y, por lo tanto, son inocuos para los humanos. Los exopolisacáridos producidos por bacterias ácido lácticas tienen varios usos para fines alimentarios y farmacéuticos; por ejemplo, se han utilizado en la producción de yogur, queso y otros productos lácteos para mejorar la reología y la textura (Hidalgo et al., 2012). La EPS más conocida de la matriz polimérica de kéfir es el kefirán, un heteropolisacárido producido en laboratorio a partir de granos de kéfir de leche (Moura et al., 2016).

2.4. Kefirán

El kefirán es un exopolisacárido GRAS (Generalmente Reconocido como Seguro), presente en los granos de kéfir, compuesto por residuos de D-glucosa y D-galactosa (Gagliarini et al., 2018).

Figura 1

Estructura química del kefirán.



Nota. Elaborado por Farnworth, (2005).

Según Rimada & Abraham (2006), citado en Hamet, et al., (2013), el kefirán tiene propiedades fisicoquímicas interesantes y puede usarse como espesante, estabilizante y emulsionante, agente formador de película, sustituto de la grasa o agente gelificante. Aunque la producción de kefirán inicialmente se atribuyó a varias especies de *Lactobacillus* aisladas de granos de kéfir; en la actualidad, la producción del kefirán se atribuye al *Lactobacillus kefiranofaciens*. Este lactobacilo es esencial en la formación del grano.

2.4.1. Propiedades del Kefirán

“Se ha demostrado que el kefirán mejora la viscosidad y las propiedades viscoelásticas de los geles de leche ácidos; y es capaz de formar geles que tienen propiedades interesantes a bajas temperaturas” (Zajšek, Goršek y Kolar, 2013, citado en Carrera 2019).

También, se conoce que las propiedades reológicas pueden mejorar considerablemente las propiedades del gel y así lograr que no existan pérdidas de agua durante el almacenamiento (Kök-Taş et al., 2013, citado en Carrera 2019).

Tabla 3

Actividad Biológica del Kefirán

Exopolisacárido	Actividad Biológica
Kefirán	Control de presión arterial Prevención de aterosclerosis Control de lípidos en hígado y sangre Control de glucosa sanguínea Disminución del estreñimiento Equilibrio en el microbiota intestinal Actividades antiinflamatorias, antimicrobianas, inmunológicas, bifidogénicas, antioxidantes, enzimáticas, hipoglicemiantes

Nota: Olivo et al. (2017)

2.4.2. Aplicaciones Y Usos Del Kefirán (ESP)

Tanto en la la industria alimentaria como en la industria de cosmeticos y fármacos se utiliza el exopolisacárido kefirán para la elaboración de productos, además según (Zajšek et al.,

2011, como se citó en Carrera (2019), este polímero es ampliamente utilizado como un aditivo en forma de:

- Espesante
- Estabilizador
- Emulsionante
- Sustitutivo de grasa
- Gelificante

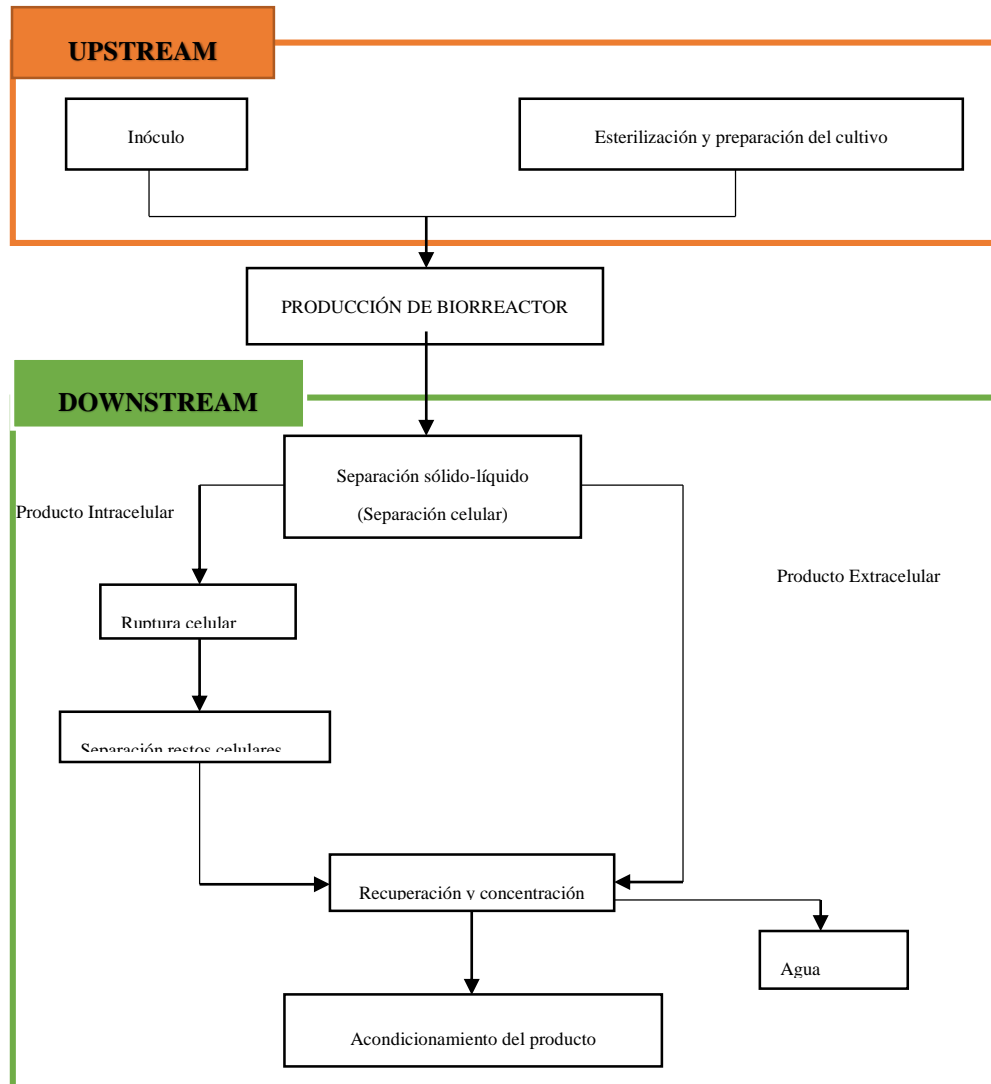
2.5. Escalado de Bioprocesos y Bioseparaciones

Los productos obtenidos a partir de fuentes reciclables, tales como los residuos agroindustriales, han merecido un interés creciente, debido a que permiten aminorar el impacto ambiental y los costos en el tratamiento y disposición de dichos residuos en las industrias. Un ejemplo de estos productos son polisacáridos o biopolímeros (Rodríguez & Hanssen, 2007).

Los bioprocesos reactivos se dividen en operaciones previas “up-stream” y operaciones posteriores “down-stream” o bioseparaciones. Las operaciones previas comprenden la preparación del medio, la esterilización y el funcionamiento del biorreactor (Cooney, 1990, como se citó en Tejada et al., 2011). “Los procesos de bioseparación involucran la recuperación, concentración, purificación y acabado de los productos provenientes del biorreactor” (Tejada et al., 2011).

Figura 2

Operaciones de bioprocesos



Nota. (Elaborado por autores, 2019)

Según (Tejeda, Montesinos, & Guzman, 2011):

Las bioseparaciones también son muy empleadas en los bioprocesos extractivos, donde el producto de interés se obtiene directamente de sus fuentes naturales como la obtención de proteínas del plasma sanguíneo, enzimas de tejidos animales y taninos de plantas. Otro

campo de aplicación de las bioseparaciones es en los bioprocesos enzimáticos para el procesamiento de los productos obtenidos, como en la obtención de jarabes fructosados. La aplicación de las bioseparaciones es muy amplia, pero los principios en que están basadas son utilizados de manera similar en los diferentes bioprocesos. (p. 7)

“El objetivo principal es cambiar la escala de una reacción biológica aumentando o disminuyendo el volumen de trabajo, evitando que se reduzca su productividad” (Parra, 2004) .

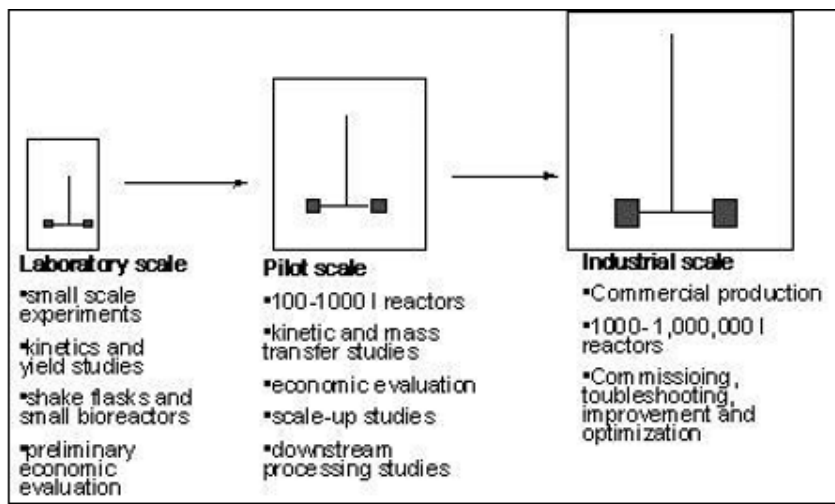
El escalado puede iniciar de un proceso nuevo, una planta nueva o se puede establecer un proceso utilizando equipos ya existentes optimizando la producción.

Según Olivares (2009), para realizar un escalamiento de bioprocesos es importante establecer la capacidad de producción que se requiere en la etapa up-stream lo cual permite seleccionar los equipos adecuados para cada escala. Por lo general el escalamiento consta de tres etapas:

1. La experimentación a nivel de laboratorio se realiza en pequeños biorreactores de baja capacidad o a través de frascos agitados generalmente de 500 ml. En esta escala se establece los parámetros a controlar tales como temperatura, tiempo y pH; así como la composición óptima del medio de cultivo para el crecimiento de microorganismos.
2. Para escalar una producción a planta piloto entre 5 a 500 L, se debe seleccionar criterios de escalamiento que permitan reproducir el experimento y comparar el crecimiento exponencial de los microorganismos en ambas escalas; al mismo tiempo estudiar los efectos de aireación, agitación, temperatura y pH, para obtener mayor rendimiento.
3. A nivel industrial (5000 a 400000 litros) se validan los resultados de la experimentación a escala piloto. Iniciando una producción comercial.

Figura 3

Ejemplo de etapas en el proceso de escalado



Nota. (Gonzalez, 2018)

Según Olivares (2009) mediante los criterios de escalados es posible relacionar las variables del medio ambiente entre escalas, con la finalidad de obtener resultados similares. Uno de los factores importantes es el diseño de los equipos a implementar, debido a que se toman en cuenta las variables físicas del biorreactor que permitan mantener las mismas condiciones de mezclado, agitación y aireación del medio de cultivo.

2.5.1. Etapa De Pretratamiento (Up-stream)

Según González (2018), antes de realizar las biorreacciones la materia prima debe ser sometida a acondicionamiento, para lo cual se utilizan diferentes operaciones físicas de procesamiento de uso común en la industria, como son la selección, tamizado y reducción de tamaño. Posteriormente se aplican las etapas de tratamiento previo específicas de los bioprocesos, como esterilización, hidrólisis y formulación de medios.

2.5.1.1. Etapa De Biorreacción

Para González (2018), la función principal de un biorreactor es mantener un medio óptimo garantizando la seguridad del cultivo, permitiendo el crecimiento del inóculo. La mayoría de los biorreactores están diseñados para ser esterilizados y mantener la esterilidad durante su operación. La biorreacción es la etapa fundamental del bioproceso, debido a que la fermentación puede involucrar la transformación de sustrato en biomasa o en biomasa con algún producto bioquímico o enzima. Alternativamente la conversión puede utilizar células completas o enzimas (inmovilizadas o en suspensión) como biocatalizadores. Los productos resultantes del cultivo celular pueden ser: productos generados por las células cultivadas, las propias células y productos generados por transformaciones celulares.

“Las variables más críticas son la temperatura y la concentración de oxígeno porque al incrementar el volumen se hace más difícil la transferencia de calor y la transferencia de masa, siendo necesarios sistemas más eficientes de calentamiento, agitación y aireación” (Olivares T. , 2016).

Tabla 4

Tipos de productos de cultivos de células y sus aplicaciones

Categoría	Ejemplos de Productos	Área de Aplicación
Metabolitos o productos generados por células cultivadas.	Ácidos orgánicos, enzimas, antibióticos, proteínas, solventes, colorantes, etanol, vitaminas, nucleótidos, virus.	Alimentos, química, energía farmacéutica (diagnóstico, terapia, profilaxis), cosméticos, agricultura.
Las propias células cultivadas como productos.	Proteínas unicelulares, tejidos y órganos para trasplantes, bioinsecticidas.	Alimentos, medicina, agricultura.

Biotransformaciones efectuadas por las células cultivadas o sus componentes.	Tratamientos de agua, aire y suelo. Transformaciones enzimáticas.	Biorremediación, contaminación ambiental, síntesis química.
--	--	---

Nota. (González, 2018)

2.5.2. Etapa De Tratamiento De Productos (Down-stream)

Posterior a la etapa up-stream, se realiza la concentración y purificación de los productos, los cuales pueden ser líquidos, lodos, polvos o cristales, para su obtención se emplean operaciones como:

- Filtración
- Centrifugación
- Sedimentación
- Floculación
- Ruptura celular
- Extracción
- Ultrafiltración
- Precipitación
- Cristalización
- Cromatografía
- Evaporación
- Secado
- Empaque

2.6. Bioproductos De Separación

Tabla 5

Productos de biotecnología

Categoría	Ejemplo
Disolventes	Butanol, acetona, etanol, dioles
Ácidos orgánicos	Ácido cítrico, láctico, butírico, itacónico
Vitaminas	Ácido ascórbico, vitamina B12
Aminoácidos	Lisina, Fenil-alanina, glicina
Antibióticos	Penicilina, estreptomicina, gentamicina, tetraciclina, cefalosporina, lincomicina
Azúcares, polisacáridos	Glucosa, fructosa, dextranos, almidón
Ácidos nucleicos	Plásmidos, ADN, vectores retrovirales, ribosomas, enzimas diagnósticas
Proteínas purificadas	Enzimas terapéuticas, anticuerpos monoclonales, insulina, interferón, factores de crecimiento humano, vacunas, citosinas, interleucinas, hormonas
Proteínas semipurificadas	Proteínas industriales, proteínas del huevo, de la leche, de la soja o del suero
Células	Levadura del pan, levadura de la cerveza, lactobacilo liofilizado, algas
Extractos celulares crudos	De levadura, de soja, de tejido animal
Hidrolizados	De soja, de suero, de tejidos de animal
Alcaloides y esteroides	Prednisolona, codeína, morfina, quinina, estriocnina, taxol.

Nota. (Ghoch, 2006, como se citó en Recasens, 2018)

2.7. Metodología De Escalado

Olivares (2016) menciona que es importante elegir una metodología que permita predecir el comportamiento de las variables no controladas ante un escalamiento. Dentro de estas metodologías se encuentra:

- a) **Fundamentales:** ecuaciones de micro balances de transferencia de momento, masa y calor.
- b) **Semifundamentales:** ecuaciones simplificadas de transporte, análisis de régimen y análisis de proceso para encontrar las etapas limitantes.
- c) **Análisis dimensional:** basada en analogías de las ecuaciones generadas de los balances de momento, masa y calor.
- d) **Reglas empíricas:** de acuerdo con la experiencia se fijan condiciones que son factores limitantes del proceso.

Los parámetros para la purificación del producto se establecen de acuerdo a las características y necesidades del microorganismo empleado, así como las limitaciones presentadas durante la etapa de biorreacción.

“El escalamiento, puede verse perturbado por las condiciones que afectan el crecimiento de los microorganismos y la formación de productos en un proceso bioquímico (temperatura, presión, pH, velocidad de agitación y concentración de nutrientes)” (Olivares T. , 2016).

2.7.1. Escalamiento empírico

Mediante el método empírico, se utilizan los parámetros establecidos en el proceso a menor escala como la agitación, tiempo de residencia, pH, temperatura, entre otros, con la finalidad de evaluar su comportamiento y posteriormente ajustarlos para obtener un mejor resultado.

2.7.2. Criterios de Escalamiento

Según Muñoz (2016), existen diversos criterios de escalamiento, que se encuentran directamente vinculados con las variables que afectan de manera importante el sistema de producción.

- Número de Reynolds
- Tiempo de mezcla
- Velocidad en la punta del impulsor
- Potencia por unidad de volumen (P/V)
- Coeficiente volumétrico de transferencia de masa
- Similitud geométrica del reactor

De acuerdo a Olivares (2016) se estima que un tercio de los proyectos de producción emplean la regla de mantener p/v, aproximadamente 20% usan la velocidad de la punta del agitador, otro 20% de las plantas industriales realiza sus escalados en base al tiempo de mezclado. El resto de los escalados utiliza la concentración de sustrato o producto limitante o inhibitorio, más comúnmente sobre la base de la concentración del oxígeno disuelto.

Los parámetros que influyen en la eficiencia de los bioprocesos son:

- El diseño geométrico
- Las variables de operación
- Propiedades del fluido
- Procesos de transporte
- Cinética de los organismos

Efectos que puede tener el cambio de escala:

- Disminución del rendimiento
- Cambio de cinética
- Efecto de la esterilización
- Efecto del inóculo

- Problemas de transporte (homogenización)

2.7.3. Factores críticos que influyen en el escalamiento

Según Harmsen (2013), existen distintos factores críticos de escalamiento de equipos y operaciones unitarias:

Distribución del tiempo de residencia

La distribución del tiempo de residencia es afectada por grandes escalas. En reactores puede causar menor conversión y más formación de subproductos. En separaciones puede causar baja selectividad.

Mezclado

Al aumentar el factor de escala, se reduce la velocidad de mezclado y con ello la selectividad permitiendo el desarrollo de subproductos no deseados.

Transferencia de masa

La velocidad de la transferencia de masa disminuye con el aumento de escala, debido a que la distribución en el medio no es totalmente homogénea.

Transferencia de calor

La velocidad de transferencia de calor en los aumentos de escala puede disminuir debido la disminución de área de superficie específica.

Capítulo III

Materiales y Métodos

3.1. Caracterización Del Área De Estudio

3.1.1. Localización Del Experimento

El desarrollo de esta investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Bioprocesos de la Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales (FICAYA) de la Universidad Técnica del Norte.

Tabla 6

Ubicación del área de estudio

Ubicación del área de estudio	
Provincia:	Imbabura
Cantón:	Ibarra
Parroquia:	San Francisco
Altitud:	2256 m.s.n.m
Temperatura promedio:	19°C
HR promedio:	71%

Nota. Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI) (2019)

3.2. Materiales y Equipos

3.2.1. Materia Prima E Insumos

- Suero de leche
- Cultivo: Gránulos de kéfir

- Fosfato monobásico de potasio, K_2HPO_4
- Sulfato de amonio, $(NH_4)_2SO_4$
- Sulfato de magnesio, $MgSO_4$
- Sacarosa, $C_{12}H_{22}O_{11}$
- Agua Esterilizada, H_2O
- Alcohol técnico, CH_3CH_2OH

3.2.2. Equipos

- Centrífuga de discos
- Marmita
- Fermentador 80 L
- *Spray dryer*
- Cuarto frío
- Balanza infrarroja
- Refractómetro digital
- Medidor de pH y conductividad

3.3. Metodología

3.3.1. Caracterizar el Lactosuero utilizando Análisis Físicoquímico.

Tabla 7

Análisis físicoquímico para Lactosuero dulce

Análisis	Método	Norma	Unidad
Lactosa		AOAC 984.15	%(m/m)
Proteína láctea	Kjeldahl	NTE INEN 16	%(m/m)

Grasa láctea	Gerber	NTE INEN 12	%(m/m)
Ceniza		NTE INEN 14	%(m/m)
Acidez titulable	Titulación	NTE INEN 13	%
pH		AOAC 973.41	

En la presente investigación se utilizó 14.44 L de suero de queso fresco (suero dulce) en cada fermentación, el cual fue receiptado de la empresa Floralp S.A ubicada en la ciudad de Ibarra, provincia de Imbabura. Se realizó un tratamiento previo de pasteurización a una temperatura de 65°C por un tiempo de 30 minutos.

3.3.2. Escalado del Proceso de Laboratorio de 0.2 L a 30 L para la Obtención de Kefirán

Con el fin de obtener kefirán a escala piloto de 30 L, se desarrolló un proceso que se muestra mediante un diagrama de flujo (con los parámetros que se aplicaron durante el proceso), así como también el diagrama instrumental referente a los equipos utilizados en el laboratorio de Bioprocesos de la Universidad Técnica del Norte.

Figura 4

Diagrama de flujo del proceso de obtención de kefirán a escala piloto

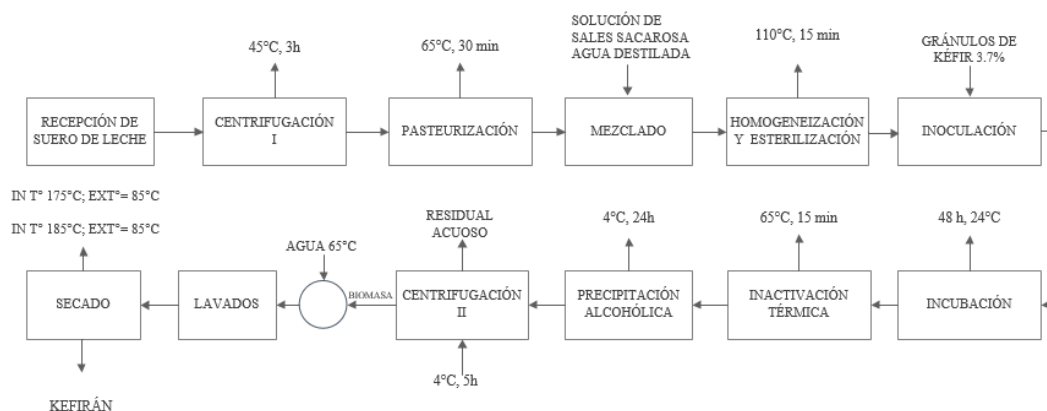
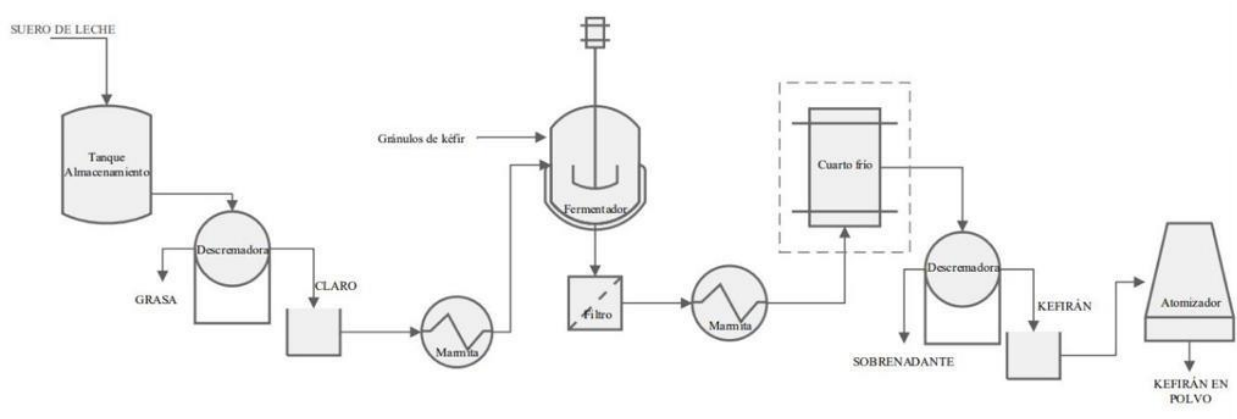


Figura 5

Diagrama instrumental del proceso de obtención de kefirán a escala piloto.



Descripción del Proceso para la Obtención de Kefirán a Escala Piloto

Centrifugación I. Se elevó la temperatura del suero a 45°C y se centrifugó utilizando una descremadora de discos (Modelo Elecrem 3) por un tiempo de 3 h.

Pasteurización. El suero centrifugado fue llevado a pasteurización a 65°C durante 30 min.

Mezclado. Se preparó el medio de cultivo, mezclando los componentes necesarios para la obtención de kefirán, los cuales fueron previamente pesados de acuerdo a la formulación.

Homogeneización. Los 30 L de mezcla, fueron homogeneizados en una marmita con agitador, durante 10 min.

Pasteurización. La temperatura de la mezcla homogeneizada se elevó a 90°C por un período de 15 min.

Enfriamiento. La mezcla fue enfriada hasta una temperatura de 24°C.

Inoculación. Se pesaron 1153 g de cultivo (gránulos de kéfir) utilizando una balanza digital, y se procedió a inocular en la mezcla.

Fermentación. La mezcla fue llevada a incubación por 48 h a 24°C empleando un fermentador con agitación.

Inactivación térmica. Se llevó la mezcla a 65°C durante 15 min con la finalidad de inactivar enzimas generadas durante la fermentación, las cuales pueden degradar el kefirán.

Precipitación alcohólica. Se midió 30 L de mezcla y 45 L de alcohol técnico y se almacenó en refrigeración mediante el uso de un cuarto frío a temperatura de 4°C durante 24 h.

Centrifugación II. Se dividió cada muestra en 2 lotes de 37.5 L y se procedió a centrifugar cada lote, mediante el uso de una descremadora de discos (modelo elecrem 3), a 4°C por 5 h.

Lavado I, II, III. Se realizó tres lavados por cada lote centrifugado. La biomasa obtenida se re disolvió en 10 litros de agua previamente pasteurizada y a 65°C. Posteriormente se centrifugó mediante el uso de una descremadora (modelo elecrem 3) con un tiempo de 6 h por cada lote.

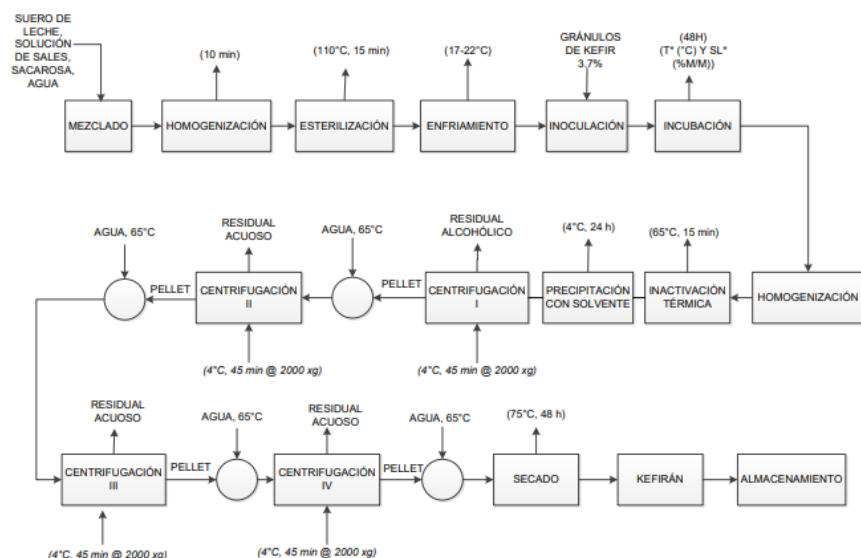
Secado Se realizó el secado en *Spray Dryer* (FT80/81). Para las repeticiones F1, F2 Y F3 se utilizó una temperatura de entrada de 175°C y 85°C de salida. Para F4 Y F5 se utilizó una temperatura de entrada de 185°C y 95°C de salida.

Pérez (2016) menciona que el principio de similitud se aplica con la finalidad de mantener constantes las variables y parámetros que intervienen en el bioproceso. Para realizar el escalado de obtención de Kefirán en una planta piloto, se tomó en

cuanta el proceso de obtención a escala laboratorio como se muestra en el siguiente diagrama de flujo:

Figura 6

Diagrama de flujo del proceso de obtención de kefirán



Nota. (Carrera, 2019)

Parámetros de Fermentación. En la presente investigación se evaluaron las condiciones de fermentación establecidas a escala de laboratorio por Carrera (2019) en la investigación “Obtención de kefirán a partir de suero y gránulos de kéfir”.

Tabla 8

Condiciones óptimas de fermentación a escala de laboratorio

Variables	Valores
Temperatura (°C)	24
Tiempo (h)	48
Suero de leche (%)	46

El escalado de la fermentación se realizó a partir la formulación óptima para la obtención de kefirán establecida a escala de laboratorio como se observa en la tabla 9, desde un volumen de caldo de cultivo de 0.2 L hasta un volumen de 30 L.

Tabla 9

Formulación para fermentación a escala de laboratorio

Componente	%	%Brix
Suero de leche	46	7.2
Sales	9.6	1.2
Sacarosa 88%	13.2	74.4
Agua	27.6	0.0
Inóculo	3.6	
TOTAL	100	14

Formulación para fermentación a escala de 30 L

La formulación está constituida por una mezcla del 46% de lactosuero, sacarosa al 88% (m/v), solución de sales a 10X conformada por fosfato monobásico de potasio K_2HPO_4 al 1% m/v, sulfato de magnesio $MgSO_4$ al 5% m/v y sulfato de amonio $(NH_4)_2SO_4$ al 1% m/v. Con la finalidad de que cada fermentación se desarrolle bajo condiciones similares, el valor de los grados Brix de la solución madre debe ser 14 (Carrera, 2019).

$$°Brix = \frac{m1 \cdot Brix1 + m2 \cdot Brix2 + m3 \cdot Brix3 + m4 \cdot Brix4}{m1 + m2 + m3 + m4}$$

Masa total

$$m_T = \Sigma m_i = m1 + m2 + m3 + m4$$

Masa total con inóculo

$$mT + mI = mT'$$

Porcentaje de inóculo

$$\frac{mI}{mT'} = 3.7\%$$

Tabla 10

Nomenclatura de formulación

	Nomenclatura	Valores
m1	masa Suero	46 %
m2	masa sol. 10K	10 %
m3	masa sol. 88% sacarosa	
m4	masa agua destilada	
inóculo	gránulos de kéfir	3.70 %
mT	masa total	30 kg

Tabla 11

Formulación para fermentación a escala de 30L

	Masas (fermentación)	Volumen (l)
masa Suero	13.8 kg	14.4419
masa sol. 10K	3 kg	3
masa sol. 88% sacarosa	4.8409 kg	4.8409
masa agua destilada	8.3591 kg	8.3591
inóculo	1.15265 kg	
masa total	30 kg	30.64186047

Condiciones para la Inactivación Térmica de la Mezcla. La inactivación térmica se realizó con el fin de inactivar enzimas que afectarían al proceso de obtención de kefirán.

Tabla 12

Condiciones óptimas de Inactivación térmica

Variables	Valores
Temperatura (°C)	65
Tiempo (min)	15

3.3.3. Evaluar la Concentración de Kefirán Obtenido del Proceso a Escala De 30L.

Para determinar la concentración de kefirán durante su proceso de obtención, se realizó una curva de calibración utilizando distintas concentraciones de glucosa.

Se tomó 6 ml de alcohol técnico a -20°C y 4 ml de lactosuero fermentado. Esta muestra fue llevada a centrifugación a (Sorvall ST 16 Centrifuge) a 4°C por 20 min a 4000 xg. Posteriormente se separó el sobrenadante y el precipitado se lavó dos veces con agua destilada bajo las mismas condiciones para eliminar residuos.

Se mezclaron los sobrenadantes de las dos centrifugaciones para realizar la técnica analítica del fenol-ácido sulfúrico; 1ml de muestra, 1ml de fenol y 3ml de ácido sulfúrico. La absorbancia se determinó a una longitud de onda de 485 nm usando un espectrofotómetro UV/Visible (6705 UV/vis Spectrophotometer).

3.3.5. Analizar los grupos funcionales presentes en el kefirán obtenido, mediante Espectroscopía de infrarrojos por transformada de Fourier.

Para identificar los grupos funcionales presentes en la estructura del kefirán, se realizó un análisis FTIR y se comparó los resultados obtenidos por otros investigadores, llegando a determinar si el producto obtenido se trata de kefirán.

“Una de las técnicas de toma de huellas dactilares más empleadas para caracterizar los ingredientes alimentarios y detectar adulterantes es la espectroscopia infrarroja de transformada de Fourier (FTIR), esta técnica es rápida, no destructiva y se considera como un método analítico verde” (Daza & Parra, 2020)

La luz infrarroja que emite el espectrofotómetro pasa a través de la muestra, la cual absorbe algunas longitudes de ondas, mientras que las demás llegan al detector donde se aplica la transformada de Fourier, el espectro obtenido permite identificar los grupos funcionales presentes en la muestra y su ubicación en las respectivas longitudes de onda (Britos, 2013).

Tabla 13

Asignación de bandas o picos FTIR

Número de onda (cm ⁻¹)	Asignación
	<i>Alcohol y fenoles</i>
3600	Estiramiento O-H del alcohol
3550-3500	Estiramiento C-O
1300-1000	
	<i>Éteres</i>
1100	Estiramiento C-O-C
	<i>Aldehídos y cetonas</i>
2900-2700	Estiramiento C-H de aldehído
1740-1720	Estiramiento C=O de aldehído alifático
1730-1700	Estiramiento C=O de la cetona alifática
1720-1680	Estiramiento C=O del aldehído aromático
1700-1680	Estiramiento C=O de la cetona aromática

	<i>Éteres</i>
1750-1730	Estiramiento C=O alifático
1730-1705	Estiramiento C=O aromático
1310-1250	Estiramiento C-O aromático
1300-1100	Estiramiento C-O alifático
	<i>Ácidos carboxílicos</i>
3300-2500	Estiramiento O-H
1700	Estiramiento C=O
1430	Flexión C-O-H en el plano
1240	Estiramiento C-O
930	Flexión C-O-H fuera del plano
	<i>Anhídridos</i>
1840-1800	Estiramiento C=O
1780-1740	Estiramiento C=O
1300-1100	Estiramiento C-O

Fuente: (Mondragón, 2017)

Capítulo IV

Resultados y Discusión

4.1. Caracterización Físico Química del Suero de Queso Fresco

Se determinó que el suero de queso fresco utilizado para la obtención de kefirán, cumplió con los parámetros establecidos en la norma NTE INEN 2594:2011.

Tabla 14

Caracterización fisicoquímica del lactosuero dulce

Grasa (%)	0.2
Sólidos totales (%)	8.15
Densidad (g/cm ³)	1.026
Lactosa (%)	4.68
Proteína (%)	2.94
Acidez titulable (%)	0.1
pH	6.4
Temperatura	4°C

Nota. FLORALP S.A. (2021)

El resultado obtenido en cuanto al porcentaje de grasa del suero de queso fresco (suero dulce) fue de 0.2%, valor que se encuentra dentro de los parámetros especificados en la norma NTE INEN 2594:2011 (0.3%), siendo similar a lo que mencionan Alava et al. (2014), para el suero dulce de quesería que van desde 0.1 - 0.5%.

Se estableció el valor de pH 6.4, cumpliendo con el rango de 6.8 a 6.4 especificado en la norma NTE INEN 2594:2011. El resultado es cercano al valor reportado por Montesdeoca y Chávez (2020) de 6.66 y Alava et al. (2014) de 6.52.

Se obtuvo un 0.1% de ácido láctico, valor que se encuentra dentro de lo establecido por la norma NTE INEN 2954:2011 en el cual se especifica un porcentaje de 0.16%. Cabe recalcar la importancia del porcentaje de ácido láctico presente en el lactosuero utilizado (suero dulce) ya que esta influye en el proceso de fermentación tal como mencionan Montesdeoca y Chávez (2020) Si se van a utilizar cultivos microbiológicos para la fermentación, la acidez inhabilita el crecimiento de los microorganismos y con ello las características fisicoquímicas y microbiológicas del producto a procesar.

El contenido de lactosa tuvo como resultado 4.68% cumpliendo la norma INEN NTE 2954:2011, en la cual se indica un porcentaje máximo de 5 para el lactosuero dulce. Resultados cercanos a los obtenidos por Montesdeoca y Chávez (2020) de 3.71% y superior al porcentaje de lactosa reportado por Alava et al. (2014) de 4.648%.

El porcentaje de sólidos totales fue de 8.15%, siendo superior al valor reportado por Montesdeoca y Chávez (2020) de 5.85%. Según Alava et al. (2014) el contenido de sólidos totales puede variar dependiendo del contenido de proteína, lactosa, sales minerales que tenga el suero analizado y puede estar sujeto también, al tipo de proceso utilizado en la elaboración del queso; en donde la materia seca del suero consigue quedarse en la masa de cuajada obtenida.

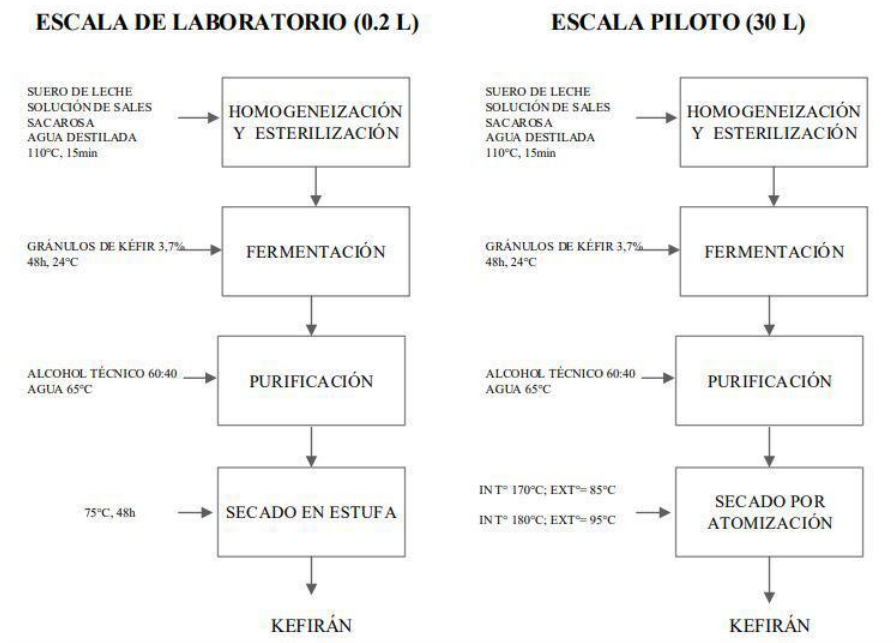
En cuanto a la proteína, se obtuvo 2.94%, resultando superior al valor mínimo. de 0.8% especificado en la norma NTE INEN 2954:2011. Asimismo, fue superior a lo reportado por Montesdeoca y Chávez (2020) de 0.94%; y a lo determinado por Alava et al. (2014), quienes obtuvieron contenidos de proteína entre 0.85% - 1.25%.

4.2. Escalamiento del Proceso de Laboratorio de 0.2 L a 30 L para la Obtención de Kefirán.

En la figura 6 se presenta la descripción del proceso de obtención de kefirán a escala piloto y a escala de laboratorio. Como se puede observar, en ambas escalas existe similitud en los parámetros de temperatura y tiempo de las etapas *up-stream* y *down-stream*. Sin embargo, existe diferencias en cuanto a los equipos utilizados debido a su volumen como por ejemplo en la fermentación como describe Carrera (2019) la preparación de 200 ml de caldo de cultivo e inoculación de 3.7 g de gránulos de kéfir se realizó en un matraz Erlenmeyer con ayuda de un agitador termostático para la incubación; mientras que para la fermentación a escala piloto, en base al mejor tratamiento obtenido en laboratorio se preparó 30 L de caldo de cultivo con el inóculo, en un fermentador con agitador de paletas planas de capacidad de 80 L.

Figura 7

Comparación del proceso de obtención de kefirán a escala de laboratorio y escala piloto



La producción de kefirán se llevó a cabo en 5 repeticiones de acuerdo con la formulación establecida para escala de 30 L. Cada etapa fue desarrollada en equipos semi industriales de los laboratorios de Bioprocesos y Unidades Edu-productivas con el criterio empírico en cuanto al escalado.

4.2.1. Preparación del medio de cultivo

El medio de cultivo es aquel en donde se concentró el kefirán a partir del inóculo (gránulos kéfir). Esta fuente de alimentación para los gránulos de kéfir se desarrolló a partir de suero en un 46% el cual fue pasteurizado a 65°C por 30 min y centrifugado, posteriormente con sacarosa 88% y una solución de sales 10X.

La solución de sales 10X está conformada por H₂PO₄ al 1% (m/v), MgSO₄ al 5% (m/v) y (NH₄)₂SO₄ al 1% (m/v). En la tabla 15 se muestra la masa de sales calculada para la preparación de 3 kg (3 L) de esta solución.

Tabla 15

Solución de sales 10X

SALES	MASA (g)
1% Fosfato de potasio	30
5% Sulfato de magnesio	150
1% Sulfato de amonio	30

Nota. La mezcla conformada de sacarosa 88%, solución de sales 10X y suero de leche al 46%, fue pasteurizada a 90°C por 15 min y posteriormente llevada a temperatura ambiente.

4.2.2. Producción de Kefirán

Finalmente, el medio de cultivo contó con las siguientes características: una concentración media de 15.54 °Brix, pH 5.62 y 24°C. Posterior a la homogenización del medio de cultivo, se procedió a inocular 1153 g de gránulos de kéfir con base a la formulación descrita en la tabla 11. Para esta etapa se usó un Biorreactor de 80 L, con un agitador de paleta planas y control de temperatura y pH.

El proceso de incubación tuvo una duración de 48 h a 24°C en un medio anaerobio y lentamente agitado para que los gránulos de kéfir se distribuyan en toda el área del medio de cultivo.

Tabla 16

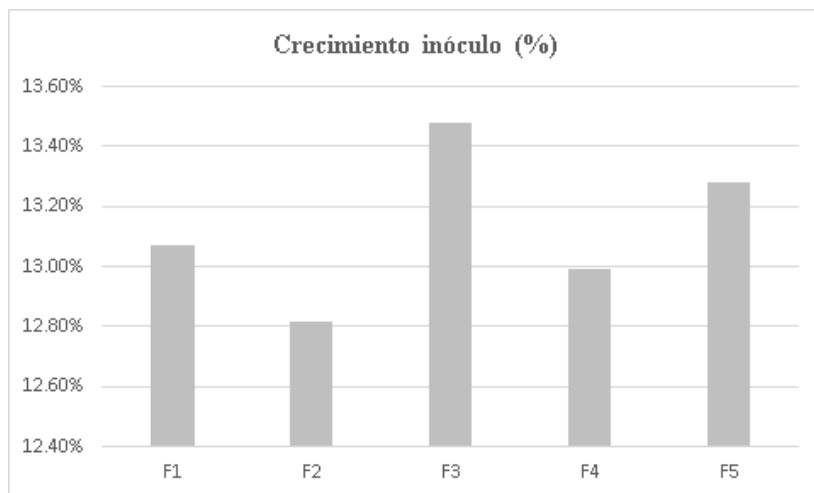
Crecimiento del inóculo (gránulos de kéfir) a las 48h de fermentación

Fermentación	Peso inicial (g)	Fermentación 48h (g)	Crecimiento inóculo (%)
F1	1153	1303.7	13.07
F2	1153	1300.8	12.81
F3	1153	1308.4	13.47
F4	1153	1302.8	12.99
F5	1153	1306.1	13.27
	Promedio	1304.36	13.12

La tabla 16 muestra los resultados después de 48 h de la etapa de fermentación, en promedio el crecimiento del inóculo fue de 13.12%. Similar a lo mencionado por García y Hernández (2015), la biomasa de los gránulos de kéfir aumenta lentamente después de 24 horas, alrededor de 5-7% de su biomasa.

Figura 8

Porcentaje de crecimiento del inóculo durante las fermentaciones



4.2.3. Etapa de Purificación

Después de una incubación de 48 h se filtraron los gránulos de kéfir del medio de cultivo y este último fue llevado a 65°C por 15 min para así eliminar cualquier traza de microorganismos que pudieran alterar el producto final. Para la extracción de kefirán se desarrolló una precipitación alcohólica en la cual se utilizó alcohol técnico en una relación 40:60, esto fue llevado a 4°C por 24 h.

Se empleó una descremadora de discos (modelo elecrem 3) para la separación del sobrenadante y el precipitado. Posteriormente se extrajo el precipitado (kefirán) presente en los discos de la descremadora y se diluyó en agua destilada a 65°C. La disolución se llevó nuevamente a centrifugación. Este proceso se repitió 3 veces para cada lote con la finalidad de eliminar trazas de alcohol y sales del medio utilizado para la fermentación.

Tabla 17

Kefirán obtenido de cada repetición posterior a la precipitación y lavados

Fermentación	Precipitado(g)	Lavado III (g)	Rendimiento
F1	893.2	442.5	49.5%
F2	963	539.8	56.1%
F3	911.3	460.3	50.5%
F4	933.2	413.1	44.3%
F5	953.6	473	49.6%

En la tabla 18, se muestra los gramos de kefirán obtenidos por litro de medio de cultivo en cada una de las repeticiones a escala piloto y de laboratorio. Se puede observar que se obtuvo mayor cantidad de Kefirán a escala laboratorio.

Tabla 18

Comparación del rendimiento de kefirán obtenido a escala piloto y de laboratorio

Escala de Laboratorio		Escala Piloto	
Exp.	Kefirán (g/L)	Exp.	Kefirán (g/L)
1	5.28	1	0.90
2	5.2	2	3.05
3	5.05	3	1.97
		4	3.23
Prom.	5.18±0.40		2.41 ± 0.97

Nota. Elaborado por autores (2021)

4.2.4. Obtención de kefirán en polvo por atomización

El kefirán lavado fue diluido en agua destilada en una relación de 1:2 con la finalidad de acondicionarlo para el uso del *spray-dryer* y evitar incrustaciones en el equipo. El producto en líquido es ingresado en una cámara de secado por un sistema de dispersión de gotas sobre las cuales se sopla aire caliente, eliminando la humedad unida a las partículas por evaporación permitiendo obtener el producto en polvo. Las temperaturas se configuraron teniendo en cuenta que el kefirán no es un producto termolábil por lo cual no se vería alterado por el calor en el proceso de secado.

Tabla 19

Condiciones para el secado por spray dryer

Fermentación	Temp. Entrada	Temp. Salida	Flujo Alimentación	Presión (Bar)	Humedad (%)
F1	170	85	12	4	12.83
F2	170	85	12	4	12.96
F3	170	85	12	4	9.58
F4	180	95	12	4	9.49
F5	180	95	12	4	9.47

4.2.4.1. Medición de humedad del kefirán en polvo

La medición del porcentaje de humedad de kefirán obtenido, se realizó en una balanza infrarroja del laboratorio de análisis de las Unidades Edu Productivas.

Tabla 20*% de humedad kefirán en polvo*

Fermentación	Humedad
F1	12.83%
F2	12.96%
F3	9.58%
F4	9.49%
F5	9.47%

4.3. Evaluar la concentración de kefirán obtenido a escala de 30 L

Para la determinación de carbohidratos totales presentes en el kefirán, se realizó una curva patrón de glucosa mediante el método de Dubois et al. (1956), a través de espectrofotometría a una longitud de onda de 480 nm y con diferentes concentraciones a partir de un patrón de glucosa de 1 mg/ml.

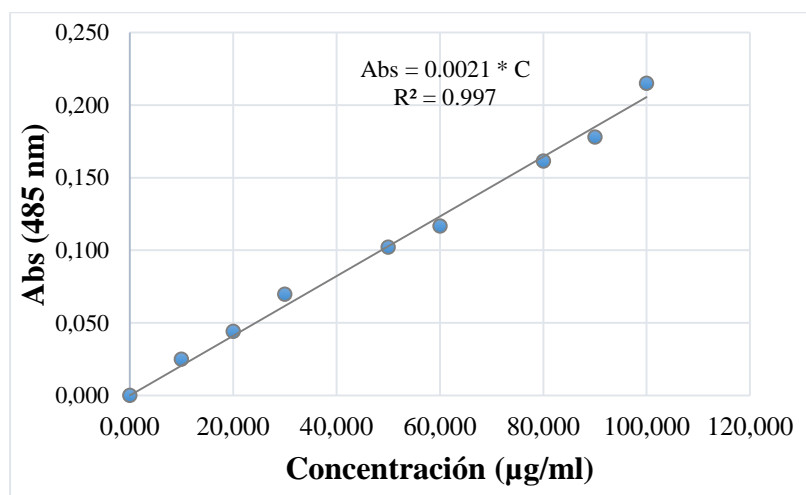
Tabla 21*Concentraciones de glucosa ($\mu\text{g/ml}$).*

Concentración ($\mu\text{g Glu/ml}$)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Abs Promedio
10	0.027	0.025	0.027	0.026 ± 0.001
20	0.041	0.048	0.043	0.044 ± 0.004
30	0.073	0.075	0.077	0.075 ± 0.002
50	0.099	0.103	0.104	0.102 ± 0.003
60	0.122	0.110	0.118	0.117 ± 0.006
80	0.155	0.174	0.155	0.161 ± 0.011
90	0.173	0.191	0.170	0.178 ± 0.011
100	0.216	0.216	0.213	0.215 ± 0.002

En la figura 9 se muestra la relación lineal que existe entre la concentración de glucosa (μm Glu/ml) y la absorbancia dentro de los valores establecidos para el análisis. Mediante la ecuación $\text{Abs} = 0.0021 \cdot C$ ($\mu\text{g}/\text{ml}$) se calculó la concentración de kefirán obtenida en cada fermentación.

Figura 9

Curva de calibración de glucosa para la concentración de kefirán



Nota. El gráfico representa la curva de calibración de glucosa para la concentración de kefirán, con un coeficiente de regresión $R^2 = 0,9914$ lo cual indica que existe un ajuste cuadrático bueno.

Como resultado de la aplicación del análisis fenol- ácido sulfúrico se obtuvo una concentración promedio de kefirán de 63.03 ± 2.861 mg Glu/ml, la cual es mayor al valor obtenido en la investigación de Sabokbar et al. (2015) cuya concentración máxima fue de 60.04 ± 1.13 mg Glu/ml.

Tabla 22*Concentraciones de kefirán (mg Glu/ml).*

Fermentación	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Abs promedio	Concentración de kefirán mg Glu/ml
F1	0.181	0.183	0.185	0.183	67.13 ± 0.002
F2	0.173	0.176	0.179	0.176	64.50 ± 0.003
F3	0.177	0.185	0.181	0.181	66.38 ± 0.004
F4	0.189	0.190	0.192	0.190	69.88 ± 0.002
F5	0.169	0.173	0.168	0.170	62.25 ± 0.003
				Promedio	63.03 ± 2.861

Nota. Elaborado por autores (2021)

Comparando con los resultados de investigaciones a escala de laboratorio y en la elaboración de una bebida funcional a base de lactosuero y gránulos de kéfir en las cuales se obtuvo 177.5 mg Glu/ml y 199.4 mg Glu/ml respectivamente. Se puede evidenciar que en el bioproceso a escala piloto existió una menor concentración de kefirán debido al manejo del experimento. Tomando en cuenta uno de los parámetros críticos del escalado, como es el tiempo de reacción en las dos etapas del bioproceso; Bolívar (2007) menciona que “Los tiempos característicos que reflejan la rapidez con que se efectúan los diversos subprocesos físicos, tienden a aumentar durante el escalado y en ocasiones perjudican etapas sensibles del proceso”.

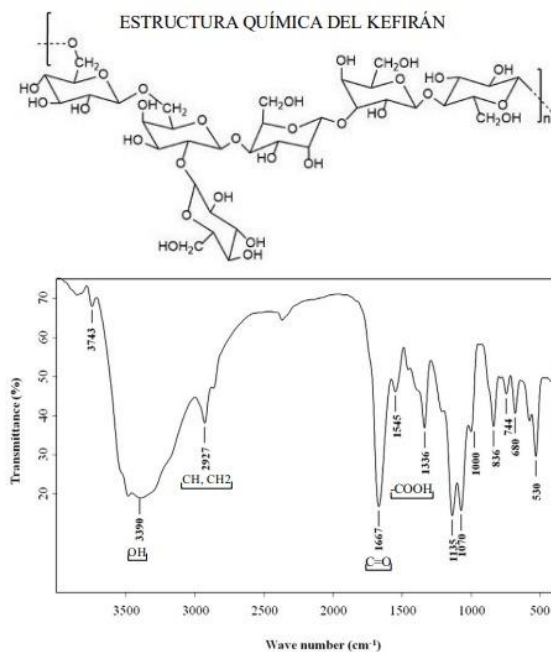
4.4. Analizar los grupos funcionales presentes en el kefirán obtenido, mediante Espectroscopia de infrarrojos por transformada de Fourier.

Para identificar los grupos funcionales presentes en la estructura del kefirán, se realizó un análisis FTIR y se comparó con los resultados obtenidos por otros investigadores, llegando a determinar si el producto obtenido se trata de Kefirán.

El kefirán descrito por Fujisawa (1998) es una matriz gelatinosa rica en polisacáridos que consta de cantidades iguales de galactosa y glucosa, está originada del cúmulo de granos de kéfir, mismo que es un producto lácteo líquido, fermentado por la acción de hongos y bacterias específicas (Machado et al., 2013). Las muestras de kefirán presentan trazas de alcohol en su composición debido al proceso de separación que se llevó a cabo utilizando alcohol técnico a 96°.

Figura 10

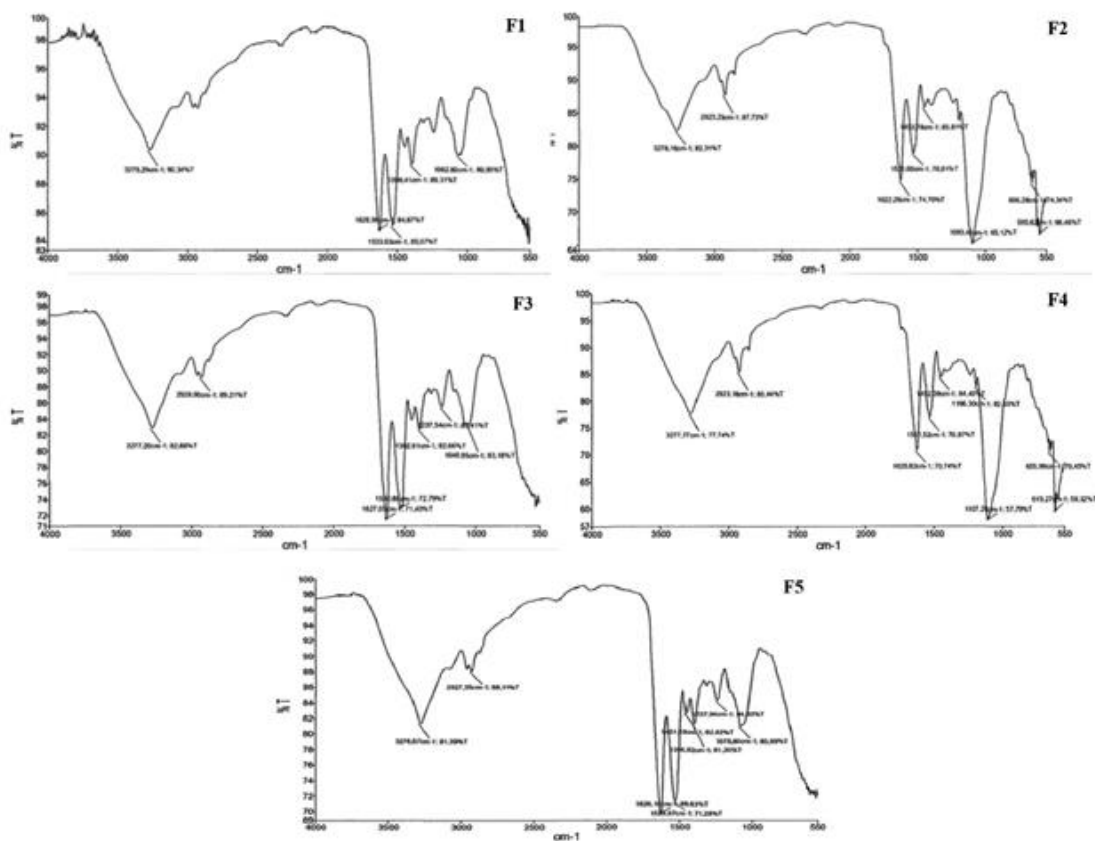
Espectro FTIR de exopolisacárido de kéfir.



Nota. Adaptado de *FTIR spectrum of the Tibetan kefir exopolysaccharide*, Zhina et.al 2016, (p.18).

Figura 11

Espectro FTIR de muestras de kefirán a escala piloto.



En el presente gráfico se observa las muestras de kefirán analizadas con la técnica de Espectroscopia Infrarroja por transformada de Fourier, resultado de la interacción entre la radiación infrarroja y la muestra analizada, donde el eje de las “x” está representado por los valores del intervalo de longitud de onda, en número de onda (cm⁻¹). Mientras que el eje de las “y”, está representado por los valores de la intensidad transmisión o transmitancia en este caso particular (Mondragón, 2017).

El análisis del espectro de la quinta muestra indica una similitud enorme con los espectros de las muestras uno y tres, dejando en evidencia en la sección de la izquierda dos picos

en los números de onda 3276.57 cm^{-1} y 2927.35 cm^{-1} . De igual forma que en los espectros de las tres muestras, se puede ver dos picos que reflejan una banda ancha en el rango de $(3200-3500)\text{ cm}^{-1}$, debido a vibraciones de estiramiento en los enlaces (O-H, C-H). Se acredita con esto la existencia de compuestos como azúcares (carbohidratos), proteínas, alcoholes, y aldehídos.

Siguiendo con el espectro en este sector entre $(1650-600)\text{ cm}^{-1}$, se encuentra otro pico en 1396.62 cm^{-1} , lo cual coteja con lo indicado en Radhouani et al., (2018), donde el pico ubicado alrededor de 1410 cm^{-1} proviene de una combinación de flexión del enlace O-H del grupo C-OH, y flexión de la unión (C-H) de los alquenos. Al igual que en el estudio de Mondragón (2020), donde la banda alrededor de 1400 cm^{-1} se atribuye a los grupos CH_2 - y OH. Todo lo cual respalda la presencia de hidrocarburos.

Por otro lado, se observa en el sector de la derecha o de la huella dactilar el primer pico ubicado en 1075.80 cm^{-1} , en este caso describe Mondragón (2020) la presencia de carbohidratos como la glucosa en 1073 cm^{-1} con vibraciones de estiramiento en los grupos (C-O y C-C) y flexión en (C-O-H). Posteriormente se observa otro pico en 1237.94 cm^{-1} , esto se explica como modos vibracionales de extensión y flexión correspondientes al grupo de cetonas (C=O-C).

Una diferencia del espectro con la tercera muestra, es un pico ubicado en 1451.03 cm^{-1} , el cual explicado por Radhouani et al., (2018), indica que las bandas alrededor de 1400 cm^{-1} se atribuyen a los grupos CH_2 y OH, específicamente que los picos en 1443 cm^{-1} se deben a la flexión en (C-H y O-H), indicando azúcares y proteínas.

Los espectros de la segunda y cuarta muestra son similares, casi todos sus picos se encuentran en los mismos números de onda, lo cual se puede apreciar tanto en el lado de los

grupos funcionales, como en el de la huella dactilar. A la izquierda en la primera sección se observa ambos picos a 3277.77 cm^{-1} , lo cual indica vibraciones de estiramiento de enlaces de (O-H y C-H), y a 2923.18 cm^{-1} . según el estudio de Djobo (2014), que describe el espectro de la leche en polvo, la banda ubicada entre $(2700-2900)\text{ cm}^{-1}$, está asociada con la vibración de estiramiento de C – H, y se asigna al grupo de los aldehídos. Con el caso análogo de la leche en polvo por su composición, estado y origen de una matriz láctea, se puede inferir que el espectro muestra la existencia de compuestos como alcoholes y aldehídos. Además de carbohidratos y proteínas.

Se observa de igual forma en ambas muestras que los picos ubicados en el espectro entre 615.27 cm^{-1} y en 655.99 cm^{-1} , indica presencia de azúcares y carbohidratos, también las bandas observadas en esta misma región se relacionan con modos vibracionales de flexión (OH), de compuestos fenólicos.

El pico ubicado a 1107.26 cm^{-1} , da origen a vibraciones de estiramiento del enlace (C-OH) demostrando la presencia de alcoholes primarios y carbohidratos como la fructosa al ubicarse en el rango de $(1025-1100)\text{ cm}^{-1}$. Para el pico que sigue ubicado en 1452.39 cm^{-1} , el estudio de Radhouani et al. (2018), explica que las bandas alrededor de 1400 cm^{-1} se atribuyen a los grupos CH_2 y OH, adicional expone que los picos en 1443 cm^{-1} se deben a la flexión en (C-H y O-H), indicando azúcares y proteínas.

Para los picos en 1580.52 cm^{-1} y 1625.82 cm^{-1} , los estudios mencionados confirman la presencia de aminas tipo 1 y 2, relacionados con un estiramiento en el enlace (C-N) y un balanceo en el enlace (N-H). La única diferencia en el espectro de la muestra F4, con respecto al análisis de F2, es el pico ubicado en el número de onda de 1196.30 cm^{-1} ; según Mondragón

(2020), los picos ubicados entre el rango de (1100-1200) cm^{-1} están relacionados con un estiramiento del enlace (C-O). Se identifican también modos vibracionales de extensión y flexión correspondientes al grupo de las cetonas (Domínguez et al., 2019).

Después de analizar los picos de los espectros de IR correspondientes a todas las muestras, se puede encontrar una gran cantidad de compuestos relacionados con los picos en los diferentes números de onda como alcoholes poliméricos, azúcares (carbohidratos), proteínas y aldehídos. Debido a la utilización de sulfato de amonio en la fermentación; se puede observar en los espectros de las muestras trazas de amidas y aminos tipo 1 y 2, lo cual indica que estos compuestos no fueron eliminados en su totalidad durante la etapa de purificación.

En esta investigación se correlaciona y corrobora la mayoría de los compuestos presentes en las muestras en polvo de kefirán aisladas de la matriz de los granos de kéfir, comparando con distintos estudios de muestras semejantes como en el estudio de Chen et.al (2016) acerca de la caracterización de exopolisacáridos obtenidos de Kéfir tibetano, en el cual el espectro presenta un pico en 3390 cm^{-1} , atribuido al grupo hidroxilo y un pico cerca de 2927 cm^{-1} asociados con el estiramiento del enlace C-H y CH_2 alifático, similares a los picos obtenidos en los espectros de todas las muestras.

De la misma manera, en la investigación de Radhouani et al. (2018) titulada “Biopolímero de Kefirán: Evaluación de sus propiedades fisicoquímicas y biológicas”, se reportan componentes del biopolímero de kefirán, como azúcares, hidrocarburos (alcanos), alcoholes y proteínas, mismas que fueron encontradas en el análisis de la Espectroscopia Infrarroja, de las cinco muestras en polvo de kefirán.

Capítulo V

Conclusiones y Recomendaciones

5.1. Conclusiones

- Mediante el análisis físico – químico del lactosuero obtenido de la empresa FLORALP S.A. se determinó que cumplió con los parámetros establecidos en la norma ecuatoriana INEN 2594: 2011, para su utilización como materia prima en el proceso de obtención de kefirán.
- Por el método fenol sulfúrico se logró elaborar una curva de calibración con la cual se estimó la concentración promedio de kefirán de 63.03 ± 2.861 mg Glu / ml, valor que se encuentra dentro de lo reportado en otras investigaciones.
- Utilizando un criterio empírico se pudo desarrollar un proceso de obtención de Kefirán a escala piloto, aplicando los parámetros óptimos de escala de laboratorio. Con lo cual se obtuvo en promedio un rendimiento de 2.41 ± 0.97 g kefirán / L.
- En los análisis de Espectroscopia FTIR, los espectros obtenidos de las 5 muestras son similares al espectro de kefirán comercial, ya que presentan los mismos grupos funcionales; por lo tanto, se sugiere que el producto obtenido se trata de kefirán.

5.2. Recomendaciones

- Se sugiere establecer los parámetros óptimos para el secado de kefirán por el método de atomización.
- Es necesario realizar experimentos para purificar el alcohol técnico del proceso de precipitación y poder reutilizarlo en varias repeticiones.
- Se sugiere investigar otros métodos de separación para sustituir a la centrifugación que permitan disminuir las pérdidas de kefirán durante la etapa de purificación.
- Es necesario estudiar el comportamiento de kefirán en la creación de nuevos productos.

BIBLIOGRAFÍA

- Alava, C., Gómez, M., & Maya, J. A. (2014).
Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales Volumen 1, Enero-
Diciembre 2014, Caracterización fisicoquímica del suero dulce obtenido de la
producción de queso casero en el municipio de Pasto. *Revista Colombiana de
Investigaciones Agroindustriales*, 24-31.
- Bolivar, F. (2007). En *Fundamentos y casos exitosos de la biotecnología moderna* (pág. 284).
Mexico: El Colegio Nacional .
- Britos, C. N. (2013). *Bioprocesos con microorganismos inmovilizados en polímeros
macroporosos*. [Tesis Doctoral, Universidad Nacional de Quilmes]. RIDAA – UNQ.
<https://ridaa.unq.edu.ar/handle/20.500.11807/789>
- Carrera, L. D. (2019). *Obtención de Kefirán a partir de suero y granulos de kéfir*. [Tesis de
grado, Universidad Técnica del Norte]. Repositorio Digital Universidad Técnica del
Norte. <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/8961>
- Chen, G., Eschbach, F., Weeks, M., Gras, S., & Kentish, S. (2016). Removal of lactic acid
from acid whey using electrodialysis. *Separation and purification Technology*, (158).
<https://doi.org/10.1016/j.seppur.2015.12.016>
- Chen, Z., Shi, J., Yang, X., Nan, B., Liu, Y., & Wang, Z. (2016). Chemical and physical
characteristics and antioxidant activities of the exopolysaccharide produced by Tibetan
kefir grains during milk fermentation. *International Dairy Journal*, 43(2015)

- Dailin, D., Elsayed, E., Othman, N., Malek, R., Phin, H., Aziz, R., & Waadan, M. (2016). Bioprocess development for kefir production by *Lactobacillus kefiranofaciens* in semi industrial scale bioreactor. *Saudi Journal of Biological Sciences, Volume (23)*, 495-502.
<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.06.003>
- Daza, S., & Parra, G. (2020). Espectroscopia de infrarrojo con transformada de fourier (ft-ir) para análisis de muestras de harina de trigo, fécula de maíz y almidón de yuca. *@LIMENTECH CIENCIA Y TECNOLOGÍA ALIMENTARIA*, 19(1), 5-16.
<http://dx.doi.org/10.24054/16927125.v1.n1.2021.4477>
- Diana Olivo, M. G., & López, D. (2017). Actividad biológica y potencial terapéutico de los probióticos y el kefiran del grano de kéfir. *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 4(5), 10-56.
https://www.researchgate.net/publication/321254637_Actividad_biologica_y_potencia_l_terapeutico_de_los_probioticos_y_el_kefiran_del_grano_de_kefir
- Djubo, O. (2014). Efectos de los tratamientos térmicos sobre las proteínas de la leche. [Tesis masterado, Universidad de Oviedo]. Repositorio Institucional Universidad de Oviedo.
<https://digibuo.uniovi.es/dspace/handle/10651/28468>
- Domínguez, L. A., Lagunes, L. M., Barajas, J., Olán, M. d., García, R., & García, P. (2019). Caracterización vibracional de grupos funcionales en granos de cacao durante el tostado usando espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier. *Acta Univeritaria*, 29, 1-17.
<https://doi.org/10.15174/au.2019.2172>

- Dubois, M., Gilles, K., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry*, 350-355.
- Fujisawa, T., Adachli, S., Toba, T., Arihara, K., & Mitsuoka, T. (1988). *Lactobacillus kefiranofaciens* sp. nov. Isolated from Kefir Grains. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 18(1), 12-14.
- Gagliarini, N., Diosma, G., Garrote, G., & Abraham, A. P. (2018). Whey protein kefiran films as driver of probiotics to the gut. *LWT- Food Science and Technology*, 105, 321-328.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.02.023>
- Garcia, J., & Hernandez, R. (2015). Fermentacion de leche descremada uht a partir de granulos de kefir. [Tesis de grado, Universidad del Salvador]. Repositorio Institucional UES. <https://ri.ues.edu.sv/id/eprint/7662/>
- Gonzalez, R. (2018). Principios de Ingeniería de los Bioprocesos . *Introducción a los Bioprocesos*.
https://www.academia.edu/36813528/Introducci%C3%B3n_a_los_Bioprosesos_act_2018_
- Guerra, Á. V., Castro, L. M., & Tovar, A. L. (2013). Aprovechamiento del lactosuero como fuente de energía nutricional para minimizar el problema de contaminación ambiental . *Revista de Investigación Agraria y Ambiental* ,4(2), 55-65.
<https://doi.org/10.22490/21456453.992>

- Guzel-Seydim, Z., Seydim, A. C., Karaca, Y., & Gün, İ. (2018). Production and quality of kefir cultured butter. *mljekarstvo*,68(1), 64-72.
<https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2018.0108>
- Hamet, M., Londero, A., Medrano, M., Vercammen, K. H., & Vandamme, P. (29 de 06 de 2013). Application of culture-dependent and culture-independent methods for the identification of *Lactobacillus kefirianofaciens* in microbial consortia present in kefir grains. *Food Microbiology*,36(2), 327-334.
<https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.06.022>
- Harmsen, J. (2013). *Industrial Process Scale-up. A Practical Guide from Idea to Commercial*. Elsevier.
- Hidalgo, C., López, P., Gueimonde, M., Suárez, A., Margolles, A., & Ruas, P. (2012). Immune Modulation Capability of Exopolysaccharides Synthesised by Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 4, 227-237.
- Lievore, P., Simões, D., Silva, K., Drunkler, N., Barana, A., Nogueira, A., & Demiate, I. (2015). Chemical characterisation and application of acid whey in fermented milk [Caracterización química y aplicación de suero ácido en leche fermentada]. *Journal of Food Science and Technology*, 52(4), 2083-2092.
- Machado, A., Lemos, M., Silva, R., Soares, A., Trajano, J., & Flosi, V. (2013). Microbiological, technological and therapeutic properties of kefir: a natural probiotic beverage. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(2),341-349.
- Magalhães, K., Pereira, M., Nicolau, A., Dragone, G., Domingues, L., & Teixeira, A. (2010). Production of fermented cheese whey-based beverage using kefir grains as starter

- culture: Evaluation of morphological and microbial variations. *Bioresource Technology*, 101(22), 8843-8850.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.083>
- Molero, M., Castro, G. y Briñez, W. (2017). Evaluacion fisico quimica del lactosuero obtenido de la producción de queso blanco aplicando un metodo artesanal, *Revista Científica FCV Luz*, 27(3), 149-153.
- Mondragón Cortez, M. (2019). *Espectroscopia de infrarrojo para todos y 51 espectros de alimentos consumidos en México*. (1ª edición). CIATEJ. <https://ciatej.mx/>.
- Mondragón Cortez, M. (2020). Principios y aplicaciones de la espectroscopia de infrarrojo en el análisis de alimentos y bebidas. (1ª edición). CIATEJ. <https://ciatej.mx/>.
- Montesdeoca Párraga, R. R. y Piloso Chávez, K. (2020). Evaluación fisicoquímica del lactosuero obtenido del queso fresco pasteurizado producido en el taller de procesos lácteos en la Espam “MFL”, *Revista Ciencia y Tecnología El Higo*, 10(1), 2-10.
<https://doi.org/10.5377/elhigo.v10i1.9921>
- Motta Correa, Y.O. y Mosquera, W. (2015). Aprovechamiento del lactosuero y sus componentes como materia prima en la industria de alimentos. *Revista Alimentech. Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 13(1), 81-91.
- Paiva, I., Steinberg, R., Lula, I., Souza-Fagundes, E., de Oliveira Mendes, T., Valenzuela, M., Nicoli, J., Cantini, A. y Neumann, E. (2016). *Lactobacillus kefiranofaciens* and *Lactobacillus satsumensis* isolated from Brazilian kefir grains produce alpha-glucans that are potentially suitable for food applications. *LWT - Food Science and*

Technology, 72(10), 390-398.

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.05.010>

Muñoz Equihua, E. S. (2016). *Escalamiento del proceso de obtención de fructooligosacáridos a partir de jugo de caña mediante síntesis enzimática con células permeabilizadas de Candida apicola*. [Tesis de maestría, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C.]. Repositorio Institucional – CIATEJ.

Olivares Barrios, E. (2009). *Escalamiento de un Bioproceso para la producción de Taq polimerasa*. [Tesis de grado, Instituto Politécnico Nacional]. Repositorio Institucional – Instituto Politécnico Nacional.

Olivares Bañuelos, T. (2016). *Diseño y Escalamiento de Procesos Biotecnológicos*. Mexico: Universidad Autónoma de Baja California.

Olivo, D., Galván, M., López-Rodríguez, G., Suárez-Diéguez, T., González-Unzaga, M., Anaya-Cisneros, L. y López-Piña, D (2017). Actividad biológica y potencial terapéutico de los probióticos y el kefiran del grano de kéfir. *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 4(5), 49-56.

Pais Chanfrau, J., Acosta, L., Córdor, P., Nuñez, J. y Cuaran, J. (2018). Small-Scale Process for the Production of Kefiran through Culture Optimization by Use of Central Composite Design from Whey and Kefir Granules. *IntechOpen*, 1-19.
<http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.82257>

Parra Barrera, M. E. (2004). *Diseño y escalamiento de un reactor biológico para la producción de microorganismos probióticos en un medio de cultivo no lácteo*. [Tesis

de grado, Universidad de los Andes]. Séneca Repositorio institucional – Universidad de los Andes.

Pérez Urbano, F. J. (2016). *Escalado de una torre de absorción*. [Tesis de grado, Universidad de Sevilla]. Biblioteca de Ingeniería – Universidad de Sevilla.

Radhouani, H., Gonçalves, C., Maia, F., Oliveira, J. y Reis, R. L. (2018). Kefiran biopolymer: Evaluation of its physicochemical and biological properties. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 33(5), 461-478.

<https://doi.org/10.1177/0883911518793914>

Recasens Baxarías, F. J. (2018). *Procesos de separación de biotecnología industrial*. (1ª edición). Iniciativa Digital Politécnica UPC.

Rodríguez, J., Noriega, J., Lucero, A. y Tejeda, A. (2017). Avances en el estudio de la bioactividad multifuncional del kéfir. *Interciencia*, 42(6), 347-354.

Rodríguez, O. y Hanssen, H. (2007). Obtención de dextrano y fructosa, utilizando residuos agroindustriales con la cepa *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B512-F. *Revista EIA*, (7), 159-172.

Sabokbar, N., Moosavi-Nasab, M. y Khodaiyan, F. (2015). Preparation and characterization of an apple juice and whey based novel beverage fermented using kefir grains. *Food Science and Biotechnology*, 24(6), 2095-2104.

Shershenkov, B. y Suchkova, E. (2015). The Direct Microbial Synthesis of Complex Bioactive Compounds as Perspective Way of Milk Whey Utilization. *Energy Procedia*, (72),

317-321.

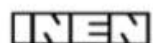
<https://doi.org/10.1016/j.egypro.2015.06.046>

Suksawang, S., Cheirsilp, B. y Yeesang, J (2016). Production of kefiran from molasses and spent yeast cells by *Lactobacillus kefiranofaciens* JCM 6985. *KKU Research Journal*, 21(6), 59-67.

Tejeda, A., Montesinos, R. M., y Guzman, R. (2011). *Bioseparaciones*.(2ª edición). México: Pearson Educación.

Anexos

Anexo 1. Norma INEN 2594:2011 Requisitos suero de leche líquido



INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN

Quito - Ecuador

NORMA TÉCNICA ECUATORIANA

NTE INEN 2594:2011

SUERO DE LECHE LÍQUIDO. REQUISITOS.

Primera Edición

FLUID WHEY. REQUIREMENTS.

First Edition

DESCRIPTORES: Tecnología de los alimentos, leche y productos lácteos, otros productos lácteos, suero de leche líquido, requisitos.
AL 03.01-448
CDU: 637.142
CIU: 3112
ICS: 67.100.99

Norma Técnica Ecuatoriana Voluntaria	SUERO DE LECHE LÍQUIDO. REQUISITOS.	NTE INEN 2594:2011 2011-08
<p style="text-align: center;">1. OBJETO</p> <p>1.1 Esta norma establece los requisitos que debe cumplir el suero de leche líquido, destinado a posterior procesamiento como materia prima o como ingrediente.</p> <p style="text-align: center;">2. ALCANCE</p> <p>2.1 Esta norma se aplica al suero de leche líquido, para uso en la industria alimenticia y otras como: higiene, cosméticos, farmacéutica. No se permite el uso, del suero de leche, en los productos lácteos en los que la norma pertinente lo considere como adulterante.</p> <p style="text-align: center;">3. DEFINICIONES</p> <p>3.1 Para los efectos de esta norma se adoptan las siguientes definiciones:</p> <p>3.1.1 Suero de leche. Es el producto lácteo líquido obtenido durante la elaboración del queso, la caseína o productos similares, mediante la separación de la cuajada, después de la coagulación de la leche pasteurizada y/o los productos derivados de la leche pasteurizada. La coagulación se obtiene mediante la acción de, principalmente, enzimas del tipo del cuajo.</p> <p>3.1.2 Suero de leche ácido. Es el producto lácteo líquido obtenido durante la elaboración del queso, la caseína o productos similares, mediante la separación de la cuajada después de la coagulación de la leche pasteurizada y/o los productos derivados de la leche pasteurizada. La coagulación se produce, principalmente, por acidificación química y/o bacteriana.</p> <p>3.1.3 Suero de leche dulce. Es el producto definido en 3.1.2, en el cual el contenido de lactosa es superior y la acidez es menor a la que presenta el suero de leche ácido.</p> <p>3.1.4 Suero de leche concentrado. Es el producto líquido obtenido por la remoción parcial de agua de los sueros, mientras permanecen todos los demás constituyentes en las mismas proporciones relativas.</p> <p style="text-align: center;">4. CLASIFICACIÓN</p> <p>4.1 Dependiendo de su acidez y del contenido de lactosa, el suero de leche líquido, se clasifica en:</p> <p>4.1.1 <i>Suero de leche ácido</i></p> <p>4.1.2 <i>Suero de leche dulce</i></p> <p style="text-align: center;">5. DISPOSICIONES ESPECÍFICAS</p> <p>5.1 El suero de leche líquido, destinado a posterior procesamiento debe cumplir con los requisitos establecidos en el Reglamento de Buenas Prácticas de Manufactura, y provenir de productos que hayan utilizado leche pasteurizada para su elaboración.</p> <p>5.2 No debe contener sustancias extrañas a la naturaleza del producto y que no sean propias del procesamiento del queso.</p> <p>5.3 Los límites máximos de plaguicidas no deben superar los establecidos en el Codex Alimentarius CAC/ MRL 1 en su última edición.</p> <p>5.4 Los límites máximos de residuos de medicamentos veterinarios no deben superar los establecidos en el Codex Alimentario CAC/MRL 2 en su última edición.</p> <p style="text-align: right;"><i>(Continúa)</i></p> <p>DESCRIPTORES: Tecnología de los alimentos, leche y productos lácteos, otros productos lácteos, suero de leche líquido, requisitos.</p>		

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN – Casilla 17-01-3999 – Baquerizo Moreno EB-29 y Almagro – Quito-Ecuador – Prohibida la reproducción

6. REQUISITOS

6.1 Requisitos físicos y químicos

6.1.1 El suero de leche líquido, ensayado de acuerdo con las normas correspondientes, debe cumplir con lo establecido en la tabla 1.

TABLA 1. Requisitos físico-químicos del suero de leche líquido

Requisitos	Suero de leche dulce		Suero de leche ácido		Método de ensayo
	Min.	Max.	Min.	Máx.	
Lactosa, % (m/m)	--	5,0	--	4,3	AOAC 984.15
Proteína láctea, % (m/m) ⁽¹⁾	0,8	--	0,8	--	NTE INEN 16
Grasa láctea, % (m/m)	--	0,3	--	0,3	NTE INEN 12
Ceniza, % (m/m)	--	0,7	--	0,7	NTE INEN 14
Acidez titulable, % (calculada como ácido láctico)	--	0,16	0,35	--	NTE INEN 13
pH	6,8	6,4	5,5	4,8	AOAC 973.41

⁽¹⁾ el contenido de proteína láctea es igual a 6,38 por el % nitrógeno total determinado

6.1.2 *Requisitos microbiológicos.* El suero de leche líquido ensayado de acuerdo con las normas correspondientes, debe cumplir con lo establecido en la tabla 2.

TABLA 2. Requisitos microbiológicos para el suero de leche líquido.

Requisito	n	m	M	c	Método de ensayo
Recuento de microorganismos aerobios mesófilos ufc/g	5	30 000	100 000	1	NTE INEN 1529-5
Recuento de <i>Escherichia coli</i> ufc/g	5	<10	-	0	NTE INEN 1529-8
<i>Staphylococcus aureus</i> ufc/g	5	<100	100	1	NTE INEN 1529-14
<i>Salmonella</i> /25g	5	ausencia	-	0	NTE INEN 1529-15
Detección de <i>Listeria monocytogenes</i> (25 g)	5	ausencia	-	0	ISO 11290-1

Donde:

n = Número de muestras a examinar.

m = índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad.

M = índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad.

c = Número de muestras permisibles con resultados entre m y M.

6.1.3 *Aditivos.* Se permite el uso de los aditivos enlistados en la NTE INEN 2074.

6.1.4 *Contaminantes.* El límite máximo no debe superar lo establecido en el Codex Alimentarius CODEX STAN 193-1995, en su última edición.

6.2 **Requisitos complementarios.** El suero de leche líquido debe mantener la cadena de frío en el almacenamiento, y distribución a una temperatura de $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y su transporte debe ser realizado en condiciones idóneas que garanticen el mantenimiento del producto.

7. INSPECCIÓN

7.1 **Muestreo.** El muestreo debe realizarse de acuerdo con lo establecido en la NTE INEN 4.

7.2 **Aceptación o rechazo.** Se acepta el lote si cumple con los requisitos establecidos en esta norma; caso contrario se rechaza.

7.2.1 El producto rechazado debe identificarse claramente para evitar el mal uso.

(Continúa)

APENDICE Z

Z.1 DOCUMENTOS NORMATIVOS A CONSULTAR

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 4	<i>Leche y productos lácteos. Muestreo</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 12	<i>Leche. Determinación del contenido de grasa.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 13	<i>Leche. Determinación de la acidez titulable.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 14	<i>Leche. Determinación de sólidos totales y cenizas.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 16	<i>Leche. Determinación de proteínas.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-5	<i>Control microbiológico de los alimentos. Determinación del número de microorganismos aerobios mesófilos REP.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-8	<i>Control microbiológico de los alimentos. Determinación de coliformes fecales y escherichia coli</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-14	<i>Control microbiológico de los alimentos. Staphylococcus aureus. Recuento en placa de siembra por extensión en superficie</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-15	<i>Control microbiológico de los alimentos. Salmonella. Método de detección</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2074	<i>Aditivos alimentarios permitidos para consumo humano. Listas positivas. Requisitos.</i>
CAC/MRL 1	<i>Lista de límites máximo para residuos de plaguicidas</i>
CAC/MRL 2 (rev. 2008)	<i>Lista de Límites Máximos para Residuos de Medicamentos Veterinarios Programa conjunto FAO/OMS</i>
CXS 193-195 (Enm. 2009)	<i>Norma general del Codex para los contaminantes y las toxinas presentes en los alimentos y piensos</i>
Reglamento de Buenas Prácticas de Manufactura para alimentos procesados. Decreto Ejecutivo 3253, Registro Oficial 696 de 4 de Noviembre del 2002.	
AOAC Official Method 984.15	<i>Lactose in milk. Enzymatic method. Final acción. 18 Edc.</i>
AOAC Official Method 973.41	<i>pH of water. 18 Edc.</i>
ISO 11290-1:1996	<i>Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection and enumeration of Listeria monocytogenes - Part 2: Enumeration method</i>

Z.2 BASES DE ESTUDIO

CFR Code of Federal Regulations Title 21, chapter I, subchapter B, part 184 Direct Food Substances Affirmed as Generally Recognized as Safe, subpart B, page 118, Sec. 184.1979 Whey.

U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Food and Drug Administration, GRADE "A" Pasteurized Milk Ordinance, 2009 Revision.

República de Colombia. Ministerio de la Protección Social. *Resolución No. 2997 del 29 de agosto del 2007. Modificado por Resolución 1031 de 2010 del 19 de marzo del 2010*

CODEX STAN 289-1995(Rev. 2003, Enm. 2006). NORMA DEL CODEX PARA SUEROS EN POLVO

INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

Documento: NTE INEN 2594	TÍTULO: SUERO DE LECHE LÍQUIDO. REQUISITOS.	Código: AL 03.01-448
ORIGINAL: Fecha de iniciación del estudio: 2010-12	REVISIÓN: Fecha de aprobación anterior por Consejo Directivo Oficialización con el Carácter de por Acuerdo Ministerial No. de publicado en el Registro Oficial No. de Fecha de iniciación del estudio:	
Fechas de consulta pública: de _____ a _____		

Subcomité Técnico: LECHE Y PRODUCTOS LÁCTEOS
Fecha de iniciación: 2011-01-20
Integrantes del Subcomité Técnico:

Fecha de aprobación: 2011-02-09

NOMBRES:

INSTITUCIÓN REPRESENTADA:

Dr. Rafael Vizcarra (Presidente)
Dra. Teresa Rodriguez

Dra. Indira Delgado
Dra. Mónica Sosa
Ing. Rocío Contero
Ing. Paola Simbaña
Tlga. Tatiana Gallegos

Dr. David Villegas
Sr. Rodrigo Gómez de la Torre
Dra. Katya Yépez
Dr. Galo Izurieta
Ing. Lourdes Reinoso
Ing. Daniel Tenorio
Dra. Mónica Quinatoa

Dr. Rodrigo Dueñas
Dra. Ma. Isabel Salazar
Ing. Jorge Chávez
Ing. Franklin Hernández
Ing. Fernando Párraga
Ing. Ángel Oleas
Dr. Marlon Revelo
Tlgo. Ernesto Toalombo
Dra. Ana María Hidalgo

Dr. Alexander Salazar
Dr. Antonio Camacho
Ing. César Guzmán
Ing. Juan Romero
Ing. Leonardo Baño
Dr. Alfonso Alvarez
Ing. Galo Sandoval
Ing. María E. Dávalos (Secretaria Técnico)

Centro de la industria láctea, CIL-ECUADOR
INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE,
Guayaquil
ALPINA ECUADOR S.A.
INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE, QUITO
UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
MINISTERIO DE SALUD – SISTEMA
ALIMENTOS
MIPRO
PRODUCTORES DE LECHE
NESTLÉ ECUADOR
PATEURIZADORA QUITO
SFG – MAGAP
AILACCEP
DIRECCIÓN PROVINCIAL DE SALUD DE
PICHINCHA
REYBANPAC
INDUSTRIAS LÁCTEAS TONI S.A.
MAGAP
UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE
PROLAC
PROLAC
PASTEURIZADORA QUITO
EL SALINERITO
LABORATORIO OSP – UNIVERSIDAD
CENTRAL
REYBANPAC- LACTEOS
ACA FOOD SAFETY
ASAMBLEA NACIONAL
LACTEOS SAN ANTONIO S.A.
ASO SIERRA NEVADA
ALPINA ECUADOR S.A.
UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
INEN

Otros trámites:

La Subsecretaría de Industrias, Productividad e Innovación Tecnológica del Ministerio de Industrias y Productividad aprobó este proyecto de norma

Oficializada como: Voluntaria Por Resolución No. 11 205 de 2011-07-12
Registro Oficial No. 511 de 2011-08-11

Anexo 2. Espectroscopía FTIR muestras de kefirán en polvo



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA
LABORATORIO DE CONTROL Y ANÁLISIS DE ALIMENTOS

CERTIFICADO DE ANALISIS DE LABORATORIO

0000461

Certificado No: 21-053		0000461			
Solicitud N°: 21-053		Pag. 1 de 1			
Fecha recepción:	20 de julio de 2021	Fecha de ejecución de ensayos:	27 de julio de 2021		
Información del cliente:					
Empresa:		C.I./RUC:	1751261759		
Representante:	Diana Adelaida Quintero Lucero	TIE:	0984612331		
Dirección:	José Nicolás Hidalgo 2-51 y Ramón Alarcón	Email:	dquinterol@uta.edu.ec		
Ciudad:	Ibarra				
Descripción de las muestras:					
Producto:	Muestras de kefirán en base sólida (polvo)	Peso:	20g y 15g		
Marca comercial:	n/a	Tipo de envase:	envase plástico		
Lote:	n/a	No de muestras:	cinco		
F. Eib.:	n/a	F. Exp.:	n/a		
Conservación:	Ambiente: x Refrigeración: Congelación:	Almac. en Lab.:	n/a		
Cierres seguridad:	Ninguno: Intactos: x Rotos:	Muestras por el cliente:	20 de julio de 2021		
RESULTADOS OBTENIDOS					
Muestras	Código del laboratorio	Código cliente	Servicio Solicitado	Unidades	Resultados
Muestras de kefirán en base sólida (polvo). F1	05321119	F1 15g	Uso del Equipo Espectrofotometro Infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)		Ver Adjunto
Muestras de kefirán en base sólida (polvo). F2	05321120	F2 20g	Uso del Equipo Espectrofotometro Infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)		Ver Adjunto
Muestras de kefirán en base sólida (polvo). F3	05321121	F3 20g	Uso del Equipo Espectrofotometro Infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)		Ver Adjunto
Muestras de kefirán en base sólida (polvo). F4	05321122	F4 20g	Uso del Equipo Espectrofotometro Infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)		Ver Adjunto
Muestras de kefirán en base sólida (polvo). F5	05321123	F5 20g	Uso del Equipo Espectrofotometro Infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)		Ver Adjunto
Conds. Ambientales: n/a					
Nota: Se anexa 5 hojas					
 Ing. Gladys Rúaño Directora de Calidad					
Autorización para transferencia electrónica de resultados: Si					
Fecha de emisión del certificado: 30 de julio de 2021					

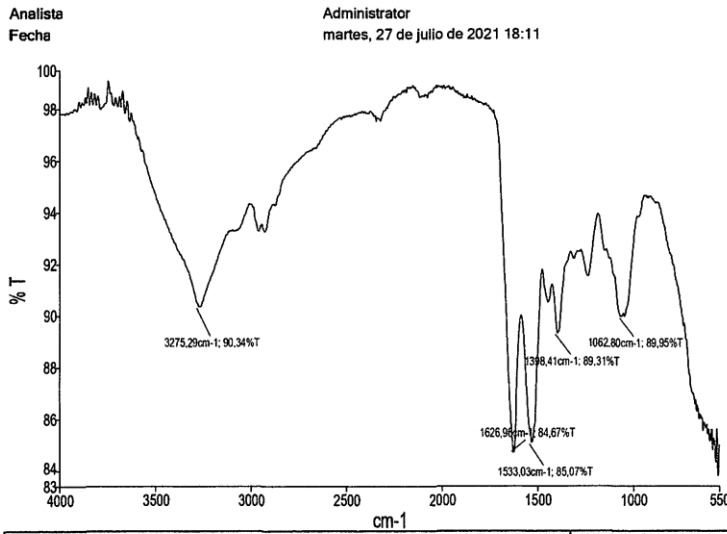
Nota: La muestra fue suministrada por el cliente y los resultados se aplican a la muestra en las condiciones recibidas. El Laboratorio no respalda ni garantiza los resultados obtenidos. No hace a la muestra entregada por el cliente.
El Laboratorio no es responsable por el uso incorrecto de este certificado. No es un documento negociable. Solo se permite su reproducción sin fines de lucro y bajo el consentimiento de la UTA.

"La información que se está creando es confidencial, exclusivamente para su destinatario, y no puede ser circulada. Si usted no es el destinatario de esta información inmediatamente la destruya y notifique a la UTA." La distribución o copia del mismo está prohibida y será sancionada según el proceso legal pertinente."

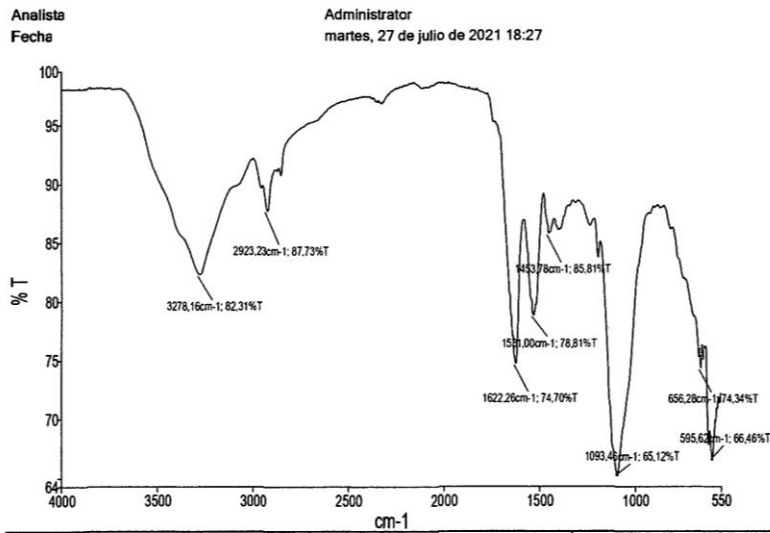


Dir.: Universidad Técnica de Ambato, Campus Huachi, Av. Los chasquis y Río Payamino
Edificio Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología / Ambato - Ecuador

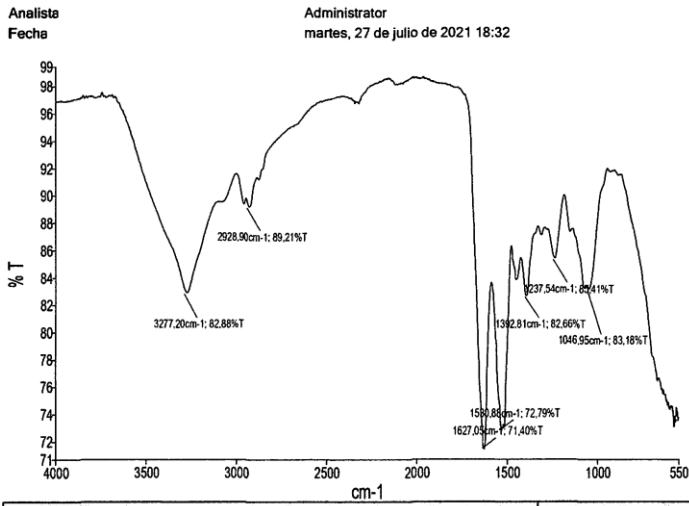
(593) 32400987 ext. 5517; 5518 <http://laconal.uta.edu.ec> laconal@uta.edu.ec



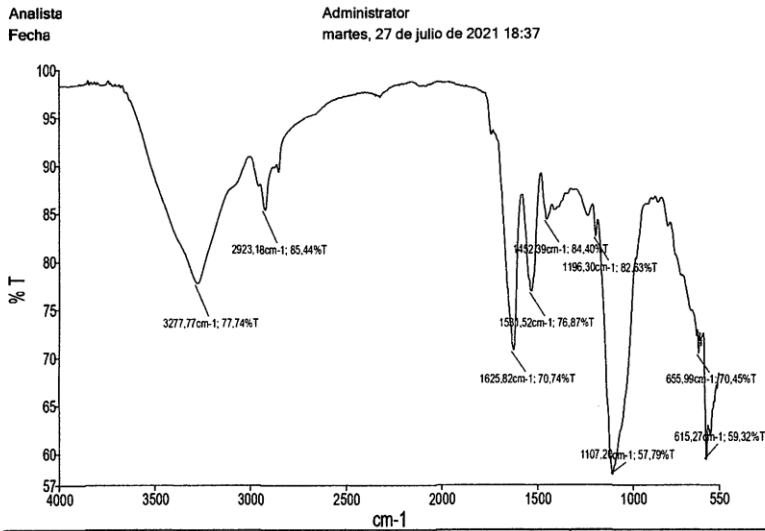
Nombre de la muestra	Descripción
05321120	Sample 015 By Administrator Date martes, julio 27 2021



Nombre de la muestra	Descripción
05321121	Sample 016 By Administrator Date martes, julio 27 2021



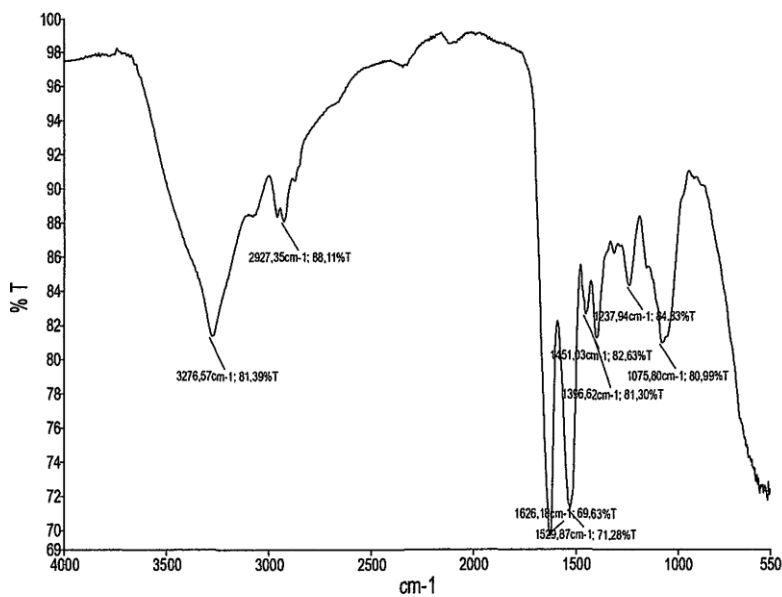
Nombre de la muestra	Descripción
05321122	Sample 017 By Administrator Date martes, julio 27 2021



Nombre de la muestra	Descripción
05321123	Sample 018 By Administrator Date martes, julio 27 2021

Analista
Fecha

Administrador
martes, 27 de julio de 2021 18:10



05321119 Sample 014 By Administrator Date martes, julio 27 2021