



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

DIRECCIÓN DE CARRERA: AGROINDUSTRIAS

**INFORME DE TRABAJO DE TITULACIÓN
PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO
AGROINDUSTRIAL**

MODALIDAD: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

TEMA:

**DOSIFICACIÓN DE LACTASA EN LA FERMENTACIÓN CON
SACCHAROMYCES CEREVISIAE PARA LA OBTENCIÓN DE
ALCOHOL UTILIZANDO LACTOSUERO**

AUTORES:

**MARIO ENRIQUE ARROYO VILLA
JONATHAN SAÚL COOX MURILLO**

TUTOR:

ING. RICARDO RAMÓN MONTESDEOCA PÁRRAGA, Mg.

CALCETA, NOVIEMBRE DE 2018

DERECHOS DE AUTORÍA

MARIO ENRIQUE ARROYO VILLA y JONATHAN SAÚL COOX MURILLO, declaramos bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de nuestra autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que hemos consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración cedemos los derechos de propiedad intelectual a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

MARIO ENRIQUE ARROYO VILLA

JONATHAN SAÚL COOX MURILLO

CERTIFICACIÓN DE TUTOR

ING. RICARDO RAMÓN MONTESDEOCA PÁRRAGA, Mg, certifica haber tutelado el trabajo de titulación **DOSIFICACIÓN DE LACTASA EN LA FERMENTACIÓN CON *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* PARA LA OBTENCIÓN DE ALCOHOL UTILIZANDO LACTOSUERO**, previa la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

ING. RICARDO R. MONTESDEOCA PÁRRAGA, Mg.

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** el trabajo de titulación **DOSIFICACIÓN DE LACTASA EN LA FERMENTACIÓN CON SACCHAROMYCES CEREVISIAE PARA LA OBTENCIÓN DE ALCOHOL UTILIZANDO LACTOSUERO**, que ha sido propuesto, desarrollado por Mario Enrique Arroyo Villa y Jonathan Saúl Coox Murillo, previa la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

ING. FRANCISCO VELÁZQUEZ
ALMEIDA, Mg
MIEMBRO

ING. FERNANDO ZAMBRANO
RUEDAS, Mg
MIEMBRO

ING. LENÍN ZAMBRANO VELÁSQUEZ, Mg
PRESIDENTE

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López que me dio la oportunidad de crecer como ser humano a través de una educación superior y me ha formado en todo un profesional de calidad;

A Dios por su infinita bondad al llenarme de bendiciones día a día, y darme esa fuerza de lucha y valentía en el largo camino de mi querida Carrera Agroindustria,

A mi familia en general por siempre brindarme esas palabras de aliento y apoyo en todas las circunstancias,

A quienes formaron parte de esta gran lucha diariamente mis compañeros de aula que me brindaron su amistad y extendieron su mano en los peores momentos y me acompañaron hasta esta meta, a mis profesores que hicieron de mí una mejor persona con sus enseñanzas.

MARIO E. ARROYO VILLA

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López que me dio la oportunidad de crecer como ser humano a través de una educación superior eficaz, aprendiendo día a día conocimientos nuevos que me ayudaran en mi vida profesional.

A Dios por darme la fuerza y sabiduría para seguir adelante día a día, por guiarme en el transcurso de mi vida estudiantil y colmarme de bendiciones.

A mi familia por ser ese apoyo incondicional, por brindarme toda su confianza y creer siempre en mis capacidades, por cada consejo brindado en todo momento difícil y ayudarme a salir de cada problema presentado.

A nuestros compañeros de clases por cada experiencia vivida, a nuestros docentes por cada conocimiento brindado día a día, y a todas las personas que nos brindaron su apoyo y amistad durante la realización de la tesis.

A nuestro tutor: Ing. Ricardo Montesdeoca por su guía en el desarrollo de la tesis, a nuestro tribunal por sus conocimientos impartidos y por la paciencia que tuvieron para la revisión de éste documento.

JONATHAN S. COOX MURILLO

DEDICATORIA

A mis padres que son el apoyo principal, el Sr. Edgar F. Arroyo Solórzano y la Sra. Josefa B. Villa Cedeño, los que siempre están, los que nunca me fallan y abandonan que permitieron que este sueño se haga simplemente realidad y comparto con orgullo el éxito de una Carrera como profesional. En general quiero agradecer a toda mi familia porque me han brindado todo su apoyo incondicional y por compartir conmigo todos esos buenos y malos momentos.

MARIO E. ARROYO VILLA

DEDICATORIA

A Dios, por la salud y fuerza que me concedió en cada momento para nunca desmayar en los momentos más difíciles de mi carrera como profesional.

A mis padres en especial, el Sr Walter F. Coox Vergara y Norma C. Murillo Mero, quienes son mi apoyo principal, los que siempre me brindaron su confianza para seguir adelante y nunca desmayar, quienes a pesar de todos mis errores y caídas siempre estuvieron ahí para levantarme y guiarme por el camino del bien y hacer de mí una mejor persona, en general a toda mi familia y amigos por el apoyo brindado siempre.

JONATHAN S. COOX MURILLO

CONTENIDO GENERAL

DERECHOS DE AUTORÍA.....	ii
CERTIFICACIÓN DE TUTOR.....	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL.....	iv
AGRADECIMIENTO	v
AGRADECIMIENTO	vi
DEDICATORIA.....	vii
DEDICATORIA.....	viii
CONTENIDO GENERAL	ix
CONTENIDO DE CUADROS Y FIGURAS.....	ixi
RESUMEN	xii
PALABRAS CLAVE	xii
ABSTRACT	xii
KEY WORDS	xii
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES	1
1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	1
1.2. JUSTIFICACIÓN	2
1.3. OBJETIVOS	4
1.3.1. OBJETIVO GENERAL.....	4
1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	4
1.4. HIPÓTESIS.....	4
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	5
2.1. LACTOSUERO	5
2.1.1. COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DEL LACTOSUERO	5
2.1.2. TIPOS DE LACTOSUERO.....	6
2.1.2.1. LACTOSUERO DULCE.....	6
2.1.2.2. LACTOSUERO MEDIO ÁCIDO.....	6
2.1.2.3. LACTOSUERO ÁCIDO	6
2.1.3. PROTEÍNAS DEL LACTOSUERO.....	7
2.2. LACTOSA	8
2.3. LACTASA.....	9
2.4. LEVADURA.....	10
2.5. LEVADURA <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE S-04</i>	10

2.6. LEVADURA <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> US-05	11
2.7. FERMENTACIÓN.....	12
2.7.1. TIPOS DE FERMENTACIONES.....	12
2.8. DESTILACIÓN	14
2.8.1. TIPOS DE DESTILACIONES	15
2.9. ALCOHOL	16
2.10. RENDIMIENTO DE ALCOHOL.....	16
2.11. CONCENTRACIÓN DE ALCOHOL	16
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO	17
3.1. UBICACIÓN	17
3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	17
3.3. FACTORES EN ESTUDIO.....	17
3.3.1. FACTORES	17
3.3.2. NIVELES	17
3.4. TRATAMIENTOS	18
3.5. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	19
3.6. UNIDAD EXPERIMENTAL.....	19
3.7. MANEJO DE LA INVESTIGACIÓN.....	20
3.7.1. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO PARA LA OBTENCIÓN DE ALCOHOL A PARTIR DE LACTOSUERO.....	21
3.8. VARIABLES DEPENDIENTES A MEDIR.....	22
3.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....	22
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	24
4.1. EVALUACIÓN DE LAS VARIABLES RESPUESTAS	24
4.1.1. RENDIMIENTO DE ALCOHOL.....	24
4.1.2. CONCENTRACIÓN DE ALCOHOL	28
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	32
5.1. CONCLUSIONES.....	32
5.2. RECOMENDACIONES	32
BIBLIOGRAFÍA	33
ANEXOS	36

CONTENIDO DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadro 2.1. Características físico-químicas de los tipos de lactosuero.....	6
Cuadro 2.2. Clasificación del lactosuero derivado de la producción de queso según su acidez y pH	7
Cuadro 2.3. Caracterización de la levadura Safale S-04.....	11
Cuadro 2.4. Caracterización de la levadura Safale US-05	11
Cuadro 3.1. Detalle de los tratamientos	18
Cuadro 3.2. Esquema de ADEVA.....	19
Cuadro 3.3. Tratamientos	19
Cuadro 4.1. Análisis físico-químicos a la materia prima (Lactosuero)	24
Cuadro 4.2. Supuesto de normalidad mediante la prueba de Shapiro-Wilk	24
Cuadro 4.3. Prueba de homogeneidad de Varianzas	25
Cuadro 4.4. ADEVA para los factores	25
Cuadro 4.5. Prueba de medias para el factor A.....	26
Cuadro 4.6. Prueba de TUKEY para el factor B	26
Cuadro 4.7. ADEVA para los tratamientos.	27
Cuadro 4.8. Prueba de Tukey para los tratamientos.	27
Cuadro 4.9. Prueba de Kruskal-Wallis para el factor A	28
Cuadro 4.10. Prueba de Kruskal-Wallis para el factor B	29
Cuadro 4.11. Prueba de Kruskal-Wallis para los Tratamientos	30
Figura 3.1. Diagrama de proceso para la obtención de alcohol a partir del lactosuero.....	20
Gráfico 4.1. Gráfico de cajas para el factor A.....	29
Gráfico 4.2. Gráfico de medias para los Tratamientos	30

RESUMEN

En este trabajo tuvo como finalidad la obtención de alcohol a partir de lactosuero, para lo cual se utilizó levadura de la especie *Saccharomyces Cerevisiae* US-05; S-04 modificadas genéticamente y la enzima llamada lactasa. Se empleó un diseño completamente al azar (DCA) en diseño bifactorial AxB el cual tuvo 2 factores en estudio, el factor A: Tipos de levadura *Saccharomyces Cerevisiae* tuvo 2 niveles (S0-4 y US-05); el factor B: Dosificación de lactasa con cuatro niveles (0.25 ml; 0.50 ml; 0.75 ml; 1 ml de lactasa por cada litro de materia prima), cada tratamiento estuvo compuesto por 3 litros de lactosuero. A la materia prima se le realizaron análisis de pH, acidez y grados brix como medidas de control. El proceso de fermentación tuvo como duración un tiempo de 22 días, luego se realizó el proceso de destilación a cada uno de los tratamientos con sus respectivas réplicas. Los datos obtenidos fueron analizados mediante el programa estadístico IBM SPSS versión 21, dando como resultado que para la variable rendimiento de alcohol el tratamiento T4 (3 ml de lactasa + 3 g de levadura *Saccharomyces Cerevisiae* US-05 + 3 L de lactosuero) es el más adecuado, mientras que para la variable concentración de alcohol con los tratamientos T1 (0.75 ml de lactasa + 3 g de levadura *Saccharomyces Cerevisiae* US-05 +3 L de lactosuero) y T4 (3 ml de lactasa + 3 g de levadura *Saccharomyces Cerevisiae* US-05 + 3 L de lactosuero) se obtuvo una concentración de alcohol más elevada.

PALABRAS CLAVE

Destilación, levadura, hidrólisis, fermentación, rendimiento de alcohol, concentración de alcohol.

ABSTRACT

The purpose of this work was to obtain alcohol from whey, for which yeast of the species *Saccharomyces Cerevisiae* US-05 was used; S-04 genetically modified and the enzyme called lactase. A completely randomized design (DCA) was used in bifactorial design AxB which had 2 factors under study, factor A: Types of yeast *Saccharomyces Cerevisiae* had 2 levels (S0-4 and US-05); Factor B: Dosage of lactase with four levels (0.25 ml, 0.50 ml, 0.75 ml, 1 ml of lactase per liter of raw material), each treatment was composed of 3 liters of whey. The raw material was analyzed for pH, acidity and brix degrees as control measures. The fermentation process lasted for 22 days, then the distillation process was carried out for each of the treatments with their respective replicas. The data obtained were analyzed by means of the statistical program IBM SPSS version 21, resulting in the variable T4 treatment (3 ml of lactase + 3 g of yeast *Saccharomyces Cerevisiae* US-05 + 3 L of whey) for the variable alcohol yield. more suitable, while for the variable alcohol concentration with T1 treatments (0.75 ml of lactase + 3 g of yeast *Saccharomyces cerevisiae* US-05 +3 L of whey) and T4 (3 ml of lactase + 3 g of yeast *Saccharomyces Cerevisiae* US-05 + 3 L of whey) a higher alcohol concentration was obtained.

KEY WORDS

Distillation, yeast, hydrolysis, fermentation, alcohol yield, alcohol concentration.

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Según Rojas *et al.*, (2015) indican que la industria de productos lácteos es uno de los sectores más importantes de la economía de muchos países y entorno a ella se ha desarrollado una tecnología completa y novedosa. Aproximadamente el 90% de la leche utilizada en la industria quesera es eliminada como lactosuero. Por su parte García *et al.*, (2004) expresan que su composición varía dependiendo de las características de la leche y de las condiciones de elaboración del queso de que proceda, pero, en términos generales, podemos decir que el lactosuero contiene: 4.9% de lactosa, 0.9% de proteína cruda, 0.6% de cenizas, 0.3% de grasa, 0.2% de ácido láctico y 93.1% de agua.

Ramírez (2012) manifiesta que la fermentación del lactosuero, uno de los procesos que ha permitido valorizar este subproducto, es una interesante área de investigación para la industria láctea, que provee diversas posibilidades de transformación, principalmente del lactosuero permeado, el lactosuero posee todos los macro y micronutrientes y elementos traza que los microorganismos necesitan para realizar el proceso fermentativo. El componente más utilizado en estos procesos es la lactosa. Por otro lado Vargas (2017) menciona que la fermentación del lactosuero enfocada a la producción de etanol, puede presentarse como alternativa viable de aprovechamiento de éste residuo para la generación de un producto de mayor valor agregado.

La producción de alcohol a partir de lactosuero ha sido ampliamente estudiada y se han implementado procesos industriales en algunos países desarrollados en la producción de leche, en los primeros estudios, los cuales fueron patentes, se utilizaron levaduras capaces de fermentar lactosa. Las especies más empleadas que pueden fermentar este disacárido son *Kluyveromyces marxianus*, *Kluyveromyces lactis* y *Candida kefir*, la principal limitación de este proceso es la baja concentración de etanol que se obtiene por la intolerancia de algunas cepas y la baja concentración de lactosa que se genera como máximo entre 2% y 3% de etanol al final de la fermentación (García *et al.*, 2004).

Novillo (2016) explica que para la producción de alcohol a partir de lactosuero mediante el cultivo de *Saccharomyces Cerevisiae*, es necesario realizar la hidrólisis de la lactosa para obtener glucosa y galactosa como sustratos, reacción mediada por la B- galactosidasa.

En base a lo descrito anteriormente, se plantea la siguiente interrogante:

¿Cómo será la eficiencia de la lactasa en la fermentación del lactosuero utilizando *Saccharomyces Cerevisiae US-05; S-04* para la obtención de alcohol?

1.2. JUSTIFICACIÓN

La presente investigación se realizó con la finalidad de obtener alcohol a partir de lactosuero el cual es un subproducto con un sinnúmero de propiedades, cabe mencionar que este subproducto es rico en lactosa y este se convierte en una alternativa para su aprovechamiento en la obtención de alcohol mediante un proceso simultaneo entre hidrólisis y fermentación, el tipo de levadura que se empleo fue la especie *Saccharomyces Cerevisiae* modificada genéticamente (*US-05; S-04*), esta levadura no es capaz de fermentar lactosa el cual es un disacárido por lo que fue necesario hidrolizarla, es por ello que se utilizó lactasa la cual es una enzima capaz de hidrolizar la lactosa en glucosa y galactosa, lo cual permitió que la levadura actué de mejor manera durante el proceso de fermentación.

El aprovechamiento de los productos residuales de la Agroindustria, resulta beneficioso para cualquier industria, pues incluso en un segundo plano, se contribuye a la disminución de desechos emitidos. Por lo tanto, el proceso de fermentación del lactosuero para obtener alcohol, podría contribuir a mejorar la situación competitiva y de rentabilidad de los productores de queso (Ramírez, 2012).

El desperdicio del lactosuero es uno de los contaminantes rico en lactosa; para la industria alimentaria, constituye una fuente económica de nutrientes que otorga un sin número de propiedades en una amplia gama de alimentos, dentro de las cuales están: mejorar la textura, realzar el sabor y color, emulsificar y

estabilizar. Debido a sus propiedades funcionales y nutricionales, el lactosuero se ha convertido en una materia prima conveniente para obtener diferentes productos (Parra, 2009).

Para Rojas *et al.*, (2015) una de las técnicas más utilizadas, y económicas en la obtención de alcohol, es la descomposición o fermentación a través de microorganismos, logrando que la materia utilizada sea la adecuada para la obtención del mismo.

La obtención de alcohol a partir de lactosuero, se perfila como un recurso energético potencialmente sostenible, de alta viabilidad técnica, que puede ofrecer ventajas medioambientales y económicas a largo plazo puesto que a diferencia del petróleo, éste se obtiene a partir de fuentes vivas como microorganismos, los cuales realizan la fermentación de azúcares que pueden provenir de subproductos de grandes procesos industriales; emplear el lactosuero, como sustratos para ser fermentado y obtener alcohol, generaría una oportunidad importante en el desarrollo de nuevas formas de energía renovable (Vargas, 2017).

García *et al.*, (2004) mencionan que la producción de etanol es una alternativa viable, tanto si se utiliza lactosuero con dilución normal como concentrado, aunque con este último el proceso es más eficiente; por otra parte, algunos autores señalan que es imprescindible trabajar con suero concentrado para evitar destilar grandes volúmenes de caldo con baja concentración de etanol.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la dosificación de lactasa en la fermentación con *Saccharomyces Cerevisiae* para la obtención de alcohol utilizando lactosuero.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el rendimiento de alcohol obtenido en la hidrólisis de la lactasa con fermentación de *Saccharomyces Cerevisiae US-05* en el lactosuero.
- Determinar el rendimiento de alcohol obtenido en la hidrólisis de la lactasa con fermentación de *Saccharomyces Cerevisiae S-04* en el lactosuero.
- Identificar la concentración de alcohol obtenido en la hidrólisis de la lactasa con *Saccharomyces Cerevisiae US-05* y *S-04* en el lactosuero.

1.4. HIPÓTESIS

Al menos uno de los tratamientos resultantes entre las dosificaciones de lactasa y tipos de levadura *Saccharomyces Cerevisiae* permitirá la obtención de alcohol a partir de lactosuero.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. LACTOSUERO

Según Poveda (2013) el lactosuero se define como un subproducto lácteo obtenido de la separación del coágulo de la leche, de la crema o de la leche semidescremada durante la fabricación del queso, mediante la acción ácida o de enzimas del tipo del cuajo (renina, enzima digestiva de los rumiantes), en el lactosuero se encuentran partículas suspendidas solubles y no solubles (proteínas, lípidos, carbohidratos, vitaminas y minerales), y compuestos de importancia biológica-funcional. Por otra parte Brito *et al.*, (2015) señalan que el lactosuero es el líquido que se separa de la leche cuando ésta se coagula para la obtención del queso, y está constituido por todos los componentes de la leche que no se integran en la coagulación de la caseína. Se estima que a partir de 10 litros de leche de vaca se puede producir de 1 a 2 kg de queso y un promedio de 8 a 9 kg de lactosuero; esto representa cerca del 90% del volumen de la leche y contiene la mayor parte de los compuestos hidrosolubles de ésta, el 95% de lactosa (azúcar de la leche), el 25% de las proteínas y el 8% de la materia grasa.

2.1.1. COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DEL LACTOSUERO

La composición nutricional del lactosuero puede variar considerablemente dependiendo de las características de la leche utilizada para la elaboración del queso, el tipo de queso producido y del proceso de tecnología empleado en la elaboración del queso, a partir de estas diferencias se encuentran dos tipos fundamentales de lactosuero: Lactosuero dulce, cuando se produce a partir de acción enzimática y contiene más lactosa. Lactosuero ácido, aquel que se obtiene por acción ácida, con mayor concentración de proteínas (Poveda, 2013).

Cuadro 2. 1. Características físico-químicas de los tipos de lactosuero

COMPUESTO	LACTOSUERO DULCE	LACTOSUERO ÁCIDO
pH	6.5	5.0
Agua	93 - 94%	94 – 95%
Extracto seco	6 - 7%	5 – 6%
Lactosa	4.5 - 5.0%	3.8 – 4.2%
Ac. Láctico	Vestigios	0.8%
Proteínas	0.8 - 1.0%	0.8 – 1.0%
Ac. Cítrico	0.1%	0.1%
Cenizas	0.5 – 0.7%	0.5 – 0.7%

Fuente: Kosikowski (1982). Vega (2012)

2.1.2. TIPOS DE LACTOSUERO

Según Vega (2012) dependiendo del origen de la leche, el tipo de queso, y las variaciones del proceso, el tipo de lactosuero será diferente. Una de las clasificaciones está en función de su acidez:

2.1.2.1. LACTOSUERO DULCE

Se obtiene como subproductos de quesos duros, semiduros y frescos en los que se utiliza cuajo, su acidez es de $\text{pH} > 5.8$. Procedente de fabricaciones de coagulación enzimática por uso de enzima coagulante. La precipitación de las proteínas se produce por hidrólisis específica de la caseína. Por lo tanto el pH es próximo al de la leche inicial y no hay variación de la composición mineral (Vega, 2012).

2.1.2.2. LACTOSUERO MEDIO ÁCIDO

Es obtenido al separarse la caseína por acidificación y su acidez es de $\text{pH} 5.0$ - 5.8 (Vega, 2012).

2.1.2.3. LACTOSUERO ÁCIDO

Obtenida de una coagulación ácida o láctica de la caseína, presentando un pH próximo a 4.5. Se produce al alcanzar el punto isoeléctrico de la caseína con anulación de las cargas eléctricas que las mantienen separadas por las fuerzas de repulsión que generan, impidiendo la floculación. Es un lactosuero muy mineralizado pues contiene más del 80% de los minerales de la leche de

partida. El lactosuero ácido contiene más calcio y fosfatos que el lactosuero dulce debido a la acción disolvente del ácido que se utiliza para precipitar la caseína (Vega, 2012).

Cuadro 2.2. Clasificación de los lactosueros derivados de la producción de queso según su acidez y pH

TIPO DE LACTOSUERO	ACIDEZ TITULABLE	pH
Lactosuero dulce	0.10 a 0.20%	5.8 a 6.6
Lactosuero mediamente ácido	0.20 a 0.40%	5.0 a 5.8
Lactosuero ácido	0.40 a 0.60%	4.0 a 5.0

Fuente: Kosikowski (1982). Vega (2012)

2.1.3. PROTEÍNAS DEL LACTOSUERO

Poveda (2013) expresa que estudios demuestran que las proteínas del lactosuero, como la α -lactoalbúmina y la β -lactoglobulina, se pueden unir al calcio, interviniendo en su biodisponibilidad. La α -lactoalbúmina se une fuertemente al calcio, de forma similar a la calmodulina, no obstante, estos efectos parecen ser menos evidentes. Por su parte Hernández y Vélez (2014) aluden que las proteínas no constituyen la fracción más abundante en el lactosuero, representa aproximadamente, el 18-20% de las proteínas totales de la leche, sin embargo, si es la más interesante desde el punto de vista económico y nutricional.

Para Hernández y Vélez (2014) esta fracción contiene proteínas principales: β -lactoglobulina (β -LG), α -lactoalbúmina (α -La), albúmina de lactosuero sanguíneo (BSA), e inmunoglobulina (Ig).

La β -lactoglobulina: representa, aproximadamente la mitad de las proteínas totales de lactosuero de leche bovino. Está compuesta por 162 aminoácidos residuales; 84 de estos son aminoácidos esenciales (Hernández y Vélez, 2014).

La α -lactoalbúmina: son las principales proteínas que se encuentran en la leche humana y bovina. Comprenden, aproximadamente del 20 al 25% de las proteínas de lactosuero de leche y contienen una gran variedad de aminoácidos. También representa una gran afinidad por el calcio y otros

minerales como el zinc, manganeso, cadmio, cobre y aluminio (Hernández y Vélez, 2014).

Las albúminas de lactosuero sanguíneo: se derivan de la circulación sanguínea de la vaca, y no son sintetizadas por la glándula mamaria. La concentración de albumina de leche aumenta durante la mastitis y durante la involución mamaria, la función de estas proteínas en la leche es desconocida (Hernández y Vélez, 2014).

Las inmunoglobulinas (Ig): son anticuerpos que aproximadamente constituyen el 75% de los anticuerpos de un adulto. La fracción de lactosuero contiene una cantidad significativa de inmunoglobulinas, aproximadamente, del 10 al 15% de total de las proteínas del lactosuero (Hernández y Vélez, 2014).

De acuerdo con Vega (2012) los componentes menores de esta fracción son lactoferrina, transferrina y la fracción lactolin proteasa-peptona.

Lactoferrina: es un agente antioxidante no enzimático, encontrado en la fracción de lactosuero, así como el calostro. Comprende 700 aminoácidos residuales y una cadena de poli-péptidos individuales con dos sitios de unión para iones férricos (Vega, 2012).

Proteasas-peptonas: representa aproximadamente el 10% de las proteínas de lactosuero. No precipitan fácilmente a temperaturas altas. Está compuesto por hexosas, hexosaminas, ácido siálico, glúcidos y fósforo (Vega, 2012).

Proteínas menores: agrupa un cierto número de proteínas que se encuentran en la leche en pequeñas cantidades y son difíciles de clasificar; entre ellas destaca la transferina, lactolina y las proteínas de la membrana del glóbulo graso, en conjunto representan más o menos el 5 % de las proteínas de lactosuero, la lactotrasferrina puede fijar reversiblemente el hierro (Vega, 2012).

2.2. LACTOSA

La lactosa es un disacárido formado por una molécula de glucosa y otra de galactosa (β -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 4) α -D-glucopiranosido), se encuentra en la leche en concentraciones variables (2-8%) según las especies de mamíferos,

en la leche de vaca la concentración de lactosa es de 40-50 g/L. La fermentación de la lactosa produce ácidos grasos volátiles y gases como dióxido de carbono, hidrógeno y metano, los cuales difunden a través de la pared colónica y pasan a la sangre para luego ser eliminados por vía pulmonar en el aire espirado (Cruchet *et al.*, 2013).

Moreno *et al.*, (2013) explican que el principal hidrato de carbono de la leche es la lactosa, y proporciona más de la cuarta parte de la energía de la leche si se trata de leche entera, llegando a superar el 50% cuando se trata de desnatada; la lactosa es un disacárido exclusivo de la leche, compuesto de glucosa y galactosa, con un débil sabor dulce, sensible al calor y que es fermentable por algunas bacterias, aspecto aprovechado para la fabricación de quesos y yogures. Por otro lado López *et al.*, (2013) indican que la lactosa “azúcar de la leche” está presente en un 5%, da a la leche su sabor dulce y forma el 52% de los sólidos en la leche, es el componente principal del lactosuero y la que le confiere sus propiedades más importantes.

2.3. LACTASA

La lactasa es una β - galactosidasa (lactasa) altamente purificada y estandarizada y neutra, en forma líquida. Es producida por fermentación sumergida sobre un sustrato vegetal utilizando una cepa seleccionada de la levadura *Kluyveromyces Lactis* mantenida bajo condiciones controladas y que no está presente en el producto final. El producto hidroliza la lactosa dando una mezcla de glucosa y galactosa (Descalzi S.A., 2017).

La lactasa o b-galactosidasa, es una enzima que ha despertado gran interés biotecnológico por razones básicamente nutricionales e industriales. La hidrólisis enzimática de la lactosa del lactosuero permite el aprovechamiento de este subproducto de la industria láctea, el cual se ha convertido en un grave problema de contaminación ambiental (Montiel *et al.*, 2005).

2.4. LEVADURA

Mejía *et al.*, (2016) manifiestan que, desde la antigüedad las levaduras se han reconocido como protagonistas en la producción de alimentos y bebidas mediante la fermentación. Actualmente, son utilizadas en diferentes áreas de la biotecnología. Por su parte Suárez *et al.*, (2016) exponen que son organismos eucariotas con gran diversidad respecto a su tamaño, forma y color. Son consideradas hongos unicelulares y generalmente sus células son ovaladas, pero también pueden encontrarse en forma esférica, cilíndrica o elíptica. Son mayores que las bacterias, alcanzando un diámetro máximo de entre cuatro y cinco μm .

Los constituyentes macromoleculares de las levaduras incluyen proteínas, glicoproteínas, polisacáridos, poli-fosfatos, lípidos y ácidos nucleicos, su pared celular comprende entre 15 y 25 % de la masa seca de la célula y sus principales componentes son polisacáridos (80-90 %), además de proteínas y lípidos. El contenido de proteínas en las levaduras varía entre el 40 y el 50 % de su peso seco, toleran un rango de pH entre 3 y 10, pero les resulta favorable un medio ligeramente ácido con un pH entre 4.5 a 6.5. Las más estudiadas en el mundo son cepas provenientes de las especies: *Saccharomyces Cerevisiae*, *Kluyveromyces fragilis* y *Candida utilis* (Suárez *et al.*, 2016).

2.5. LEVADURA SACCHAROMYCES CEREVISIAE S-04

Este tipo de levadura está compuesto por (*Saccharomyces Cerevisiae*) y un agente hidratante, es una cepa inglesa comercial del tipo ale muy conocida, seleccionada por su rápida velocidad de fermentación y la capacidad de formar un sedimento compacto en el fondo de los fermentadores, hecho que mejora la limpidez de las cervezas. Esta cepa es recomendada para elaborar una amplia variedad de cervezas tipo ale y está especialmente adaptada para utilizarse en cervezas tipo ale acondicionadas en barricas o producidas en fermentadores cilíndrico – cónicos. Su dosis es de: 50 g/hl a 80 g/hl, mientras que su temperatura recomendada de fermentación oscila entre 15 – 24 °C (59 – 75 °F) (Fermentis, 2013).

Cuadro 2.3. Caracterización de la levadura Safale S-04

LEVADURA FERMENTIS SAFALE S-04		
TAXONOMIA		
Reino		Fungi
Cepa		Ale
Especie		Saccharomyces Cerevisiae
Orden		Sacaramicetales
Género		Saccharomyces
División		Ascomycota
ANÁLISIS		
% peso seco		94 - 96.5
Células viables en el empaque		6 x 10 ⁹ ufc / MI
Bacteria totales		5 ufc / mL
Bacterias Acido acéticas		1 ufc / mL %
Atenuación aparente		7500%

Fuente: Beltrán (2016)

2.6. LEVADURA SACCHAROMYCES CEREVISIAE US-05

Este tipo de levadura está compuesto por (*Saccharomyces Cerevisiae*) y un emulsionante E491. Esta Levadura ale americana que produce cervezas bien equilibradas con bajo contenido de diacetilo, produce ésteres y sabores fenólicos en cantidades significativas. Permite producir cerveza con un alto perfil de "drinkability" y presenta una muy buena capacidad para mantenerse en suspensión durante la fermentación. Su temperatura de fermentación oscila entre 12-25 ° C (53.6-77 ° F), pero idealmente de 15-22 ° C (59-71.6 ° F). Su dosis es de: 50 g/hl a 80 g/hl (Fermentis, 2013).

Cuadro 2.4. Caracterización de la levadura Safale US-05

LEVADURA FERMENTIS SAFALE US-05		
TAXONOMIA		
Reino		Fungi
Cepa		Ale
Especie		Saccharomyces Cerevisiae
Orden		Sacaramicetales
Género		Saccharomyces
División		Ascomycota
ANÁLISIS		
% peso seco		94 - 96.5
Células viables en el empaque		6 x 10 ⁹ ufc / mL
Bacteria totales		5 ufc / mL
Bacterias Acido acéticas		1 ufc / mL %
Atenuación aparente		7500%

Fuente: Fermentis (2013)

2.7. FERMENTACIÓN

En términos generales la fermentación se describe como un proceso de oxidación en el que la transformación de moléculas complejas a moléculas simples, lleva a la generación de un producto final orgánico, con liberación de energía (Acosta, 2012).

2.7.1. TIPOS DE FERMENTACIONES

2.7.1.1. FERMENTACIÓN ACÉTICA

Es la fermentación bacteriana por *Acetobacter*, un género de bacterias aeróbicas, que transforma el alcohol en ácido acético, la formación de ácido acético resulta de la oxidación del alcohol por la bacteria del vinagre en presencia del oxígeno del aire; estas bacterias, a diferencia de las levaduras productoras de alcohol, requieren un suministro generoso de oxígeno para su crecimiento y actividad (Cholota y Mora, 2010).

2.7.1.2. FERMENTACIÓN BUTÍRICA

Descubierta por Louis Pasteur, es la conversión de los glúcidos en ácido butírico por acción de bacterias de la especie *Clostridium butyricum* en ausencia de oxígeno, se produce a partir de la lactosa con formación de ácido butírico y gas, es característica de las bacterias del género *Clostridium* y se caracteriza por la aparición de olores pútridos y desagradables (Cholota y Mora, 2010).

2.7.1.3. FERMENTACIÓN DE LA GLICERINA

El propanotriol, glicerol o glicerina ($C_3H_8O_3$) es un alcohol con tres grupos hidroxilos ($-OH$), el propanotriol es uno de los principales productos de la degradación digestiva de los lípidos, paso previo para el ciclo de Krebs, se produce también como un producto intermedio de la fermentación alcohólica, el propanotriol, junto con los ácidos grasos, es uno de los componentes de los lípidos simples, como los triglicéridos y fosfolípidos (Cholota y Mora, 2010).

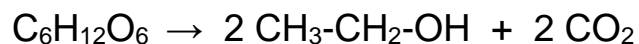
2.7.1.4. FERMENTACIÓN LÁCTICA

Es un proceso celular anaeróbico donde se utiliza glucosa para obtener energía y donde el producto de desecho es el ácido láctico, este proceso lo realizan muchas bacterias (llamadas bacterias lácticas), hongos, algunos protozoos y en los tejidos animales; en efecto, la fermentación láctica también se verifica en el tejido muscular cuando, a causa de una intensa actividad motora, no se produce una aportación adecuada de oxígeno que permita el desarrollo de la respiración aeróbica; algunas células, como los eritrocitos, carecen de mitocondrias de manera que se ven obligadas a obtener energía por medio de la fermentación láctica; por contra, las neuronas mueren rápidamente ya que no fermentan, y su única fuente de energía es la respiración (Cholota y Mora, 2010).

2.7.1.5. FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

Es una biorreacción que permite degradar azúcares (glucosa y fructosa) en alcohol y dióxido de carbono. La conversión se representa mediante la ecuación:

Glucosa → alcohol etílico + Anhídrido carbónico



Transformación de la glucosa

Acosta (2012) indica que la fermentación alcohólica, es un proceso anaeróbico realizado por levaduras y algunas clases de bacterias. Donde el sustrato celular; mono y di sacáridos en su mayoría, son transformados principalmente en alcohol etílico y dióxido de carbono. De acuerdo con Cholota y Mora (2010) la *Saccharomyces Cerevisiae*, es la especie de levadura usada con más frecuencia. Por supuesto que existen estudios para producir alcohol con otros hongos y bacterias.

Debidamente se detallan los tipos de fermentación alcohólica.

- **Fermentación industrial:** La fermentación etílica ha sufrido algunas transformaciones con el objeto de aumentar la eficiencia química del proceso, una de las mejoras más estudiadas en la industria es la posibilidad de realizar la fermentación alcohólica continua con el objeto

de obtener mayores cantidades de etanol. Una de las características de la fermentación etílica industrial es la selección adecuada de las levaduras a inocular en el proceso de fermentación con el fin de aumentar el rendimiento de la producción (Girón y Funes, 2013).

- **Fermentación industrial típica:** Es esencialmente un proceso que se produce en un recipiente llamado fermentador o en general, biorreactor, mediante el cual determinados sustratos que componen el medio de cultivo (levaduras) son transformadas mediante la reacción microbiana en metabolitos y biomasa (Girón y Funes, 2013).
- **Fermentaciones naturales:** La fermentación alcohólica con la emisión de ciertas cantidades de etanol se produce de forma espontánea en la naturaleza siempre que se encuentre un azúcar y una atmósfera pobre de oxígeno, es por esta razón que ocurre espontáneamente en el interior de algunas frutas que se puede decir sufren un proceso de maduración anaeróbica (Girón y Funes, 2013).
- **Fermentaciones específicas:** Son manipuladas por el hombre con el objeto de obtener el etanol en ciertas bebidas, para ello se emplean principalmente los azúcares de las frutas, cereales y leche, la producción de estas bebidas es en la mayoría de los casos local debido a la disponibilidad de los sustratos (Girón y Funes, 2013).

2.8. DESTILACIÓN

De acuerdo con Hidalgo *et al.*, (2016) la destilación es una técnica usada para separar y seleccionar, mediante el uso del calor, componentes volátiles específicos a partir de una mezcla líquida, tal como lo manifiesta Medina *et al.*, (2011) quienes mencionan que la destilación es la operación unitaria ampliamente utilizada para separar mezclas de líquidos, cuyo funcionamiento se basa en el equilibrio líquido-vapor; esto considerando que en la fase gaseosa existe un alta concentración de componentes ligeros y en la fase líquida alta concentración de componentes pesados. Por otra parte Adriano y Valle (2012) señalan que la destilación es usada para separar líquidos de sólidos no volátiles, el principio de la destilación se basa en las diferencias que

existen entre los puntos de fusión del agua (100°C) y el alcohol (78.3°C), si un recipiente que contiene alcohol es calentado a una temperatura que supera los 78.3°C, pero sin alcanzar los 100°C, el alcohol se vaporizará y separará del líquido original, para luego juntarlo y recondensarlo en un líquido de mayor fuerza alcohólica, la destilación requiere de un tiempo de 2-3 horas, con una temperatura de 75°C.

2.8.1. TIPOS DE DESTILACIONES

2.8.1.1. DESTILACIÓN SIMPLE

La destilación simple es un método para separar mezclas líquidas homogéneas. Este método se basa en la diferencia de los puntos de ebullición y consiste en la evaporación de un líquido, la condensación del vapor y la colección del condensado (Castillo *et al.*, 2016).

2.8.1.2. DESTILACIÓN FRACCIONADA

La destilación fraccionada debe emplearse para separar y purificar mezclas de sustancias de punto de ebullición cercano. El punto de ebullición de un líquido es la temperatura a la cual su presión de vapor es igual a la presión externa. Para que una sustancia alcance su punto de ebullición, es necesario suministrar la energía suficiente para que pase del estado líquido al estado vapor. La columna de fraccionamiento proporciona una gran superficie para el intercambio de calor en las condiciones de equilibrio entre el vapor ascendente y el condensado descendente (Castillo *et al.*, 2016).

2.8.1.3. DESTILACIÓN POR ARRASTRE DE VAPOR

La destilación por arrastre de vapor es una técnica, que permite aislar y purificar sustancias orgánicas poco solubles o insolubles en agua y ligeramente volátiles de otros productos no volátiles, permitiendo la purificación de muchas sustancias de punto de ebullición elevado o de aquellas que se descomponen al alcanzar su punto de ebullición, mediante una destilación a baja temperatura (Castillo *et al.*, 2016).

2.9. ALCOHOL

Para Suárez *et al.*, (2016) el alcohol o etanol es el producto de la fermentación alcohólica efectuada por microorganismos, que tienen la capacidad de fermentar la glucosa. Mientras que Téllez y Cote (2006) declaran que el alcohol etílico también conocido como etanol, alcohol vínico y alcohol de melazas, es un líquido incoloro y volátil de olor agradable, que puede ser obtenido por dos métodos principales: la fermentación de las azúcares y un método sintético a partir del etileno; la fermentación de las azúcares, es el proceso más común para su obtención a partir de macerados de granos, jugos de frutas, miel, leche, papas o melazas, utilizando levaduras que contienen enzimas catalizadoras que transforman los azúcares complejos a sencillos y a continuación en alcohol y dióxido de carbono.

2.10. RENDIMIENTO DE ALCOHOL

Es la relación entre el volumen del alcohol etílico (etanol) contenido en una mezcla hidroalcohólica, medido a temperatura de 20°C y el volumen total de la mezcla medido a la misma temperatura, expresado en porcentaje (NTE INEN 340, 2014).

2.11. CONCENTRACIÓN DE ALCOHOL

La concentración de alcohol es la cantidad de ml (mililitros) de alcohol etílico contenido en 100 ml. (cien mililitros) del producto considerado, siendo ambos volúmenes determinados a la temperatura de referencia de 20°C será expresado en porcentaje en volumen (% Vol.) (Revelant, 2014).

CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

3.1. UBICACIÓN

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Bromatología, de igual manera sus respectivos análisis (rendimiento de alcohol y concentración de alcohol) de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí “Manuel Félix López”, ubicada en el sitio el Limón, cabecera cantonal del Cantón Bolívar, de la provincia de Manabí, situada geográficamente entre las coordenadas 0° 49´ 27.9” latitud sur; 80° 10´ 47.2” longitud oeste y una altitud de 15.5940 msnm

3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN

Esta investigación fue de tipo experimental ya que se evaluó la dosificación de lactasa en conjunto con los tipos de levadura *Saccharomyces Cerevisiae* (S0-4 y US-05), para conocer si mediante estas combinaciones se podía obtener alcohol del lactosuero.

3.3. FACTORES EN ESTUDIO

3.3.1. FACTORES

- **FACTOR A:** Tipos de levadura *Saccharomyces Cerevisiae* (S0-4 y US-05)
- **FACTOR B:** Dosificación de lactasa

3.3.2. NIVELES

- **Niveles del factor A**

a1: Levadura *Saccharomyces Cerevisiae* US-05

a2: Levadura *Saccharomyces Cerevisiae* S-04

Se utilizó una dosificación 1g de levadura *Saccharomyces Cerevisiae* (S-04 y US-05) en relación a cada litro de lactosuero a fermentar.

- **Niveles del factor B**

b1: 0.25 ml

b2: 0.50 ml

b3: 0.75 ml

b4: 1 ml

Se utilizó esta dosificación de lactasa en relación a cada litro de lactosuero a fermentar.

3.4. TRATAMIENTOS

Como resultado de la combinación de los niveles de cada factor se establecieron 8 tratamientos con 3 repeticiones cada uno, en relación a 3L de lactosuero. Los cuales se detallan a continuación:

Cuadro 3.1. Detalle de los tratamientos

Detalle de los Tratamientos		
Tratamientos	Códigos	Descripción
T1	a ₁ b ₁	0.75 ml de lactasa + 3 g de levadura US-05
T2	a ₁ b ₂	1.5 ml de lactasa + 3 g de levadura US-05
T3	a ₁ b ₃	2.25 ml de lactasa + 3 g de levadura US-05
T4	a ₁ b ₄	3 ml de lactasa + 3 g de levadura US-05
T5	a ₂ b ₁	0.75 ml de lactasa + 3 g de levadura S-04
T6	a ₂ b ₂	1.5 ml de lactasa + 3 g de levadura S-04
T7	a ₂ b ₃	2.25 ml de lactasa + 3 g de levadura S-04
T8	a ₂ b ₄	3 ml de lactasa + 3 g de levadura S-04

3.7. MANEJO DE LA INVESTIGACIÓN

Para la obtención de alcohol a partir de lactosuero, se aplicó el siguiente diagrama de proceso (**Figura 3.1**), posteriormente se describieron las operaciones que se realizaron durante la ejecución de la investigación.

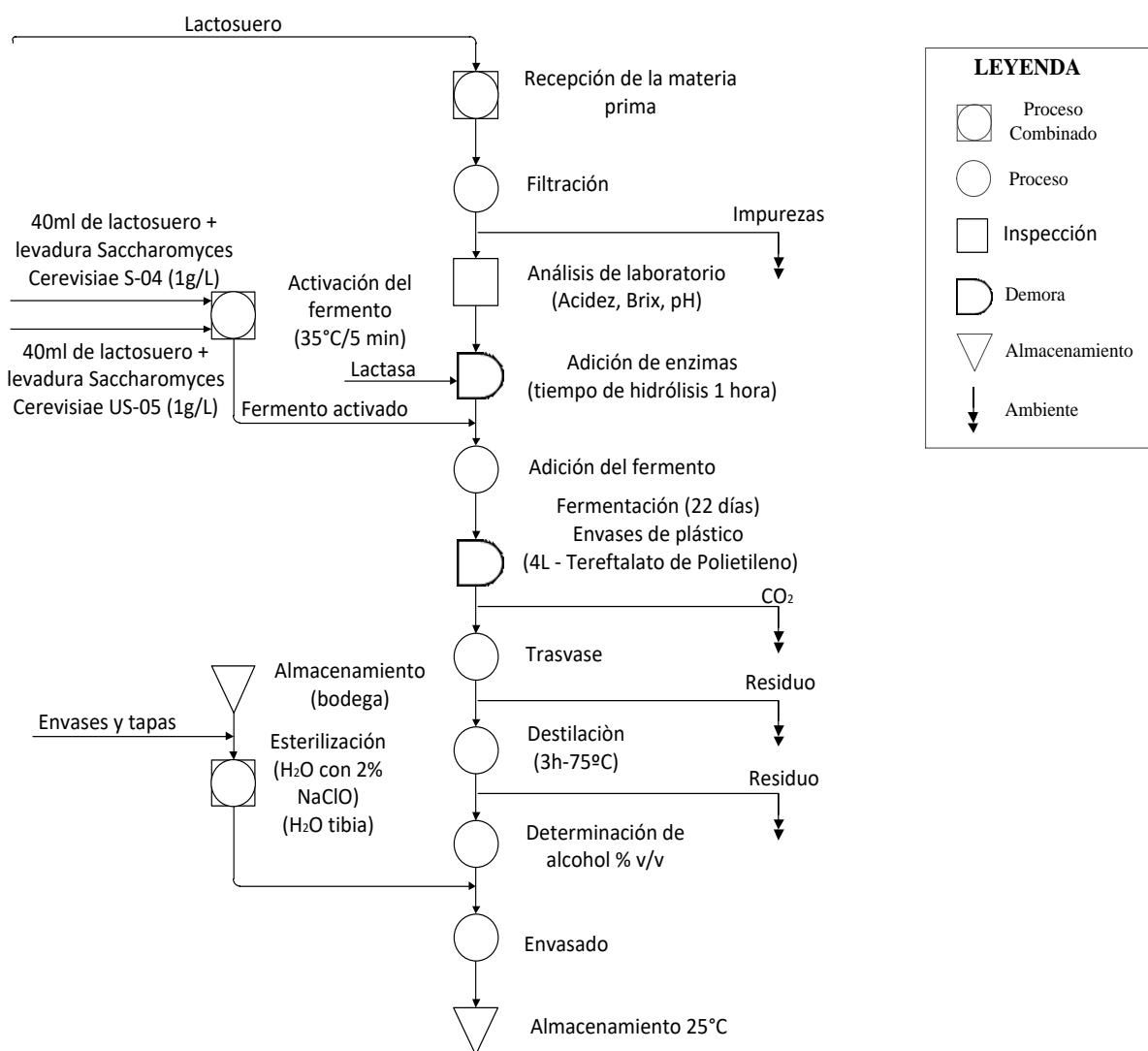


Figura 3.1. Diagrama de proceso para la obtención de alcohol a partir del lactosuero

3.7.1. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO PARA LA OBTENCIÓN DE ALCOHOL A PARTIR DE LACTOSUERO.

Recepción: Se recibió la materia prima en ambiente adecuado, la cual procedió del Barrio Santa Lucía ubicado en el cantón Bolívar.

Filtración: Utilizando un tamiz se procedió a filtrar el lactosuero para eliminar cualquier tipo de impureza que pueda tener.

Análisis de laboratorio: Se le realizó análisis al lactosuero los cuales fueron: acidez, pH, grados brix; estos análisis se los efectuó en los laboratorios de bromatología de la ESPAM "MFL".

Adición de enzima lactasa: Se adiciono la enzima lactasa en las dosificaciones establecidas para cada tratamiento y replicas, se espera un lapso de tiempo de una hora para que esta pueda hidrolizar la lactosa en glucosa y galactosa.

Activación del fermento: El fermento (*Saccharomyces Cerevisiae S-04; US-05*), se lo activó con la ayuda de una plancha; dicho proceso consistió en mezclar la cantidad de fermento a utilizarse para cada tratamiento y sus respectivas réplicas con una cantidad mínima de lactosuero (40 ml), para la respectiva activación se utilizó una temperatura de 35°C por 5 minutos.

Adición del fermento (*Saccharomyces Cerevisiae S-04; US-05*): Se lo agregó al lactosuero y se procedió a efectuar lo mismo para cada tratamiento y replicas.

Fermentación: Se dejó fermentar por un lapso de tiempo de 22 días, en envases de plástico con una capacidad de 4L elaborados de Tereftalato de Polietileno (PET), para luego realizar el trasvase y su destilación respectivamente.

Trasvase: Esta operación se la realizó con el fin de detener la fermentación del lactosuero y éste se convirtiera en ácido acético, y, afectara los resultados finales.

Destilado: Una vez cumplido los 22 días de fermentación, con la finalidad de identificar el rendimiento y la concentración de alcohol en cada uno de los

tratamientos y réplicas se procedió a destilar, se empleó un tiempo de 3 horas con una temperatura de 75°C; para efectuar esta operación se utilizaron los siguientes materiales y equipos: balón de destilación, plancha, tubo condensador, termómetro, vaso de precipitación, soporte universal, pinzas y finalmente un corcho. Posteriormente se evaluaron las variables dependientes a medir.

Rendimiento de alcohol: Se determinó una vez terminada la destilación, es decir, el volumen obtenido en cada tratamiento y réplica expresado en porcentaje.

Concentración de alcohol: Para determinar la concentración de alcohol se utilizó un alcoholímetro, esto consiste en introducir el alcoholímetro en la muestra de alcohol y verificar cuál es su concentración y/o grado de alcohólico.

Envasado: Una vez destilado todos los tratamientos con sus respectivas réplicas se los envaso en recipientes de plástico, previamente esterilizados (H₂O con NaClO al 2%; H₂O tibia) elaborados de Tereftalato de Polietileno (PET), con una capacidad de 500 ml.

Almacenado: El alcohol final se almacenó a una temperatura ambiente de 25°C ($\pm 2^\circ\text{C}$).

3.8. VARIABLES DEPENDIENTES A MEDIR

Las variables dependientes a medir son:

- Rendimiento de alcohol.
- Concentración de alcohol.

3.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Los resultados de los análisis rendimiento y concentración de alcohol fueron evaluados por medio del software estadístico IBM SPSS versión 21 los cuales fueron sometidos a: Prueba de normalidad (test de Shapiro Wilk) y por último

las pruebas de homogeneidad de varianzas y homocedasticidad (Test de Levene). Si los resultados cumplían con los supuestos se les realizaba:

- Análisis de varianza (ADEVA - TUKEY).
- Coeficiente de variación (CV).

En caso de que no cumplían con los supuestos de ADEVA se realizaban pruebas no paramétricas mediante la muestra de Kruskal-Wallis.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como parámetros de control se le realizó análisis a la materia prima (lactosuero) los cuales se presentan en el cuadro 4.1.

Cuadro 4.1. Análisis físico-químicos a la materia prima (Lactosuero)

ANÁLISIS	RESULTADOS
pH	6.52
Grados Brix	5.5
Acidez	0.16%

4.1. EVALUACIÓN DE LAS VARIABLES RESPUESTAS

Para la evaluación de las variables respuestas se realizaron pruebas paramétricas en el caso de rendimiento de alcohol y no paramétricas para la concentración de alcohol.

4.1.1. RENDIMIENTO DE ALCOHOL

Cuadro 4.2. Supuesto de normalidad mediante la prueba de Shapiro-Wilk

	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	Gl	Sig.
Rendimiento de alcohol	0.920	24	0.058
Concentración de alcohol	0.841	24	0.001

Como se puede observar en el cuadro 4.2 la variable rendimiento de alcohol cumplió el supuesto de normalidad mediante la prueba de Shapiro-Wilk debido a que su significancia es mayor al 0.05, por lo consiguiente se le procedió a realizar la prueba de homogeneidad de varianzas y posteriormente el análisis de varianza (ADEVA-TUKEY), por su parte la variable concentración de alcohol no cumplió con el supuesto de normalidad mediante la prueba de Shapiro-Wilk debido a que su significancia es menor al 0.05, por lo expuesto con anterioridad se efectuó una prueba no paramétrica como lo es la prueba de Kruskal Wallis.

Cuadro 4.3. Prueba de homogeneidad de Varianzas

Contraste de Levene sobre la igualdad de las varianzas error			
Rendimiento de alcohol			
F	gl1	gl2	Sig.
1.732	7	16	0.172

La variable rendimiento de alcohol al cumplir con la Prueba de homogeneidad de Varianzas, tal como se muestra en el cuadro 4.3 y el supuesto de Normalidad, (Ver cuadro 4.2), se le realizó la prueba de ADEVA para los factores y los tratamientos.

Cuadro 4.4. ADEVA para los factores

ADEVA					
Rendimiento de alcohol					
Origen	Gl	Suma de cuadrados tipo III	Media cuadrática	F	Sig.
Total corregida	23	270.518			
FACTOR_A	1	71.139	71.139	548.720	0.000**
FACTOR_B	3	96.350	32.117	247.725	0.000**
FACTOR_A *	3	100.955	33.652	259.566	0.000**
FACTOR_B					
Error	16	2.074	0.130		
Total	24	11894.440			

CV: 15.58

NS: NO significativo

*significativo al 5%

**altamente significativo al 1%

El ADEVA aplicado para los factores (A y B) como para la interacción de ambos denotó que existe diferencia estadística significativa tanto para los factores como para la interacción de ambos debido a que su significancia es menor a 0.05, tal como se observa en el cuadro 4.4 por este motivo se le efectuó la prueba de medias al factor A debido a que solo presenta dos niveles y la prueba de TUKEY para el factor B el cual está definido por cuatro niveles para establecer cual nivel de cada factor es el mejor.

Cuadro 4.5. Prueba de medias para el factor A

Prueba de Medias				
Rendimiento de alcohol Factor A	Media	Error típ.	Intervalo de confianza 95%	
			Límite inferior	Límite superior
a1	23.729 a	.104	23.509	23.950
a2	20.286 b	.104	20.065	20.506

Letras iguales en columnas no difieren estadísticamente según Tukey al 0.05 de probabilidad de error

De acuerdo al cuadro 4.5 la prueba de medias aplicada para el factor A estableció que el nivel a₁ (*Levadura Saccharomyces Cerevisiae* US-05) de dicho factor es el más indicado para obtener un rendimiento de alcohol más elevado.

Cuadro 4.6. Prueba de TUKEY para el factor B

Prueba de TUKEY (Factor B)				
Rendimiento de alcohol Factor B	N	Subconjunto		
		1	2	3
b2	6	20.3533c		
b1	6		20.9733b	
b3	6		21.2733b	
b4	6			25.4300a
Sig.		1.000	.492	1.000

Letras iguales en columnas no difieren estadísticamente según Tukey al 0.05 de probabilidad de error

La prueba de Tukey realizada para el factor B estableció que el nivel b₄ (1 ml de lactasa) de dicho factor es el más idóneo para obtener un rendimiento de alcohol más alto, con el nivel b₁ (0.25 ml de lactasa) y b₃ (0.75 ml de lactasa) se obtiene un rendimiento de alcohol igual, mientras que con el nivel b₂ (0.50 ml de lactasa) el rendimiento de alcohol obtenido es bajo en comparación con los anteriores (Ver cuadro 4.6).

De acuerdo a la prueba de TUKEY efectuada para el factor B (Dosificación de lactasa), estableció que para obtener un rendimiento de alcohol más elevado el nivel b₄ (1 ml de lactasa) es el más adecuado, lo cual concuerda con Descalzi S.A. (2017) quien establece que con dosificaciones altas de la enzima lactasa se obtiene un grado de hidrólisis de lactosa mayor por ende habrá mejores resultados.

Cuadro 4.7. ADEVA para los tratamientos.

ADEVA					
Rendimiento de alcohol					
Origen	Gl	Suma de cuadrados tipo III	Media cuadrática	F	Sig.
Total corregida	23	270.518			
TRATAMIENTO	7	268.444	38.349	295.799	0.000**
Error	16	2.074	0.130		

CV: 15.58

NS: NO significativo

*significativo al 5%

**altamente significativo al 1%

El ADEVA aplicado para los tratamientos denotó que existe diferencia estadística significativa debido a que su significancia es menor a 0.05, tal como se observa en el cuadro 4.7 por este motivo se le aplicó la prueba de TUKEY para establecer cuál de los tratamientos es el más idóneo para obtener un rendimiento de alcohol alto.

Cuadro 4.8. Prueba de Tukey para los tratamientos.

Prueba de TUKEY							
Rendimiento de alcohol							
Tratamientos	N	Subconjunto					
		1	2	3	4	5	6
T1	3	16.6633f					
T2	3	17.4633f					
T3	3		20.5067e				
T7	3			22.0400d			
T6	3				23.2433c		
T8	3					24.3500b	
T5	3					25.2833b	
T4	3						26.5100a
Sig.		0.185	1.000	1.000	1.000	0.085	1.000

Letras iguales en columnas no difieren estadísticamente según Tukey al 0.05 de probabilidad de error

De acuerdo al cuadro 4.8 la prueba de TUKEY establece que para obtener un mayor rendimiento de alcohol el tratamiento T4 (3 ml de lactasa + 3 g de levadura *Saccharomyces Cerevisiae* US-05 + 3 L de lactosuero) es el más

adecuado, mientras que con los tratamientos T1 (0.75 ml de lactasa + 3 g de levadura *Saccharomyces Cerevisiae* US-05 +3 L de lactosuero) y T2 (1.5 ml de lactasa + 3 g de levadura *Saccharomyces Cerevisiae* US-05 +3 L de lactosuero) se obtiene un rendimiento de alcohol más bajo, que en comparación con una investigación realizada por López y Prado (2015) difieren de los resultados obtenidos en este trabajo debido a diferentes factores como la cantidad de lactosuero empleado para la fermentación, la no utilización de una enzima capaz de desdoblar la lactosa para que el fermento pueda actuar de una forma más eficaz, etc., obteniendo así rendimiento de alcohol más bajos, por otra parte en un estudio realizado por Padín y Díaz (2009) obtuvieron mejores resultados en comparación con los obtenidos en este trabajo para el rendimiento de alcohol obtenido ya que ellos trabajaron con la levadura *Kluyveromyces marxianus* la cual es la más idónea para la obtención de alcohol a partir del lactosuero debido a que puede fermentar lactosa por sí misma.

4.1.2. CONCENTRACIÓN DE ALCOHOL

La variable concentración de alcohol no cumplió con el supuesto de normalidad mediante la prueba de Shapiro-Wilk debido a que su significancia fue menor al 0.05, (Ver cuadro 4.2.) por lo expuesto con anterioridad se efectuó una prueba no paramétrica como lo es la prueba de Kruskal-Wallis tanto para los factores como para los tratamientos.

Cuadro 4.9. Prueba de Kruskal-Wallis para el factor A

Prueba de Kruskal-Wallis			
Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
La distribución de concentración de alcohol es la misma entre las categorías de factor A	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	.001	Rechazar la hipótesis nula

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es .05.

La prueba de Kruskal Wallis aplicado al factor A (Ver cuadro 4.9) denotó que éste si produce efecto en la variable concentración de alcohol debido a que su significancia es menor a 0.05, por lo cual se rechazó la hipótesis nula, por este motivo se realizó un gráfico de cajas (Gráfico 4.1) en el cual se estudió cuál de los niveles en estudio de dicho factor es el que produce un mejor resultado.

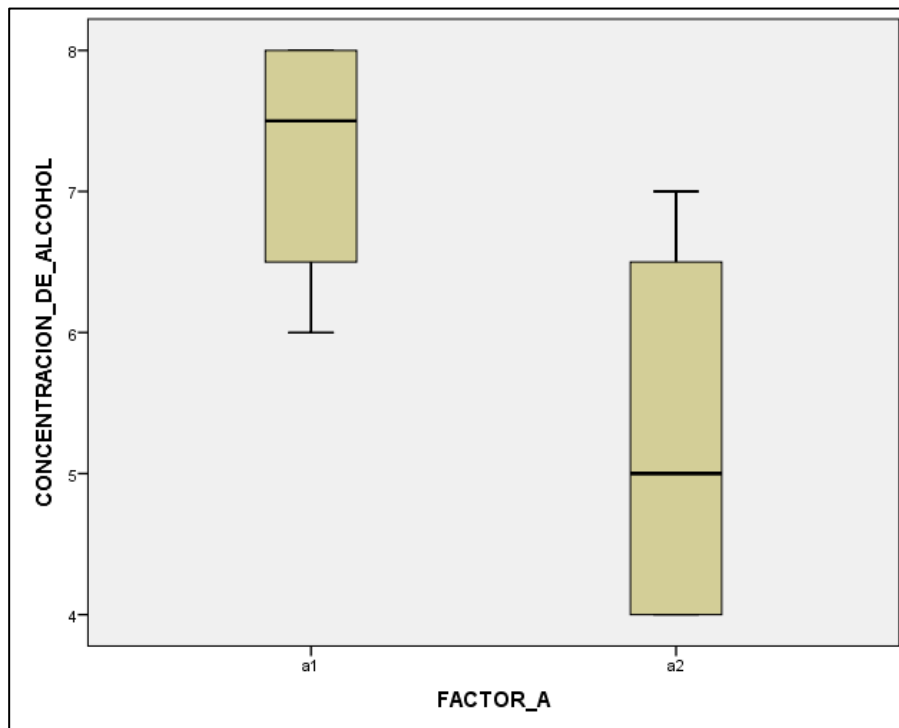


Gráfico 4.1. Gráfico de cajas para el factor A

En el gráfico 4.1 se observa los niveles del factor A, en el cual se puede observar de forma de clara que con el nivel a₁ (Levadura *Saccharomyces Cerevisiae* US-05) se obtiene una concentración de alcohol más elevada a diferencia del nivel a₂ (Levadura *Saccharomyces Cerevisiae* S-04) con el cual se obtiene una concentración de alcohol más baja.

Cuadro 4.10. Prueba de Kruskal-Wallis para el factor B

Prueba de Kruskal-Wallis			
Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
La distribución de concentración de alcohol es la misma entre las categorías de factor B	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	.513	Retener la hipótesis nula

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es .05.

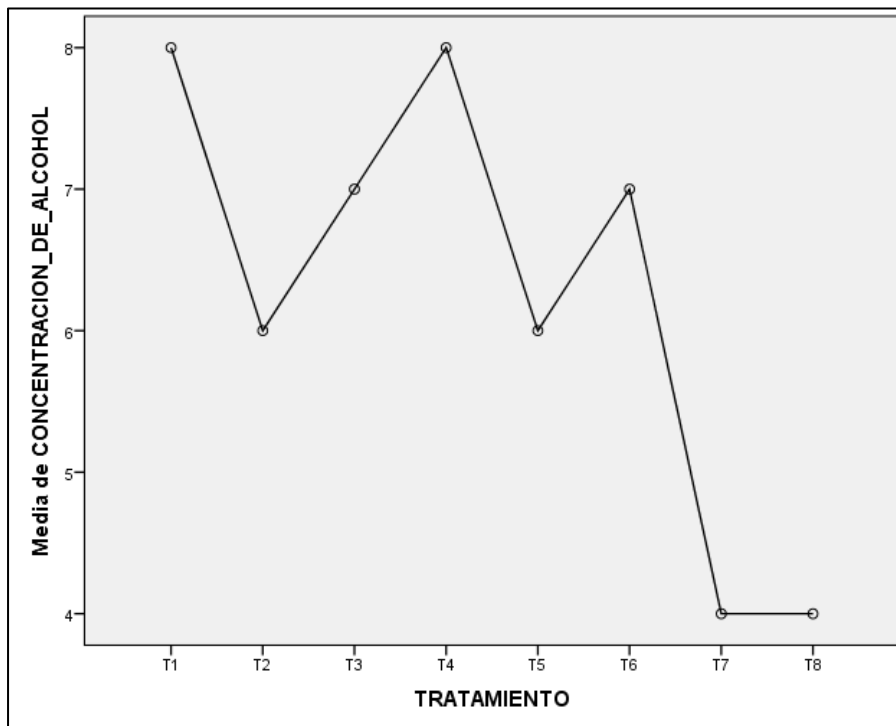
La prueba de Kruskal Wallis aplicado al factor B (Ver cuadro 4.10) denotó que éste no produce efecto en la variable concentración de alcohol debido a que su significancia es mayor a 0.05, reteniendo así la hipótesis nula, es decir que no existió diferencia estadística significativa entre sus niveles, ya que ninguno difiere de otro, lo que manifiesta que con todos sus niveles de lactasa se puede obtener concentración de alcohol.

Cuadro 4.11. Prueba de Kruskal-Wallis para los Tratamientos

Prueba de Kruskal-Wallis			
Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
La distribución de concentración de alcohol es la misma entre las categorías de Tratamientos	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	.002	Rechazar la hipótesis nula

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es .05.

En el cuadro 4.11 según la prueba de Kruskal Wallis aplicado para los tratamientos denotó que éste si produce efecto en la variable concentración de alcohol debido a que su significancia es menor a 0.05, por lo cual se rechazó la hipótesis nula, por este motivo se realizó un gráfico de medias (gráfico 4.2) en el cual se observó cuál de los tratamientos en estudio es el que produce un mejor resultado.

**Gráfico 4.2.** Gráfico de medias para los Tratamientos

Según el gráfico 4.2 existe variación en cada tratamiento, se puede observar que con los tratamientos T1 (0.75 ml de lactasa + 3 g de levadura *Saccharomyces Cerevisiae* US-05 +3 L de lactosuero) y T4 (3 ml de lactasa + 3 g de levadura *Saccharomyces Cerevisiae* US-05 + 3 L de lactosuero) se obtiene una concentración de alcohol más elevada, mientras que con los tratamientos T7 (2.25 ml de lactasa + 3 g de levadura *Saccharomyces*

Cerevisiae S-04 + 3 L de lactosuero) y T8 (3 ml de lactasa + 3 g de levadura *Saccharomyces Cerevisiae* S-04 + 3 L de lactosuero) se obtiene una concentración más baja, que en comparación con una investigación realizada por López y Prado (2015) difieren de los resultados obtenidos en este trabajo obteniendo menores concentraciones de alcohol debido a diferentes factores como la especie y cantidad de levadura *Saccharomyces Cerevisiae* utilizada en su investigación, por otra parte en un estudio realizado por Padín y Díaz (2009) obtuvieron mejores resultados en comparación con los obtenidos en este trabajo para la concentración de alcohol obtenida ya que ellos trabajaron con la levadura *Kluyveromyces marxianus* la cual es la más idónea para la obtención de alcohol a partir del lactosuero debido a que puede fermentar lactosa por sí misma.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

El T4 con la mayor dosificación de lactasa y levadura *Saccharomyces Cerevisiae US-05* fue el más idóneo para obtener el rendimiento y concentración de alcohol más elevado.

La posibilidad de obtener alcohol a partir de la fermentación de lactosuero se presenta como una alternativa de aprovechamiento, evitando así su desperdicio total.

El desdoblamiento de la lactosa en dos monosacáridos es un factor importante para aquellas levaduras que no son capaces de fermentarla como disacárido, es por ello que mediante la utilización de la enzima lactasa se desdobra y facilita así el proceso de fermentación.

5.2. RECOMENDACIONES

Es de suma importancia realizar el trasvase del lactosuero después de haber culminado el proceso de fermentación ya que esto evitará que se convierta en ácido acético lo cual afectaría los resultados finales.

Emplear la mayor dosificación de la enzima lactasa (1ml/L de lactosuero), para lograr aumentar el nivel de hidrolisis de lactosa y obtener un mejor rendimiento de alcohol.

Utilizar la levadura *Saccharomyces Cerevisiae US-05* para obtener mejores rendimientos de alcohol, debido a que esta especie presenta mayor poder fermentativo en comparación con *Saccharomyces Cerevisiae S-04*.

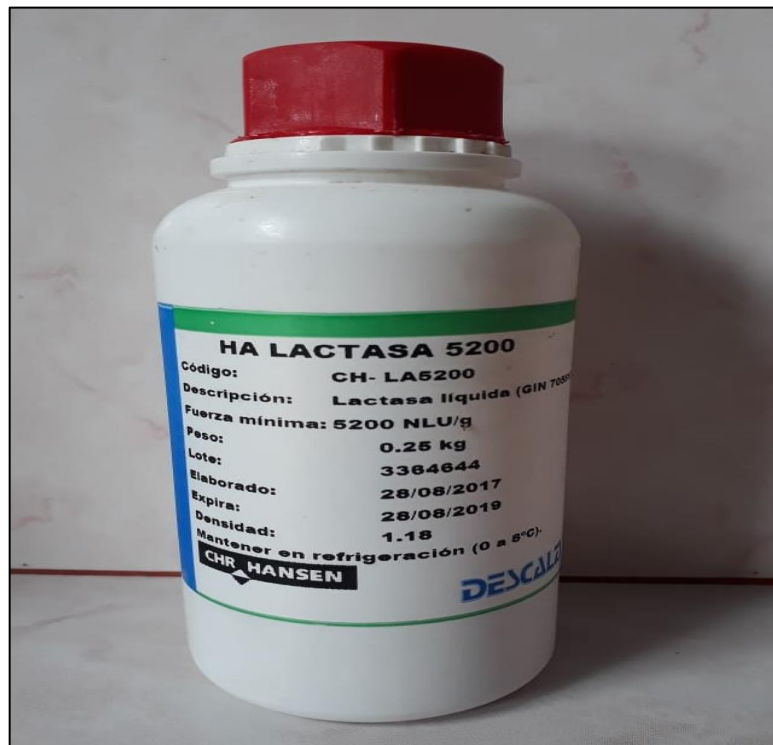
BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, C. (2012). Evaluación de la fermentación alcohólica para la producción de hidromiel. (Tesis de grado). Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia
- Adriano, S y Valle, V. (2012). Diseño y construcción de una torre de destilación con rectificación para la purificación del Thinner usado procedente de las mecánicas automotrices. (Tesis de grado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador
- Beltrán, A. (2016). Evaluación de la incidencia de la foto-estimulación en la fermentación del mosto cervecero a escala laboratorio. (Tesis de grado). Fundación Universidad América. Bogotá, Colombia
- Brito, H; Santillán, A; Arteaga, M; Ramos, E; Villalón, P y Rincón, A. (2015). Aprovechamiento del suero de leche como bebida energizante para minimizar el impacto ambiental. *European Scientific Journal*. 11(26). p. 258
- Castillo, J; Gurrola, A; Herrera, T; Islas, Y; Márquez, A; Martínez, A; Ramírez, A y Ramírez, V. (2016). Métodos de Separación y Purificación de Sustancias. (En Línea)EC. Consultado el 21 de enero de 2018. Formato PDF. Disponible en: <http://www.ete.enp.unam.mx/>
- Cruchet, S; Cornejo, V; Caichac, A y Gotteland, M. (2013). Prevalencia de hipolactasia en escolares de la Región Metropolitana. *Revista Chilena de Nutrición*. 40(3). p. 256-257
- Cholota, L y Mora, O. (2010). Diseño, construcción y pruebas de un sistema prototipo para la producción de etanol a partir de papa, zanahoria, remolacha y lacto suero. (Tesis de grado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador
- Descalzi S.A. (2017). Ficha Técnica Lactasa. Ecuador. p. 1
- Fermentis. (2013). Safale S-04 Levadura seca tipo ale. (En Línea)EC. Consultado el 21 de enero de 2018. Formato PDF. Disponible en: <http://www.babrew.com.ar/>
- García, M., Quintero, R., López, A. (2004). Biotecnología Alimentaria. Recuperado de <https://books.google.com.ec/books?id=2ctdvBnTa18C&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>
- Girón, G y Funes, L. (2013). Obtención de alcohol etílico por medio de fermentación alcohólica de las cascaras de *musa paradisiaca* (plátano) utilizando como microorganismo productor *Saccharomyces Cerevisiae* (levadura). (Tesis de grado). Universidad de El Salvador. San Salvador, El salvador.

- Hernández, M y Vélez, J. (2014). Suero de leche y su aplicación en elaboración de alimentos funcionales. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos*. 8(2). p. 15-16
- Hidalgo, Y; Hatta, B y Palma, J. (2016). Influencia del nivel de fermentación del vino base sobre algunos compuestos volátiles del pisco peruano de uva Italia. *Revista de la Sociedad Química del Perú*. 82(2). p. 130-131
- López, K; Cabrera, D; Aguilar, O; Sol, W; López, E y Vela, G. (2013). Evaluación del impacto nutricional y la aceptación organoléptica de galletas enriquecidas con lactosuero, soya y nuez de macadamia en preescolares de una comunidad de Chiapas, México. *CienciaUAT*. 8(1). p. 34
- López, J y Prado, J. (2015). Uso de lacto suero en sinergia con *Saccharomyces Cerevisiae* como materia prima para la producción de etanol a escala piloto, en el laboratorio de Tecnología Farmacéutica, Departamento de Química, UNAN-Managua, Julio 2014-Agosto 2015. (Tesis de grado). Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. Managua- Nicaragua.
- Medina, R; Segovia, J y Félix, M. (2011). Desempeño dinámico de secuencias de destilación reactivas térmicamente acopladas en diferentes condiciones de operación. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 10(1). p. 148
- Mejía, J; Pérez, R; Cortes, C y Saavedra, A. (2016). Levaduras Termotolerantes: Aplicaciones Industriales, Estrés Oxidativo y Respuesta Antioxidante. *Información Tecnológica*. 27(4). p. 4
- Montiel, X; Carruyo, I; Marcano, L y Mavárez, M. (2005). Optimización del proceso de extracción de la lactasa de *Kluyveromyces Marxianus* ATCC 8554, para su aplicabilidad en la industria láctea. *Revistas Científicas de América Latina y el Caribe*. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/html/959/95915512/>
- Moreno, L; Cervera, A; Ortega, R; Díaz, J; Baladia, E; Basulto, J; Serrat, S; Altaba, I; López, A; Manera, M; Rodríguez, E; Santaliestra, A; Babio, N y Salas, J. (2013). Evidencia científica sobre el papel del yogur y otras leches fermentadas en la alimentación saludable de la población española. *Nutrición Hospitalaria*. 28(6). p. 2046
- Novillo, D. 2016. Producción de etanol a partir de suero de leche. Zaragoza, ES. Recuperado de: <https://prezi.com/ksf2v2-insxa/produccion-de-etanol-a-partir-de-suero-de-leche/>
- NTE INEN (Norma Técnica Ecuatoriana) 340. (2014). Bebidas alcohólicas. Determinación del contenido de alcohol etílico. Método alcoholimétrico (Gay- Lussac). (En Línea)EC. Consultado el 24 de enero de 2018. Formato PDF. Disponible en: <http://www.normalizacion.gob.ec/>
- Padín, C y Díaz M. (2009). Fermentación alcohólica del lactosuero por *Kluyveromyces marxianus* y solventes orgánicos como extractantes. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=199414957008>

- Parra, R. (2009). Lactosuero: importancia en la industria de alimentos. *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín*. Recuperado de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0304-28472009000100021&lng=es&nrm=is&tlng=es
- Poveda, E. (2013). Suero lácteo, generalidades y potencial uso como fuente de calcio de alta biodisponibilidad. *Revista Chilena de Nutrición*. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/pdf/469/46929416011.pdf>
- Ramírez, J. (2012). Aprovechamiento Industrial de Lactosuero Mediante Procesos Fermentativos. *Revista Especializada en Ingeniería de Procesos en Alimentos y Biomateriales*. Recuperado de: <http://oaji.net/articles/2017/5082-1501178491.pdf>
- Revelant, G. (2014). Bebidas alcohólicas. (En Línea)EC. Consultado el 24 de enero de 2018. Formato PDF. Disponible en: <http://www.fbioyf.unr.edu.ar/>
- Rojas, A., Montaña, L. y Bastidas, M. (2015). Producción de ácido láctico a partir del lactosuero utilizando *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*. *Rev. Colomb. Quim.* Recuperado de: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim/article/view/>
- Suarez, C; Garrido, N y Guevara, C. (2016). Levadura *Saccharomyces Cerevisiae* y la producción de alcohol. Revisión bibliográfica. *ICIDCA sobre los derivados de la caña de azúcar* 50(1). p. 21
- Téllez, J y Cote, M. (2006). ALCOHOL ETÍLICO: Un tóxico de alto riesgo para la salud humana socialmente aceptado. *Rev Fac Med Univ Nac Colomb.* 54(1). p. 33
- Vargas, X. (2017). Evaluación de la producción de etanol a partir de lactosuero a nivel de biorreactor (bioflo 110) utilizando *Kluyveromyces marxianus* y *Kluyveromyces lactis* como agentes fermentativos. (Tesis de grado). Universidad de la Salle Facultad de Ingeniería. Bogotá, Colombia.
- Vega, G. (2012). Elaboración y control de calidad de una bebida a base de suero de leche y avena (*avena sativa*), para PRODUCCOOP "EL SALINERITO. (Tesis de grado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador

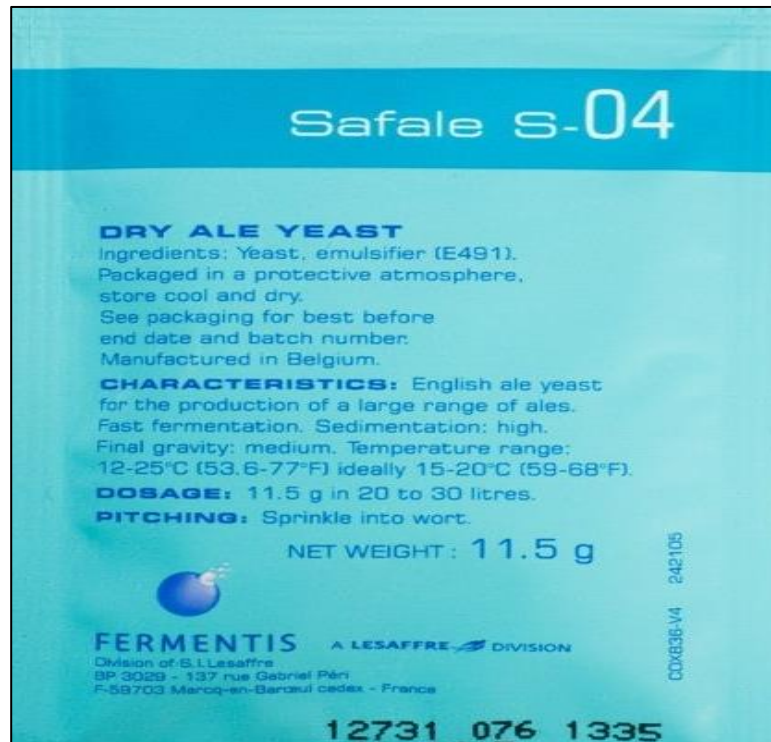
ANEXOS



ANEXO 1. Lactasa 5200



ANEXO 2. Saccharomyces Cerevisiae US-05



ANEXO 3. Saccharomyces Cerevisiae S-04



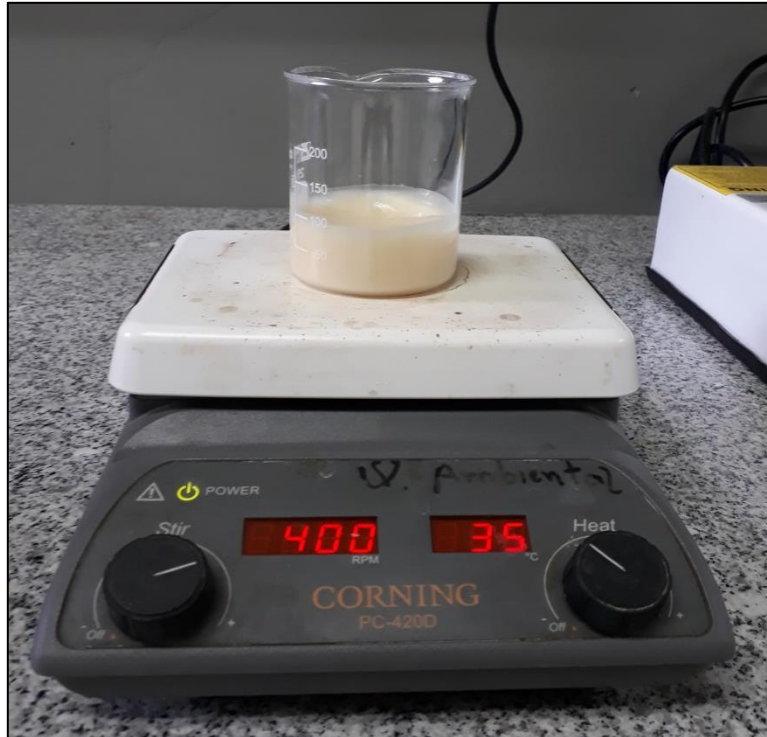
ANEXO 4. Análisis de pH



ANEXO 5. Análisis de grados Brix



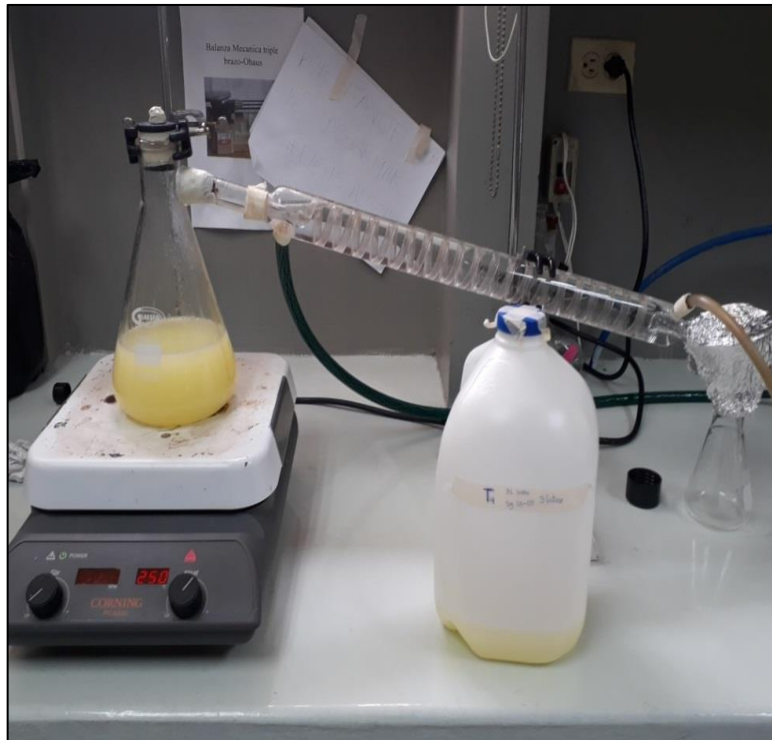
ANEXO 6. Análisis de acidez



ANEXO 7. Activación del fermento



ANEXO 8. Fermentación del lactosuero



ANEXO 9. Proceso de destilación



ANEXO 10. Análisis de concentración de alcohol

 ESPAMMFL  REPUBLICA DEL ECUADOR ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABI MANUEL FÉLIX LÓPEZ	
LABORATORIOS DEL AREA AGROINDUSTRIAL	
NOMBRE DE LOS ESTUDIANTES:	Jonathan S. Coox Murillo Mario E. Arroyo Villa
DIRECCIÓN:	CALCETA
FECHA DE RECEPCION DE MUESTRAS:	29/06/2018
FECHA DE ELABORACIÓN DE LAS MUESTRAS:	15/05/2018
MUESTRAS ENVIADAS:	32

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: OBTENCIÓN DE ALCOHOL		
PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADOS
T_1		
Rendimiento de alcohol	%	16,66
Concentración de alcohol	°GL	8,00

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: OBTENCIÓN DE ALCOHOL		
PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADOS
T_1R_1		
Rendimiento de alcohol	%	16,80
Concentración de alcohol	°GL	8,00

(Handwritten signatures in blue ink)



ANEXO 11. Resultados del análisis de rendimiento y concentración de alcohol

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: OBTENCIÓN DE ALCOHOL		
PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADOS
T₁R₂		
Rendimiento de alcohol	%	16,53
Concentración de alcohol	°GL	8,00

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: OBTENCIÓN DE ALCOHOL		
PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADOS
T₁R₃		
Rendimiento de alcohol	%	16,66
Concentración de alcohol	°GL	8,00

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: OBTENCIÓN DE ALCOHOL		
PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADOS
T₂		
Rendimiento de alcohol	%	17,60
Concentración de alcohol	°GL	6,00

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: OBTENCIÓN DE ALCOHOL		
PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADOS
T₂R₁		
Rendimiento de alcohol	%	17,40
Concentración de alcohol	°GL	6,00

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: OBTENCIÓN DE ALCOHOL		
PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADOS
T₂R₂		
Rendimiento de alcohol	%	17,66
Concentración de alcohol	°GL	6,00

[Handwritten signatures in blue ink]



IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: OBTENCIÓN DE ALCOHOL		
PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADOS
T₂R₃		
Rendimiento de alcohol	%	17,33
Concentración de alcohol	°GL	6,00

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: OBTENCIÓN DE ALCOHOL		
PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADOS
T₃		
Rendimiento de alcohol	%	20,66
Concentración de alcohol	°GL	7,00

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: OBTENCIÓN DE ALCOHOL		
PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADOS
T₃R₁		
Rendimiento de alcohol	%	20,46
Concentración de alcohol	°GL	7,00

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: OBTENCIÓN DE ALCOHOL		
PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADOS
T₃R₂		
Rendimiento de alcohol	%	20,73
Concentración de alcohol	°GL	7,00

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: OBTENCIÓN DE ALCOHOL		
PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADOS
T₃R₃		
Rendimiento de alcohol	%	20,33
Concentración de alcohol	°GL	7,00

[Handwritten signatures in blue ink]



IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: OBTENCIÓN DE ALCOHOL		
PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADOS
T₄		
Rendimiento de alcohol	%	26,66
Concentración de alcohol	°GL	8,00

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: OBTENCIÓN DE ALCOHOL		
PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADOS
T_{4R1}		
Rendimiento de alcohol	%	26,00
Concentración de alcohol	°GL	8,00

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: OBTENCIÓN DE ALCOHOL		
PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADOS
T_{4R2}		
Rendimiento de alcohol	%	26,40
Concentración de alcohol	°GL	8,00

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: OBTENCIÓN DE ALCOHOL		
PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADOS
T_{4R3}		
Rendimiento de alcohol	%	27,13
Concentración de alcohol	°GL	8,00

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: OBTENCIÓN DE ALCOHOL		
PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADOS
T₅		
Rendimiento de alcohol	%	25,33
Concentración de alcohol	°GL	6,00

[Handwritten signatures in blue ink]



IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: OBTENCIÓN DE ALCOHOL		
PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADOS
T ₅ R ₁		
Rendimiento de alcohol	%	25,66
Concentración de alcohol	°GL	6,00

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: OBTENCIÓN DE ALCOHOL		
PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADOS
T ₅ R ₂		
Rendimiento de alcohol	%	25,53
Concentración de alcohol	°GL	6,00

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: OBTENCIÓN DE ALCOHOL		
PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADOS
T ₅ R ₃		
Rendimiento de alcohol	%	24,66
Concentración de alcohol	°GL	6,00

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: OBTENCIÓN DE ALCOHOL		
PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADOS
T ₆		
Rendimiento de alcohol	%	23,33
Concentración de alcohol	°GL	7,00

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: OBTENCIÓN DE ALCOHOL		
PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADOS
T ₆ R ₁		
Rendimiento de alcohol	%	23,53
Concentración de alcohol	°GL	7,00

[Handwritten signatures in blue ink]



IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: OBTENCIÓN DE ALCOHOL		
PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADOS
T₆R₂		
Rendimiento de alcohol	%	23,20
Concentración de alcohol	°GL	7,00

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: OBTENCIÓN DE ALCOHOL		
PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADOS
T₆R₃		
Rendimiento de alcohol	%	23,00
Concentración de alcohol	°GL	7,00

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: OBTENCIÓN DE ALCOHOL		
PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADOS
T₇		
Rendimiento de alcohol	%	22,13
Concentración de alcohol	°GL	4,00

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: OBTENCIÓN DE ALCOHOL		
PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADOS
T₇R₁		
Rendimiento de alcohol	%	22,00
Concentración de alcohol	°GL	4,00

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: OBTENCIÓN DE ALCOHOL		
PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADOS
T₇R₂		
Rendimiento de alcohol	%	21,66
Concentración de alcohol	°GL	4,00

[Handwritten signatures in blue ink]



IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: OBTENCIÓN DE ALCOHOL		
PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADOS
T ₇ R ₃		
Rendimiento de alcohol	%	22,46
Concentración de alcohol	°GL	4,00

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: OBTENCIÓN DE ALCOHOL		
PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADOS
T ₈		
Rendimiento de alcohol	%	24,8
Concentración de alcohol	°GL	4,00

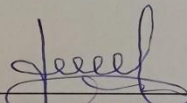
IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: OBTENCIÓN DE ALCOHOL		
PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADOS
T ₈ R ₁		
Rendimiento de alcohol	%	24,33
Concentración de alcohol	°GL	4,00

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: OBTENCIÓN DE ALCOHOL		
PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADOS
T ₈ R ₂		
Rendimiento de alcohol	%	24,06
Concentración de alcohol	°GL	4,00

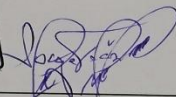
[Handwritten signatures in blue ink]



IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: OBTENCIÓN DE ALCOHOL		
PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADOS
T ₈ R ₃		
Rendimiento de alcohol	%	24,66
Concentración de alcohol	°GL	4,00



Ing. Eudaldo Loor Mendieta
TÉCNICO



Ing. Jorge Teca Delgado
ANALISTA

DESCALZI

DISTRIBUIDORA DESCALZI S.A.

DIR. MATRIZ KM 11.5 VIA DAULE, PARQUE CALIFORNIA
1 EDIF.COMERCIAL 4 BODEGA 1

DIR. ESTABLECIMIENTO KM 11.5 VIA DAULE, PARQUE CALIFORNIA
1 EDIF. COMERCIAL 4 BLOQUE #1

CONTRIBUYENTE ESPECIAL: NO
OBLIGADO A LLEVAR CONTABILIDAD SI

RUC: 0990336792001
FACTURA NO: 001-001-000059638
Número de Autorización: 2711201701200100100005963809903367924
Fecha y hora de autorización: 2017-11-27T11:54:58-05:00

AMBIENTE: Producción
EMISIÓN: Normal

CLAVE DE ACCESO:



RAZÓN SOCIAL/NOMBRES Y APELLIDOS: ARRUYO VILLA MARIO
FECHA EMISIÓN: 27/11/2017

RUC/CI: 1314798404
GUÍA REMISION:

CÓDIGO	DESCRIPCION	CANTIDAD	PRECIO	DESCUENTO	SUBTOTAL
CH-LA5200	HA-LACTASA 5200 1 KG	0.25	90.000000	0.00	22.50
FLETES	FLETES	1.00	3.000000	0.00	3.00
EPC1	ENVASE PLASTICO 500 GR	1.00	0.000000	0.00	0.00
SUBTOTAL 12%					US\$22.50
SUBTOTAL 0%					US\$3.00
DESCUENTO					US\$0.00
IVA 12%					US\$2.70
VALOR TOTAL					US\$28.20

INFORMACIÓN ADICIONAL

Dirección: Manabí, Calceta, CALCETA
Teléfono: 0986662031
Email:
Comentario: DEPOSITADO EL 27/11/2017

Vendedor: Mostrador
Días de plazo: 0

FORMA DE PAGO: SIN UTILIZACION DEL SISTEMA FINANCIERO
VALOR: US\$28.20

*F.J.
Descalzi (2017). Lactasa. (Calceta) EC. Dist. Descalzi pag. 1*

Recibido por:

Firma: _____

Nombre y apellido: _____

C.I.: _____

Fecha de recepción: _____

Revisado en DESCALZI por: _____

ANEXO 12. Ficha Técnica Lactasa

LACTASA

DOSIFICACIÓN Para 5200 NLU

La dosificación de la enzima depende del producto a fabricar, el grado de hidrólisis deseado y las condiciones del proceso.

Las dosificaciones estimadas que se dan a continuación están calculadas para un contenido del 5 % de la lactosa en leche o suero, que es el contenido normal de lactosa de la leche.

Para concentraciones más elevadas de lactosa se debe aumentar la cantidad de Lactasa proporcionalmente.

DOSIFICACIONES ESTIMADAS

Dosificación (ml / l) 5200 NLU	Tiempo de reacción (horas)	Temperatura de reacción °C	Grado de hidrólisis %
0,11 - 0,19	10	5	20
0,4 - 0,08	24	5	20
0,19 - 0,35	1	30	20
0,04 - 0,08	4	30	20
0,08 - 0,15	1	40	20
0,05 - 0,1	4	40	20
0,38 - 0,61	10	5	50
0,19 - 0,27	24	5	50
0,80 - 1,19	1	30	50
0,19 - 0,30	4	30	50
0,35 - 0,54	1	40	50
0,08 - 0,15	4	40	50
1,35 - 2,07	10	5	80
0,6 - 0,84	24	5	80
2,65 - 4,0	1	30	80
0,65 - 1,0	4	30	80
1,12 - 1,7	1	40	80
0,27 - 0,42	4	40	80

CHR HANSEN

Improving food & health

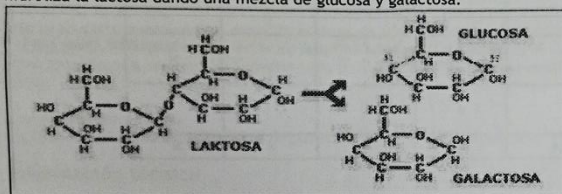
Ha-Lactase™ 5200

Información de Producto

Versión: 2 PI GLOB ES 02-06-2016

Descripción

Ha-Lactase™ 5200 es una β -galactosidasa (lactasa) altamente purificada y estandarizada y neutra, en forma líquida. Es producida por fermentación sumergida sobre un sustrato vegetal utilizando una cepa seleccionada de la levadura *Kluyveromyces lactis* mantenida bajo condiciones controladas y que no está presente en el producto final. El producto hidroliza la lactosa dando una mezcla de glucosa y galactosa.



No Material: 705612
Tamaño: 4X1 US GAL
Tipo: Bidón

Temp. de almacenamiento: 0 - 8 °C / 32 - 46 °F
Condiciones: Proteger de la luz . Mantener cerrado en el envase original.

Vida útil

24 meses de caducidad desde la liberación de calidad, cuando se almacena en las condiciones recomendadas. La caducidad está limitada a 3 meses desde la apertura, siempre que el producto se mantenga en las condiciones de almacenamiento recomendadas.

Condiciones de transporte

El producto debe ser transportado entre -5 y 20 °C / 23 y 68 °F con un tiempo de tránsito máximo de 7 días fuera de este intervalo. Una exposición prolongada a un calor excesivo puede influir en la actividad del producto.

Aplicación

Ha-Lactase™ 5200 puede ser utilizada en varios productos lácteos como leche, nata, productos fermentados, queso, bebidas de suero, suero/permeato de suero, dulce de leche, helados y otros postres. El producto es adecuado para

- Productos bajos en lactosa/sin lactosa (intolerancia o mala absorción de lactosa);
- Mayor dulzor sin aumentar el contenido calórico;
- Reducción de azúcares, aromas añadidos;
- Mejorada apariencia/estabilidad para evitar la cristalización de lactosa;
- Características de producto mejoradas (p.ej. consistencia mejorada en helados);

Están disponibles bajo petición las hojas de aplicación individual para leche, productos lácteos fermentados, helados y dulce de leche.

www.chr-hansen.com

Página: 1 (7)
La información aquí recogida es, según nuestro leal saber y entender, veraz y exacta y el producto (o productos) que aquí se menciona(n) no viola(n) derechos de propiedad intelectual de terceros. El producto (o productos) puede(n) estar protegido(s) por patentes concedidas o en tramitación, marcas registradas o no registradas o por derechos de propiedad intelectual similares. Copyright © Chr. Hansen A/S. Todos los derechos reservados.