



**DEPARTAMENTO DE POSGRADOS**

**MAESTRÍA EN GESTIÓN DE LA CALIDAD Y SEGURIDAD**

**ALIMENTARIA**

***" ESTANDARIZACIÓN DE HIDRÓLISIS EN TANQUES PARA  
LIBERACIÓN EN PROCESO UHT EN LECHE DESLACTOSADA"***

**TRABAJO DE GRADUACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO**  
**"MAGÍSTER EN GESTIÓN DE LA CALIDAD Y SEGURIDAD ALIMENTARIA"**

**AUTOR: DRA. ESTRELLA ORTIZ SERPA**

**DIRECTOR: ING. CLAUDIO SANCHEZ JAUREGUI**

**CUENCA, ECUADOR**

**2016**

## DEDICATORIA

A mi madre quien sentó las bases de responsabilidad y perseverancia en ella tengo el ejemplo de  
lucha tenaz y apoyo incondicional.

A Jaime quien con su amor, comprensión y apeo fue un cimiento especial para mi superación profesional, a mis amores Andrea, Mateo y María Teresa que fueron el motor para alcanzar mi meta.

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco al Ing. Claudio Sánchez quien me ha guiado y ayudado a culminar con éxito el presente trabajo.

A Lácteos San Antonio en representación del Ing. Juan Carlos Romero por haberme brindado la oportunidad de desarrollar la investigación en las instalaciones de la empresa.

## RESUMEN

La presente investigación se desarrolló en las instalaciones de la empresa de Lácteos San Antonio Cuenca. Este trabajo tuvo como propósito disminuir costos de producción en la elaboración de leche deslactosada, estableciendo condiciones estandarizadas para la liberación de silos de leche, basándose en la concentración residual de lactosa y no en el punto crioscópico como se procede, fue importante determinar el tiempo de hidrólisis de la enzima lactasa o  $\beta$ -galactosidasa en desdoblar la lactosa en glucosa y galactosa.

El método propuesto es el experimento in vitro 30 muestras con leche pasteurizada a 75 °C x 15 segundos y 30 muestras leche pasteurizada a 90°C por 5 minutos, una vez cumplido el proceso de pasteurización se adiciono la enzima a temperaturas de 30°C y 50°C , se analizó cada 30 minutos el porcentaje de lactosa residual hasta llegar a un a concentración menor a 0.7% ; la determinación se la realizo en el equipo MILKOSCAN-FOSS FT1 que emplea la tecnología de infrarrojo (FTIR) el cual ofrece una repetibilidad y sensibilidad alta

Los resultados obtenidos permitieron optimizar el proceso y de esta manera reducir de 18 horas a 2 horas 30 minutos la hidrólisis de lactosa, permitiendo disminuir los costos de producción por restricciones operacionales las cuales fueron eliminadas por un proceso biotecnológico aplicado, y entregar un producto estandarizado en el porcentaje de hidrólisis de la lactosa.

## PALBARAS CLAVES

Lactosa residual, hidrólisis de lactosa, costos de producción

## ABSTRACT

This research was conducted at the premises of *San Antonio Dairy Company* in Cuenca. This work aimed at establishing standardized conditions for the release of lactose-free milk silos, based on the residual lactose concentration and not in the cryoscopy point as appropriate. It was important to determine the hydrolysis time of the lactase or beta-galactosidase enzyme to unfold the lactose into glucose and galactose. The proposed method is the in-vitro experiment of 30 samples with pasteurized milk at 75 ° C x 15 seconds, and 30 samples of pasteurized milk at 90 °C for 5 minutes. Once the pasteurization process is completed, the enzyme at 30 ° C and 50 ° C temperatures was added. The percentage of residual lactose was analyzed every 30 minutes until it reached a concentration less than 0.7%. The determination was performed in the Foss Released Milko Scan FT1 Milk Analyzer equipment that uses infrared (FTIR) to provide repeatability and high sensitivity. The results allowed us to optimize the process; and thus reduce the hydrolysis of lactose from 18 hours to 2 hours 30 minutes. This enabled to lower production costs due to the operational constraints, which were eliminated by the application of a biotechnological process, and deliver a standardized product in the percentage of lactose hydrolysis.

**KEYWORDS:** Residual Lactose, Lactose Hydrolysis, Production Costs.



  
Translated by,  
Lic. Lourdes Crespo

## INDICE DE CONTENIDO

	Página
Contenido	
DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTO.....	ii
RESUMEN Y PALABRAS CLAVE.....	iii
ABSTRAC AND KEYWORDS.....	iv
INDICE DE CONTENIDO.....	v
INDICE DE FIGURAS.....	VI
INTRODUCCIÓN.....	1
LACTOSA.....	2
HIDROLISIS.....	3
HIDROLISIS ENZIMATICA.....	3
MILKO SCAN FT1.....	5
OBJETIVO GENERAL.....	7
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	7
<b>CAPÍTULO I</b>	
MATERIALES Y MÉTODOS.....	8
1.1. Localización del Estudio.....	8
1.2. Origen de las Muestras.....	8
1.3 Preparación de Muestras.....	8
Pasteurización a 75°C x 15 segundos.....	8
Pasteurización a 90°C x 5 minutos.....	10
1.4 Análisis de Muestras .....	11
1.5 Metodología Equipo MilkoScan FT1.....	11
Interferómetro.....	12
1.5.1 Características.....	12

1.5.2 Partes.....	13
1.5.3 Unidad del analizador.....	13
1.5.4 Principio de Funcionamiento.....	14
1.5.5 Calibración del MilkoScan FT1.....	15
Fase de Investigación Experimental aplicada a Escala Industrial.....	16
2.1 Localización del Estudio.....	16
2.2 Origen de la muestra.....	16
2.3 Preparación de Muestras (Pasteurización a 75 °C x 15 segundos).....	16

## **CAPITULO II**

### **RESULTADOS**

Fase Experimental in vitro.....	18
Hidrólisis de lactosa a Pasteurización de 90°C x 5 minutos (enzima adicionada a 30°C).....	18
Gráfico 1 HIDROLISIS DE LACTOSA A PASTEURIZACION DE 90°C (enzima adicionada a 30°C).....	18
Hidrólisis de lactosa a pasteurización de 75°C x 15 segundos (enzima adicionada a 30°C).....	18
Gráfico 2 HIDROLISIS DE LACTOSA A PASTEURIZACION DE 75° (enzima adicionada a 30°C).....	19
Hidrólisis de lactosa a pasteurización de 90°C x 5 minutos (enzima adicionada a 50°C).....	19
Gráfico 3 HIDROLISIS DE LACTOSA A PASTEURIZACION 90°C x 5 minutos (enzima adicionada a 50°C).....	19
Hidrólisis de lactosa a pasteurización de 75°C x 15 segundos (enzima adicionada a 50°C).....	20
Gráfico 4 HIDROLISIS DE LACTOSA A PASTEURIZACION 75°C x 15 segundos (enzima adicionada a 50°C).....	20
Variación de pH en pasteurización de 90°C x 5 minutos (enzima adicionada a 30°C).....	20
Gráfico 5 VARIACION DE pH EN PASTEURIZACION DE 90°C x5 minutos (enzima adicionada a 30°C).....	21
Variación de pH en pasteurización de 75°C x 15 segundos (enzima adicionada a 30°C).....	21

Gráfico 6 VARIACION DE pH EN PASTEURIZACION DE 75°C x15 segundos (enzima adicionada a 30°C).....	21
Variación de pH en pasteurización de 90°C x 5 minutos (enzima adicionada a 50°C).....	22
Gráfico 7 VARIACION DE pH EN PASTEURIZACION DE 90°C x5 minutos (enzima adicionada a 50°C)...	22
Variación de pH en pasteurización de 75°C x 15 segundos (enzima adicionada a 50°C).....	22
Gráfico 8 VARIACION DE pH EN PASTEURIZACION DE 75°C x15 segundos (enzima adicionada a 50°C)...	23
Gráfico 9 COMPORTAMIENTO DE ACIDEZ °D EN PASTEURIZACION 90°C x 5 minutos (enzima adicionada a 30°C).....	23
Gráfico 9.1 COMPORTAMIENTO DE ACIDEZ °D EN PASTEURIZACION 75°C x 15 segundos (enzima adicionada a 30°C).....	24
Estabilidad de proteína en pasteurización de 75°C x 15 segundos (enzima adicionada a 30°C).....	24
Gráfico 10 ESTABILIDAD DE PROTEINA EN PASTEURIZACION 75°C x 15 segundos (enzima adicionada a 30°C).....	24
Tabla 5 Resultados Fase Experimental Escala Industrial.....	25
Tabla 6 Parámetros de leche inicial # 1.....	25
Resultado de Monitoreo del desdoblamiento de lactosa .....	26
Tabla 7 Resultado de monitoreo del desdoblamiento de lactosa .....	26
Comportamiento de lactosa.....	26
Gráfico 11 Comportamiento de la Lactosa %.....	26
Comportamiento de la Acidez °D.....	27
Gráfico 12 Comportamiento de la Acidez °D.....	27
Comportamiento de pH.....	27
Gráfico 13 Comportamiento de pH.....	27
Comportamiento crioscopia.....	28

Gráfico 14 Comportamiento crioscopia.....	28
Parámetros de producto terminado.....	28
Tabla 8 Parámetros de producto terminado.....	28
Tabla 9 Condiciones de Experimento Industrial .....	29
Tabla 10 Parámetros de leche inicial # 2.....	29
Resultado de monitoreo del desdoblamiento de lactosa .....	30
Tabla 11 Resultado de monitoreo del desdoblamiento de lactosa .....	30
Comportamiento Lactosa.....	30
Gráfico 15 Comportamiento Lactosa.....	30
Comportamiento Acidez.....	31
Gráfico 16 Comportamiento Acidez.....	31
Comportamiento pH.....	31
Gráfico 17 Comportamiento pH.....	31
Comportamiento Crioscopia.....	32
Gráfico 18 Comportamiento Crioscopia.....	32
Tabla 12 Parámetros de producto terminado.....	32
Costos de Producción.....	33
Tabla 13 Costos de Producción 1.....	33
Tabla 14 Costos Producción 2.....	33
<b>DISCUSION</b> .....	34-35
Tabla 15 Resultados Producto terminado .....	36
<b>CONCLUSIONES</b> .....	37
Bibliografía.....	38

## **ANEXOS**

Anexo 1 Enzima Mayalac.....	39-40
Anexo 2 Imágenes FT1.....	41
Anexo 3 Imágenes Equipos utilizados para prueba industrial.....	42
Anexo 4 Tabla 1 Pasteurización a 90°C x 5 minutos, enzima adicionada a 30°C .....	43
Anexo 5 Tabla 2 Pasteurización a 90°C x 5 minutos, enzima adicionada a 50°C .....	44
Anexo 6 Tabla 3 Pasteurización a 75°C x 15 segundos enzima adicionada a 30°C.....	45
Anexo 7 Tabla 4 Pasteurización a 75°C x 15 segundos, enzima adicionada a 50°C.....	46
Anexo 8 Resultados de Laboratorio Acreditado.....	47

**INDICE DE FIGURAS**

Figura 1 Fórmula Lactosa.....	3
Figura 2 Molécula de Lactosa.....	4
Figura 3 Hidrólisis de Lactosa.....	4
Figura 4 Equipo FT1.....	6
Figura 5 Flujograma hidrólisis de lactosa utilizando pasteurización 75°C x 15 .....	9
Figura 6 Flujograma de hidrólisis de lactosa utilizando Pasteurización 90°C x 5 minutos.....	10
Figura 7 Esquema de instrumento FTIR .....	11
Figura 8 Flujograma de aplicación industrial.....	17

Ortiz Serpa Estrella Alexandra

Trabajo de graduación

Ing Claudio Sánchez

Marzo 2016

## **“ESTANDARIZACIÓN DE HIDRÓLISIS EN TANQUES PARA LIBERACIÓN EN PROCESO UHT EN LECHE DESLACTOSADA”**

### **INTRODUCCIÓN**

La industria de los alimentos ha sufrido cambios drásticos a lo largo de la historia, en el pasado el consumo de alimentos naturales, la elaboración de productos alimenticios en el hogar, la industria artesanal nos permitía un consumo de alimentos que satisfacían las necesidades en aquellos tiempos, en la actualidad las exigencias son mayores tanto en calidad como en variedad obligando a la industria a utilizar tecnología compleja y a manejar volúmenes altos siendo un reto la entrega de un producto de calidad.

El proceso industrial permite también la modificación de los alimentos en sabores, características, composición mejorando su valor nutricional, composición; existe alimentos procesados que se han convertido en parte indispensable de la dieta de los seres humanos un ejemplo de esto es la *leche deslactosada*.

La leche deslactosada es una leche especial que se caracteriza por un contenido bajo de lactosa debido a que esta se ha desdoblado a sacarosa y glucosa, esta leche es consumida por personas que presentan intolerancia o alergia a la lactosa (azúcar propia de la leche).

La diferencia entre Intolerancia y alergia se refiere a que en el caso de la primera el intestino humano no sintetiza la enzima lactasa en cantidad insuficiente para el desdoblamiento de la lactosa en glucosa y galactosa.

Existen tres grados de intolerancia:

- Intolerancia primaria genética o hipolactasia adquirida (LNP Lactase-nonpersistence), genética, progresiva e incurable.
- Intolerancia secundaria, temporal y curable.
- Intolerancia congénita o hipolactasia congénita (CLD Congenital lactase deficiency), genética, de nacimiento e incurable.

Los síntomas más comunes son: náuseas, cólicos, distensión abdominal, flatulencia, diarrea.

En el caso de Alergia el organismo reconoce a la lactasa como un agente nocivo.

La lactosa es un carbohidrato y al no ser absorbido correctamente, se queda en el organismo produciendo molestias como: picazón, sensación de tensión en el pecho, náusea, vómito, mareos dificultad al respirar.

La leche industrializada juega un papel interesante en estas afecciones por su fácil metabolismo en el organismo, por su sabor más dulce y porque su aporte de grasa es bajo ya que esta puede ser entera, semidescremada o descremada en nuestro caso se trata de una leche con 1.8 a 2% de grasa.

Obtener de manera industrial una leche baja en lactosa, permite a millones de personas alérgicas o con intolerancia a la lactosa poder consumir leche, fuente de proteínas, vitaminas, minerales, calcio esencial para mantener los huesos sanos y prevenir enfermedades como osteoporosis.

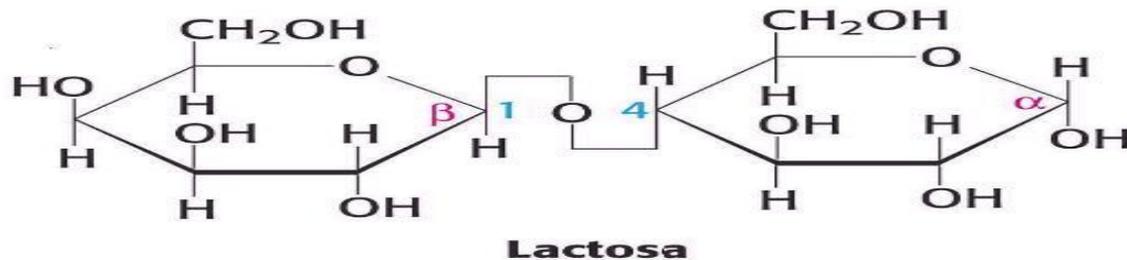
La salud del ser humano se mantiene con el consumo de alimentos de calidad, ya que la comida es el mejor medicamento.

## **Lactosa**

Disacárido compuesto por glucosa y galactosa, presente en leche de mamíferos con fórmula  $C_{12}H_{22}O_{11}$ , su función en el organismo es aportar energía que es utilizada para

realizar actividad física y mantener el metabolismo basal, evita que la proteína ingerida diariamente sea utilizada como fuente de energía.

*Figura 1 Fórmula Lactosa*



*Fuente ([tiempodeexito.com/bioquímica/17.html](http://tiempodeexito.com/bioquímica/17.html))*

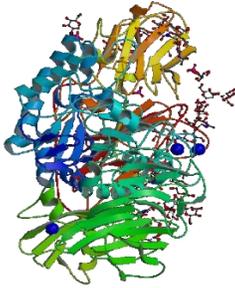
Su importancia radica en que para su absorción en el organismo necesita ser desdoblada a sus monosacáridos por la enzima lactasa presente en el intestino delgado, si por concentraciones bajas de esta enzima o por la falta de producción de la misma no se realiza este desdoblamiento a causando el síndrome de Intolerancia a la lactosa.

## Hidrólisis

En la industria alimentaria el desdoblamiento de la lactosa es uno de los procesos más importantes, el método utilizado en nuestro estudio es la enzimática

## Hidrólisis Enzimática

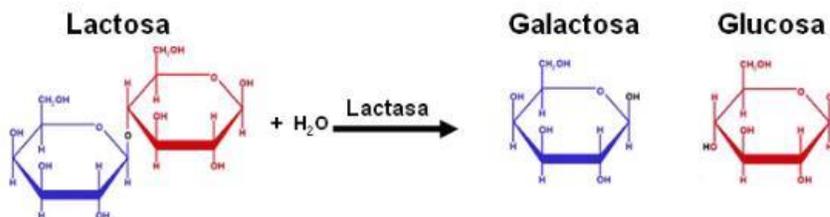
Es producida por un grupo de enzimas llamadas hidrolasas que ejercen un efecto catalítico hidrolizante, es decir producen la ruptura de enlaces por agua.

**Figura 2 Molécula B-galactosidasa**

Fuente ([http://1.bp.blogspot.com/\\_io1sdl0vbq8/SqdC5MObh8I/AAAAAAAAAEE/ELf6SSnKrcM/s320/gluconasa](http://1.bp.blogspot.com/_io1sdl0vbq8/SqdC5MObh8I/AAAAAAAAAEE/ELf6SSnKrcM/s320/gluconasa))

La enzima B-galactosidasa, también llamada lactasa es ampliamente utilizada en la industria láctea para la hidrólisis de la molécula de lactosa, se trata de una oxidasa que rompe el enlace  $\beta$ -1,4-glicosídico y libera sus correspondientes monosacáridos glucosa y galactosa (Badui Dergal Salvador, 1993), esto permite la preparación de diversos productos lácteos, especialmente para el consumo por individuos intolerantes al disacárido. La hidrólisis de la lactosa modifica sus propiedades funcionales y previene la cristalización, aumentando la vida útil de los productos lácteos así como la disponibilidad de azúcares fácilmente fermentables.

El pH, la temperatura, calidad y la cantidad de sustrato influyen significativamente sobre la acción de la enzima (Jeremy M. Berg, John L. Tymoczko, Lubert Stryer, 2007)

**Figura 3 Hidrólisis de Lactosa**

Fuente ([tiempodeexito.com/bioquímica/17.html](http://tiempodeexito.com/bioquímica/17.html))

El mecanismo de acción de la lactasa de naturaleza transgalactosídica se produce de la siguiente forma: en primer lugar se produce la hidrólisis en la molécula de lactosa en glucosa libre y complejo B-galactosidasa-galactosa. La enzima transfiere galactosil para un receptor, el cual contiene un grupo hidroxilo. Siendo el agua este receptor, la hidrólisis de una molécula de lactosa producirá una de glucosa libre y una de galactosa libre. Siendo otra molécula de lactosa la receptora, se formará un trisacárido, el cual actuará como otro receptor, formando tetrasacáridos. La formación de oligosacáridos es más acentuada en mayores concentraciones de lactosa, y la capacidad de actuación de la lactasa dependerá de la conexión formada. La hidrólisis de la lactosa provoca modificaciones en las características físicas y químicas (Jeremy M.Berg, John L.Tymoczko, Lubert Stryer,2007).

### **MilkoScan™ FT1**

El MilkoScan FT1 es una plataforma sólida para el análisis de leche líquida, que emplea la tecnología de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR), que a su vez evita que el operador tenga que manipular sustancias químicas. Las pruebas se realizan fácilmente y existe un riesgo muy bajo de que el operador pueda cometer ningún error. El interferómetro FTIR analiza el espectro infrarrojo medio completo. También se trata de una solución de FTIR muy sólida, que se puede usar en laboratorio y ofrece una buena repetibilidad y sensibilidad.

La precisión y repetibilidad de los resultados son equiparables (o superiores) a las de los métodos químicos, pero sin los largos tiempos de pruebas. El rendimiento es conforme a la AOAC (Association of Analytical Chemists) y la IDF (International Dairy Federation).

Los resultados se guardan automáticamente en un PC, para permitir su trazabilidad.

Es ideal para:

- El control rápido en plataforma de recepción, lo que permite optimizar la separación de la materia prima, pago justo y detección de anomalías.
- La estandarización de la leche para aprovechar al máximo las materias primas y conseguir productos de calidad constante

- Supervisión de producto terminado.
- Determinación de grasa, proteína, lactosa, sólidos totales, SNF, FPD, acidez total, densidad, FFA, ácidos cítricos, caseína, urea, sacarosa, glucosa y fructosa

**Figura 4 Equipo FT1**



Fuente ([foss.es/industry-solution/products/milkoscan-ft1](http://foss.es/industry-solution/products/milkoscan-ft1))

## **OBJETIVO GENERAL**

- Estandarizar la hidrólisis en tanques para liberación en proceso UHT en leche deslctosada.

## **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Determinar concentración de lactosa residual en leche deslactosada UHT antes de liberar.
- Optimizar tiempos de producción
- Determinar costos de producción

## **CAPITULO I**

### **MATERIALES Y METODOS**

#### **1.1 Localización del Estudio**

El análisis de determinación del porcentaje residual de lactosa se realizó en el laboratorio de Lácteos San Antonio en la ciudad de Cuenca.

#### **1.2 Origen de las muestras**

Las muestras para pasteurización de 72°C x 15 segundos fueron tomadas de los silos en proceso de producción, en cuanto a las muestras para pasteurización a 90°C x 5 minutos se recolectaron de la recepción de leche cruda de forma aleatoria.

El volumen de muestra fue de 2 litros para trabajar con una sola matriz para las dos temperaturas (30°C y 50°C) de adición de enzima Mayalac 5000 (Anexo 1).

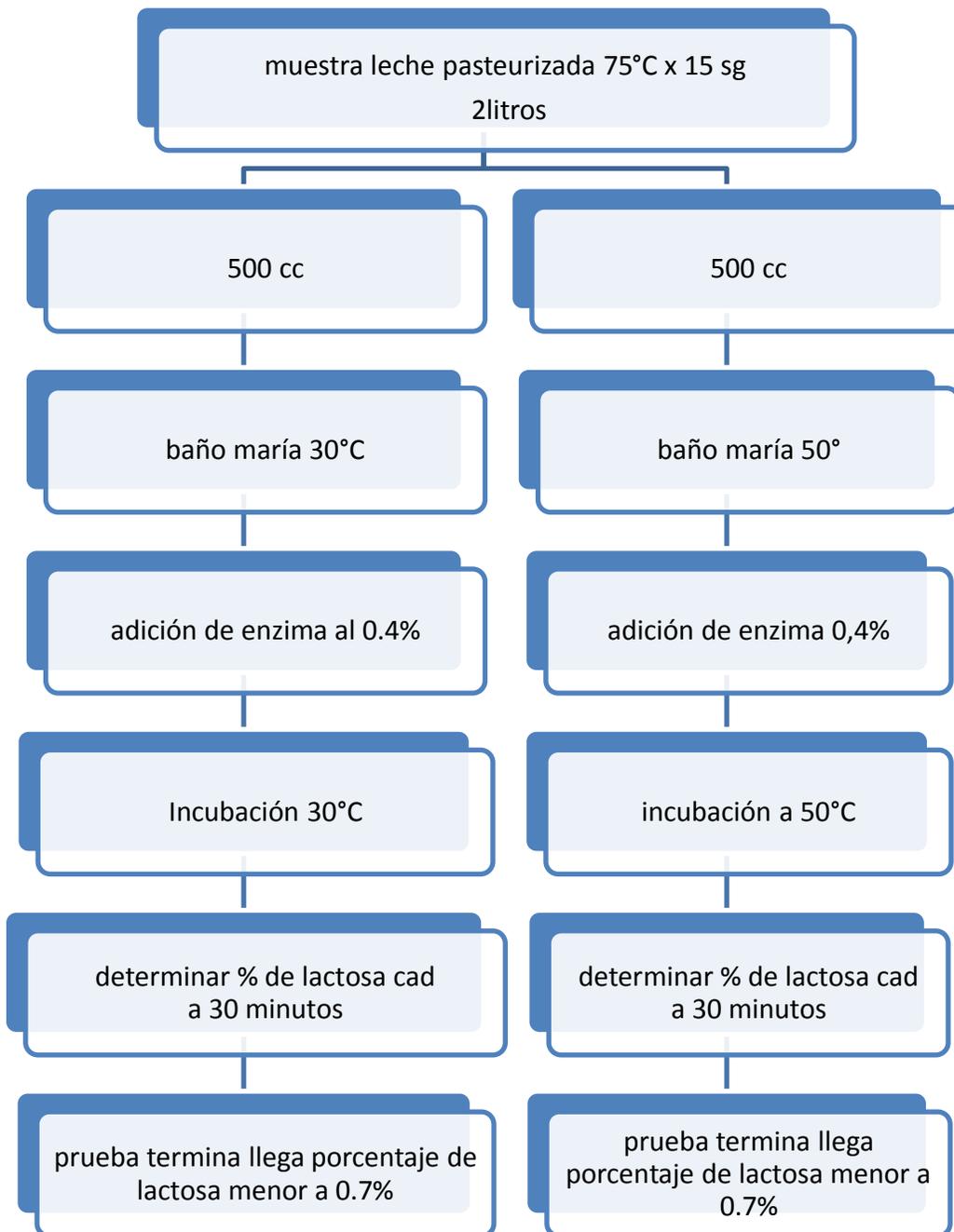
#### **1.3 Preparación de muestras**

La pasteurización a 75°C x 15 segundos se optimizó tomando las muestras directamente de proceso (figura 5), en cuanto a la pasteurización de 90°C x 5 minutos se la realizó como indica figura 6.

#### **Pasteurización a 75°C x 15 sg**

Las muestras utilizadas has sido pasteurizadas y almacenadas en silos, se toma la muestra se determina pH y porcentaje de lactosa, se procede como indica la figura 5

Figura 5 Flujograma hidrólisis de lactosa utilizando pasteurización 75°C x 15 segundos



### Pasteurización a 90°C x 5 minutos

Las muestras de leche cruda se determinan pH, % de lactosa y determinación de aerobios.

Las muestras se colocan en ollas de acero inoxidable aproximadamente 2 litros para someter a temperatura de 90°C utilizando una cocineta eléctrica, una vez alcanzada la temperatura se baja la intensidad de calor y se mantiene durante 5 minutos.

**Figura 5** Flujograma de hidrólisis de lactosa utilizando *Pasteurización 90°C x 5 minutos*



## 1.4 Análisis de muestras

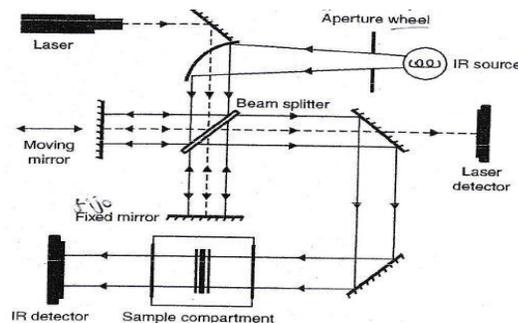
Las muestras preparadas con enzimas a 30°C y 50°C son analizadas cada 30 minutos a partir de la adición de la betagalactosidasa, en un equipo llamado MilkoScan FT1 que utiliza la tecnología de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR).

## 1.5 Metodología Equipo MILKOSCAN FT1.

MilkoScan FT1 efectúa el análisis de diversos parámetros fisicoquímicos de la leche cruda (materia grasa, ST, SNG, densidad, acidez, entre los principales) mediante la tecnología de infrarrojo transformada de Fourier (FTIR).

Los principales componentes de un hardware FTIR son: la fuente (IR source), el haz separador (Beam splitter), el interferómetro, el detector (IR detector) y un laser de referencia (Laser).

*Figura 6 esquema de instrumento FTIR*



Fuente: Da-Wen Sun, 2009.

Cuando la materia es expuesta a la radiación electromagnética, ésta puede ser absorbida, transmitida, reflejada, dispersada, o bien puede producirse fotoluminiscencia. Este último término es utilizado para designar diferentes efectos como fluorescencia, fosforescencia y dispersión Raman (Universidad de Valparaíso, 2010).

Cuando la luz incidente interactúa con la materia y es absorbida surge lo que se conoce como espectroscopía de absorción, que puede ser ultravioleta (UV), visible (V), o espectroscopía de absorción infrarroja (IR), según la energía de la luz incidente

La espectroscopia infrarroja media (MIR) se basa entonces, en la absorción de luz infrarroja (4000 a 400 nm) por parte de las moléculas. Esta absorción produce la excitación de los estados vibracionales, estiramientos y balanceos y estados rotacionales de algunas moléculas, que poseen una frecuencia de vibración en el rango infrarrojo del espectro electromagnético. FTIR es una técnica de espectroscopia vibracional que se ha utilizado para la identificación en campo de sustancias desconocidas durante más de 10 años (Rodríguez, Gatti, Otheguy, & Vega, 2010).

### **Interferómetro**

El motor de un sistema de FTIR. Un interferómetro convencional funciona mediante la división de la luz IR de una fuente espectral en dos haces y reflejando un haz a partir de un espejo fijo y el otro a partir de un espejo móvil. El espejo móvil introduce un retardo de tiempo que genera una mezcla de interferencia constructiva y destructiva cuando se recombinan los haces. La exploración de esta señal en función de la posición del espejo produce un interferograma, que se puede reconstruir en un espectro de IR empleando matemática transformada de Fourier (Smith Detection, 2014). El término espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier se origina en el hecho de que una transformada de Fourier se requiere para convertir los datos brutos en el espectro real (Docsetools, 2014).

#### **1.5.1 CARACTERÍSTICAS**

Es un producto de láser de clase I. En condiciones normales de uso, no existe riesgo de radiación.

El láser integrado es de clase 3B con las siguientes especificaciones:

- Tipo: Láser de Helio-Neón.
- Salida máxima de laser: 5mV.
- Longitud de onda emitida: 632,8nm. 9.3.

## 1.5.2 PARTES

El sistema consta de dos partes vitales:

- a. La unidad del analizador
- b. El software de MilkoScan FT1.

Unidad del analizador y Software del Equipo MilkoScan FT1. FOTOGRAFIA

### 1.5.3 Unidad del analizador.

DESCRIPCIÓN.

El instrumento posee 3 LED de estado situados en la parte delantera. Las Luces LED indican lo siguiente:

- LED verde en: listo para el análisis.
- LED verde en: el instrumento ya está analizando o en modo de almacenamiento, el PC está arrancando o se ha producido algún fallo de funcionamiento.
- LED rojo en: encendido.

Partes externas de la unidad del analizador.

1. LED: listo para el análisis.
2. Botón de inicio.
3. LED: analizando.
4. Pipeta.
5. Estante de muestras.
6. Salida de residuos.
7. LED: encendido.
8. Cubierta frontal.
9. Conector USB. 1
10. Selector de tensión.

11. Filtro de aire.
12. Conector de tierra.
13. Cable de alimentación.
- 14 .Encendido/apagado.
15. Fusible térmico

Cubierta delantera de la unidad del analizador.

Piezas internas detrás de la cubierta delantera.

1. Cubierta derecha 2.
2. Bomba peristáltica 3
3. Válvulas 4.
4. Intercambiador de calor 5
5. Cubierta izquierda 6.
6. Válvula unidireccional 7.
7. Regulador de presión 8
8. Bomba de alta presión 9.
9. Pipeta: líquido de encerado 10.
10. Pipeta: líquido limpio.

#### **1.5.4 PRINCIPIO DE FUNCIONAMIENTO.**

Cuando hay una muestra bajo la pipeta y el analizador se pone en marcha, ocurren 4 sucesos:

1. La pipeta empieza a vibrar para mantener el filtro limpio.
2. La bomba peristáltica empieza a bombear.
3. La bomba de alta presión empieza a bombear.
4. La válvula de derivación se abre para que los residuos puedan salir del sistema.

Se requiere una presión alta para bombear el líquido a través de intercambiador de calor, especialmente cuando se trata de productos de elevada viscosidad. Esta presión se consigue por la bomba peristáltica, que funciona como una bomba reforzadora de presión para la bomba de alta presión. Cuando pasa por el intercambiador de calor, la muestra se

calienta a 40°C a partir de una temperatura inicial de entre 5 y 39°C. Es posible medir muestras individuales de hasta 55°C, pero si se coloca una serie de muestras calientes, el interferómetro se sobrecalentará y lo cual provocará una avería. Una vez calentada la muestra, esta pasa al intercambiador de calor. Aquí la muestra se homogeniza en el homogeneizador integrado de dos fases, en el cual existe una presión de 200 bares. Dicha presión aumenta por acción de la bomba de alta presión. Luego de pasar por el homogeneizador, la muestra recorre el filtro en la línea y sale por la válvula de derivación, para llegar al contenedor de residuos. Así se limpia la muestra anterior del sistema y se expulsa las partículas del filtro en la línea. El 85% de muestra pasa por aquí y el resto sigue esta ruta: La válvula de derivación se cierra. Esto significa que el líquido de muestra pasa por el filtro en la línea y se dirige a la cubeta. En el filtro en la línea, se eliminan todas las partículas que podrían dañar la cubeta. Posteriormente la muestra pasa por el regulador de presión y se dirige hacia la zona de desecho. Esto dura hasta que toda la muestra restante haya sido bombeada por todo el sistema y el análisis finalice (FOSS Analytical A/S, 2011). Anexo 2

#### **1.5.5 Calibración del MilkoScan FT1.**

El MilkoScan FT1 es suministrado con una calibración básica o más correctamente llamado "Modelo de Predicción". Estos modelos son hechos gracias al análisis de muestras alrededor del mundo. Este modelo predictivo relaciona el valor del parámetro fisicoquímico que se obtiene con equipo con el valor obtenido por el método oficial. Luego el software de calibración del equipo, calcula y emite un valor (FOSS, 2011). Cuando realizamos la instalación del MilkoScan FT1 podría haber pequeñas diferencias con la Calibración Global, razón por la cual es necesario realizar un ajuste de la calibración de manera local. El ajuste se efectúa mediante un juego de muestras.

En cada colección de muestras se incluirá los espectros infrarrojos del producto local y la química de la referencia valorada para esta muestra por métodos oficiales emitidos en la guía del equipo Milkoscan FT1 (FOSS Analytical A/S, 2011).

En el proceso de calibración se pone en correlación los espectros infrarrojos proporcionados por el equipo y la química de referencia obtenida por métodos oficiales, mediante una ecuación que se obtiene por un método de regresión lineal (FOSS, 2011). FOSS proporciona un software básico para la calibración para leche, crema y suero.

El ajuste de la calibración se debe realizar para asegurar el óptimo funcionamiento del sistema, en cuanto al análisis de sus productos (FOSS, 2011)

Este equipo está conectado a un PC equipado con un software, la medición se realiza por duplicado y el valor del resultado es la media de las 2 divisiones lo que lleva a que sea un valor más exacto.

La fase experimental in vitro se realizó con 30 muestras para cada pasteurización, de las cuales 30 muestras se analizó a 30°C y 30 muestras a 50°C, siendo un total de 120 muestras.

## **2. FASE DE INVESTIGACIÓN Y EXPERIMENTAL APLICADA A NIVEL INDUSTRIAL**

Con los datos obtenidos del experimento in vitro, se procede aplicar la investigación a escala industrial,

### **2.1 Localización del Estudio**

Las pruebas a escala industrial se realizan en el área de mezclas de la empresa Lácteos San Antonio Cuenca

### **2.2 Origen de la muestra**

La muestra de leche pasteurizada a 75 °C x 15 sg se desvió desde el silo 7 hasta la marmita del área de mezclas por medio de un sistema cerrado de tubería

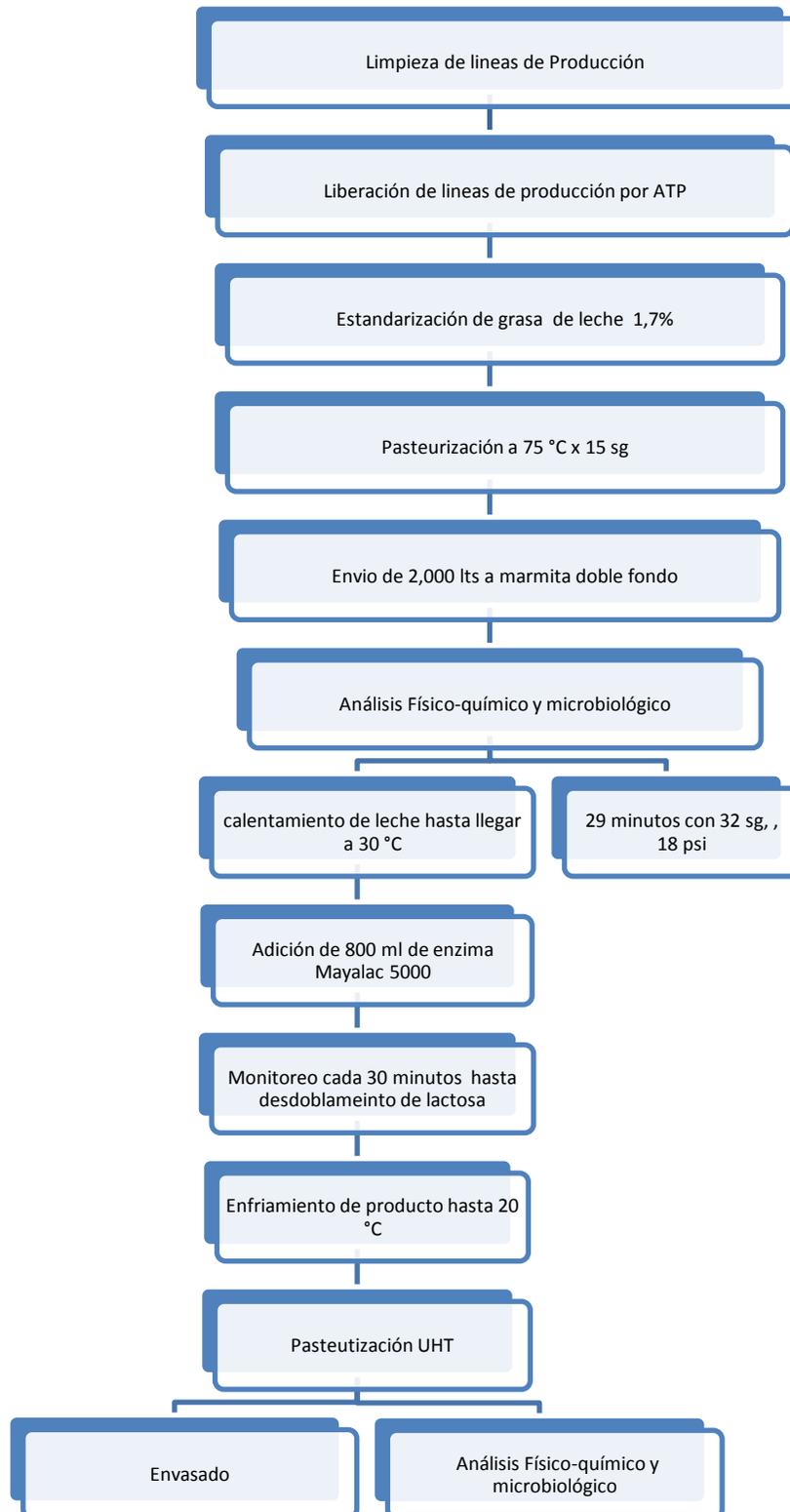
El volumen de muestra fue de 2.000 litros y se trabajó a una temperatura de 30 °C para adicionar la enzima.

### **2.3 Preparación de muestras**

#### **Pasteurización a 75°C x 15 sg**

La leche utilizada para el estudio se pasteurizó y almacenó en silos, se toma la muestra se determina pH, acidez, alcohol 80 °GL, grasa, punto crioscópico, porcentaje de lactosa, determinación de coliformes totales, aerobios totales, los equipos que se emplearon en el proceso se indican en el Anexo 3. Antes de iniciar el experimento se procede con la liberación de las líneas de producción a través de ATP.

Figura 8 Flujograma de aplicación industrial



## CAPITULO II

### RESULTADOS

#### Fase Experimental in vitro

La fase experimental se realizó con 60 muestras para cada pasteurización analizando un total de 120 muestras.

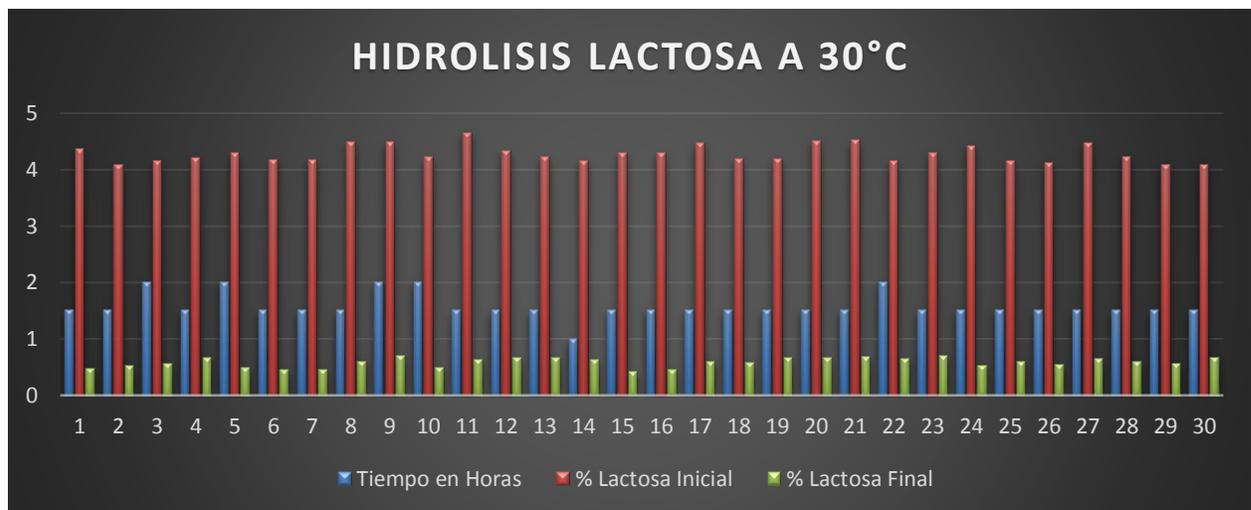
Los resultados corresponde al porcentaje de lactosa residual que detecta el equipo FT1;

A continuación se detalla en tablas los resultados de las pruebas realizadas:

#### HIDROLISIS DE LACTOSA A PASTEURIZACION DE 90°C x 5 minutos(enzima adicionada a 30°C)

Las 30 muestras pasteurizadas a 90°C tiene como promedio un porcentaje de lactosa inicial de 4.27% (barra roja), al adicionar la enzima a 30°C el porcentaje de lactosa final tiene un promedio de 0.57% (barra verde) en un tiempo promedio de 1 hora 56 minutos

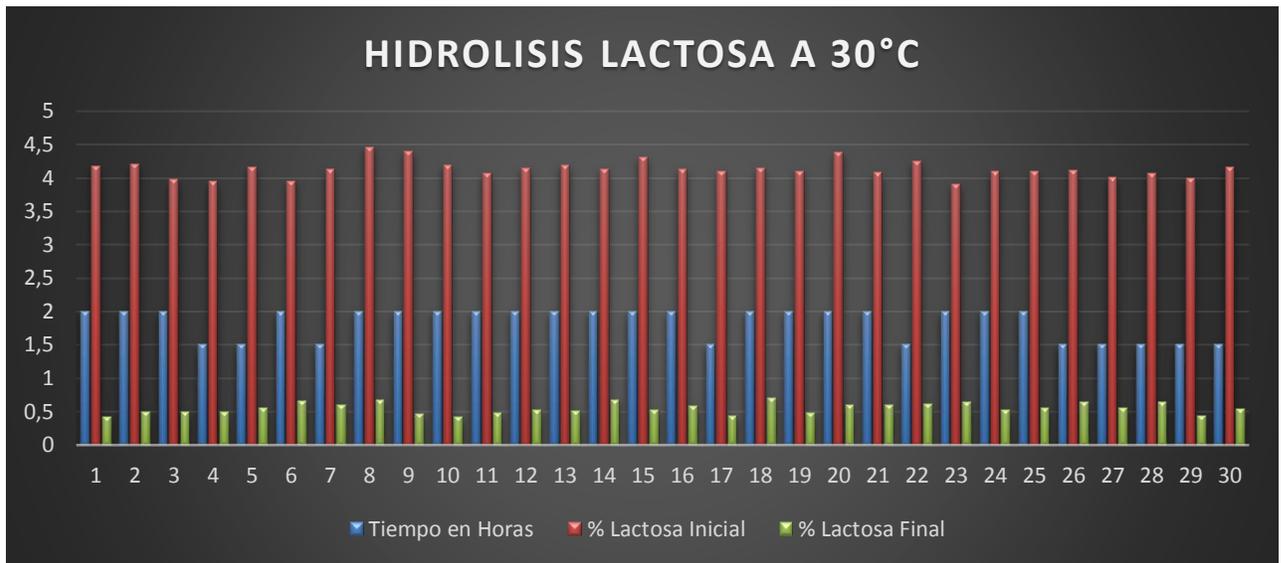
*Gráfico 1 HIDROLISIS DE LACTOSA A PASTEURIZACION DE 90 ( enzima adicionada a 30°C)*



#### HIDROLISIS DE LACTOSA A PASTEURIZACION DE 75° x 15 segundos ( enzima adicionada a 30°C)

Las 30 muestras pasteurizadas a 75°C tiene como promedio un porcentaje de lactosa inicial de 4.13 % (barra roja), al adicionar la enzima a 30°C el porcentaje de lactosa final tiene un promedio de 0.55% (barra verde) en un tiempo promedio de 2horas 23 minutos

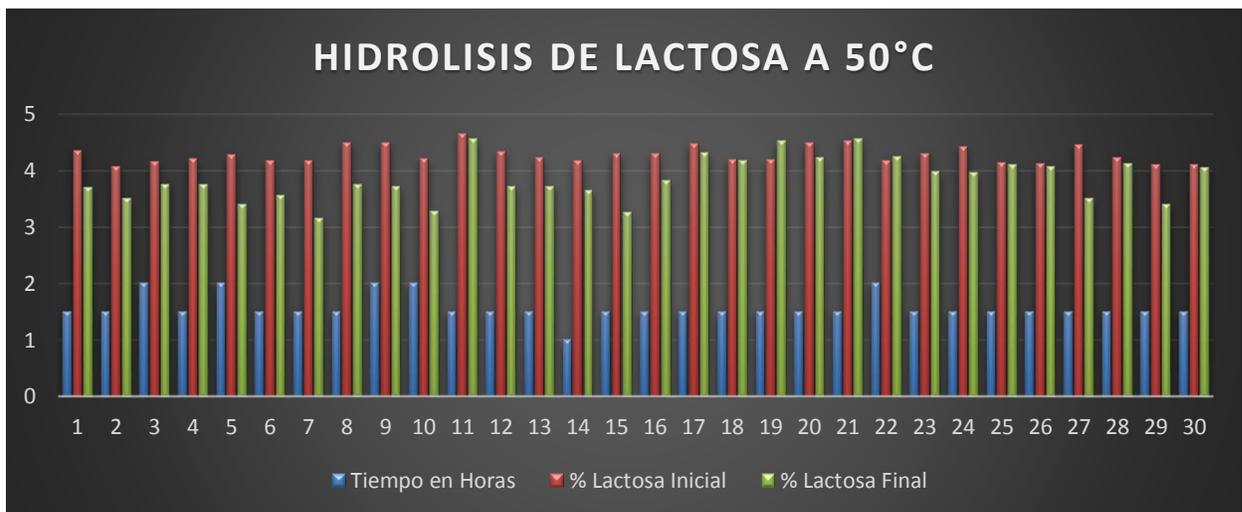
Gráfico 2 HIDROLISIS DE LACTOSA A PASTEURIZACION DE 75° ( enzima adicionada a 30°C)



**HIDROLISIS DE LACTOSA A PASTEURIZACION 90°C x 5 minutos(enzima adicionada a 50°C)**

Las 30 muestras pasteurizadas a 90°C tiene como promedio un porcentaje de lactosa inicial de 4.27 % (barra roja), al adicionar la enzima a 50°C el porcentaje de lactosa final tiene un promedio de 3.84% (barra verde) en un tiempo promedio de 1horas 56 minutos, como observamos en el gráfico no se produce la hidrólisis de lactosa.

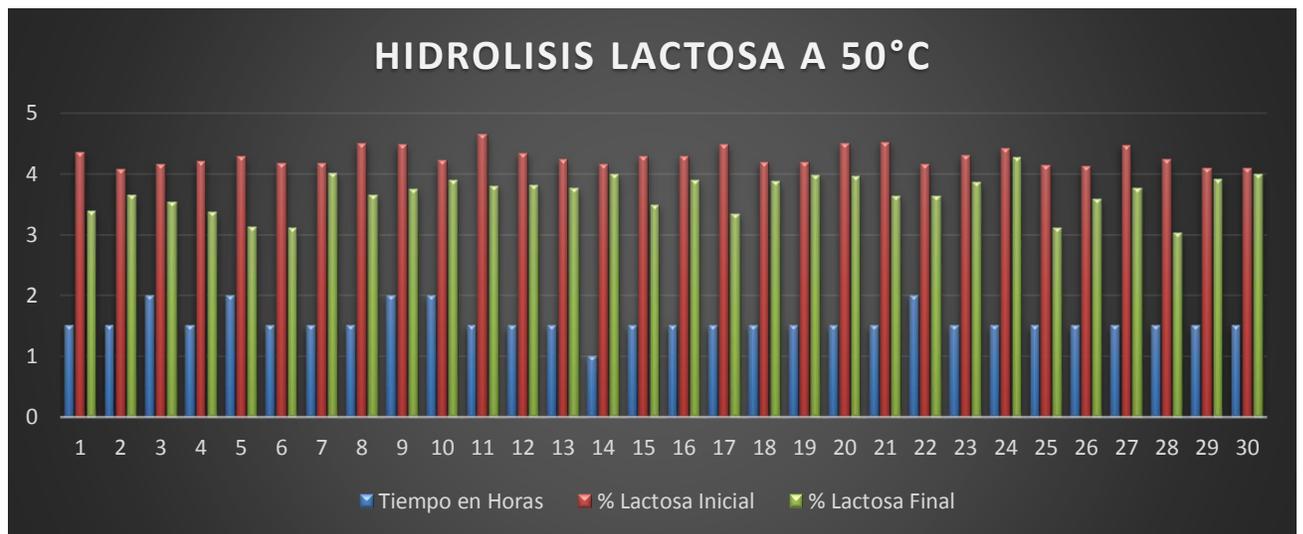
Gráfico 3 HIDROLISIS DE LACTOSA A PASTEURIZACION 90°C x 5 minutos(enzima adicionada a 50°C)



### HIDROLISIS DE LACTOSA A PASTEURIZACION 75°C x 15 segundos (enzima dicionada a 50°C)

Las 30 muestras pasteurizadas a 75°C tiene como promedio un porcentaje de lactosa inicial de 4.27 % (barra roja), al adicionar la enzima a 50°C el porcentaje de lactosa final tiene un promedio de 3.66% (barra verde) en un tiempo promedio de 1horas 56 minutos, como observamos en el gráfico no se produce la hidrólisis de lactosa.

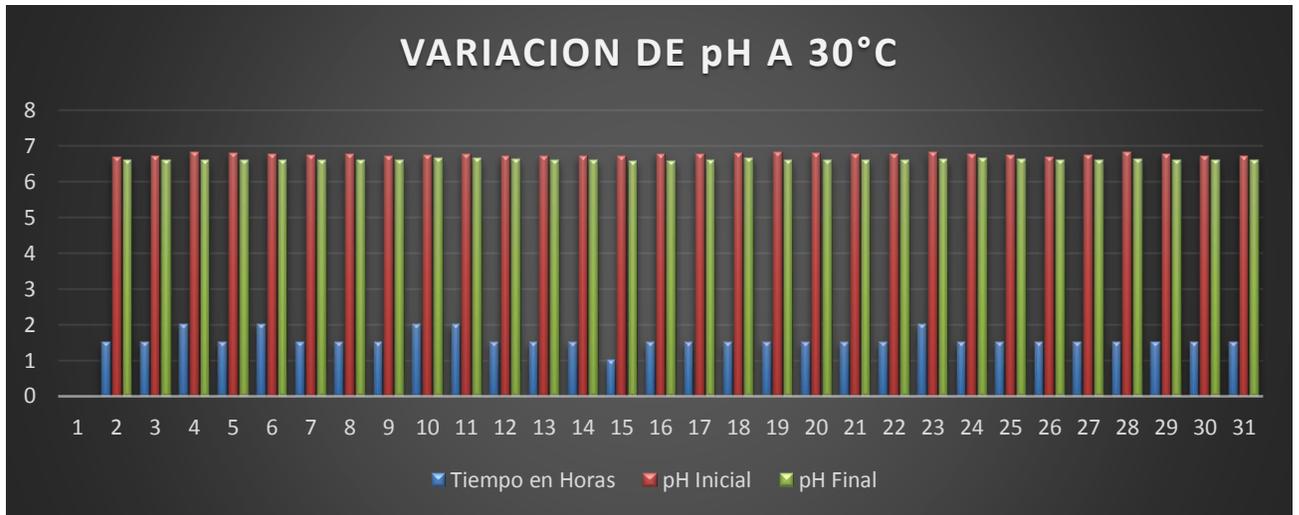
*Grafico 4 HIDROLISIS DE LACTOSA A PASTEURIZACION 75°C x 15 segundos (enzima dicionada a 50°C)*



### VARIACION DE pH EN PASTEURIZACION DE 90°C x5 minutos (enzima adicionada a 30°C)

Las 30 muestras pasteurizadas a 90°C al adicionar la enzima a 30°C, tiene como promedio un pH inicial de 6.74 (barra roja), al terminar la prueba en un tiempo promedio de 1hora 56 minutos (barra azul) el promedio del valor de pH es de 6.60 (barra verde), a pesar de que la leche se mantiene a una temperatura de 30°C la variación de pH no es significativa.

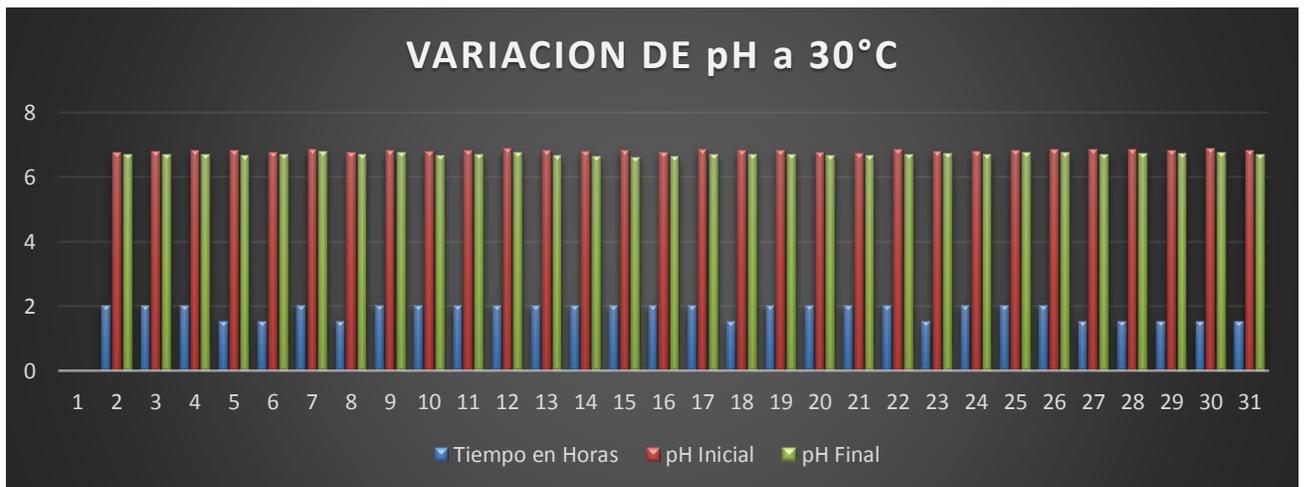
**Gráfico 5 VARIACION DE pH EN PASTEURIZACION DE 90°C x5 minutos (enzima adicionada a 30°C)**



**VARIACION DE pH EN PASTEURIZACION DE 75°C x15 segundos (enzima adicionada a 30°C)**

Las 30 muestras pasteurizadas a 75°C al adicionar la enzima a 30°C tiene como promedio un pH inicial de 6.80 (barra roja), al terminar la prueba en un tiempo promedio de 2horas 23 minutos (barra azul) el promedio del valor de pH es de 6.69 (barra verde), a pesar de que la leche se mantiene a una temperatura de 30°C la variación de pH no es significativa.

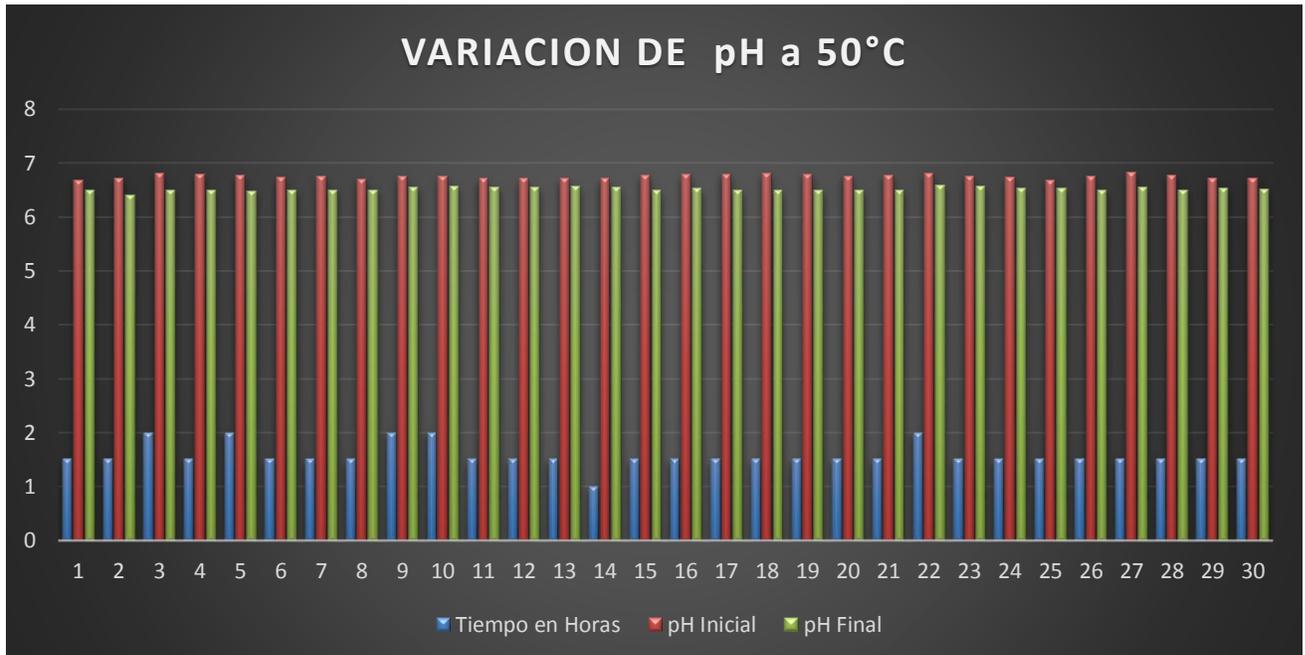
**Gráfico 6 VARIACION DE pH EN PASTEURIZACION DE 75°C x15 segundos (enzima adicionada a 30°C)**



### VARIACION DE pH EN PASTEURIZACION DE 90°C x5 minutos (enzima adicionada a 50°C)

Las 30 muestras pasteurizadas a 90°C al adicionar la enzima a 50°C, tiene como promedio un pH inicial de 6.74 (barra roja), al terminar la prueba en un tiempo promedio de 1 hora 56 minutos (barra azul) el promedio del valor de pH es de 6.51 (barra verde), se observa una baja significativa en el valor de pH lo cual implica la posibilidad de tener inestabilidad de proteína.

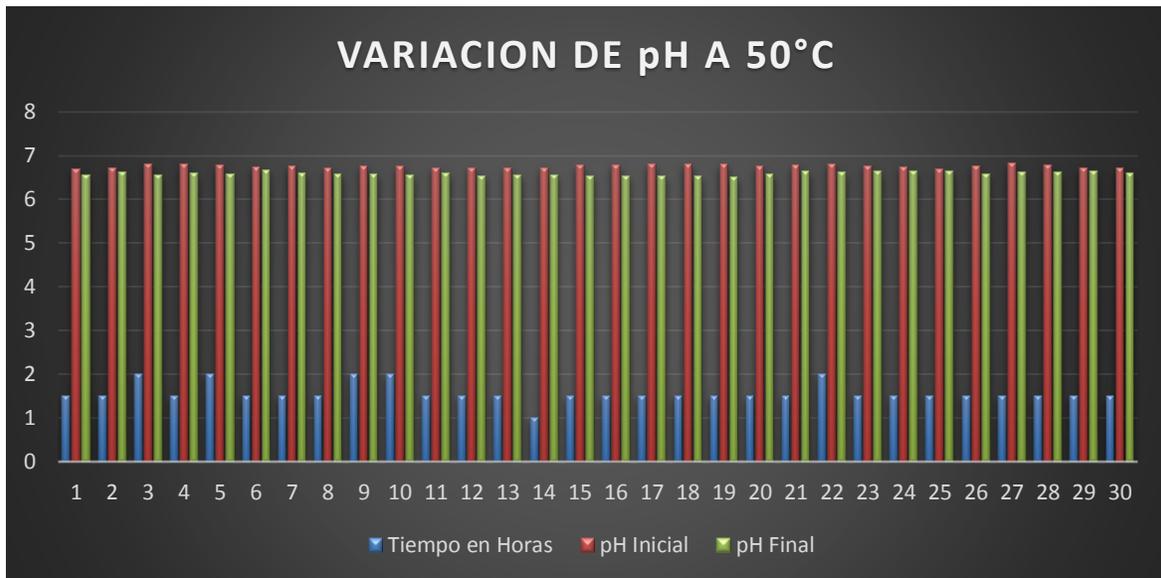
*Gráfico 7 VARIACION DE pH EN PASTEURIZACION DE 90°C x5 minutos (enzima adicionada a 50°C)*



### VARIACION DE pH EN PASTEURIZACION DE 75°C x15 segundos (enzima adicionada a 50°C)

Las 30 muestras pasteurizadas a 75°C al adicionar la enzima a 50°C tiene como promedio un pH inicial de 6.74 (barra roja), al terminar la prueba en un tiempo promedio de 1 hora 56 minutos (barra azul) el promedio del valor de pH es de 6.57 (barra verde), se observa una baja en el valor de pH pero no significativo.

Gráfico 8 VARIACION DE pH EN PASTEURIZACION DE 75°C x15 segundos (enzima adicionada a 50°C)

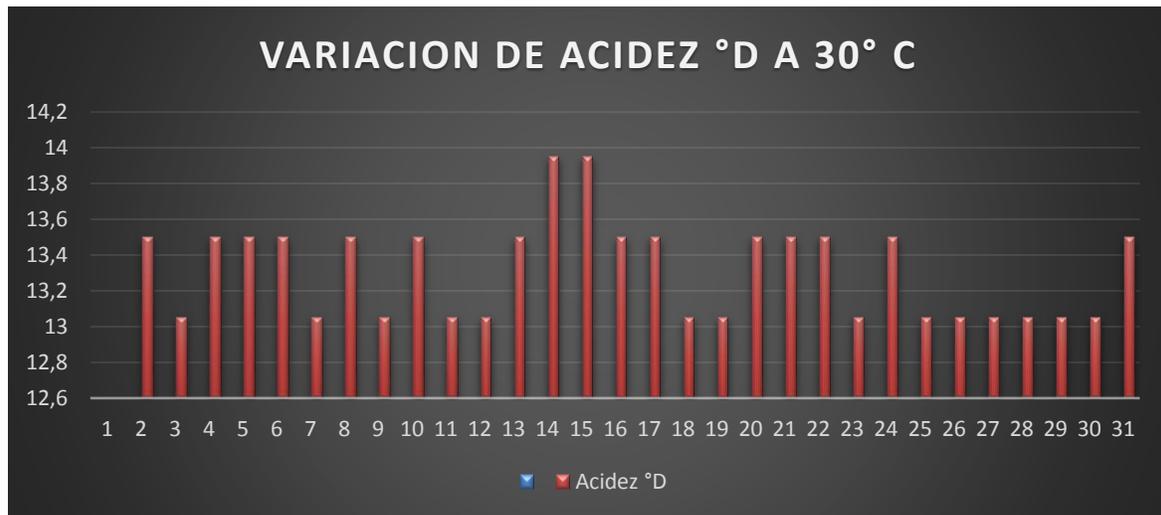


La determinación del valor de acidez en grados Dornic se realizó una vez terminado el desdoblamiento de lactosa, por lo que para el análisis de resultados tomamos en consideración la adición de enzima a 30°C y contrastamos ambos gráficos, observando que en la pasteurización a 90°C los valores de acidez van desde 13.05°D hasta 13.95°D (gráfico 9), mientras que en la pasteurización a 75°C los valores son estables desde 13.05 hasta 13.5 (gráfico 9.1)

Gráfico 9 COMPORTAMIENTO DE ACIDEZ °D EN PASTEURIZACION 90°C x 5 minutos (enzima adicionada a 30°C)



**Gráfico 9.1 COMPORTAMIENTO DE ACIDEZ °D EN PASTEURIZACION 75°C x 15 segundos (enzima adicionada a 30°C**



**ESTABILIDAD DE PROTEINA EN PASTEURIZACION 75°C x 15 segundos (enzima adicionada a 30°C)**

El análisis de la estabilidad de la proteína se realizó al termino de la prueba de la pasteurización más favorable de nuestro estudio (75°C x 15 segundos), la interpretación es negativo para todas las 30 muestras analizadas.

**Gráfico 10 ESTABILIDAD DE PROTEINA EN PASTEURIZACION 75°C x 15 segundos (enzima adicionada a 30°C)**



El valor negativo se representó por 1 para graficar.

## RESULTADOS FASE EXPERIMENTAL ESCALA INDUSTRIAL

*Tabla 5 RESULTADOS FASE EXPERIMENTAL ESCALA INDUSTRIAL*

Volumen de leche	2.000 lts
Cantidad de enzima adicionada	800 ml
Temperatura de leche inicial	8 °C
Tiempo necesario para llegar a 30°C	29 minutos con 32sg
Flujo de vapor	18 psi
Hora de arranque de prueba	9:00 am
Hora de adición de enzima	9:45 am
Hora de finalización	13:15 pm
Tiempo de espera para enfriamiento a 16°C	1 hora
Temperatura de leche para proceso UHT	16°C

### Parámetros de leche inicial # 1

*Tabla 6 Parámetros de leche inicial # 1*

PARAMETRO ANALIZADO	VALOR
Acidez °D	12.6
pH	6.80
Crioscopia mH	-0.542
% grasa	1.7
% de lactosa	4.47
Alcohol 80°GL	Negativo
Coliformes Totales ufc/ml	< 1 ufc/ml
Aerobios Mesófilos ufc/ml	< 10 ufc/ml

### Resultado de monitoreo del desdoblamiento de lactosa

El porcentaje de lactosa inicial es de 4.47%, transcurrido 2 horas 30 minutos se tiene un porcentaje de lactosa final de 0.68% valor que por norma INEN 701 categoriza a la leche como baja en lactosa (lactosa menor a 0.7% )

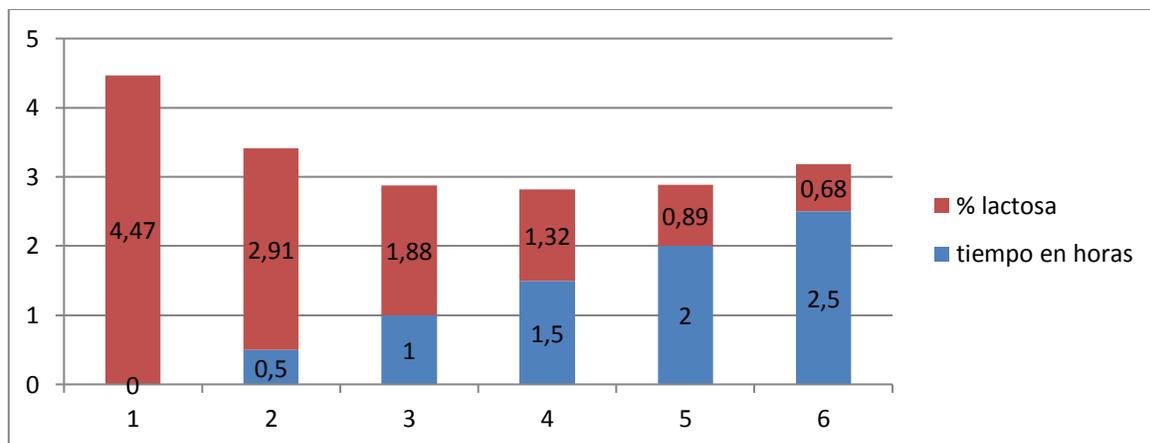
*Tabla7 Resultado de monitoreo del desdoblamiento de lactosa*

Hora Analisis	Tiempo en horas	pH	Acidez °D	Crioscopia mH	% Lactosa	Alcohol 80°GL
10:15	0.5	6.70	13.05	627	2.91	negativo
10:45	1	6.66	13.5	6.70	1.88	negativo
11:15	1.5	6.66	13.5	6.92	1.32	negativo
11:45	2	6.60	13.5	722	0.89	negativo
12:00	2.5	6.60	13.5	734	0.68	negativo

### Comportamiento de la Lactosa %

Al iniciar la prueba se tiene un porcentaje de lactosa de 4.47 (barra roja), al cabo de 2 horas 30 minutos (barra azul) llegamos a una concentración final de 0.68% de lactosa

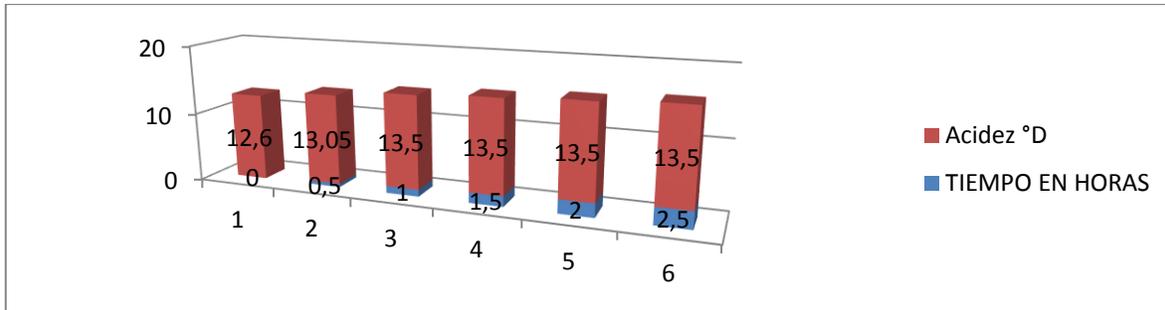
*Gráfico 11 Comportamiento de la Lactosa %*



### Comportamiento de la Acidez °D

El valor inicial de acidez es de 12.6°D (barra roja), al término de la prueba 2 horas 30 minutos (barra azul) el valor se incrementa en un 0.9 llegando a 13.5°D, parámetro aceptable para el proceso industrial de Lácteos San Antonio

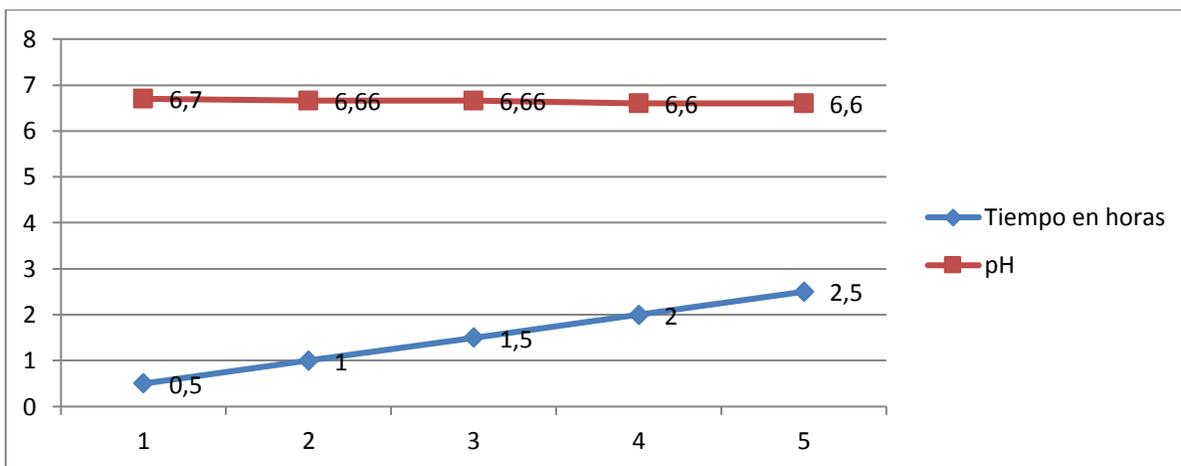
Gráfico 12 Comportamiento de la Acidez °D



### Comportamiento de pH

El valor inicial de pH es de 6.70 (barra roja), al término de la prueba 2 horas 30 minutos (barra azul) el valor desciende a 6.60, parámetro aceptable para el proceso industrial de Lácteos San Antonio.

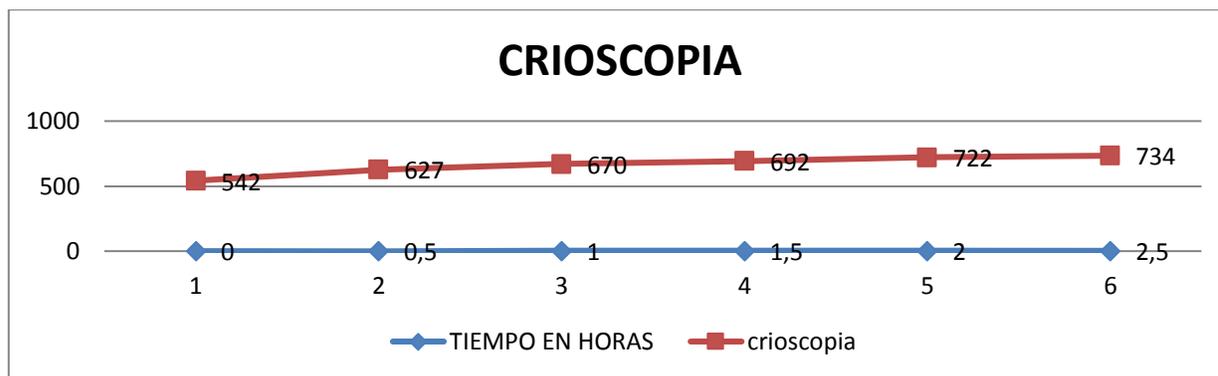
Gráfico 13 Comportamiento de pH



## Comportamiento crioscopia

Esta prueba no se contemplaba dentro de la investigación sin embargo es importante determinar su valor es así como se parte de una crioscopia de 542mH (barra roja) y al término de la prueba 2 horas 30 minutos (barra azul) se llega a un valor de 734mH

Gráfico 14 Comportamiento crioscopia



## Parámetros de producto terminado

Una vez terminado el desdoblamiento de lactosa, se envía el producto a proceso UHT para su pasteurización y envasado, se analiza y se obtienen los siguientes resultados (tabla 8) los cuales indican que producto cumple con norma NTE INEN 701, NTE INEN 2335

Tabla 8 Parámetros de producto terminado

PARAMETRO ANALIZADO	VALOR
Acidez °D	13.5
pH	6.75
Crioscopia mH	-0.756
% grasa	1.7
% de lactosa	0.48
Alcohol 80°GL	Negativo
Aerobios Mesófilos ufc/ml	< 10 ufc/ml

Se realiza un nuevo experimento con la diferencia que la leche para prueba no se la enfria a 4 °C sino se llega a una temperatura de 16°C que es la temperatura máxima con la que sale del pasteurizador, los datos obtenidos son los siguientes:

**Tabla 9 Condiciones de Experimento Industrial**

Volumen de leche	2.000 lts
Cantidad de enzima adicionada	800 ml
Temperatura de leche inicial	16 °C
Tiempo necesario para llegar a 30°C	18 minutos con 28sg
Flujo de vapor	18 psi
Hora de arranque de prueba	11:00 am
Hora de adición de enzima	12:00 pm
Hora de finalización	14:30 pm
Temperatura de leche para proceso UHT	30°C

## Parámetros de leche inicial # 2

**Tabla 10 Parámetros de leche inicial # 2**

PARAMETRO ANALIZADO	VALOR
Acidez °D	13.05
pH	6.86
Crioscopia mH	-0.545
% grasa	1.9
% de lactosa	4.48
Alcohol 80°GL	Negativo
Coliformes Totales ufc/ml	< 1 ufc/ml
Aerobios Mesófilos ufc/ml	190 ufc/ml

### Resultado de monitoreo del desdoblamiento de lactosa

El porcentaje de lactosa inicial es de 4.48%, transcurrido 2 horas 30 minutos se tiene un porcentaje de lactosa final de 0.67% valor que por norma INEN 701 categoriza a la leche como baja en lactosa ( lactosa menor a 0.7% )

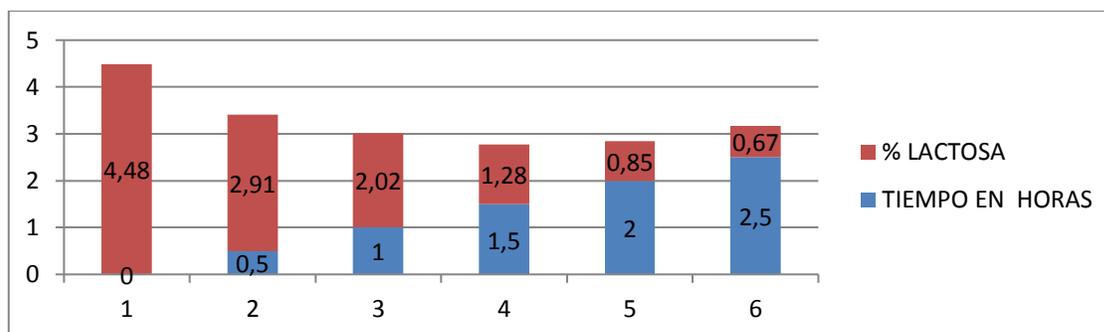
*Tabla 11 Resultado de monitoreo del desdoblamiento de lactosa*

Hora Analisis	Tiempo en horas	pH	Acidez °D	Crioscopia mH	% Lactosa	Alcohol 80°GL
12:30	0.5	6.73	13.05	635	2.91	negativo
13:00	1	6.70	13.5	6.87	2.02	negativo
13:30	1.5	6.70	13.5	718	1.28	negativo
14:00	2	6.70	13.5	735	0.85	negativo
14:30	2.5	6.70	13.5	744	0.67	negativo

### Comportamiento Lactosa

Al iniciar la prueba se tiene un porcentaje de lactosa de 4.48 (barra roja), al cabo de 2 horas 30 minutos (barra azul) llegamos a una concentración final de 0.67% de lactosa

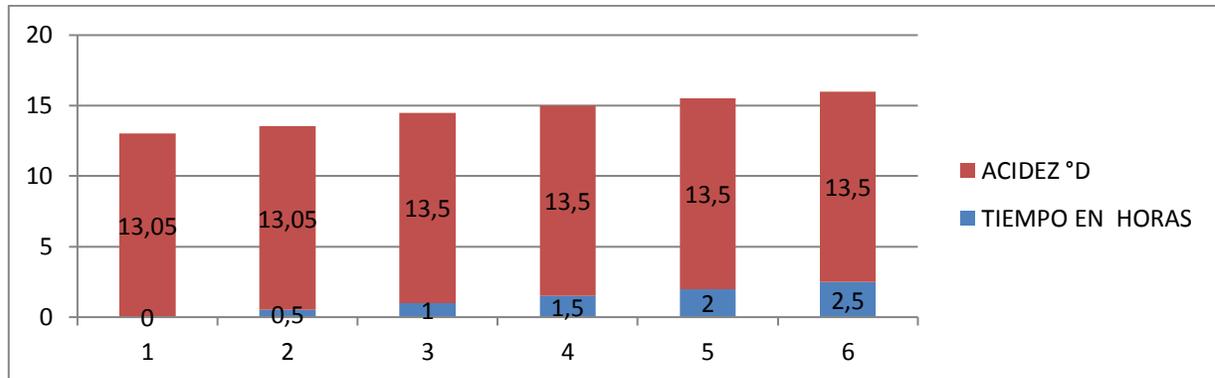
*Gráfico 15 Comportamiento Lactosa*



### Comportamiento Acidez

El valor inicial de acidez es de 13.05°D (barra roja), al término de la prueba 2 horas 30 minutos (barra azul) el valor se incrementa en un 0.5 llegando a 13.5°D, parámetro aceptable para el proceso industrial de Lácteos San Antonio

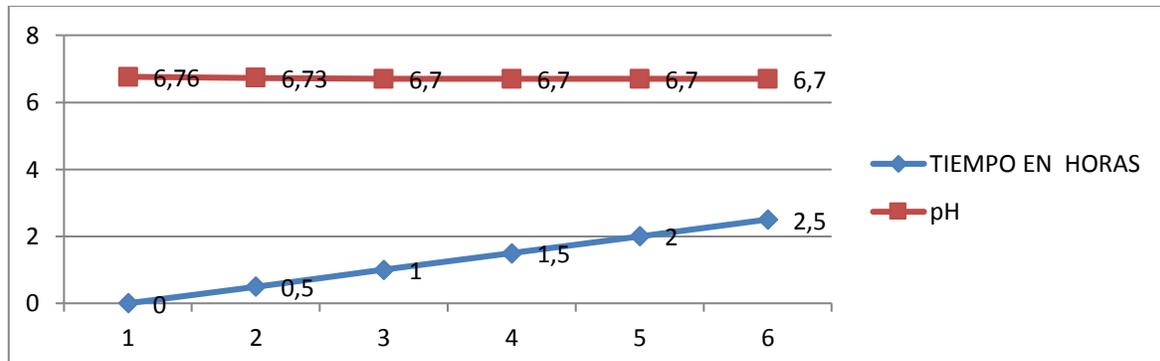
Gráfico 16 Comportamiento Acidez



### Comportamiento pH

El valor inicial de pH es de 6.76 (barra roja), al término de la prueba 2 horas 30 minutos (barra azul) el valor desciende a 6.70, parámetro aceptable para el proceso industrial de Lácteos San Antonio.

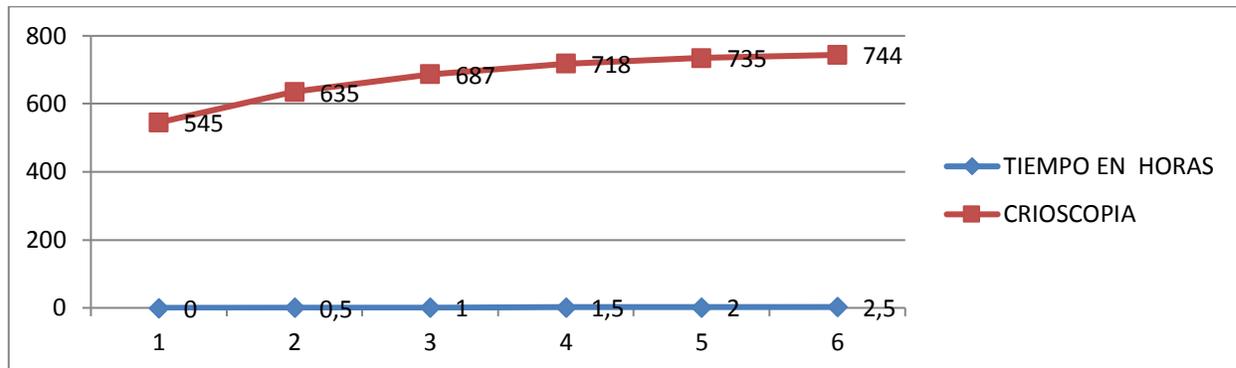
Gráfico 17 Comportamiento pH



## Comportamiento Crioscopia

La crioscopia inicial de la muestra es de 545mH (barra roja) y al terminar la prueba esta presenta un valor de 744 mH.

**Gráfico 18 Comportamiento Crioscopia**



## Parámetros de producto terminado

Producto cumple con norma NTE INEN 701, NTE INEN 2235

**Tabla 12 Parámetros de producto terminado**

PARAMETRO ANALIZADO	VALOR
Acidez °D	13.5
pH	6.70
Crioscopia mH	-0.744
% grasa	1.7
% de lactosa	0.43
Alcohol 80°GL	Negativo
Aerobios Mesófilos ufc/ml	< 10 ufc/ml

## COSTOS DE PRODUCCION

El proceso de desdoblamiento aplicado actualmente en la empresa Lacteos San Antonio implica un tiempo de 18 horas para liberación de silos, considerando este tiempo y el tiempo utilizado en la prueba industria(2 horas y 30 minutos) se realiza el siguiente análisis;

**Tabla 13 COSTOS DE PRODUCCION 1**

FORMULA	PRECIO	ITEM	COSTO UNITARIO
0.9996	0.49	Leche semidescremada pasteurizad M.P	0.4921
0.0004	85.01	MAYALAC 5.000	0.0411
1			
<b>ENVASE</b>			
1	0.06	Tetra Fino deslactosada lt	0.0642
	21.40	Cinta de sellado 8856 Tetrapack	0.0028
<b>CARTON SECUNDARIO</b>			
0.08	0.39	Carton fino deslactosada 1 Lt	0.0325
<b>COSTO MATERIA PRIMA</b>			<b>0.6327</b>

**Tabla 14 COSTOS DE PRODUCCION 2**

PROCESO	REFERENCIA	AHORRO	COSTO UNITARIO	DOLARES
Enfriamiento	75°C a 16°C	50 KW	0.1113	5.57
Pruebas de Analista	9 a 2	7 pruebas	0.30	2.10
Mano do Obra	8 horas nocturnas	8 horas	4.4375	35.50
				43.17
<b>GASTOS ADICIONALES DEL PROCESO</b>				
PROCESO	REFERENCIA	CONSUMO	COSTO UNITARIO	DOLARES
Vapor	700 Kg para elevar 14 °C a 30.0000 lts	700 Kg	0.018	12.60
<b>AHORRO EN PRODUCCION POR BACH DE 30.000 lt</b>				<b>30.57</b>
Producción estimada al año				6.000.000
Bach 30000				200
Ahorro total				6.113

## DISCUSION

Para mejorar los tiempos de desdoblamiento de lactosa, y encontrar el proceso más adecuado para aplicación en planta, se realizaron dos tipos de pasteurizaciones 75°C x 15 segundos y 90°C x 5 minutos adicionando la enzima a temperaturas de 30°C y 50°C, en las pruebas in vitro se comprobó que el mejor proceso es la pasteurización a 90 °C x 5 minutos y la temperatura de 30°C en la cual la hidrólisis se produce en 1 hora con 30 minutos como promedio, en el mismo tipo de pasteurización pero con la adición de enzima a 50°C el desdoblamiento no se realiza , basándose en este criterio no se determina la acidez, el comportamiento del pH en ambas temperaturas se mantiene estable así como el comportamiento de la acidez demostrando que el proceso es garantizado.

La pasteurización a 90°C x 5 minutos no es ajustable al proceso de Lacteos San Antonio y además existe probabilidad que se produzca la reacción de Maillard que se caracteriza por un oscurecimiento del producto lácteo.

Al analizar los datos obtenidos en la pasteurización de 75°C, se encuentra que la hidrólisis mas óptima se da a una temperatura de adición de la enzima de 30°C , a temperatura de 50°C el desdoblamiento no se produce , el comportamiento del pH a las 2 temperaturas es estable, al igual que en la pasteurización anterior la acidez únicamente se determinó a temperatura de 30°C obteniéndose resultados estables que garantizan el proceso.

La temperatura más recomendable para la adición de la enzima es de 30°C en la cual se logra un desdoblamiento por debajo de 0.7% a las 2 horas, reduciendo el tiempo actualmente utilizado en planta de 18 horas, esto tiene impacto positivo en costos de producción, además parámetros analizados como acidez, pH, alcohol se mantienen indicando que el producto obtenido cumple norma INNEN 701, la concentración de enzima utilizada es la recomendada por el proveedor 0.4%.

Al realizar la aplicación a nivel industrial, se comprobaron los resultados obtenidos en la prueba in vitro, antes de realizar la prueba se analizó la leche para conocer los parámetros con los cuales partimos, así como las condiciones en las cuales se trabajará , la única diferencia fue que el desdoblamiento se realizó a las 2 horas con 30 minutos , no obstante el tiempo de desdoblamiento sigue siendo óptimo; el comportamiento de la acidez es estable, se da un descenso de pH desde la muestra inicial hasta la hidrólisis esperada sin

embargo es estable, en esta prueba se adicionó la determinación de crioscopia conociendo que “El grado de hidrólisis se determina mediante el análisis de descenso en el punto crioscópico. Este método se fundamenta en la disminución del punto de congelación, el momento que ocurre la hidrólisis de la lactosa, se forman glucosa y galactosa incrementando el contenido de solutos en la solución”. (a1 & Fernandab, 2015). El producto final obtenido presenta coloración mas clara que la del producto desdoblado a las 18 horas con la singularidad que tiene un sabor más dulce lo cual indica que el desdoblamiento se realizó correctamente, los parámetros físico-químicos indican que el producto cumple con NTE INEN 701 y NTE INEN 2335.

La mezcla glucosa y galactosa es de 2 a 3 veces más dulce que la lactosa, para determinar estas concentraciones y garantizar los resultados obtenidos se envió muestras a laboratorio acreditado siendo los resultados:

Glucosa-Galactosa 2.3% método utilizado (HPLC) laboratorio Lassa. Anexo 8

En cuanto a los costos de producción se da un ahorro de 30.57 por cada 30.000 litros procesados, esto proyectado a los 6.000.0000 que se producen en el año se tiene un ahorro de 6.113 dólares, por lo tanto se optimiza los tiempos de producción que sumados al ahorro en proceso nos permite mayor ganancia en el producto terminado

En cuanto a la adición de la enzima a 50°C a los 30 minutos el porcentaje de lactosa baja un valor mínimo, y nuevamente empieza a elevarse lo cual se debe a que la temperatura de inoculación no es la óptima para la enzima, las cuales al ser catalizadores disminuyen la energía de activación de una reacción química e incrementan la velocidad de reacción, la cantidad de sustrato, enzima y valor de pH es constante, sin embargo el incremento de 10°C de temperatura duplica la velocidad de reacción, hasta ciertos límites. El calor es un factor que desnaturaliza las proteínas por lo tanto si la temperatura se eleva demasiada, la enzima pierde su actividad esta es la razón por la cual no se produce desdoblamiento de lactosa a 50°C.

Las muestras envasadas se sometieron a cuarentena para revisar esterilidad comercial y calidad de producto, los resultados microbiológicos son menor a 10 ufc/ml, y los valores físico-químicos son los siguientes:

**Tabla 15 Resultados Producto Terminado**

<b>Parámetro Analizado</b>	<b>Resultados</b>
Acidez	13.5°D
pH	6.62
% lactosa	0.48
Punto crioscopico	-0.742
Alcohol 80°GL	negativo
Aerobios Mesófilos	< 10 ufc/ml

Los parámetros físico-químicos indican que el producto cumple con NTE INEN 701 y NTE INEN 2335.

## CONCLUSIONES

- El modelo de investigación es aplicable a la industria
- Se disminuye tiempos de desdoblamiento de 18 horas a 2 horas con 30 minutos
- El producto terminado es de buena calidad, lo cual no solo se comprueba con los resultados de los análisis físico-químicos sino porque al realizar las pruebas organolépticas estas mejoran notablemente, no solo al momento de envasar el producto sino también después de la cuarentena (7 días a 30°C) demostrando que las características iniciales se mantienen.
- La puesta en marcha de los resultados obtenidos con esta investigación queda a disposición de Lacteos San Antonio
- En los costos de producción se da un ahorro de 30.57 dólares por cada 30.000 litros de leche procesada

## Bibliografía

a1, S. J., & Fernandab, R. M. (noviembre de 2015). *Revista Tecnológica ESPOL – RTE, Vol. 28, N. 3, 53-68*. Obtenido de file:///C:/Users/ZONA/Downloads/399-1137-1-PB.pdf

-Contreras, D. E. (15 de Octubre de 2003). *Bioquímica y Biología molecular en línea*.

García Ochoa Soria Félix; Santos López Aurora. (30 de Octubre de 2011). *Hidrólisis de lactosa con [beta]-galactosidasas de "Kluyveromyces fragilis" y de "Escherichia coli"* .

Ingeniería, F. d. (Diciembre de 2008). *Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería Universidad de Zulia*.

Ingeniería, F. d. (Abril de 2007). *Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería Universidad del Zulia*. Obtenido de SciELO.

Mogrovejo Dávila Patricia Katherine; Urgiles Jumbo Gabriela del Cisne. (2009). *Optimización de la condiciones de hidrólisis utilizando B-galactosidasa inmovilizada por atrapamiento y determinación de lactosa residual*.

Sofía, P. Z. (2015). *Calibración y validación del equipo milkoscan FT1 para la determinación de parámetros fisicoquímicos en leche cruda en la Industria de Lácteos San Antonio C.A.*

BADUI DERGAL, Salvador. *Química de alimentos* México D.F. Longman de México Editores. S.A. De C.V.1993

Jeremy M.Berg; John L.Tymoczko, Lubert Stryer. *Bioquímica*2007

NTE INEN 701

NTE INEN 2335

**ANEXOS****ANEXO 1**

Enzima Mayalac 5000

Lactozym® Pure 5000 L

**Características del producto**

Enzima declarada	Beta-galactosidase
Actividad declarada	5000 LAU/g
Actividad paralelas	El producto contiene una actividad significativa de proteasa
Color	Amarillo claro, este puede variar por lote y por bach, la intensidad del color no es un indicador de la actividad de la enzima
Presentación	Líquido
Densidad aproximada en g/ml	1.15
Estabilizantes	Glycerol
Organismo Productor	Kluyveromyces lactis
Obtención de la enzima	Es producida por la fermentación de un microorganismo, la proteína enzimática producida se purifica y separa de cada organismo
Especificación de producto	
Unidades de lactasa	6500/g-100/g-30/g
Recuento Total (100)	
Coliformes totales	ausencia/25 g

E.Coli	ausencia /25 g
Salmonella	ausencia

El producto cumple con las especificaciones de pureza recomendadas para las enzimas de calidad alimentaria propuesta por el Comité Mixto FAO/OMS de expertos en aditivos alimentarios (JECFA) and the Food Chemical Codex (FCC).

Empaquetado : revisar la lista de empaquetado estándar para obtener mayor información

Recomendaciones para el almacenamiento

Tiempo de Uso	El producto se aprovecha de la mejor manera durante los 6 meses desde la fecha de elaboración
Almacenamiento una vez abierto el envase	0-10°C
Condiciones de almacenamiento	El producto debe almacenarse en ambiente seco y protegido del sol

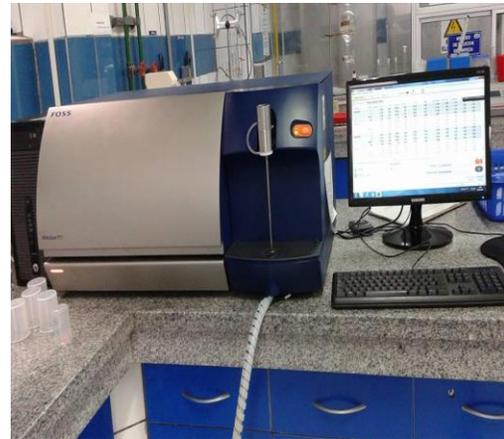
Seguridad y precauciones para Manejo

Las enzimas son proteínas. La inhalación de polvo o aerosoles puede inducir sensibilización y puede causar reacciones alérgicas en individuos sensibles, algunas enzimas pueden irritar la piel, los ojos y las membranas mucosas al producto en contacto. El producto derramado puede secarse y producir polvo; el material derramado se debe lavar con agua. Evitar salpicaduras. Usar ropa protectora adecuada, guantes y protección para los ojos / la cara como se prescribe en la etiqueta de advertencia. Limpiar la ropa contaminada. Una ficha de seguridad se suministra con todos los productos. Ver el Manual de seguridad para obtener más información sobre cómo manejar el producto con seguridad.

## ANEXO 2

### Imágenes FT1

Sample id	Rep #	Acidity - Domic	Low Lactose	Lactose	Fat	Protein	Galactose	Glucose	SNF	FPD - pH
2	1	14.55	0.66	0.57	2.17	3.33	1.67	2.03	6.10	288
	2	14.56	0.66	0.57	2.18	3.33	1.68	2.02	6.08	287
	Mean	14.56	0.66	0.57	2.18	3.33	1.68	2.02	6.09	287
5d	1	9.92	0.66	0.66	0.08	0.00	0.02	0.00	0.01	2
	2	9.92	0.66	0.67	0.05	0.24	1.82	1.95	7.97	301
	Mean	9.92	0.66	0.67	0.07	0.14	1.82	1.95	7.97	301
Fine Ar	1	12.70	0.54	0.67	2.05	3.24	1.62	1.83	7.96	304
	2	12.84	0.74	0.65	2.05	3.25	1.62	1.84	7.96	302
	Mean	12.67	0.69	0.66	2.05	3.25	1.62	1.84	7.96	302
5d	1	0.05	0.07	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	2
	2	0.05	0.07	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	2
	Mean	0.05	0.07	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	2
5d lib.	1	13.59	0.41	0.52	2.20	3.31	1.68	2.06	6.14	290
	2	13.81	0.40	0.53	2.20	3.31	1.69	2.07	6.15	290
	Mean	13.60	0.43	0.53	2.20	3.31	1.68	2.06	6.14	290
5d	1	0.02	0.03	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	2
	2	0.02	0.03	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	2
	Mean	0.02	0.03	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	2
Fine lib	1	13.88	0.63	0.64	2.07	3.20	1.60	1.97	6.11	290
	2	13.97	0.67	0.66	2.08	3.20	1.60	1.94	6.12	296
	Mean	14.01	0.65	0.64	2.08	3.20	1.60	1.95	6.12	295
Fine Lib	1	14.06	0.63	0.64	2.08	3.20	1.60	1.96	6.12	294
	2	14.01	0.65	0.64	2.08	3.20	1.60	1.95	6.12	295
	Mean	14.01	0.65	0.64	2.08	3.20	1.60	1.95	6.12	295
5d	1	0.07	0.03	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	1
	2	0.07	0.03	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	1
	Mean	0.07	0.03	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	1



### ANEXO 3

Imágenes Equipos Utilizados para prueba industrial



## ANEXO 4

# Muestra	Tiempo en Horas	pH Inicial	pH Final	% Lactosa Inicial	% Lactosa Final	Acidez °D	Alcohol 80°GL
1	1.5	6.68	6.60	4.35	0.47	13.5	negativo
2	1.5	6.70	6.60	4.07	0.52	13.5	negativo
3	2	6.80	6.58	4.15	0.55	13.5	negativo
4	1.5	6.79	6.60	4.2	0.66	13.5	negativo
5	2	6.77	6.58	4.28	0.48	13.95	negativo
6	1.5	6.73	6.58	4.17	0.44	13.5	negativo
7	1.5	6.75	6.60	4.17	0.45	13.95	negativo
8	1.5	6.69	6.58	4.49	0.60	13.5	negativo
9	2	6.74	6.64	4.48	0.69	13.5	negativo
10	2	6.75	6.64	4.21	0.49	13.5	negativo
11	1.5	6.70	6.62	4.65	0.63	13.05	negativo
12	1.5	6.70	6.58	4.33	0.65	13.95	negativo
13	1.5	6.70	6.58	4.23	0.65	13.5	negativo
14	1	6.70	6.57	4.16	0.62	13.95	negativo
15	1.5	6.77	6.57	4.29	0.42	13.95	negativo
16	1.5	6.78	6.61	4.29	0.44	13.05	negativo
17	1.5	6.79	6.64	4.47	0.6	13.05	negativo
18	1.5	6.80	6.6	4.19	0.57	13.05	negativo
19	1.5	6.79	6.60	4.19	0.67	13.5	negativo
20	1.5	6.76	6.60	4.5	0.65	13.5	negativo
21	1.5	6.77	6.58	4.52	0.68	13.95	negativo
22	2	6.80	6.62	4.16	0.64	13.5	negativo
23	1.5	6.75	6.67	4.30	0.69	13.05	negativo
24	1.5	6.73	6.62	4.41	0.53	13.5	negativo
25	1.5	6.68	6.58	4.14	0.58	13.95	negativo
26	1.5	6.74	6.60	4.12	0.54	13.5	negativo
27	1.5	6.82	6.63	4.46	0.64	13.5	negativo
28	1.5	6.77	6.60	4.23	0.59	13.5	negativo
29	1.5	6.70	6.60	4.09	0.56	13.5	negativo
30	1.5	6.70	6.59	4.09	0.66	13.95	negativo

*Tabla 1 Pasteurización a 90°C x 5 minutos, enzima adicionada a 30°C*

## ANEXO 5

Tabla 2 *Pasteurización a 90°C x 15 segundos enzima adicionada a 50°C*

# Muestra	Tiempo en Horas	pH Inicial	pH Final	% Lactosa Inicial	% Lactosa Final
1	1.5	6.68	6.50	4.35	3.7
2	1.5	6.70	6.40	4.07	3.51
3	2	6.80	6.50	4.15	3.74
4	1.5	6.79	6.50	4.2	3.74
5	2	6.77	6.47	4.28	3.39
6	1.5	6.73	6.50	4.17	3.56
7	1.5	6.75	6.50	4.17	3.14
8	1.5	6.69	6.50	4.49	3.75
9	2	6.74	6.54	4.48	3.72
10	2	6.75	6.56	4.21	3.27
11	1.5	6.70	6.55	4.65	4.56
12	1.5	6.70	6.54	4.33	3.71
13	1.5	6.70	6.56	4.23	3.72
14	1	6.70	6.54	4.16	3.65
15	1.5	6.77	6.50	4.29	3.26
16	1.5	6.78	6.52	4.29	3.82
17	1.5	6.79	6.50	4.47	4.31
18	1.5	6.80	6.50	4.19	4.18
19	1.5	6.79	6.50	4.19	4.53
20	1.5	6.76	6.50	4.5	4.22
21	1.5	6.77	6.50	4.52	4.57
22	2	6.80	6.58	4.16	4.25
23	1.5	6.75	6.56	4.30	3.98
24	1.5	6.73	6.52	4.41	3.95
25	1.5	6.68	6.52	4.14	4.11
26	1.5	6.74	6.49	4.12	4.07
27	1.5	6.82	6.55	4.46	3.5
28	1.5	6.77	6.50	4.23	4.12
29	1.5	6.70	6.53	4.09	3.39
30	1.5	6.70	6.51	4.09	4.05

## ANEXO 6

Tabla 3 *Pasteurización a 75°C x 15 segundos, enzima adicionada a 30°C*

# Muestra	Tiempo en Horas	pH Inicial	pH Final	% Lactosa Inicial	% Lactosa Final	Acidez °D	Alcohol 80°GL
1	2	6.75	6.67	4.17	0.42	13.5	negativo
2	2	6.77	6.7	4.20	0.5	13.05	negativo
3	2	6.80	6.69	3.97	0.5	13.5	negativo
4	1.5	6.80	6.66	3.94	0.49	13.5	negativo
5	1.5	6.76	6.68	4.16	0.56	13.5	negativo
6	2	6.83	6.77	3.95	0.65	13.05	negativo
7	1.5	6.76	6.69	4.12	0.6	13.5	negativo
8	2	6.81	6.74	4.45	0.67	13.05	negativo
9	2	6.78	6.66	4.40	0.47	13.5	negativo
10	2	6.82	6.70	4.18	0.42	13.05	negativo
11	2	6.85	6.74	4.07	0.48	13.05	negativo
12	2	6.81	6.65	4.14	0.52	13.5	negativo
13	2	6.78	6.62	4.18	0.51	13.95	negativo
14	2	6.82	6.60	4.12	0.67	13.95	negativo
15	2	6.76	6.64	4.30	0.52	13.5	negativo
16	2	6.84	6.69	4.12	0.58	13.5	negativo
17	1.5	6.81	6.70	4.10	0.43	13.05	negativo
18	2	6.82	6.68	4.14	0.7	13.05	negativo
19	2	6.75	6.66	4.10	0.48	13.5	negativo
20	2	6.72	6.65	4.38	0.6	13.5	negativo
21	2	6.83	6.69	4.08	0.6	13.5	negativo
22	1.5	6.78	6.72	4.24	0.61	13.05	negativo
23	2	6.78	6.69	3.90	0.63	13.5	negativo
24	2	6.82	6.73	4.09	0.52	13.05	negativo
25	2	6.83	6.74	4.09	0.56	13.05	negativo
26	1.5	6.84	6.69	4.11	0.63	13.05	negativo
27	1.5	6.84	6.71	4.01	0.55	13.05	negativo
28	1.5	6.82	6.71	4.07	0.63	13.05	negativo
29	1.5	6.85	6.76	3.99	0.44	13.05	negativo
30	1.5	6.82	6.70	4.16	0.54	13.5	negativo

## ANEXO 7

Tabla 4 *Pasteurización a 75°C x 15 segundos, enzima adicionada a 50°C*

# Muestra	Tiempo en Horas	pH Inicial	pH Final	% Lactosa Inicial	% Lactosa Final
1	1.5	6.68	6.54	4.35	3.38
2	1.5	6.70	6.60	4.07	3.64
3	2	6.80	6.55	4.15	3.53
4	1.5	6.79	6.59	4.2	3.36
5	2	6.77	6.58	4.28	3.12
6	1.5	6.73	6.65	4.17	3.1
7	1.5	6.75	6.59	4.17	4
8	1.5	6.69	6.58	4.49	3.65
9	2	6.74	6.57	4.48	3.74
10	2	6.75	6.55	4.21	3.9
11	1.5	6.70	6.59	4.65	3.80
12	1.5	6.70	6.53	4.33	3.81
13	1.5	6.70	6.54	4.23	3.75
14	1	6.70	6.55	4.16	3.98
15	1.5	6.77	6.53	4.29	3.48
16	1.5	6.78	6.53	4.29	3.9
17	1.5	6.79	6.52	4.47	3.34
18	1.5	6.80	6.53	4.19	3.87
19	1.5	6.79	6.50	4.19	3.97
20	1.5	6.76	6.57	4.5	3.96
21	1.5	6.77	6.63	4.52	3.63
22	2	6.80	6.60	4.16	3.63
23	1.5	6.75	6.63	4.30	3.86
24	1.5	6.73	6.64	4.41	4.27
25	1.5	6.68	6.64	4.14	3.10
26	1.5	6.74	6.58	4.12	3.58
27	1.5	6.82	6.62	4.46	3.76
28	1.5	6.77	6.60	4.23	3.02
29	1.5	6.70	6.63	4.09	3.91
30	1.5	6.70	6.59	4.09	3.99

## ANEXO 8

## RESULTADOS DE LABORATORIO ACREDITADO

**LASA**  
LABORATORIO DE ANALISIS DE ALIMENTOS  
Y PRODUCTOS PROCESADOS

**INFORME DE RESULTADOS**

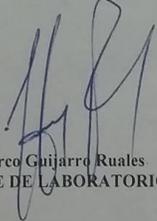
INF. LASA 15-04-16-RS00784  
ORDEN DE TRABAJO No. 0026757

SOLICITADO POR: LACTEOS SAN ANTONIO C.A.  
DIRECCIÓN: CARLOS TOSI Y VEINTIMILLA  
TIPO DE MUESTRA: ALIMENTO  
MUESTREO: SOLICITANTE  
COD. MUESTRA: 5358-16  
IDENTIFICACIÓN: LECHE SEMIDESCREMADA BAJA EN LACTOSA ULTRA PASTEURIZADA LARGA VIDA UHT "NUTRI"

FECHA RECEPCIÓN: 12-04-2016  
FECHA DE ANÁLISIS: 12/15-04-2016  
FECHA DE ENTREGA: 15-04-2016  
LOTE: L60323E

**ANÁLISIS FISICOQUÍMICO**

PARÁMETROS	RESULTADO DE ENSAYO	UNIDADES	MÉTODO DE ENSAYO
GLUCOSA -GALACTOSA	2,3	%	HPLC

  
Dr. Marco Guíjarro Ruales  
GERENTE DE LABORATORIO

LASA se responsabiliza exclusivamente de los análisis, el resultado se refiere únicamente a la muestra recibida en el laboratorio. Las incertidumbres de los resultados para los ensayos se encuentran disponibles en los registros de Laboratorio LASA. Prohibida su reproducción parcial o total por cualquier medio sin permiso por escrito del Laboratorio.  
Opiniones e Interpretaciones están fuera del alcance de acreditación SAE

Pag. 1

Av. de la Prensa N53-113 y Gonzalo Gallo • Teléfonos: 2469- 814 / 2269-012  
Juan Ignacio Pareja OE5-97 y Simón Cárdenas • Teléfono: 2290-815