

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA**



**“FORMULACIÓN DE UNA BEBIDA ISOTÓNICA A PARTIR DEL  
PERMEADO CONCENTRADO HIDROLIZADO DE LA LECHE DE VACA”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
INGENIERO QUÍMICO**

**PRESENTADO POR:**

**SAMUEL BENJAMÍN MERCADO RIVAS**

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Samuel Mercado Rivas".

**CALLAO – 2021**

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Carlos Angeles".

**PERÚ**



## PRÓLOGO DEL JURADO

La presente tesis fue sustentada por el señor Bachiller **MERCADO RIVAS SAMUEL BENJAMÍN** ante el **JURADO DE SUSTENTACIÓN DE TESIS** conformado por lo siguientes Profesores Ordinarios:

ING <sup>o</sup> CARLOS ALEJANDRO ANCIETA DEXTRE	PRESIDENTE
LIC. SALVADOR APOLINAR TRUJILLO PÉREZ	SECRETARIO
ING <sup>o</sup> GLADIS ENITH REYNA MENDOZA	VOCAL
ING <sup>o</sup> CARLOS ERNESTO ÁNGELES QUEIROLO	ASESOR

Tal como está asentado en el Acta N<sup>o</sup> 007-2021-JS-FIQ de fecha **ONCE DE JULIO DEL 2021**, para optar el Título Profesional de Ingeniero Químico en la Modalidad de Titulación de Tesis con Ciclo de Tesis, de conformidad establecido por el Reglamento de Grados y Títulos aprobado con Resolución N<sup>o</sup> 245-2018-CU de fecha 30 de octubre del 2018.

## **DEDICATORIA**

A mis padres Darío y Justa por su apoyo incondicional desde siempre y porque me inculcaron valores en especial disciplina y perseverancia lo cual me ayudó a llevar y culminar mi carrera universitaria.

A mis hermanos Darío y Rocío porque siempre confiaron en mí en todo momento y me motivaron a estudiar y convertirme en un profesional.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Nacional del Callao por darme la oportunidad de llevar estudios superiores en la Facultad de Ingeniería Química y brindarme una enseñanza de calidad.

A mi asesor y profesores por sus valiosas enseñanzas y guía que contribuyeron a la finalización de esta tesis.

## ÍNDICE

TABLAS DE CONTENIDO .....	5
RESUMEN .....	9
ABSTRACT .....	10
INTRODUCCIÓN .....	11
I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	13
1.1 Descripción de la realidad problemática.....	13
1.2 Formulación del problema .....	14
1.2.1 Problema general.....	14
1.2.2 Problemas específicos .....	14
1.3 Objetivos .....	15
1.3.1 Objetivo general .....	15
1.3.2 Objetivos específicos .....	15
1.4 Limitantes de la investigación .....	15
II. MARCO TEÓRICO .....	17
2.1 Antecedentes .....	17
2.1.1 Antecedentes internacionales .....	17
2.1.2 Antecedentes nacionales .....	19
2.2 Bases teóricas.....	22
2.2.1 La leche.....	22
2.2.2 Deslactosado industrial .....	24
2.2.3 Permeado de leche y su valor nutricional.....	29
2.2.4 Beneficios del hidrolizado del permeado de leche .....	30

2.2.5 Ósmosis y tonicidad en las bebidas .....	31
2.2.6 Bebidas isotónicas y sus componentes.....	33
2.3 Conceptual .....	39
2.4 Definición de términos básicos.....	41
III. HIPÓTESIS Y VARIABLES.....	42
3.1 Hipótesis .....	42
3.1.1 Hipótesis general .....	42
3.1.2 Hipótesis específicas .....	42
3.2 Definición conceptual de las variables .....	43
3.2.1 Operacionalización de la variable .....	44
IV. DISEÑO METODOLÓGICO .....	45
4.1 Tipo y diseño de la investigación.....	45
4.1.1 Tipo de investigación.....	45
4.1.2 Diseño de la investigación.....	46
4.2 Método de investigación.....	49
4.3 Población y muestra.....	49
4.3.1 Población .....	49
4.3.2 Muestra .....	49
4.4 Lugar de estudio y periodo desarrollado .....	50
4.4.1 Lugar de estudio .....	50
4.4.2 Periodo desarrollado .....	50
4.5 Técnicas e instrumentos para la recolección de la información .....	50
4.5.1 Hidrólisis enzimática del permeado concentrado .....	50

4.5.2	Determinación del punto de congelación y osmolaridad .....	53
4.5.3	Determinación de los porcentajes de los aditivos alimentarios a utilizar en la formulación de la bebida isotónica .....	54
4.5.4	Determinación de los porcentajes del permeado concentrado hidrolizado a utilizar en las formulaciones de la bebida isotónica .....	56
4.5.5	Determinación de los porcentajes de stevia a utilizar en las formulaciones de la bebida isotónica .....	57
4.5.6	Procedimiento experimental.....	57
4.5.7	Evaluación sensorial .....	58
4.5.8	Análisis químico proximal, de minerales y microbiológicos .....	60
4.5.9	Análisis fisicoquímicos .....	61
4.6	Análisis y procesamiento de datos .....	63
4.6.1	Análisis estadístico para la determinación de los porcentajes de permeado concentrado hidrolizado a utilizar en la formulación de la bebida ...	63
4.6.2	Análisis estadístico para la determinación de la bebida de mayor aceptación sensorial .....	64
V.	RESULTADOS .....	65
5.1	Resultados descriptivos .....	65
5.2	Resultados inferenciales .....	65
5.3	Otro tipo de resultados de acuerdo a la naturaleza del problema y la hipótesis .....	65
5.3.1	Características fisicoquímicas del permeado concentrado de la leche de vaca .....	65



5.3.2 Hidrólisis enzimática del permeado concentrado .....	67
5.3.3 Porcentajes de aditivos en la formulación de la bebida isotónica .....	68
5.3.4 Porcentajes del permeado concentrado hidrolizado a utilizar en las formulaciones de la bebida isotónica .....	68
5.3.5 Porcentajes de stevia a utilizar en la formulación de la bebida isotónica	70
5.3.6 Diagrama final del proceso de elaboración de una bebida isotónica a partir del permeado concentrado hidrolizado de la leche de vaca .....	71
5.3.7 Formulaciones de la bebida isotónica .....	73
5.3.8 Osmolaridad de las formulaciones de la bebida isotónica .....	73
5.3.9 Evaluación sensorial de las formulaciones de la bebida isotónica .....	74
5.3.10 Caracterización fisicoquímica y análisis microbiológico del producto final .....	78
VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	81
6.1 Contrastación y demostración de la hipótesis con los resultados .....	81
6.2 Contrastación de los resultados con otros estudios similares .....	87
6.3 Responsabilidad de ética de acuerdo a los reglamentos vigentes.....	89
CONCLUSIONES .....	90
RECOMENDACIONES .....	91
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	92
ANEXOS .....	102

## TABLAS DE CONTENIDO

### ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	<i>Comparativo de la composición de la leche de vaca según fuente internacional (Moreiras et al., 2013) y nacional (Collazos et al., 1996).....</i>	23
Tabla 2	<i>Composición fisicoquímica del permeado de la leche de vaca .....</i>	30
Tabla 3	<i>Comparación de bebidas comerciales isotónicas.....</i>	34
Tabla 4	<i>Variables y niveles para el diseño experimental.....</i>	47
Tabla 5	<i>Diseño experimental utilizando una combinación factorial 3x2 .....</i>	49
Tabla 6	<i>Análisis químico proximal.....</i>	60
Tabla 7	<i>Análisis de minerales y azúcares totales.....</i>	60
Tabla 8	<i>Análisis microbiológicos .....</i>	61
Tabla 9	<i>Análisis fisicoquímicos.....</i>	61
Tabla 10	<i>Análisis químico proximal del permeado concentrado de leche .....</i>	66
Tabla 11	<i>Análisis de minerales del permeado concentrado de leche.....</i>	66
Tabla 12	<i>Análisis de pH y osmolaridad del permeado concentrado de leche..</i>	66
Tabla 13	<i>Seguimiento a la reacción de la hidrólisis enzimática en el tiempo ..</i>	67
Tabla 14	<i>Porcentaje de aditivos para la formulación de la bebida isotónica....</i>	68
Tabla 15	<i>Osmolaridad del permeado concentrado hidrolizado.....</i>	69
Tabla 16	<i>Porcentaje de permeado concentrado hidrolizado en relación a su osmolaridad.....</i>	70
Tabla 17	<i>Equivalencia de dulzor entre el % Sacarosa y el % Stevia.....</i>	71

Tabla 18 <i>Proporción de los componentes a utilizar en las formulaciones propuestas</i> .....	73
Tabla 19 <i>Osmolaridad para las formulaciones propuestas</i> .....	74
Tabla 20 <i>Puntuaciones medias de evaluación sensorial</i> .....	74
Tabla 21 <i>Análisis de varianza (ANOVA) para la evaluación sensorial de las formulaciones</i> .....	75
Tabla 22 <i>Prueba de Tukey al 95% de confianza para la evaluación de sabor</i>	75
Tabla 23 <i>Prueba de Tukey al 95% de confianza para la evaluación de textura</i> .....	76
Tabla 24 <i>Prueba de Tukey al 95% de confianza para la aceptación general de la bebida</i> .....	76
Tabla 25 <i>Concentración de minerales y azúcares totales del producto final</i> ...	79
Tabla 26 <i>Características fisicoquímicas del producto final</i> .....	79
Tabla 27 <i>Análisis microbiológico del producto final</i> .....	80
Tabla 28 <i>Comparativo de osmolaridades con normativas de otro países</i> .....	82
Tabla 29 <i>Comparativos de minerales con normas internacionales</i> .....	85
Tabla 30 <i>Comparativo con otras bebidas comerciales electrolíticas</i> .....	86
Tabla 31 <i>Comparativo de la composición de suero de leche y permeado concentrado de leche</i> .....	87
Tabla 32 <i>Comparativo de bebidas isotónicas en base a permeado de leche y permeado concentrado hidrolizado de leche</i> .....	89
Tabla 33 <i>Análisis de varianza (ANOVA) para evaluación de olor</i> .....	122
Tabla 34 <i>Análisis de varianza (ANOVA) para evaluación de color</i> .....	122

Tabla 35 <i>Análisis de varianza (ANOVA) para evaluación de sabor</i> .....	122
Tabla 36 <i>Análisis de varianza (ANOVA) para evaluación de textura</i> .....	123
Tabla 37 <i>Análisis de varianza (ANOVA) para aceptación general</i> .....	123

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	<i>Estructura química de la lactosa</i> .....	24
Figura 2	<i>Hidrólisis enzimática de la lactosa</i> .....	26
Figura 3	<i>Clasificación de técnicas de membranas en base a su tamaño de poro</i> .....	28
Figura 4	<i>Comportamiento celular en soluciones hipotónica, isotónica e hipertónica</i> .....	32
Figura 5	<i>Equipo thermomix marca Vorwerk</i> .....	51
Figura 6	<i>Equipo crioscopio marca The Advanced Cryoscope Model 4D3</i> .....	52
Figura 7	<i>Aditivos utilizados en la formulación de la bebida</i> .....	55
Figura 8	<i>Permeado concentrado hidrolizado</i> .....	56
Figura 9	<i>Formulaciones propuestas para el panel sensorial</i> .....	59
Figura 10	<i>Cabina de desgustación</i> .....	59
Figura 11	<i>Equipo potenciómetro marca SI Analytics modelo Lab 850</i> .....	62
Figura 12	<i>Equipo refractómetro marca Rudolph modelo J157</i> .....	62
Figura 13	<i>Equipo estufa marca Memmert modelo UF 55</i> .....	63
Figura 14	<i>Curva de % hidrólisis enzimática vs tiempo</i> .....	67
Figura 15	<i>Regresión lineal de Osmolaridad vs Porcentaje de permeado concentrado hidrolizado</i> .....	69
Figura 16	<i>Elaboración de la bebida isotónica</i> .....	72
Figura 17	<i>Diagrama de cajas para la evaluación sensorial de sabor</i> .....	77
Figura 18	<i>Diagrama de cajas para la evaluación sensorial de textura</i> .....	77
Figura 19	<i>Diagrama de cajas para la aceptabilidad general de la bebida</i> .....	78

## RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo la formulación de una bebida isotónica a partir del permeado concentrado hidrolizado de la leche de vaca. Se realizó la caracterización fisicoquímica del permeado concentrado de leche demostrando un alto contenido de minerales de sodio, potasio, calcio, fósforo y magnesio, y carbohidratos.

Se prepararon seis formulaciones utilizando como variables el porcentaje de permeado concentrado hidrolizado y el porcentaje de stevia en 3 y 2 niveles respectivamente, que cumplieron con el nivel mínimo de osmolaridad (250 mOsm/L).

Los resultados de la evaluación sensorial fueron analizados estadísticamente por un análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey, y se determinó que la bebida de mayor preferencia fue la formulación F3 compuesta por 48,8 % de permeado concentrado hidrolizado y 0,0133 % de stevia.

Se caracterizó la bebida isotónica obteniendo una osmolaridad de 308,4 mOsm/L y concentraciones de sodio, potasio, calcio, fósforo y magnesio en 321,8 mg/L, 864,0 mg/L, 379,4 mg/L, 200,0 mg/L y 51,4 mg/L respectivamente. Los resultados de los análisis microbiológicos realizados de aerobios mesófilos (20 ufc/ml), coliformes (< 3 NMP/ml), mohos (< 1 ufc/ml) y levaduras (< 1 ufc/ml) fueron conformes, resultando apta para el consumo humano.

Palabras clave: Bebida isotónica, permeado concentrado hidrolizado.

## ABSTRACT

The present research aimed to formulate an isotonic drink from the concentrated hydrolyzed permeate of cow's milk. The physicochemical characterization of the concentrated milk permeate was carried out, showing a high content of sodium, potassium, calcium, phosphorus and magnesium minerals, and carbohydrates.

Six formulations were prepared using as variables the percentage of hydrolyzed concentrated permeate and the percentage of stevia at 3 and 2 levels respectively, which met the minimum level of osmolarity (250 mOsm/L).

The results of the sensory evaluation were statistically analyzed by an analysis of variance (ANOVA) and the Tukey test, and it was determined that the most preferred beverage was the F3 formulation composed of 48,8% of hydrolyzed concentrated permeate and 0,0133 % stevia.

The isotonic drink was characterized obtaining an osmolarity of 308,4 mOsm/L and concentrations of sodium, potassium, calcium, phosphorus and magnesium in 321,8 mg/L, 864,0 mg/L, 379,4 mg/L, 200,0 mg/L and 51,4 mg/L respectively.

The results of the microbiological analyzes performed on mesophilic aerobes (20 cfu/ml), coliforms (< 3 MPN/ml), molds (< 1 cfu/ml) and yeasts (< 1 cfu/ml) were compliant, being suitable for human consumption.

Keywords: Isotonic drink, hydrolyzed concentrated permeate.

## INTRODUCCIÓN

El mercado de bebidas ha crecido considerablemente en los últimos años. Esto es consecuencia del desarrollo de una amplia variedad de productos por parte de la industria alimenticia y, por otro lado, debido a una mayor exigencia de los consumidores de obtener productos que satisfagan sus necesidades, expectativas y que además contribuyan al mantenimiento de un estado saludable.

Un alimento puede considerarse funcional si, además de sus efectos nutritivos, afecta beneficiosamente a una o más funciones del organismo de modo que mejora el estado de salud o bienestar (Diplock et al., 1999, p. 6).

En los últimos años ha aumentado la demanda de las llamadas bebidas isotónicas. Las bebidas isotónicas son bebidas no alcohólicas que en su composición pueden contener carbohidratos, minerales y saborizantes, pero a diferencia de las bebidas energéticas, no contienen estimulantes y además deben poseer una concentración de solutos similar a la del plasma (Sánchez, 2017, p. 7). Los deportistas profesionales fueron los primeros que se beneficiaron de sus aportes nutricionales, pero hoy en día las personas que realizan ejercicios o practican algún deporte consumen este tipo de bebidas. Tomar bebidas isotónicas mejora el rendimiento deportivo y compensa rápidamente las pérdidas ocasionadas por el ejercicio físico intenso (Zudaire y Yoldi, 2004, p.26).



En la industria láctea, para la producción de leche evaporada deslactosada, se utiliza un proceso físico llamado ultrafiltración, que por diferencia de tamaño molecular separa la corriente inicial (leche fresca y agua) en dos subproductos el concentrado, también llamado deslactosado base, que contiene las proteínas de la leche y grasa, y el permeado que contiene minerales y carbohidratos. El permeado de leche contiene una buena fuente de minerales esenciales como el calcio, potasio, sodio, magnesio y fósforo (Hattem et al., 2010, p. 735).

La presente investigación buscó sacar el máximo provecho de este subproducto resultante del proceso de ultrafiltración de la leche deslactosada. Por lo tanto, se tomó el permeado y se reutilizó los minerales y carbohidratos para la formulación de una bebida isotónica.

# **I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

## **1.1 Descripción de la realidad problemática**

Actualmente, en la industria láctea se elabora leche evaporada deslactosada utilizando la tecnología por membranas de ultrafiltración. El proceso genera un subproducto el cual es concentrado por nanofiltración, este subproducto final es llamado permeado concentrado. Un pequeño porcentaje del permeado concentrado es utilizado para la elaboración de otros productos, sin embargo, otro porcentaje es eliminado.

Es posible utilizar esta cantidad eliminada y generar un beneficio económico, si se utiliza el permeado concentrado obtenido del proceso de ultrafiltración para darle un aprovechamiento total de sus excelentes propiedades alimenticias en carbohidratos y minerales.

Las características y composición de este subproducto permiten diseñar un abanico de opciones para el desarrollo de productos alimenticios. El criterio de selección para la elaboración de algunos de estos productos debe adecuarse a las necesidades y posibilidades de la empresa.

Entre los productos de exitosa aceptación debido a sus bajos costos de producción, grado de calidad alimenticia y aceptable sabor, se encuentran las bebidas isotónicas (Londoño et al., 2008, p. 4410).

El permeado concentrado del proceso de ultrafiltración contiene principalmente lactosa, un azúcar relativamente insoluble, de bajo dulzor y que no siempre

puede ser absorbida por mucosa digestiva. De esta forma la hidrólisis enzimática de la lactosa es muy importante para el uso de este subproducto en la industria de alimentos, ya que produce glucosa y galactosa, una mezcla que presenta mayor solubilidad, mayor dulzor y es fácilmente absorbido por el sistema digestivo (Zadow, 1984, como se citó en Mammarella, 2001, p.3).

El permeado concentrado, tratado por hidrólisis enzimática de la lactosa, contiene carbohidratos de fácil absorción y minerales que pueden ser utilizados para la elaboración de una bebida isotónica.

Por tal motivo, en la presente investigación se ha formulado una bebida isotónica a partir del permeado concentrado hidrolizado de la leche de vaca.

## **1.2 Formulación del problema**

### **1.2.1 Problema general**

¿Cuál debe ser la formulación de una bebida isotónica a partir del permeado concentrado hidrolizado de la leche de vaca?

### **1.2.2 Problemas específicos**

a) ¿Cuáles son las características fisicoquímicas del permeado concentrado de la leche de vaca?

b) ¿Cuál es la proporción de componentes a utilizar en la formulación de una bebida isotónica?

c) ¿Cuáles son las características organolépticas de la bebida isotónica?

### **1.3 Objetivos**

#### **1.3.1 Objetivo general**

Formular una bebida isotónica a partir del permeado concentrado hidrolizado de la leche de vaca.

#### **1.3.2 Objetivos específicos**

a) Identificar las características fisicoquímicas del permeado concentrado de la leche de vaca.

b) Determinar la proporción de componentes a utilizar en la formulación de una bebida isotónica.

c) Determinar la evaluación sensorial de la bebida isotónica.

### **1.4 Limitantes de la investigación**

#### **a) Limitante teórica**

En la presente investigación se formuló una bebida isotónica a partir de permeado concentrado hidrolizado de la leche de vaca, por lo tanto, se estudió la leche, el proceso de deslactosado industrial por hidrólisis enzimática, la obtención de permeado de la leche y su valor nutricional, y los componentes que tiene una bebida isotónica.

#### **b) Limitante temporal**

La presente investigación se realizó dentro del periodo diciembre 2019 – junio 2021, considerando desde el inicio de la revisión bibliográfica del problema de

investigación, análisis químico proximal y de minerales del permeado así como pruebas experimentales en laboratorio y la redacción del informe final de tesis.

**c) Limitante espacial**

Las pruebas experimentales, análisis y la toma de muestra de la materia prima de estudio se realizaron en la empresa Leche Gloria ubicada en el distrito de Lurigancho, provincia de Lima.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Antecedentes

#### 2.1.1 Antecedentes internacionales

Miranda et al. (2014) en su trabajo de investigación titulada: “Elaboración de una bebida fermentada a partir del suero de leche que incorpora *lactobacillus acidophilus* y *streptococcus thermophilus*”, tuvieron como objetivo elaborar una bebida fermentada a partir del suero de queso en el Combinado Lácteo “La Hacienda” de la ciudad de Bayamo (Cuba). La metodología usada se basó en realizar a escala de planta piloto 5 corridas experimentales de 200 litros con cada una de las variantes experimentales prefijadas (Variante 1: Sorbato de potasio: 0,0% vs. Variante 2: Sorbato de potasio: 0,03%) para establecer las principales características físicoquímicas, sensoriales, nutricionales, microbiológicas y durabilidad de la bebida fermentada a las 24 horas de haber sido inoculada. Concluyeron que la bebida tuvo gran aceptación en la prueba de consumidores obteniendo una puntuación media de 6 (correspondiente a “Me gusta mucho”). Además, el uso de sorbato de potasio como conservante prolongó la vida de anaquel de la bebida de 7 días a 28 días.

Cuellas y Wagner (2010) en su trabajo de investigación titulada: “Elaboración de una bebida energizante a partir de suero de quesería”, tuvieron como objetivo estudiar la factibilidad de elaborar diferentes productos frutales a partir de suero de queso. La metodología usada se basó en hidrolizar la lactosa presente al 80% y se formularon las bebidas frutales. Fueron evaluadas mediante pruebas

sensoriales descriptivas, empleando una escala estructurada de tres puntos (débil, medio, bueno). La bebida que presentó mejores características organolépticas fue la del sabor naranja. Los análisis microbiológicos realizados en la bebida láctea se ajustaron a los valores solicitados por el Código Alimentario Argentino para leches UAT. Concluyeron que la elaboración del producto no presenta dificultades tecnológicas, reduce la contaminación ambiental y aprovecha el valor nutricional del efluente.

Rodríguez (2009) en su trabajo de investigación titulada: “Elaboración y estabilidad de una bebida isotónica a base de kiwi (*Actinia chinensis*) y guayaba (*Psidium guajava*) adicionado con ácido linolénico conjugado (CLA)”, tuvo como objetivo desarrollar una bebida isotónica a base de kiwi y guayaba adicionada con CLA y determinar su estabilidad durante su almacenamiento. La metodología usada se basó en utilizar el kiwi y la guayaba por su alto contenido en vitamina C, los cuales fueron escaldados a 80° C durante 30 minutos con lo que se logró obtener 41,1 mg/100 ml de vitamina C. Estableció las concentraciones de agua, carbohidratos simples y complejos y la combinación de sales necesarias para una adecuada hidratación; sodio y potasio, estas sales se esterilizaron en frascos ámbar en una autoclave vertical a 80° C durante 15 minutos. Adicionó el CLA para aumentar la masa muscular y disminuir la grasa corporal. También realizó una evaluación sensorial mediante una escala hedónica de 9 puntos, en la cual el atributo mejor evaluado fue el aroma. Finalmente evaluó la estabilidad de la bebida durante el almacenamiento a 4 °C y 25 °C durante 6 semanas. Concluyó que la bebida elaborada obtuvo una

presión osmótica de 292,6 mOsm/L la cual está dentro de los parámetros normales para ser una bebida isotónica y además, se logró una mayor estabilidad de la vitamina C y una mejor conservación del producto a una temperatura de 4°C.

Singh et al. (2011) en su trabajo de investigación titulada: "Optimización del proceso para la fabricación de bebida de limón a partir de suero hidrolizado", tuvieron como objetivo optimizar el proceso para la elaboración de bebida de limón a partir de suero hidrolizado. La metodología usada se basó en optimizar diferentes parámetros como el tiempo, temperatura, pH y concentración de enzima para hidrolizar la lactosa del suero obtenido del queso cheddar y el paneer. La lactosa presente en el suero fue hidrolizado por la enzima lactasa Maxilact L-2000. El nivel de dulzura en el suero hidrolizado era equivalente a una solución de sacarosa al 2,5%. Utilizaron el método de superficie de respuesta para optimizar los niveles de azúcar, jugo de limón, sabor a limón y estabilizador carboxil metil celulosa (CMC). Concluyeron que la máxima hidrólisis en el suero de queso y paneer se obtuvo utilizando una concentración de enzima de 0,4% a un pH de 6,75 luego de incubarlo a 40°C por 3 horas. La bebida que tuvo una mayor aceptación por parte de los jueces fue la que tuvo 8% de azúcar, 4% de jugo de limón 0,1% de sabor de limón y 0,05% de CMC.

### **2.1.2 Antecedentes nacionales**

Campos (2019) en su trabajo de investigación titulada: "Formulación y elaboración de una bebida nutritiva a base de lactosuero con jugo de naranja",



tuvo como objetivo formular y elaborar una bebida nutritiva a base de lactosuero con jugo de naranja. La metodología usada se basó en realizar tres tratamientos a tres concentraciones de azúcar (12, 14 y 16 °Brix), obteniendo 9 formulaciones, donde los porcentajes de lactosuero y jugo de naranja son: muestra 1 (40% lactosuero, 60% jugo); muestra 2 (50% lactosuero, 50% jugo) y muestra 3 (60% lactosuero, 40% jugo), también se adicionaron CMC (0,25%) y sorbato de potasio (0,05%), se mezclaron y pasteurizaron. Los resultados de las características sensoriales y fisicoquímicas de las bebidas fueron analizados a través del ANOVA y como existió significación se realizó la prueba de Tukey, se empleó el diseño completamente al azar. Concluyó que la mejor formulación de la combinación de lactosuero con jugo de naranja con mayor preferencia en la evaluación sensorial fue la muestra 1 con 40 % de lactosuero y 60% de jugo.

Sandoval (2017) en su trabajo de investigación titulada: “Elaboración de una bebida isotónica a base de coco y camu camu”, tuvo como objetivo elaborar una bebida isotónica teniendo como materias primas agua de coco y pulpa de camu camu que poseen una conservación de solutos parecida a la del plasma sanguíneo. La metodología usada se basó en caracterizar el agua de coco (*Coco nucifera* L) reportando los siguientes resultados: energía: 21,10 kcal, humedad: 94,73 g, proteínas totales: 0,20 g, grasas totales: 0,22 g, carbohidratos totales: 4,85 g, pH (25°C): 4,10, grados Brix: 4,30 (S.S), materia seca: 5,27 g. Referente a los resultados de la pulpa de camu camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. Mc Vaugh) estos fueron: humedad: 92,50 g, materia seca: 7,50 g, proteínas totales: 0,59 g, grasas totales: 0,10 g, carbohidratos totales: 6,56 g, cenizas totales: 0,25 g,

vitamina C: 1,890 mg, y energía: 29,50 kcal. Luego realizó las pruebas de proceso tecnológico de elaboración de las bebidas isotónicas, realizando cuatro formulaciones. Concluyó que la formulación F3, es la que mejor característica organoléptica reportó.

Mogollón (2015) en su trabajo de investigación titulada: “Desarrollo y caracterización de una bebida isotónica a partir de la uva (*Vitis vinifera*) y maracuyá (*Passiflora edulis*) edulcorado con miel de abejas”, tuvo como objetivo elaborar una bebida isotónica o rehidratante a partir de la maracuyá, uva Italia y miel de abejas. La metodología usada se basó en realizar cuatro formulaciones: F1: 65% Uva, 30% Maracuyá y 5% Miel, F2: 50% Uva, 40% Maracuyá y 10% Miel, F3: 65% Maracuyá, 25% uva y 10% Miel, F4: 45% Maracuyá, 40% Uva y 15% Miel. El análisis sensorial fue realizado por 15 jueces semientrenados, mayores de 18 años y de ambos sexos quienes evaluaron el grado de satisfacción de los atributos de color, olor, sabor y apariencia general. Para analizar el efecto de varios niveles para cada variable (característica sensorial) aplicó el método de análisis de varianza. Concluyó que la formulación F4 tuvo mejor aceptabilidad y tuvo un tiempo de vida útil de 42 días a temperatura ambiente.

Marcelo y Aurora (2019) en el trabajo de investigación titulada: “Formulación y nivel de aceptabilidad de una bebida elaborada a partir de pitahaya”, tuvieron como objetivo formular una bebida a partir de pitahaya (*Selenicereus megalanthus*). La metodología usada se basó en desarrollar cinco formulaciones, variando la dilución al 25%, 50%, 31,25%, 43,75% y 30,50%, y

brix finales de 14 y 15. Evaluaron la aceptabilidad sensorial (sabor, color, olor y apariencia general) utilizando una escala hedónica lineal estructurada de 10 puntos y con la participación de 25 probadores no entrenados. Aplicaron el análisis de varianza y la prueba de Tukey al nivel de 5% de significancia para la comparación entre las medias que se obtuvieron de las cinco formulaciones. Concluyeron que la formulación que tuvo mayor aceptabilidad fue la n°3 la cual tuvo una dilución de 31% y brix 14, teniendo además un alto contenido de vitamina de C (5,51 mg/100ml de néctar).

## **2.2 Bases teóricas**

### **2.2.1 La leche**

La leche es uno de los alimentos más completo que se encuentra en la naturaleza, por ser rica en proteínas, carbohidratos, grasas, vitaminas y minerales, necesarias para la nutrición humana.

Los tres principales grupos de proteínas de la leche son: la caseína (79,5% de proteína total), las seroproteínas (19,3% de proteína total) y las proteínas de la membrana del glóbulo de grasa (1,2% de proteína total) (Bylund, 1996, p. 23). Además, la proteína de la leche, contiene una gran cantidad de aminoácidos esenciales necesarios para el organismo humano y que no puede sintetizar.

El carbohidrato de la leche es la lactosa, un disacárido con una molécula que contiene los monosacáridos glucosa y galactosa (Bylund, 1996, p. 30). Se encuentra en la leche en un valor medio de 4,8 % (Bylund, 1996, p. 18).

Según establece Moreiras et al. (2013), la leche contiene muchas vitaminas entre las cuales tenemos las vitaminas A, B1, B2, B6, B12, C, D, E.

Además, la leche aporta una buena fuente de minerales que el cuerpo necesita. Según la Tabla 1, los minerales de la leche que se encuentran en mayor proporción son: calcio, fósforo, potasio y sodio que tienen una gran importancia nutricional.

**Tabla 1**

*Comparativo de la composición de la leche de vaca según fuente internacional (Moreiras et al., 2013) y nacional (Collazos et al., 1996)*

Composición por 100 g de porción comestible		
	Moreiras et al. Fuente 1	Collazos et al. Fuente 2
<i>Energía (kcal)</i>	66	63
<i>Agua (g)</i>	88,1	87,8
<i>Proteína (g)</i>	3,3	3,1
<i>Grasa (g)</i>	3,6	3,5
<i>Carbohidrato (g)</i>	5	4,8
<i>Fibra (g)</i>	0	0
<i>Sodio (mg)</i>	50	46
<i>Potasio (mg)</i>	150	172
<i>Calcio (mg)</i>	121	106
<i>Fósforo (mg)</i>	92	94
<i>Magnesio (mg)</i>	12	-
<i>Hierro (mg)</i>	0,1	1,3

Fuente 1: Adaptado de Moreiras, O., Carbajal, A., Cabrera, L., y Cuadrado, C. (2013)  
Fuente 2: Adaptado de Collazos, C., Alvistur, E., Vásquez, J., Quiroz, A., y Herrera, N. (1996)

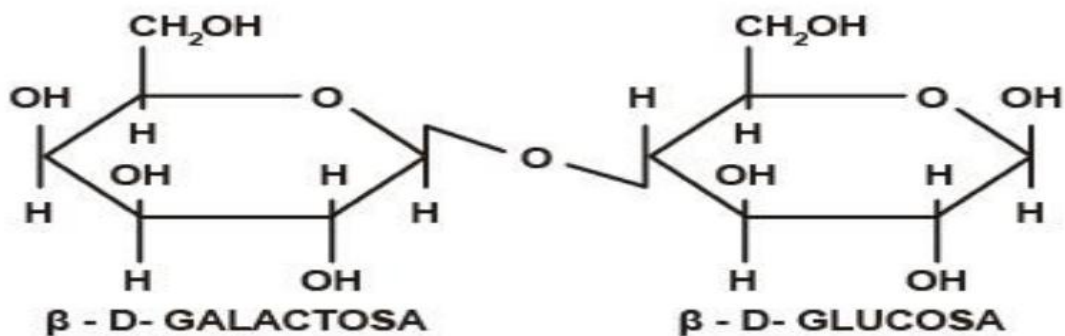
## 2.2.2 Deslactosado industrial

La lactosa o azúcar de la leche es el único glúcido libre que existe en cantidades importantes en la leche. Es el principal carbohidrato de esta, en la que se encuentra en concentraciones próximas al 5%. Es un disacárido compuesto por glucosa y galactosa, unidos por enlace  $\beta$ -1,4.

La lactosa es menos dulce y soluble que la sacarosa y no siempre puede ser absorbida por el sistema digestivo humano. Al hidrolizarse, la lactosa libera glucosa y galactosa, cuyo poder edulcorante combinado es de aproximadamente el 80% del de la sacarosa. Este hidrolizado es también unas 3 ó 4 veces más soluble que la lactosa y además, los monosacáridos son absorbidos fácilmente en forma directa por la mucosa digestiva (Zadow, 1984, como se citó en Mammarella, 2001, p. 3). En la Figura 1 se muestra la estructura química de la lactosa.

**Figura 1**

*Estructura química de la lactosa*



Fuente: Adaptado de Ordoñez, J. (1996)

La enzima lactasa del intestino es una  $\beta$ -D Galactohidrolasa que rompe el enlace  $\beta$ - Glucosídico de la lactosa. La intolerancia a la lactosa sucede cuando existe un desequilibrio entre la cantidad de lactosa ingerida y la capacidad de digerir la lactasa. Así, la lactosa no digerida llega al colon, donde es fermentada por bacterias de la flora. Esto produce ácidos orgánicos de cadena corta, como fórmico, acético o láctico, que aumenta la carga osmótica. Normalmente son absorbidos, pero si se excede la capacidad absorbente del organismo darán lugar a diversos síntomas (Blanco, 2016, pp. 3-4).

Por tal motivo, la industria láctea ha trabajado incansablemente para producir productos lácteos con bajo contenido de lactosa.

Para eliminar la lactosa de productos lácteos pueden utilizarse métodos como procesos de hidrólisis o técnicas de separación específicas.

#### **Deslactosado por hidrólisis enzimática:**

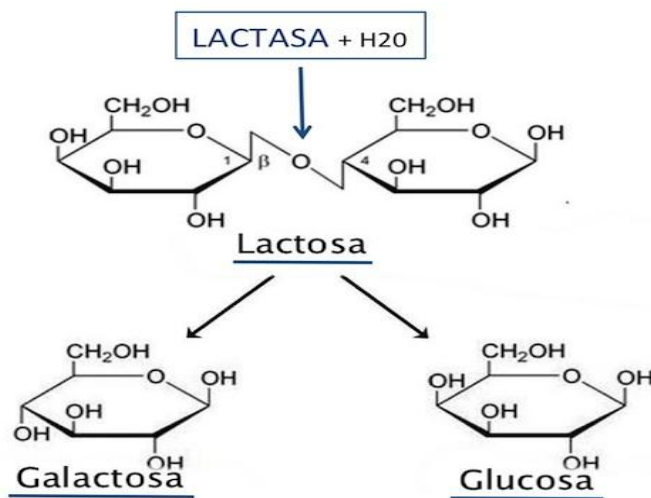
El proceso de hidrólisis de lactosa es sencillo y no necesita de equipos especiales en la industria lechera. Se puede hidrolizar la lactosa mediante ácidos fuertes, resinas de intercambio iónico o por enzimas, siendo esta última técnica la que asegura un proceso de hidrólisis sin alterar los otros componentes presentes en la leche (Mammarella, 2001, p. 4). Al utilizar enzimas de un solo uso para la hidrólisis de lactosa se debe tener en cuenta la concentración de sustrato, el pH de la operación, la temperatura, el tiempo de contacto, la actividad de la enzima y el costo. Un tiempo de contacto largo puede reducir costos, pero en la leche suele dar lugar a un crecimiento microbiano (Harju et al., 2012, como

se citó en Vázquez, 2017, p. 35). Además, para la hidrólisis enzimática se suelen usar temperaturas de refrigeración, debido a que es más seguro biológicamente pero es un proceso más lento (Zadow, 1992, como se citó en Vázquez, 2017, p. 35). Algunos autores recomiendan limitar el grado de hidrólisis entre 80% - 90% con el fin de evitar un dulzor excesivo, ya que la hidrólisis de la lactosa aumenta su poder edulcorante.

La enzima utilizada para dicha hidrólisis (Figura 2) se denomina  $\beta$ -Galactosidasa o más comúnmente lactasa.

## Figura 2

*Hidrólisis enzimática de la lactosa*



Fuente: Adaptado de Correa, J. (2012)

Las características y propiedades de las lactasas varían dependiendo de la fuente, por ejemplo, las de origen fúngico presentan mayor termo-estabilidad que las de levadura y bacterias, y su pH óptimo de actividad cae dentro del rango

ácido (4.5-6.5) y temperatura óptima entre 35 y 55°C (García y Gómez, 1996, como se citó en Sánchez et al., 2015, p. 54). Las lactasas de levaduras y bacterias son en general más termolábiles, y su pH óptimo de actividad es cercano al neutro, por lo que se les denomina lactasas neutras (Jackson y Jelen, 1989, como se citó en Sánchez et al., 2015, p. 54).

### **Deslactosado mediante técnicas de membranas:**

La filtración por membrana es un proceso de separación que separa un líquido en dos corrientes por medio de una membrana semipermeable. Las dos corrientes se denominan retenido y permeado. Mediante el uso de membranas con diferentes tamaños de poro, es posible componentes específicos separados de leche (Maubois y Schuck, 2005).

Las membranas de filtración pueden ser divididas básicamente en cuatro tecnologías:

1) Microfiltración: se utiliza para la reducción del número de bacterias en la leche desnatada, lactosuero y salmueras, pero también para la reducción del contenido en grasa en leche y lactosueros destinados a la fabricación de contenidos proteicos (Bylund, 1996, p. 125).

2) Ultrafiltración: se utiliza para la concentración de las proteínas en la leche y en el lactosuero, y para la normalización proteica de la leche destinada a la fabricación de queso, yogurt y reducción de lactosa en la leche (Bylund, 1996, p. 125).



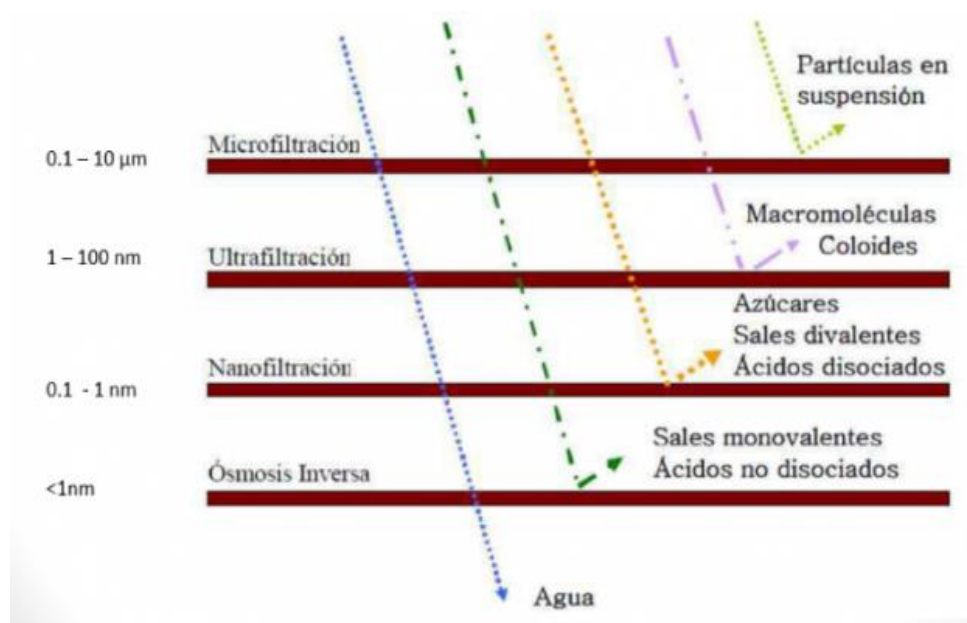
3) Nanofiltración: se utiliza para la concentración de componentes orgánicos, por eliminación de parte de iones monovalentes como el sodio y cloruros, como la desmineralización parcial del lactosuero, el permeado de UF o el retentado (Bylund, 1996, pp. 123, 125).

4) Ósmosis inversa: se utiliza para la concentración de soluciones por eliminación de agua, como la deshidratación del lactosuero y el permeado de UF (Bylund, 1996, pp. 123, 125).

En la Figura 3, se observa una clasificación de técnicas de membrana según su tamaño de poro.

**Figura 3**

*Clasificación de técnicas de membranas en base a su tamaño de poro*



Fuente: Adaptado de Mulder, M. (1991)

En la producción de leche sin lactosa, la ultrafiltración juega un papel importante para lograr una experiencia sensorial similar a la leche fresca.

La lactosa puede pasar fácilmente a través de la membrana mientras retiene todas las grasas y proteínas de la leche en el producto retenido (Limsawat y Pruksasri, 2010). Luego el permeado de la ultrafiltración pasa al proceso de nanofiltración, que rechaza lactosa pero permite el paso de varios minerales. Estos minerales son concentrados en el proceso de ósmosis inversa, y retorna a la línea de producción de leche deslactosada. Finalmente, la leche que ha sido reducido en lactosa, pasa a un proceso enzimático para hidrolizar la lactosa residual.

### **2.2.3 Permeado de leche y su valor nutricional**

El permeado representa un subproducto de la tecnología láctea (un resultado de ultrafiltración de leche) y una preciada materia prima para la producción de numerosos productos. El principal grupo de posibles productos son: concentrados y productos deshidratados, lactosa hidrolizada y productos fermentados (Caric et al., 2009). El permeado es una buena fuente de lactosa (Tabla 2) y electrolitos como calcio, potasio, sodio, magnesio y fósforo, y es similar a la bebida electrolítica utilizada para bebida deportiva (Ilic et al., 2013, p. 24).

En la Tabla 2 se muestra la composición fisicoquímica del permeado de la leche de vaca.

**Tabla 2**

*Composición fisicoquímica del permeado de la leche de vaca*

Composición Fisicoquímica	Permeado
<i>pH</i>	6,46
<i>Materia seca (g/100g)</i>	5,55
<i>Grasa (g/100g)</i>	< 0,1
<i>Proteínas (g/100g)</i>	0,2
<i>Lactosa (g/100g)</i>	5,72
<i>Cenizas (g/100g)</i>	0,48
<i>Energía (KJ/100g)</i>	87,27

Fuente: Adaptado de Ilic, D., Milanovic, S. y Ilicic, M. (2013)

Un valor promedio de contenido de cenizas en el permeado es de 0,48 % (ver Tabla 2). Un alto contenido de cenizas que se ingiere a través de la bebida puede usarse como suplemento para la ingesta de minerales (Murray y Stofan, 2001, como se citó en Ilic et al., 2013, p. 25).

#### **2.2.4 Beneficios del hidrolizado del permeado de leche**

La utilización del permeado de leche es limitado ya que la lactosa tiene bajo poder edulcorante, baja solubilidad y dificultad en la digestibilidad en personas intolerantes a la lactosa (Rexroat y Bradley, 1986, p. 1762). La hidrólisis enzimática de la lactosa del permeado de leche generalmente mejora la deseabilidad por aumento de la mejora del sabor, aumento de la presión osmótica, digestibilidad más fácil, mayor solubilidad, mayor dulzura y

fermentación más fácil (Coton, 1980; Arndt y Wehling, 1989; Geilman, 1993, como se citó en Singh et al., 2011, p. 692). La dulzura del permeado debido a la hidrólisis de lactosa ayuda a su utilización en productos lácteos como leche saborizada y leches fermentadas. Además, es ligero, refrescante, saludable y nutritivo (Jelen, 1992; Mann, 1994, como se citó en Singh et al., 2011, p. 692).

### **2.2.5 Ósmosis y tonicidad en las bebidas**

Ósmosis es el término utilizado para describir el flujo espontáneo de agua pura en una solución acuosa, o desde una solución menos concentrada hacia una solución más concentrada, cuando se separan ambas soluciones mediante una membrana adecuada (Bylund, 1996, p. 17).

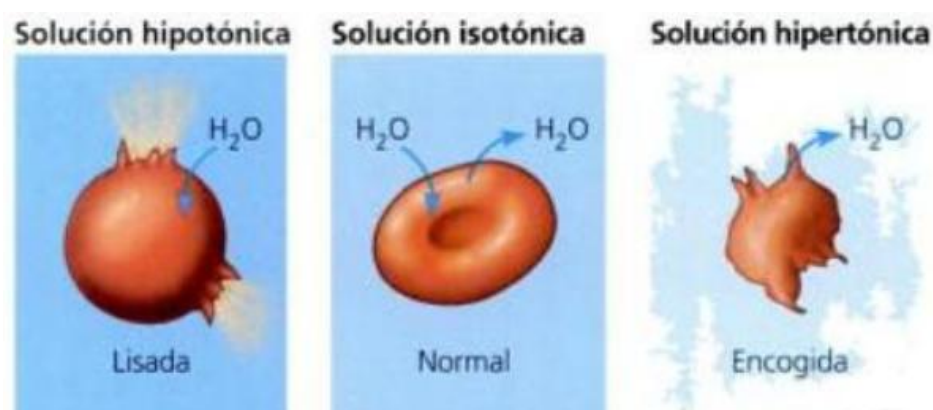
La tonicidad es la capacidad de una solución de permitir que una célula incorpore o pierda agua mediante ósmosis. La tonicidad de una solución está relacionada con su osmolaridad, que es la concentración total de todos los solutos en la solución. La tonicidad de una solución depende en parte de su concentración de solutos que no pueden atravesar la membrana, en relación con la concentración de estos dentro de la misma célula. Si hay más solutos no penetrantes en la solución circundante, el agua tenderá a abandonar la célula y viceversa (Campbell y Reece, 2007, p. 132).

En el organismo, el agua se mueve fácilmente cruzando las membranas celulares. Si la concentración de todas las sales disueltas no es igual fuera y dentro de la célula, habrá un flujo neto de moléculas de agua hacia dentro o fuera de la célula (ósmosis). La dirección del movimiento del agua (dentro de la célula

al medio externo o viceversa) depende si el medio donde se encuentra la célula es isotónico, hipotónico o hipertónico (Figura 4).

#### Figura 4

*Comportamiento celular en soluciones hipotónica, isotónica e hipertónica*



Fuente: Adaptado de Campbell, N. y Reece, J. (2007)

Como se observa en la Figura 4, si una célula se coloca en una solución hipertónica, perderá agua hacia el medio y disminuirá de tamaño. Cuando una célula se coloca en una solución hipotónica, el agua entrará en la célula con mayor rapidez que con la que sale de ella y la célula se hinchará. En una solución isotónica, el agua fluye a través de la membrana, pero a la misma velocidad en ambas direcciones. En un medio isotónico, el volumen de la célula es estable (Campbell y Reece, 2007, p. 132).

#### **Bebida isotónica**

Las bebidas isotónicas tienen la misma concentración de sales en ambos lados de la membrana de la célula, por lo tanto, la presión osmótica en la bebida isotónica es la misma que los fluidos corporales y no cambia el volumen celular.

Las bebidas isotónicas contienen electrolitos en concentraciones similares a nuestras células. Por lo tanto, si tomas bebidas isotónicas durante la práctica deportiva o cuando se realiza ejercicios restaura los minerales perdidos por el sudor y mantienen una hidratación adecuada (Elite Sports, 2019).

### **Bebida hipotónica**

Una bebida hipotónica tiene menor concentración de las sales en el medio externo en relación al medio citoplasmático de la célula. Una célula en una bebida hipotónica tenderá a hincharse de agua, aumentando su volumen, hasta equilibrar su concentración de sales con el medio externo. Las bebidas hipotónicas contienen una concentración de electrolitos menor que nuestras células. Por lo tanto, se consigue hidratar el medio intracelular (Elite Sports, 2019).

### **Bebida hipertónica**

Una bebida hipertónica es aquella que tiene mayor concentración de sales en el medio externo en relación al medio citoplasmático de la célula. Por lo que una célula en dicha bebida pierde agua (H<sub>2</sub>O) debido a la diferencia de presión (presión osmótica), llegando incluso a morir por deshidratación (Elite Sports, 2019).

### **2.2.6 Bebidas isotónicas y sus componentes**

Las bebidas isotónicas son aquellas destinadas fundamentalmente a reponer agua y minerales perdidos durante la actividad física y el deporte, calmar la sed, mantener el equilibrio metabólico y suministrar fuentes de energía de fácil

absorción y metabolismo rápido. Este tipo de bebidas también suelen incluir una mezcla de vitaminas, particularmente vitamina C, complejo B y E (Mena, 2002, p. 3).

En la Tabla 3 se muestra un comparativo de las bebidas comerciales isotónicas:

**Tabla 3**

*Comparación de bebidas comerciales isotónicas*

	Isostar	Up Grade	Powerade	Gatorade	Nutri Sport
<b>Azúcar</b>					
Fructuosa (%)	0,4	0,5	1,1	1,2	2,8
Glucosa (%)	0,4	0,5	1,1	1,6	1,5
Sacarosa (%)	4,3	4,7	4,3	2,2	No contiene
Total azúcares (carbohidratos simples %)	6,1	5,7	6,5	5,1	4,8
<b>Minerales</b>					
Sodio (mg/100 ml)	70,8	23,9	52,5	51,1	37,2
Potasio (mg/100 ml)	18,4	7,5	5,6	15,8	30,1
Calcio (mg/100 ml)	31,2	7,2	3,2	0,7	10,8
<b>Colorantes</b>					
Amarillo quinoleína (E-104)(ppm)	1,3	No contiene	No contiene	2,9	9,9
Amarillo anaranjado (E-110)(ppm)	0,5	No contiene	No contiene	No contiene	No contiene

Fuente: Adaptado de Zudaire, M. y Yoldi, G. (2004)

### **a) Componentes de una bebida isotónica**

Una bebida isotónica pueden contener hidratos de carbono, electrolitos, minerales y saborizantes, pero a diferencia de las bebidas energéticas, no contienen estimulantes en su composición, es decir, cafeína, guaraná, taurina, ginseng, L-carnitina, creatina o glucuro lactona, que además debe poseer una concentración de solutos próxima a la del plasma (Sánchez, 2017, p. 7).

Entre los componentes principales tenemos:

**El agua:**

Su aporte de agua contrarresta satisfactoriamente las pérdidas de la misma por el sudor.

**Carbohidratos:**

Los carbohidratos se incorporan a las bebidas deportivas como fuente energética. Aportan suficientes hidratos de carbono, permitiéndoles mantener una concentración de glucosa en sangre adecuada, retrasando así el agotamiento de las reservas de glucógeno muscular y hepático (Palacios et al., 2012, como se citó en Sánchez, 2017, p. 6).

La efectividad de una bebida isotónica depende del tipo de hidratos de carbono que lleva en su composición y de la concentración de los mismos. Los resultados más efectivos se obtienen con bebidas que llevan glucosa, sacarosa o combinaciones de glucosa. Los carbohidratos complejos como el almidón, necesitan digestión y son de absorción más lenta por lo que no están recomendados en ejercicios de alta intensidad (Morales et al., 2009, p. 6).

**Electrolitos:**

Los electrolitos son minerales inorgánicos presentes en la sangre y otros fluidos que transmiten la carga eléctrica, gracias a los iones que hacen una sustancia conductora eléctrica. Los electrolitos son sustancias esenciales en el cuerpo requerido para la transmisión de señales de la función de la célula y por ende,



en el correcto funcionamiento del organismo. Los principales electrolitos en el cuerpo humano son sodio ( $\text{Na}^+$ ), potasio ( $\text{K}^+$ ), calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), magnesio ( $\text{Mg}^{2+}$ ), cloruro ( $\text{Cl}^-$ ), fosfato monoácido ( $\text{HPO}_4^{2-}$ ) y bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ). El símbolo +/- indica la naturaleza iónica de la sustancia y de su carga positiva o negativa como resultado de la disociación (Mandal, 2019).

Una buena hidratación es condición fundamental para optimizar el rendimiento deportivo. La importancia de los líquidos, el agua y las bebidas para deportistas (bebidas isotónicas y bebidas de recuperación), radica en el restablecimiento de la homeostasis del organismo, por la pérdida de agua y electrolitos (iones) provocada por la actividad física por mecanismos como la sudoración (Martínez, Urdampilleta y Mielgo, 2013, p. 48).

Esta producción de sudor incrementada durante el ejercicio, se suma a las pérdidas diarias normales de agua, produciendo una importante pérdida adicional que afecta el balance hídrico (tiene que ver con el mantenimiento de la función fisiológica normal y el desempeño óptimo del ejercicio) de los individuos que realizan actividad física de intensidad moderada a alta (Ramos, 2007, pp. 11-12).

*Potasio*, desempeña un papel fundamental al ayudar a transportar la glucosa a la célula muscular. El potasio también interactúa con el sodio y el cloruro para controlar el equilibrio de líquidos y electrolitos y ayuda en la conducción de los impulsos nerviosos (Toker, s/f.).

*Sodio*, ayuda a la regulación de la hidratación, disminuye la pérdida de fluidos por la orina y participa en la transmisión de impulsos electroquímicos a través de

los nervios y músculos. La transpiración excesiva provoca pérdida de sodio. Las bebidas isotónicas suelen aportar entre 25-60 mg de sodio cada 100 ml (Gancedo, 2012, p. 1).

## **b) Aditivos en las bebidas isotónicas**

Los aditivos alimentarios mantienen la calidad y la consistencia de los bebidas. También mantienen la palatabilidad y la integridad de las bebidas, mejoran o mantienen su valor nutricional, controlan el pH apropiado, proporcionan color, y mejoran su sabor (Pandey y Upadhyay, 2012).

Entre los tipos de bebidas que se agregan a las bebidas isotónicas tenemos:

**Regulador de acidez:** Los reguladores de acidez se utilizan para cambiar o controlar la acidez y alcalinidad de las bebidas (Pandey y Upadhyay, 2012, p. 3). Ejemplos: Ácido cítrico, ácido málico, ácido fosfórico.

*Ácido cítrico:* Se utiliza en el sector de bebidas como un acidulante, para disminuir el pH de las bebidas. Además, desempeña un papel importante en la mejora de los sabores ya que proporciona un sabor ácido y refrescante que compensa la dulzura de muchas bebidas (Chant, 2018).

**Conservante:** Prolonga la vida útil de una bebida al protegerlo contra el deterioro causado por microorganismos (Pandey y Upadhyay, 2012, p. 8). Ejemplos: Benzoato de sodio, sorbato de potasio.

*Benzoato:* Es un conservante, se encuentran en bebidas. Se utilizan para extender la vida útil y proteger los alimentos de hongos y bacterias (Pandey y Upadhyay, 2012, p. 8).

**Edulcorante:** Se agregan a las bebidas para darles sabor. Se agregan edulcorantes distintos del azúcar para mantener baja la energía de las bebidas (calorías) (Pandey y Upadhyay, 2012). Ejemplo: Stevia, aspartame, sucralosa.

Stevia (Rebaudiósido A): Extracto en polvo fino dulce de la planta stevia rebaudiana. Es un edulcorante natural, trescientas veces más dulce que el azúcar (sacarosa) y no contiene calorías (Salvador et al., 2014, p. 157). Con su cero contenido de calorías y su excelente perfil de sabor, es la opción ideal para que los consumidores lo utilicen en bebidas como parte de una dieta balanceada y de calorías controladas.

**Saborizante:** Son aditivos que le dan a las bebidas un sabor u olor particular, y pueden derivarse de ingredientes naturales o crearse artificialmente (Pandey y Upadhyay, 2012, p. 6).

**Colorante:** Que agrega o restaura el color en una bebida. Los colorantes se agregan a las bebidas para reemplazar los colores perdidos durante la preparación, o para que las bebidas se vean más atractivos visualmente (Pandey y Upadhyay, 2012, p. 5).

**Estabilizante:** Permite mantener una dispersión uniforme de dos o más componentes (Pandey y Upadhyay, 2012, p. 9). Por ejemplo, la carboximetilcelulosa sódica (CMC) actúa en bebidas como un estabilizante, pues su cadena aniónica puede interactuar con diferentes sistemas, evitando la sedimentación y aglomeración de partículas. Promueve mayor estabilización de bebidas que poseen bajo pH y que pasan por tratamientos térmicos, por lo tanto,

mejora la apariencia de la bebida (lácteas, isotónicas, jugos) dando la estabilidad durante su almacenamiento (Coppini, 2020).

### **2.3 Conceptual**

El permeado de leche es un subproducto obtenido del proceso de deslactosado de leche por medio de técnicas de membranas de ultrafiltración. Este permeado pasa por membranas de nanofiltración con el fin de retener la lactosa y recuperar los minerales que pasan a través de la membrana para ser recirculados al inicio del proceso de deslactosado. El permeado retenido en esta última etapa se le llama permeado concentrado el cual está compuesto principalmente por lactosa con un porcentaje entre el 7 % al 9% y sales minerales como el potasio, sodio, calcio, fósforo y magnesio. Este porcentaje de lactosa es muy alto para ser usado directamente. La lactosa es el azúcar de la leche de vaca que es menos dulce y es más difícil de ser absorbida por el organismo que la sacarosa. La hidrólisis enzimática de la lactosa permite desdoblar la lactosa en glucosa y galactosa lo cual mejora significativamente la absorción por el organismo y además que aumenta su poder edulcorante.

Las bebidas isotónicas que conocemos comercialmente con las marcas de Gatorade, Sporade y Powerade están compuestas principalmente con carbohidratos y sales minerales. Según el Reglamento Sanitario de los Alimentos de Chile (Minsal, 2019, p. 169), una bebida isotónica debe tener una osmolaridad entre 250 mOsm/L – 340 mOsm/L. Este rango de osmolaridad que caracteriza a

una bebida isotónica permite una rápida y fácil asimilación de los carbohidratos y sales minerales de la bebida.

La osmolaridad de una bebida depende del número total de partículas en una solución y son independientes de la carga, tamaño o forma de estas. Cualquier condición que cambie la presión osmótica efectiva, produce movimiento de líquidos entre compartimientos hasta que se alcance su equilibrio. La osmolaridad representa la intensidad de la presión osmótica en el organismo y tiene que ser similar a la del intestino, por ejemplo, donde se produce la absorción de nutrientes. Los minerales y los carbohidratos solubles en los líquidos y soluciones son los principales determinantes de la osmolaridad (Dini et al., 2004, p. 324).

La osmolaridad es el número de partículas que hay en un litro de solución, el cual se mide en miliosmoles por litro (mOsm/L). Al realizar la hidrólisis enzimática del permeado concentrado de leche, la molécula de la lactosa se descompone en glucosa y galactosa, por lo tanto, existirá un aumento de la osmolaridad de la solución. Por tal motivo, se elaboró una bebida isotónica diluyendo el permeado concentrado hasta un porcentaje adecuado para aprovechar los minerales que contiene, asimismo, a la formulación se le agregó la stevia (Rebaudiósido A) que permitió regular el dulzor del producto final.

## 2.4 Definición de términos básicos

**Permeado de leche:** Es un subproducto del proceso de la concentración de la leche mediante membranas de ultrafiltración.

**Permeado concentrado de leche:** Es el concentrado del permeado de leche mediante membranas de nanofiltración.

**Hidrólisis enzimática:** Es una reacción química catalizada por enzimas hidrolasas que aceleran la ruptura de enlaces químicos por medio del agua.

**Osmolaridad:** Es el número de partículas que hay un litro de solución, el cual mide osmoles por litro (Osm/L) o en miliosmoles por litro (mOsm/L).

**Aditivos alimentarios:** Son sustancias químicas que se adicionan intencionalmente a los alimentos para conservar o mejorar su sabor, apariencia, frescura, textura e inocuidad del producto.

**Evaluación sensorial:** Es el análisis de las características organolépticas de un alimento a través de los sentidos.

**Formulación de producto:** Es el proceso en el que se combinan diferentes componentes en proporciones específicas para crear un producto deseado.

### **III. HIPÓTESIS Y VARIABLES**

#### **3.1 Hipótesis**

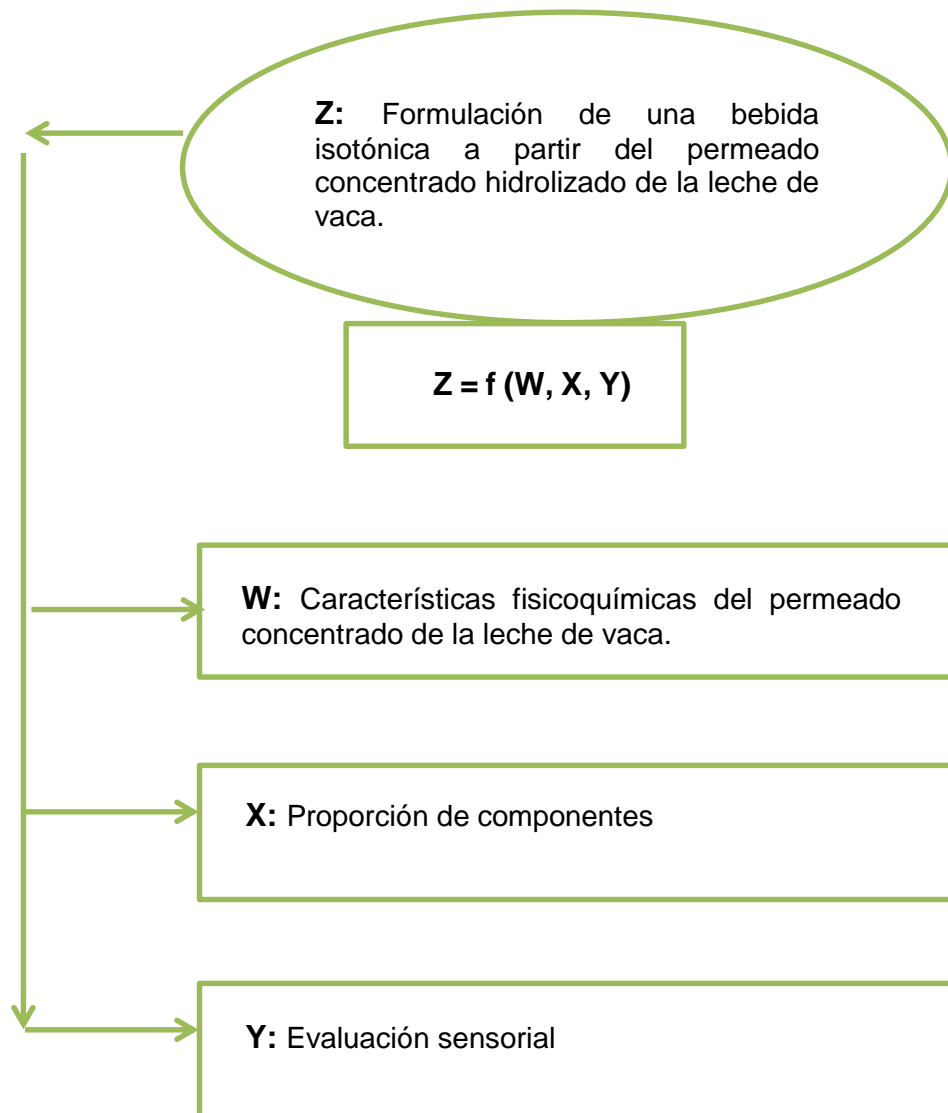
##### **3.1.1 Hipótesis general**

Mediante una dilución del hidrolizado del permeado concentrado de leche de vaca y con la adición de aditivos, se logrará formular una bebida isotónica con una adecuada concentración de minerales.

##### **3.1.2 Hipótesis específicas**

- 1) El permeado concentrado de la leche de vaca tiene un alto contenido de minerales y carbohidratos que puede utilizarse en la formulación de una bebida isotónica.
- 2) Mediante un diseño factorial se podrá encontrar la formulación adecuada que cumpla con la osmolaridad y el contenido de minerales de una bebida isotónica.
- 3) La evaluación sensorial de seis formulaciones propuestas mediante una escala hedónica estructurada por atributos de olor, color, sabor y textura, permitirá determinar la bebida de mayor preferencia.

### 3.2 Definición conceptual de las variables





### 3.2.1 Operacionalización de la variable

VARIABLES DEPENDIENTES	INDICADORES	DIMENSIONES	MÉTODO
Z = Formulación de una bebida isotónica a partir del permeado concentrado hidrolizado de la leche de vaca.	Osmolaridad	mOsm/L	Crioscopía
	Minerales	mg/L	Espectrofotometría de absorción atómica y colorimetría
	Microbiológico	UFC/ml	Recuento por siembra en placa
VARIABLES INDEPENDIENTES	INDICADORES	DIMENSIONES	MÉTODO
W = Características fisicoquímicas del permeado concentrado de la leche de vaca.	Minerales (sodio, potasio, fósforo, calcio, magnesio)	mg/L	Espectrofotometría de absorción atómica y colorimetría
	Sólidos totales	%	Gravimétrico en estufa
	Osmolaridad	mOsm/L	Crioscopía
	Potencial de hidrógeno	pH	Potenciometría
X = Proporción de componentes	Permeado concentrado	%p/p	Deductivo, observativo, comparativo y experimental
	Stevia		
	Saborizante		
	Colorante		Revisión de normas internacionales y fichas técnicas de insumos
	Conservante		Ensayos experimentales
Estabilizante	Evaluación Sensorial	Observativo y comparativo	
Regulador de acidez			Escala hedónica
Y = Evaluación sensorial	Olor, color, sabor, textura	Evaluación Sensorial	Observativo y comparativo Escala hedónica

## **IV. DISEÑO METODOLÓGICO**

### **4.1 Tipo y diseño de la investigación**

#### **4.1.1 Tipo de investigación**

El tipo de investigación del presente trabajo se encuentra ubicado en la línea de investigación prioritaria, en el área de ingeniería y tecnología, sub área de ingeniería de alimentos, porque se formuló una bebida isotónica a partir de permeado concentrado hidrolizado de la leche de vaca.

Según su propósito es una investigación aplicada porque sus resultados sirven para ponerlos en práctica en el sector productivo, utilizando un subproducto residual como es el permeado concentrado de leche para la elaboración de una bebida isotónica con alto contenido de minerales.

Según el grado de manipulación de variables es una investigación experimental, porque que se manipuló las variables de porcentaje de permeado concentrado de leche y el porcentaje de edulcorante con una combinación factorial 3x2 para obtener la bebida isotónica que cumpla con las especificaciones de osmolaridad y sea agradable para el consumidor.

Según el tipo de datos empleados es una investigación cuantitativa y cualitativa. Es cuantitativa porque se utilizó herramientas matemáticas para determinar la proporción adecuada de componentes para formular la bebida isotónica. Es cualitativo porque se realizó encuestas de pruebas hedónicas para determinar la fórmula con mayor preferencia organoléptica.

#### **4.1.2 Diseño de la investigación**

##### **Investigación bibliográfica**

Se revisó la bibliografía y normas internacionales para identificar la osmolaridad que debe tener una bebida isotónica y cuáles son sus características fisicoquímicas. Esta información se tomó como criterio para determinar la proporción de permeado concentrado a utilizar en la bebida. Se revisó las fichas técnicas y bibliografía de los aditivos como el saborizante, edulcorante, colorante, conservante y estabilizante para determinar los porcentajes a utilizar en la bebida.

##### **Investigación experimental**

Se caracterizó el permeado concentrado obtenido de la ultrafiltración de la leche de vaca. Se identificó sus características fisicoquímicas: pH, sólidos totales, osmolaridad y contenidos de minerales (Na, K, Ca, Mg y P). Luego, se realizó la hidrólisis enzimática del permeado concentrado para desdoblar la lactosa en glucosa y galactosa de más fácil digestión y poder utilizarla en la bebida.

Se diluyó a siete porcentajes de permeado concentrado hidrolizado y se determinó su osmolaridad. Mediante una regresión lineal se determinó los porcentajes de permeado concentrado hidrolizado a utilizar en las formulaciones.

Con la teoría y la información obtenida en las etapas anteriores, se propuso las formulaciones a utilizar en la bebida isotónica.

Se eligió el tipo de evaluación sensorial y las características organolépticas a evaluar, y se estableció el análisis estadístico para obtener la bebida isotónica con mejor preferencia.

Se realizó la evaluación sensorial y el análisis de osmolaridad de las formulaciones. Se eligió la mejor fórmula que tuvo mejor aceptación sensorial y que cumplió con la osmolaridad de una bebida isotónica. Finalmente, se realizó la caracterización fisicoquímica y los análisis microbiológicos a la fórmula elegida.

### **Diseño experimental**

Para realizar las formulaciones de la bebida isotónica se utilizó una combinación factorial 3x2, tomando como variables el porcentaje de permeado concentrado hidrolizado y el porcentaje de stevia en 3 y 2 niveles respectivamente, según se detalla en la Tabla 4.

**Tabla 4**

*Variables y niveles para el diseño experimental*

Variables	Niveles		
	1	2	3
Porcentaje de permeado concentrado hidrolizado	A1	A2	A3
Porcentaje de stevia	B1	B2	-

Se utilizó 3 porcentajes de permeado concentrado hidrolizado, teniendo en cuenta que una bebida isotónica debe tener una osmolaridad entre 250 mOsm/L – 340 mOsm/L (Minsal, 2019, p. 169):

*A1% = dilución del permeado concentrado hidrolizado hasta obtener una osmolaridad de 250 mOsm/L.*

*A2% = dilución del permeado concentrado hidrolizado hasta obtener una osmolaridad de 270 mOsm/L.*

*A3% = dilución del permeado concentrado hidrolizado hasta obtener una osmolaridad de 290 mOsm/L.*

Las osmolaridad final de la bebida se complementaron con el aporte de osmolaridad de los demás aditivos.

Se utilizó 2 porcentajes de stevia (Rebaudiósido A) teniendo en cuenta que las bebidas isotónicas del mercado muestran un contenido de azúcares totales de 4.8 % a 6.5 %, según se presentó en la Tabla 3.

*B1% = porcentaje que le dará un dulzor equivalente a 4,0 % de sacarosa.*

*B2% = porcentaje que le dará un dulzor equivalente a 5,5 % de sacarosa.*

El dulzor de la stevia se complementó con el dulzor propio del permeado concentrado hidrolizado para la bebida final.

Según la combinación factorial 3x2 planteada se preparó 6 formulaciones.

En la Tabla 5 se muestra el diseño experimental utilizando una combinación 3x2.

**Tabla 5**

*Diseño experimental utilizando una combinación factorial 3x2*

Número de formulación	Notación de variables	Vector de respuesta					
		Puntuación media de evaluación sensorial					Osmolaridad
		Olor	Color	Sabor	Textura	Aceptación general	
F1	A1B1	EO1	EC1	ES1	ET1	EG1	OS1
F2	A1B2	EO2	EC2	ES2	ET2	EG2	OS2
F3	A2B1	EO3	EC3	ES3	ET3	EG3	OS3
F4	A2B2	EO4	EC4	ES4	ET4	EG4	OS4
F5	A3B1	EO5	EC5	ES5	ET5	EG5	OS5
F6	A3B2	EO6	EC6	ES6	ET6	EG6	OS6

## 4.2 Método de investigación

En la presente tesis se utilizó el método deductivo, observativo, comparativo y experimental ya que se ha basado en la experimentación, observación científica y la medición para obtener la bebida isotónica.

## 4.3 Población y muestra

### 4.3.1 Población

La población estuvo conformado por el total de permeado concentrado generado del proceso de ultrafiltración de la empresa Leche Gloria que corresponde a un lote de producción.

### 4.3.2 Muestra

El tamaño de muestra utilizado para las pruebas experimentales y los análisis ha sido de 12 litros.

## **4.4 Lugar de estudio y periodo desarrollado**

### **4.4.1 Lugar de estudio**

En el laboratorio de la empresa Leche Gloria se realizó las formulaciones de la bebida isotónica, los análisis de pH, °Brix, sólidos totales, osmolaridad y evaluación sensorial de la bebida.

### **4.4.2 Periodo desarrollado**

La presente investigación se inició en diciembre del 2019 y concluyó en junio del 2021.

## **4.5 Técnicas e instrumentos para la recolección de la información**

### **4.5.1 Hidrólisis enzimática del permeado concentrado**

Previa a la utilización del permeado concentrado a utilizar en la formulación de la bebida, se realizó una hidrólisis enzimática de lactosa para que nuestra materia prima principal sea más dulce, agradable al paladar y de más fácil digestión.

Los parámetros de la hidrólisis enzimática de pH, temperatura, tiempo y concentración de enzima se tomaron como referencia de la ficha técnica del proveedor de enzima Ha-Lactase 5200 CHR Hansen (Anexo 3).

Para la hidrólisis del permeado concentrado se siguió los siguientes pasos:

- a) Se diluyó una muestra de 2 litros hasta obtener 8,0 grados °Brix.
- b) Se midió el pH de la muestra, y se ajustó hasta 6,35 pH utilizando ácido cítrico.

- c) Se colocó 2 litros de la muestra en un Thermomix marca Vorwerk (Figura 5), se graduó el equipo a 200 rpm y la temperatura a 40 °C. Luego se añadió la enzima Ha-Lactase al 0,14% p/p del total de muestra y se dejó hidrolizar hasta alcanzar una hidrólisis mayor al 90%.

### Figura 5

*Equipo thermomix marca Vorwerk*



Para determinar el tiempo necesario para alcanzar una hidrólisis mayor al 90% se realizó una curva de % de hidrólisis tomando muestras cada media hora. El porcentaje de hidrólisis se determinó mediante la disminución del punto de congelación de la muestra. Las mediciones de punto de congelación se determinó usando el equipo crioscópico de marca The Advanced Cryoscope Model 4D3 del proveedor Advanced Instruments (Figura 6).



**Figura 6**

*Equipo crioscopista marca The Advanced Cryoscope Model 4D3*



Se utilizó la siguiente fórmula tomada de la publicación de la empresa estadounidense Advanced Instruments (2007):

$$\% \text{Hidrólisis} = \frac{FP_c - FP_d}{FP_b - FP_a} * 100\% \quad (1)$$

**FPa:** Punto de congelación "a". Muestra blanco de referencia. Se colocó 1 ml de enzima lactasa desactivada (la enzima se desnaturaliza aumentando la temperatura por encima de 50°C por 10 minutos) en 100 ml de permeado concentrado. Se incubó a 40 °C por 3 horas. Luego se midió el punto de congelación.

**FPb:** Punto de congelación “b”. Muestra de prueba hidrolizado al 100%. Se colocó 1 ml de enzima lactasa en 100 ml de permeado concentrado. Se incubó a 40 °C por 3 horas. Luego se midió el punto de congelación.

**FPc:** Punto de congelación “c”. Muestra de seguimiento de hidrólisis. Se colocó la enzima lactasa al permeado concentrado en la concentración establecida de trabajo. Se incubó a 40 °C y se midió el punto de congelación cada media hora.

**FPd:** Punto de congelación “d”. Muestra blanco de seguimiento de hidrólisis. Se colocó la enzima lactasa desactivada al permeado concentrado en la concentración establecida de trabajo. Se incubó a 40 °C y se midió el punto de congelación cada media hora.

#### **4.5.2 Determinación del punto de congelación y osmolaridad**

Según se menciona en la norma técnica colombiana NTC 3837 (2009), cada osmol de soluto añadido a 1 kg de agua disminuye el punto de congelamiento aproximadamente en 1,86 °C. Estos cambios físicos son medibles y permiten estimaciones aproximadas de concentraciones osmóticas.

Se colocó un volumen de 2 ml de solución en un tubo de vidrio y se introdujo en el equipo crioscópico de marca The Advanced Cryoscope Model 4D3. El equipo midió la disminución del punto de congelamiento de la muestra.

El cálculo de la osmolaridad se obtuvo por la siguiente ecuación (NTC 3837, 2009):

$$\text{Osmolaridad} \left( \frac{\text{mOsm}}{\text{L}} \right) = \frac{\Delta T^{\circ}\text{C}}{K_c} * 1000 \quad (2)$$

En que  $K_c = 1,86 \text{ } ^\circ \text{C mol}^{-1} \text{ kg}^{-1}$  (constante crioscópica del agua).

$\Delta T^\circ \text{C}$  = temperatura en el punto de congelación de la muestra líquida.

#### **4.5.3 Determinación de los porcentajes de los aditivos alimentarios a utilizar en la formulación de la bebida isotónica**

El porcentaje de los siguientes aditivos alimentarios será invariable en las formulaciones propuestas:

**Regulador de acidez:** Se utilizó ácido cítrico (Anexo 4) y se ajustó el pH final de la bebida hasta un pH aproximado de 3,90.

**Saborizante:** Se utilizó un saborizante de piña (Anexo 5). El porcentaje de saborizante se tomó como punto de partida las recomendaciones del proveedor y se ajustó en los ensayos experimentales.

**Colorante:** Se utilizó colorante de betacaroteno (Anexo 6) por ser un colorante natural y dar una coloración similar a la bebida de piña. El porcentaje de colorante se determinó en los ensayos experimentales de acuerdo a la coloración deseada y cumpliendo con los límites máximos permitidos en la Norma General para los Aditivos Alimentarios (Codex Alimentarius). Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (2019), para bebidas electrolíticas se permite máximo una concentración de betacaroteno de 100 mg/Kg o 0,01 % p/p.

**Conservante:** Se utilizó sorbato de potasio (Anexo 7) y benzoato de sodio (Anexo 8). El porcentaje de sorbato y benzoato se utilizó tomando como

referencia el uso en bebidas acidificadas en el mercado y cumpliendo con los límites máximos permitidos en la Norma General para los Aditivos Alimentarios (Codex Alimentarius). Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (2019), para bebidas electrolíticas se permite máximo una concentración de sorbato de potasio de 500 mg/Kg o 0,05 % p/p y una concentración máxima de benzoato de sodio de 250 mg/Kg o 0,025 % p/p.

**Estabilizante:** Se utilizó carboximetilcelulosa sódica (CMC) (Anexo 9). Según Singh et al. (2011) en la elaboración de una bebida de limón en base a suero hidrolizado, obtuvo buenos resultados utilizando porcentajes de CMC entre 0,03 % a 0,07 %. En los ensayos experimentales se determinó que a 0,03 % se lograba buena estabilidad.

En la Figura 7 se muestran los aditivos utilizados en la formulación de la bebida.

### Figura 7

*Aditivos utilizados en la formulación de la bebida*



Para determinar las osmolaridad que aporta los aditivos a la bebida isotónica se preparó una solución de 1 litro con los porcentajes de aditivos, se midió el punto de congelación y en base a esta medición se determinó el valor de osmolaridad.

#### 4.5.4 Determinación de los porcentajes del permeado concentrado hidrolizado a utilizar en las formulaciones de la bebida isotónica

Según los cálculos realizados, los aditivos de la fórmula tienen una osmolaridad de 37,03 mOsm/L. Por esta razón se planteó utilizar porcentajes de permeado concentrado hidrolizado que tengan 250 mOsm/L, 270 mOsm/L y 290 mOsm/L, lo cual permitió estar dentro de especificación para una bebida isotónica.

Para determinar los porcentajes (A1%, A2% y A3%) de permeado concentrado hidrolizado a utilizar en las formulaciones, se realizó una regresión lineal de Osmol/L vs % Permeado concentrado hidrolizado.

Para obtener la ecuación lineal se diluyó el permeado concentrado hidrolizado (Figura 8) con agua osmotizada, a siete porcentajes: 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % y 100 %, y se determinó la osmolaridad para cada dilución. Se utilizó el programa Minitab 18 para calcular la regresión lineal y la ecuación. Luego, se reemplazó en la ecuación los valores de osmolaridad deseados para hallar los porcentajes de permeado concentrado a utilizar en las formulaciones.

**Figura 8**

*Permeado concentrado hidrolizado*



#### 4.5.5 Determinación de los porcentajes de stevia a utilizar en las formulaciones de la bebida isotónica

Para la determinación del porcentaje de stevia (Rebaudiósido A) se tuvo en cuenta su poder edulcorante que es 300 más dulce que el azúcar de sacarosa (Anexo 2).

Tomando ese criterio se obtiene la siguiente ecuación:

$$\%Stevia = \frac{\%sacarosa \text{ en bebida}}{300} \quad (3)$$

Para la bebida se eligió porcentajes de stevia que aportaron a la bebida un dulzor equivalente de 4,0 % y 5,5 % de sacarosa. Por lo tanto, se reemplazó en la ecuación para obtener los porcentajes de stevia a utilizar en las formulaciones.

#### 4.5.6 Procedimiento experimental

A continuación se detalla la secuencia del proceso diseñado para la elaboración de una bebida isotónica a partir del permeado concentrado de la leche de vaca:

**Dilución:** La materia prima (permeado concentrado de leche de vaca) se diluye a 8 grados brix, utilizando agua osmotizada.

**Acondicionamiento:** Se añade ácido cítrico hasta llevar el pH de la muestra a un valor de 6,35 (pH óptimo para realizar la hidrólisis enzimática según la ficha técnica de la enzima HA-Lactase 5200).

**Hidrólisis:** La preparación se coloca en un Termomix y se graduó el equipo a 200 rpm y la temperatura a 40 °C. Luego de añade la enzima Ha- Lactase 5200 en un 0,14% según ficha técnica y se deja reaccionar por 2 horas.

**Dilución:** Se diluyó la muestra en tres porcentajes de permeado concentrado para preparar las formulaciones propuestas, utilizando agua osmotizada.

**Formulación:** De acuerdo al diseño experimental se realizaron seis formulaciones tomando como variables el porcentaje de permeado concentrado hidrolizado y el porcentaje de stevia. Los porcentajes de los demás aditivos fueron invariables.

**Pasteurización:** Se pasteurizó a una temperatura de 70°C x 15 minutos.

**Envasado:** Se envasó en caliente en botellas tereftalato de polietileno (PET) de 400 ml.

**Almacenamiento:** Se refrigeró a una temperatura entre 2°C a 8°C.

#### **4.5.7 Evaluación sensorial**

Se realizaron las pruebas sensoriales a las seis formulaciones planteadas y se utilizó una escala hedónica estructurada de 9 puntos para atributos de color, sabor, olor y textura general donde 9 equivale a la nota máxima “Me gusta extremadamente” y 1 equivale a la nota mínima “Me disgusta extremadamente”. Esta escala es la comúnmente utilizada y recomendada para proyectos de investigación estándar donde se requiere determinar si existe diferencia entre los productos en la aceptación del consumidor (Ramírez, 2012, p. 91). La puntuación se colocó en una hoja de respuesta de prueba hedónica (Anexo 10) tomando como modelo el mostrado por Ramírez (2012) en su publicación Análisis Sensorial: Prueba Orientadas al Consumidor.

La prueba se realizó con 50 panelistas no entrenados. Cada panelista recibió 50 ml de cada una de las formulaciones en vasos descartables codificados con números aleatorios de tres dígitos (Figura 9). El orden de las muestras fueron presentados de forma aleatoria para cada panelista.

### **Figura 9**

*Formulaciones propuestas para el panel sensorial*



Los panelistas evaluaron las muestras en cabinas individuales (Figura 10) iluminadas con tubos fluorescentes de luz blanca en la parte superior.

### **Figura 10**

*Cabina de degustación*





#### 4.5.8 Análisis químico proximal, de minerales y microbiológicos

Las técnicas y normas para aplicar el análisis químico proximal, de minerales, azúcares totales y microbiológicos son mostradas en las tablas 6, 7 y 8.

**Tabla 6**

*Análisis químico proximal*

Análisis	Técnica	Norma
Carbohidratos	Determinación por cálculo	-
Ceniza	Calcinación	NTP 202.012 2008
Grasa	Extracción sólido-líquido Soxhlet	AOAC 963.15
Humedad	Determinación por cálculo	-
Proteínas	Semi-micro Kjeldahl	NTP 202.119 1998
Sólidos totales	Secado en estufa	NTP 202.118 1998

**Tabla 7**

*Análisis de minerales y azúcares totales*

Análisis	Técnica	Norma
Análisis de sodio	Espectrofotometría de absorción atómica	AOAC 985.35/ AOAC 970.39
Análisis de potasio	Espectrofotometría de absorción atómica	AOAC 985.35/ AACC 40-71.01
Análisis de calcio	Espectrofotometría de absorción atómica	AOAC 985.35/ AOAC 975.03
Análisis de magnesio	Espectrofotometría de absorción atómica	AOAC 985.35/ AOAC 975.03
Análisis de fósforo	Colorimetría	AOAC 986.24/ AOAC 995.11
Azúcares totales	Colorimetría	NTP 209.173

Los análisis microbiológicos son mostrados en la Tabla 8.

**Tabla 8**

*Análisis microbiológicos*

Análisis	Técnica	Norma
Análisis de aerobios mesófilos	Recuento por siembra en placa	ICMSF 2000
Análisis de coliformes	Número más probable	ICMSF 2000
Análisis de mohos	Recuento por siembra en placa	APHA/CMMEF 2015
Análisis de levaduras	Recuento por siembra en placa	APHA/CMMEF 2015

**4.5.9 Análisis fisicoquímicos**

Las técnicas y normas para aplicar los análisis fisicoquímicos de pH, °Brix y sólidos totales son mostrados en la Tabla 9.

**Tabla 9**

*Análisis fisicoquímicos*

Análisis	Técnica	Norma
pH	Potenciometría	AOAC 981.12
°Brix	Refractometría	AOAC 931.12
Sólidos totales	Secado en estufa	ISO 6731:2010

Los instrumentos utilizados para estos análisis son mostrados en las figuras 11, 12 y 13:

**Figura 11**

*Equipo potenciómetro marca SI Analytics modelo Lab 850*



**Figura 12**

*Equipo refractómetro marca Rudolph modelo J157*



En la Figura 13 se muestra el equipo estufa marca Memmert modelo UF 55.

### Figura 13

*Equipo estufa marca Memmert modelo UF 55*



## 4.6 Análisis y procesamiento de datos

### 4.6.1 Análisis estadístico para la determinación de los porcentajes de permeado concentrado hidrolizado a utilizar en la formulación de la bebida

Para realizar la regresión lineal de Osmolaridad vs % Permeado concentrado hidrolizado se utilizó el programa estadístico Minitab 18 y se determinó el coeficiente de Pearson (Hernández et al., 2018). Además mediante el programa se obtuvo la ecuación lineal y se calculó los estadísticos S (desviación estándar), R-cuad (R cuadrado), R-cuad ajustado (R cuadrado ajustado).

#### **4.6.2 Análisis estadístico para la determinación de la bebida de mayor aceptación sensorial**

Primero se calculó las puntuaciones medias obtenidas del panel sensorial de olor, color, sabor, textura y su aceptación general de las seis formulaciones propuestas. Para la puntuación de la aceptación general se calculó el promedio de puntuaciones de las características sensoriales de olor, color, sabor y textura de cada formulación. Se determinó mediante un Análisis de Varianza (ANOVA) si existen diferencias significativas entre las medias para cada característica organoléptica y su aceptación general. Se utilizó el programa estadístico Minitab 18 para obtener los valores estadísticos SC Ajust. (Suma ajustada de los cuadrados), MC Ajust. (Cuadrados medios ajustados), valor-F y valor-p a un nivel de significancia de 0,05. Si el valor p obtenido es menor a 0,05, entonces hay diferencias significativas entre las formulaciones. Si hay diferencias significativas entre las formulaciones, se aplicó un método de comparaciones múltiples llamado prueba de tukey al 95% de confianza para determinar cuál fue la formulación de la bebida que difieren las medias y que presentó mayor puntuación. La prueba de tukey agrupó las medias en diferentes familias (letras). Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Además se complementó con un diagrama de cajas para observar gráficamente si hay diferencia entre las puntuaciones de las formulaciones de la bebida.

## **V. RESULTADOS**

### **5.1 Resultados descriptivos**

No es del caso su aplicación al presente trabajo de investigación, puesto que los resultados descriptivos son aquellos resultados recopilados en unos valores numéricos al aplicar medidas de centralización, medidas de dispersión, medidas de forma y de relación entre variables.

### **5.2 Resultados inferenciales**

No es del caso su aplicación, puesto que el objetivo de la presente investigación no es inducir el comportamiento de una población a partir de una muestra.

### **5.3 Otro tipo de resultados de acuerdo a la naturaleza del problema y la hipótesis**

#### **5.3.1 Características fisicoquímicas del permeado concentrado de la leche de vaca**

Se realizó la caracterización del permeado concentrado de leche de vaca obtenido del proceso de ultrafiltración y nanofiltración. Los resultados de los análisis de la composición química proximal, sólidos totales y concentraciones de minerales, realizados en el laboratorio externo NSF INASSA (Anexo 11 y 12); se muestran en las Tablas 10 y 11. Los análisis de pH y osmolaridad se realizaron en los laboratorios de la empresa. Los resultados se muestran en la Tabla 12.

**Tabla 10***Análisis químico proximal del permeado concentrado de leche*

Análisis	Unidad	Resultado
Carbohidratos	%	8,37
Ceniza	%	0,72
Grasa	%	0,08
Humedad	%	90,60
Proteína	N x 6.38 %	0,23
Sólidos totales	%	9,40

Fuente: NSF INASSA S.A.C. (2020). Informe de ensayo n°166681.

**Tabla 11***Análisis de minerales del permeado concentrado de leche*

Análisis	Unidad	Resultado
Calcio	mg/L	371,4
Fósforo	mg/100g	65,55
Magnesio	mg/L	131,1
Potasio	mg/L	2121,5
Sodio	mg/L	651,2

Fuente: NSF INASSA S.A.C. (2020). Informe de ensayo n°166679.

**Tabla 12***Análisis de pH y osmolaridad del permeado concentrado de leche*

Análisis	Unidad	Resultado
pH	-	6,73
Osmolaridad	mOsm/L	423,8

### 5.3.2 Hidrólisis enzimática del permeado concentrado

La disminución del punto de congelación causada por la conversión hidrolizada al 100 % de lactosa a glucosa y galactosa dio un resultado de - 0,392 °C. Los resultados del seguimiento de hidrólisis cada treinta minutos se detallan en la Tabla 13 y en la Figura 14.

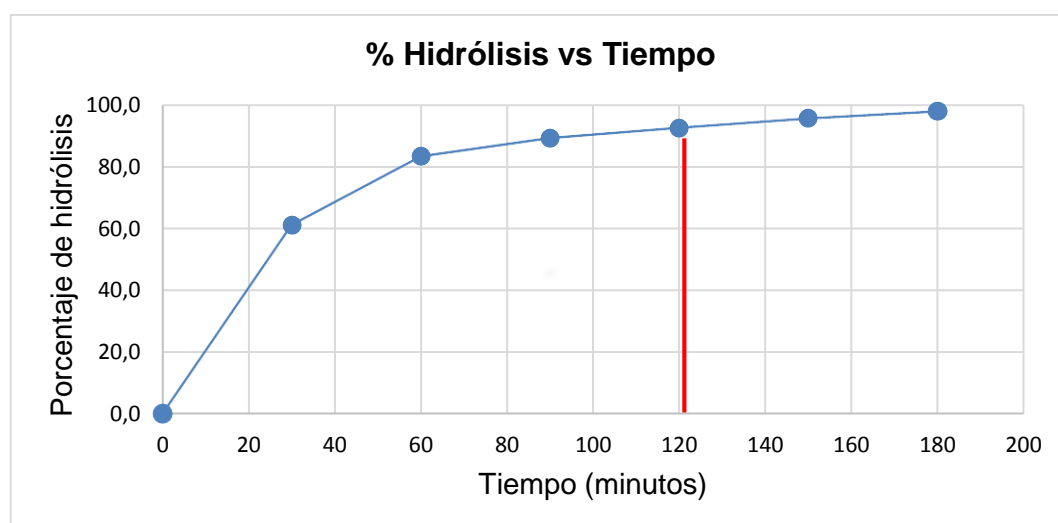
**Tabla 13**

*Seguimiento a la reacción de la hidrólisis enzimática en el tiempo*

Tiempo (minutos)	$\Delta$ Punto de congelación °C (FPc-FPd)	%Porcentaje de hidrólisis
0	0	0
30	- 0,240	61,2
60	- 0,327	83,4
90	- 0,350	89,3
120	- 0,363	92,6
150	- 0,375	95,7
180	- 0,384	98,0

**Figura 14**

*Curva de % hidrólisis enzimática vs tiempo*





Como se muestra en la gráfica al hidrolizar el permeado concentrado por un tiempo de 2 horas se consiguió un porcentaje de hidrólisis mayor al 90%.

### 5.3.3 Porcentajes de aditivos en la formulación de la bebida isotónica

En base a lo descrito en el capítulo 4.5.3 se determinó los porcentajes de aditivos para la formulación de la bebida isotónica, tal como se muestra en la Tabla 14.

**Tabla 14**

*Porcentaje de aditivos para la formulación de la bebida isotónica*

<b>Aditivo</b>	<b>Porcentaje</b>
Ácido Cítrico	0,23
Sabor Piña	0,05
Betacaroteno	0,005
Carboximetilcelulosa de sodio	0,03
Sorbato de potasio	0,018
Benzoato de sodio	0,012

La osmolaridad que aporta los aditivos a la bebida fue de 37,03 mOsm/L.

### 5.3.4 Porcentajes del permeado concentrado hidrolizado a utilizar en las formulaciones de la bebida isotónica

Los resultados de °Brix y osmolaridad para las diluciones del permeado concentrado se muestra en la siguiente Tabla 15 y se utilizó el programa Minitab 18 para obtener la gráfica correspondiente (Figura 15).

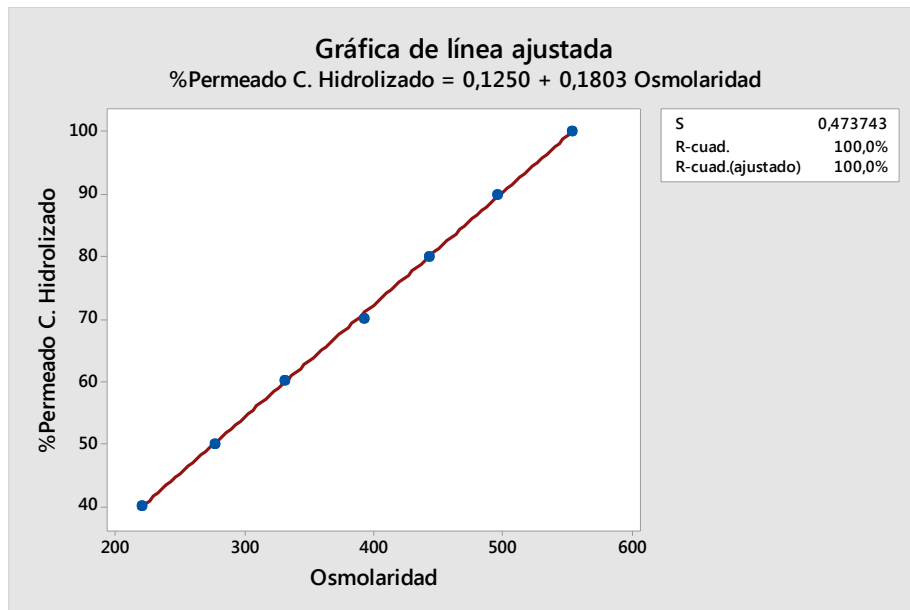
**Tabla 15**

*Osmolaridad del permeado concentrado hidrolizado*

%Permeado Conc. Hidrolizado	%Agua	°Brix	Osmolaridad (mOsm/L)
100	0	8,17	554,3
90	10	7,32	495,7
80	20	6,50	443,0
70	30	5,73	392,5
60	40	4,92	331,2
50	50	4,08	276,9
40	60	3,23	219,9

**Figura 15**

*Regresión lineal de Osmolaridad vs Porcentaje de permeado concentrado hidrolizado*



El coeficiente de correlación de Pearson es igual a 1,0 y la ecuación de regresión lineal obtenida es:

$$\% \text{Permeado Concentrado Hidrolizado} = 0,1250 + 0,1803 \times \text{Osmolaridad} \quad (4)$$

Se reemplazó en la ecuación los valores de osmolaridad 250 mOsm/L, 270 mOsm/L y 290 mOsm/L para obtener los porcentajes de permeado concentrado hidrolizado a diluir. Los porcentajes determinados para la formulación se detallan en la Tabla 16.

**Tabla 16**

*Porcentaje de permeado concentrado hidrolizado en relación a su osmolaridad*

Osmolaridad (mOsm/L)	%Permeado Conc. Hidrolizado	%Agua
250	45,2	54,8
270	48,8	51,2
290	52,4	47,6

Por lo tanto, para la formulación de la bebida isotónica se utilizó como variable el porcentaje de permeado concentrado hidrolizado en tres niveles: 45,2 %, 48,8 % y 52,4 %.

### **5.3.5 Porcentajes de stevia a utilizar en la formulación de la bebida isotónica**

Para calcular los porcentajes de stevia a usar en las formulaciones, se reemplazó en la ecuación 3 los porcentajes de dulzor deseados. Los resultados son mostrados en la Tabla 17.

**Tabla 17**

*Equivalencia de dulzor entre el % Sacarosa y el % Stevia*

% Sacarosa en bebida	%Stevia en bebida
4,0	0,0133
5,5	0,0183

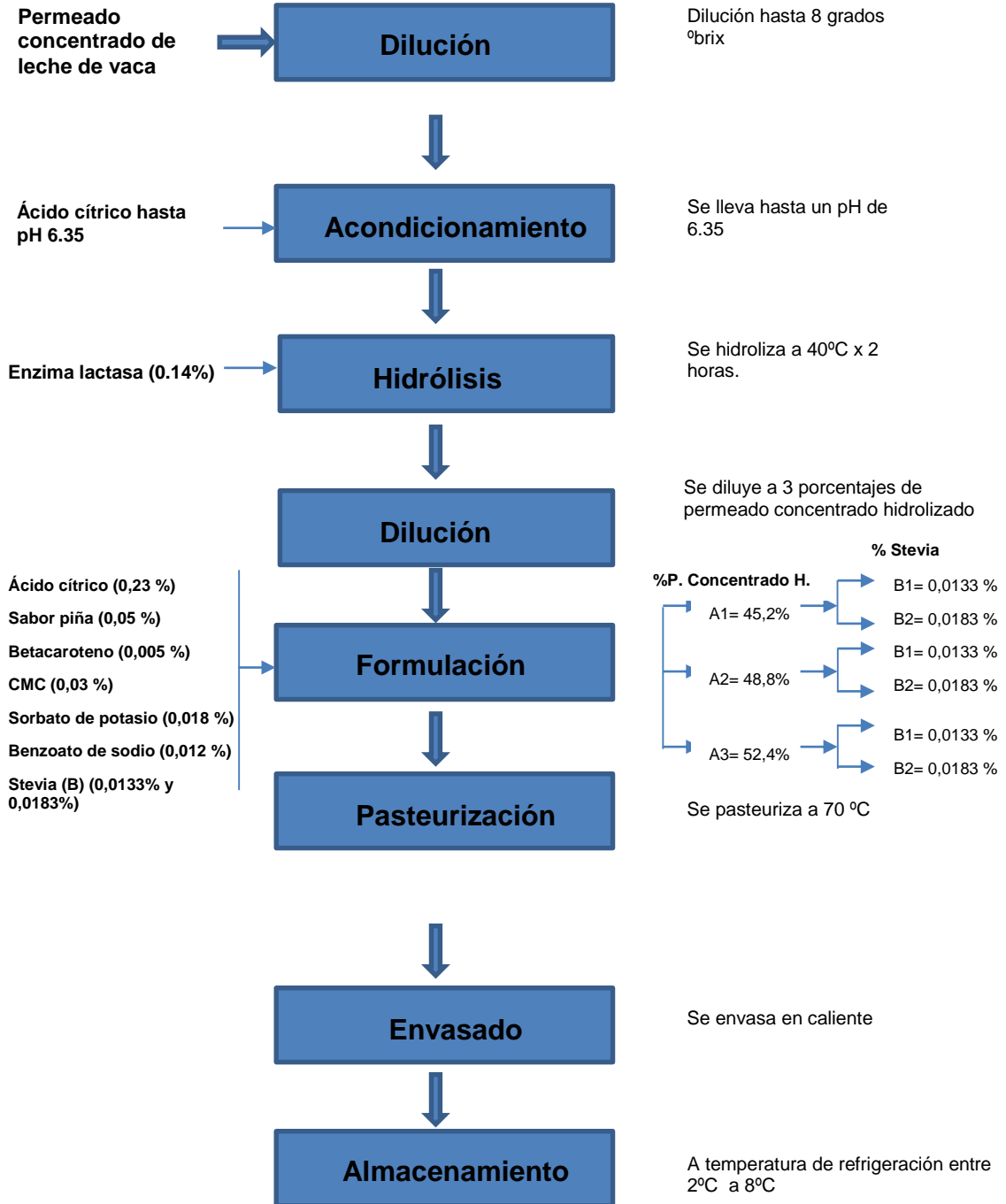
Este resultado, para la formulación de la bebida isotónica, permitió utilizar como variable el porcentaje de stevia en dos niveles: 0,0133 % y 0,0183 %.

### **5.3.6 Diagrama final del proceso de elaboración de una bebida isotónica a partir del permeado concentrado hidrolizado de la leche de vaca**

Luego de realizar la investigación bibliográfica y los ensayos experimentales se determinó los parámetros de proceso y la proporción de componentes a utilizar en la formulación de la bebida isotónica a partir del permeado concentrado hidrolizado. Estos valores finales se detallan en el siguiente diagrama de elaboración de la bebida isotónica (Figura 16).

**Figura 16**

*Elaboración de la bebida isotónica*



### 5.3.7 Formulaciones de la bebida isotónica

Según los resultados obtenidos anteriormente, se determinó las proporciones de los componentes a utilizar en las formulaciones propuestas. Los porcentajes de los aditivos se mantienen invariable. La proporción de componentes se detalla en la Tabla 18:

**Tabla 18**

*Proporción de los componentes a utilizar en las formulaciones propuestas*

<b>Componentes</b>	<b>F1</b>	<b>F2</b>	<b>F3</b>	<b>F4</b>	<b>F5</b>	<b>F6</b>
% Permeado concentrado hidrolizado	45,2	45,2	48,8	48,8	52,4	52,4
% Stevia	0,0133	0,0183	0,0133	0,0183	0,0133	0,0183
% Ácido Cítrico	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23
% Sabor Piña	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
% Betacaroteno	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005
% Carboximetilcelulosa de sodio	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030
% Sorbato de potasio	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018
% Benzoato de sodio	0,012	0,012	0,012	0,012	0,012	0,012

### 5.3.8 Osmolaridad de las formulaciones de la bebida isotónica

Según el diseño factorial planteada se determinó la osmolaridad para las seis formulaciones. Los resultados se detallan en la Tabla 19.

**Tabla 19***Osmolaridad para las formulaciones propuestas*

Número de formulaciones	%Permeado concentrado hidrolizado	%Stevia	Osmolaridad (mOsm/L)
F1	45,2	0,0133	287,8
F2	45,2	0,0183	288,5
F3	48,8	0,0133	308,4
F4	48,8	0,0183	308,9
F5	52,4	0,0133	327,1
F6	52,4	0,0183	327,8

**5.3.9 Evaluación sensorial de las formulaciones de la bebida isotónica**

Se realizó la evaluación de sensorial de sabor, color, olor y textura a las seis formulaciones propuestas (Anexo 13), y las puntuaciones promedio se presentan en la Tabla 20.

**Tabla 20***Puntuaciones medias de evaluación sensorial*

Número de formulación	Puntuación media de evaluación sensorial				
	Olor	Color	Sabor	Textura	Aceptación general
F1	7,08	7,24	7,02	6,40	6,94
F2	7,06	7,20	5,20	6,42	6,47
F3	7,14	7,22	7,80	7,42	7,40
F4	7,14	7,20	5,28	7,38	6,75
F5	7,08	7,22	4,82	7,34	6,62
F6	7,04	7,22	4,30	7,22	6,45

En la Tabla 21 se presenta el análisis de varianza (ANOVA) de cada característica organoléptica en las seis formulaciones y su aceptación general.

**Tabla 21**

*Análisis de varianza (ANOVA) para la evaluación sensorial de las formulaciones*

<b>Análisis de Varianza</b>	<b>Olor</b>	<b>Color</b>	<b>Sabor</b>	<b>Textura</b>	<b>Aceptación General</b>
<b>Valor F</b>	0,08	0,01	132,20	18,79	28,57
<b>Valor p</b>	0,995	1,000	0,000	0,000	0,000
<b>¿Es el Valor p &lt; 0,05?</b>	No	No	Sí	Sí	Sí
<b>¿Son las formulaciones significativamente diferentes?</b>	No	No	Sí	Sí	Sí

*Nota.* Las tablas de análisis de varianza de olor, color, sabor, textura y aceptación general se detalla en el Anexo 14.

Para determinar la formulación de mayor preferencia se realizó la prueba de Tukey al 95 % de confianza (Tabla 22, Tabla 23 y Tabla 24) para la evaluación de sabor, textura y aceptación general por ser significativamente diferentes.

**Tabla 22**

*Prueba de Tukey al 95% de confianza para la evaluación de sabor*

<b>Formulación</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Agrupación</b>
F3	50	7,80	A
F1	50	7,02	B
F4	50	5,28	C
F2	50	5,20	C
F5	50	4,82	C
F6	50	4,30	D

*Nota.* Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



**Tabla 23***Prueba de Tukey al 95% de confianza para la evaluación de textura*

<b>Formulación</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Agrupación</b>
F3	50	7,42	A
F4	50	7,38	A
F5	50	7,34	A
F6	50	7,22	A
F2	50	6,42	B
F1	50	6,40	B

*Nota.* Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

**Tabla 24***Prueba de Tukey al 95% de confianza para la aceptación general de la bebida*

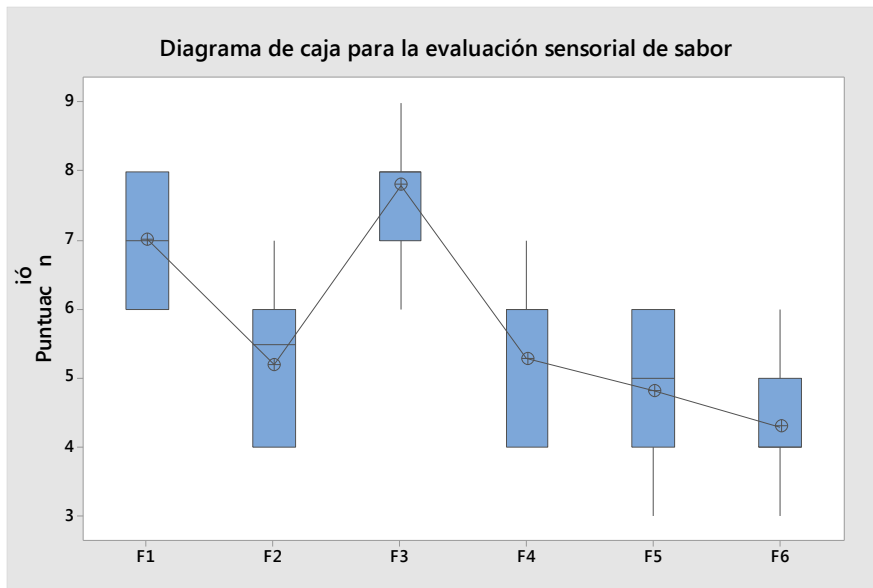
<b>Formulación</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Agrupación</b>
F3	50	7,395	A
F1	50	6,935	B
F4	50	6,750	B C
F5	50	6,615	C D
F2	50	6,470	D
F6	50	6,445	D

*Nota.* Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Mediante un diagrama de cajas (Figura 17, Figura 18 y Figura 19) podemos observar diferencias en las puntuaciones medias de sabor, textura y aceptación general de las formulaciones propuestas.

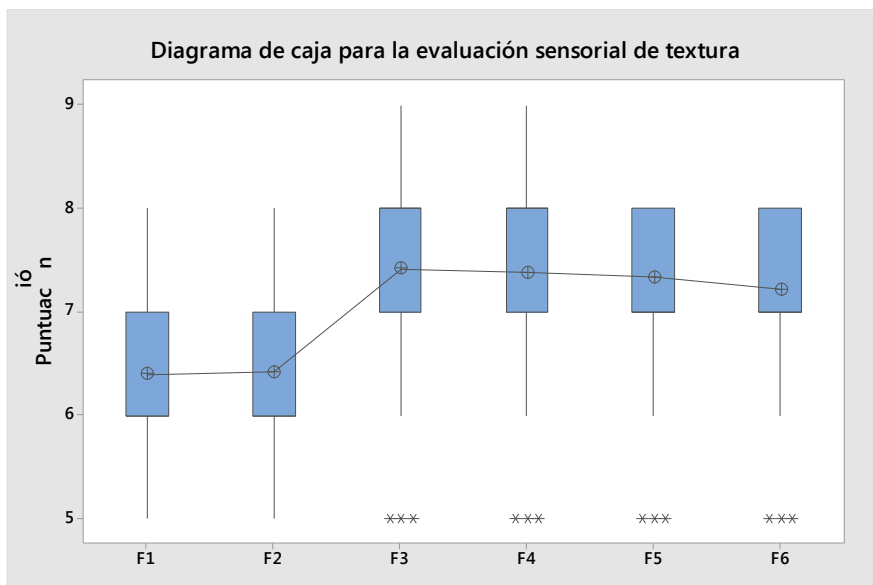
**Figura 17**

*Diagrama de cajas para la evaluación sensorial de sabor*



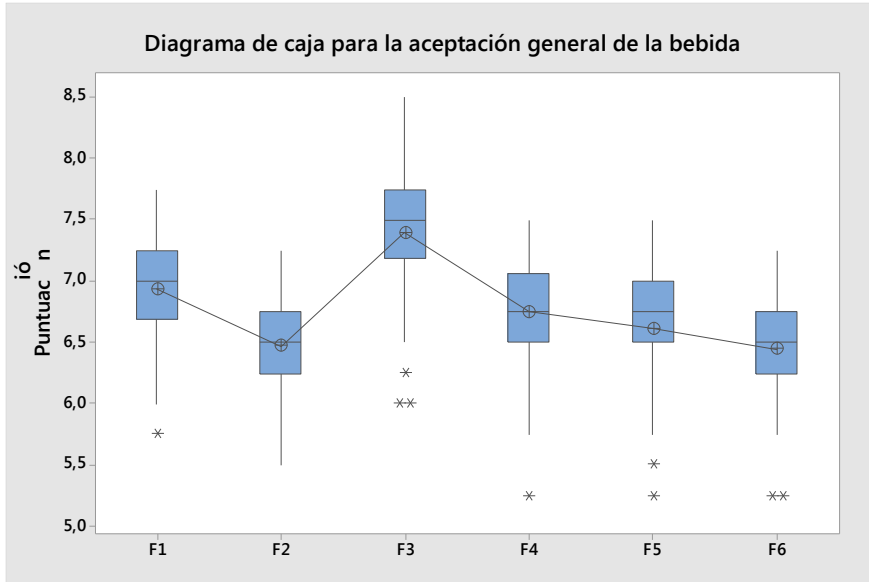
**Figura 18**

*Diagrama de cajas para la evaluación sensorial de textura*



**Figura 19**

*Diagrama de cajas para la aceptabilidad general de la bebida*



### 5.3.10 Caracterización fisicoquímica y análisis microbiológico del producto final

La bebida isotónica que obtuvo una osmolaridad dentro de especificación y mayor aceptación organoléptica fue la formulación F3.

#### A) Caracterización fisicoquímica del producto final

Se realizó la caracterización fisicoquímica de la formulación F3. Los análisis para determinar las concentraciones de minerales como el calcio, fósforo, magnesio, potasio, sodio y los azúcares totales de la bebida isotónica lo realizó el laboratorio externo La Molina Calidad Total Laboratorios (Anexo 15) y Cerper (Anexo 16). Los resultados se muestran en la Tabla 25:

**Tabla 25***Concentración de minerales y azúcares totales del producto final*

Análisis	Unidad	Resultado
Calcio	mg/L	379,4
Fósforo	mg/L	200,0
Magnesio	mg/L	51,4
Potasio	mg/L	864,0
Sodio	mg/L	321,8
Azúcares totales	g/100 g	3,5

Fuente: La Molina Calidad Total Laboratorios (2021). Informe de ensayo N° 002692-2021. Cerper (2021). Informe de ensayo N° 1-05349/21.

Los análisis de pH, osmolaridad y sólidos totales se realizaron en el laboratorio y los resultados se muestran en la Tabla 26:

**Tabla 26***Características fisicoquímicas del producto final*

Análisis	Unidad	Resultado
pH	-	3,92
Osmolaridad	mOsm/L	308,4
Sólidos totales	%	4,40

## **B) Análisis microbiológico del producto final**

Los análisis microbiológicos fueron realizados en el laboratorio La Molina Calidad Total Laboratorios (Anexo 17).

Se analizaron aerobios mesófilos, coliformes, mohos y levaduras; según se muestra en la Tabla 27:

**Tabla 27**

*Análisis microbiológico del producto final*

Análisis	Unidad	Resultado	Límite Microbiológico (RM N° 591- 2008/MINSA)
Aerobios mesófilos	UFC/ml	20	100
Coliformes	NMP/ml	<3	<3
Mohos	UFC/ml	<1	10
Levaduras	UFC/ml	<1	10

Fuente: La Molina Calidad Total Laboratorios (2021). Informe de ensayo N° 002151-2021.

## **VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS**

### **6.1 Contrastación y demostración de la hipótesis con los resultados**

#### **Hipótesis específica 1**

Se realizó la caracterización fisicoquímica del permeado concentrado de la leche de vaca demostrando que tiene un alto contenido de minerales como el sodio (651,2 mg/L), potasio (2121,5 mg/L), fósforo (65,55 mg/100g), calcio (371,4 mg/L) y magnesio (131,1 mg/L), y además tiene un alto contenido de carbohidratos (8,37 %p/p). Con estos resultados se demuestra el alto valor nutricional de este subproducto y que efectivamente puede ser usado para la elaboración de una bebida con un significativo aporte de nutrientes.

#### **Hipótesis específica 2**

Se utilizó un diseño factorial con dos variables: el porcentaje de permeado concentrado hidrolizado y el porcentaje de stevia, de tres y dos niveles respectivamente. Se determinó que los porcentajes de permeado concentrado hidrolizado fueron 45,2 %; 48,8 % y 52,4 %; y los porcentajes de stevia fueron 0,0133 % y 0,0183 %.

Las cantidades de stevia (Rebaudiósido A) utilizados cumplen con los límites máximos permitidos en la Norma General para los Aditivos Alimentarios (Codex Alimentarius). Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (2019), para bebidas electrolíticas se permite

máximo una concentración de stevia (Rebaudiósido A) de 200 mg/Kg o 0,02 % p/p.

Para las seis formulaciones se determinaron sus osmolaridades de un rango de 287,8 a 327,8 mOsm/L los cuales están dentro de especificación para las bebidas isotónicas según las normas técnicas de Chile, Brasil y Colombia. En la Tabla 28 se muestra las especificaciones técnicas de los distintos países.

**Tabla 28**

*Comparativo de osmolaridades con normativas de otro países*

	Bebidas formuladas	Reglamento Sanitario de los Alimentos de Chile (Decreto N° 977/96)	Reglamento Técnico sobre Alimentos para Atletas de Brasil (Resolución N° 18-2010)	Norma Técnica Colombiana (NTC 3837)
Osmolaridad (mOsm/L)	287,8 a 327,8	≤ 250 y ≤ 340	≤ 270 y ≤ 330	≤ 200 y ≤ 340

### Hipótesis específica 3

Las puntuaciones obtenidas del panel sensorial fueron analizadas estadísticamente mediante un análisis de varianza (ANOVA).

Según la Tabla 21, para la evaluación sensorial de olor y color no existen diferencias significativas (valor  $p \geq 0,05$ ). Esto es porque todas las formulaciones tienen el mismo porcentaje de sabor aromatizado de piña igual a 0,05 % y de colorante betacaroteno igual a 0,005%.

Según la Tabla 21, para la evaluación sensorial de sabor y textura si existen diferencias significativas (valor  $p < 0,05$ ).

Según los resultados de la prueba de Tukey (Tabla 22) para la evaluación de sabor, se observan los grupos A, B C y D que son significativamente diferentes. El grupo A contiene a la formulación F3 de mayor preferencia, cuya puntuación media es 7,80. Según se observó en el diagrama de cajas (Figura 17) hay una caída en la puntuación media entre las formulaciones F1 y F2, F3 y F4, y F5 y F6, esto es porque las formulaciones F2, F4 y F6 presentan mayor porcentaje de stevia (0,0183%) el cual deja un pequeño sabor residual amargo en la bebida. Además, se observó una menor puntuación media en las formulaciones F5 y F6, esto es porque presentan mayor porcentaje de permeado concentrado (52,4%) el cual también deja un pequeño sabor residual en la bebida.

Según los resultados de la prueba de Tukey (Tabla 23) para la evaluación de textura, se observan los grupos A y B que son significativamente diferentes. El grupo A contiene a las formulaciones F3, F4, F5 y F6 con mayores preferencias. Según se observó en el diagrama de cajas (Figura 18) las formulaciones F1 y F2 tienen una menor puntuación media y son significativamente diferentes respecto a las demás formulaciones, esto es porque presentan menor porcentaje de permeado concentrado (45,2 %).

Según la Tabla 21, para los resultados de aceptación general si existen diferencias significativas (valor  $p < 0,05$ ).

Según los resultados de la prueba de Tukey (Tabla 24) y el diagrama de cajas (Figura 19) para la aceptación general de la bebida, la formulación que presenta mayor aceptabilidad es la formulación F3 cuya puntuación media es de 7,395 y es significativamente diferente a las demás formulaciones.



Para la formulación final de la bebida isotónica a partir del permeado concentrado hidrolizado se eligió la formulación F3 la cual tiene un 48,8 % de permeado concentrado hidrolizado y 0,0133 % de stevia. Esta formulación presentó las siguientes características sensoriales: sabor y olor característico a piña, ligeramente dulce, de textura suave al paladar y de un color amarillo ligeramente opaco.

### **Hipótesis general**

Finalmente, de acuerdo a la hipótesis general, se comprobó que mediante una dilución del hidrolizado del permeado concentrado de leche de vaca hasta una osmolaridad de 270 mOsm/L y con la adición de aditivos como la stevia (0,0133 %), ácido cítrico (0,23 %), saborizante de piña (0,05 %), colorante betacaroteno (0,005 %), carboximetilcelulosa de sodio (0,03 %), sorbato de potasio (0,018 %) y benzoato de sodio (0,012 %) se logró formular una bebida isotónica con una osmolaridad de 308,4 mOsm/L y con una adecuada concentración de minerales de sodio (321,8 mg/L), potasio (864,0 mg/L), fósforo (200,0 mg/L), calcio (379,4 mg/L) y magnesio (51,4 mg/L) de gran aporte nutricional y buena aceptabilidad sensorial.

Se realizó un comparativo (Tabla 29) con las especificaciones técnicas de minerales para bebidas electrolíticas según normas internacionales (Chile, Brasil y Colombia).

**Tabla 29***Comparativos de minerales con normas internacionales*

Minerales	Bebida formulada	Reglamento Sanitario de los Alimentos de Chile (Decreto N° 977/96)	Reglamento Técnico sobre Alimentos para Atletas de Brasil (Resolución N° 18-2010)	Norma técnica de Colombia (NTC 3837)
Sodio (mg/L)	321,8	≥ 230	≥ 460 y ≤ 1150	≥ 230 y ≤ 460
Potasio (mg/L)	864,0	≥ 78	≤ 700	≥ 97,7 y ≤ 195,5
Calcio (mg/L)	379,4	N.E	N.E	≤ 60,1
Magnesio (mg/L)	51,4	N.E	N.E	≤ 14,58
Fósforo (mg/L)	200,0	N.E	N.E	N.E

*Nota.* N.E: No especifica.

Según el Reglamento Sanitario de los Alimentos de Chile, la bebida formulada cumple con las especificaciones de sodio y potasio. Además, la norma establece que la ingesta máxima para sodio y potasio debe ser de 1610 mg y 3715 mg respectivamente. La norma no especifica cantidades mínimas ni máximas en bebidas electrolíticas para calcio, fósforo y magnesio, sin embargo, menciona que si contiene otros minerales podrá ser clasificado como Alimento Fortificado o Suplemento Alimentario.

Según el Reglamento Técnico sobre Alimentos para Atletas de Brasil la bebida formulada no cumple con el mínimo requerido de sodio y sobrepasa la cantidad máxima de potasio. La norma no especifica cantidades mínimas ni máximas en bebidas electrolíticas para calcio, fósforo y magnesio, sin embargo, menciona que puede contener otros minerales según el reglamento técnico específico sobre la adición de nutrientes esenciales de Brasil.

Según la Norma Técnica de Colombia nº 3837 la bebida cumple con el mínimo requerido de sodio pero sobrepasa las cantidades máximas de potasio, calcio, fósforo y magnesio.

Se realizó un comparativo fisicoquímico (Tabla 30) con otras bebidas electrolíticas comerciales en el Perú.

**Tabla 30**

*Comparativo con otras bebidas comerciales electrolíticas*

Composición fisicoquímica	Bebida formulada	Gatorade	Powerade	Sporade	Powerade Light
<b>Azúcares totales (g/100ml)</b>	<b>3,5</b>	5,9	5,6	5,4	0
<b>Sodio (mg/L)</b>	<b>321,8</b>	490	466	458	395
<b>Potasio (mg/L)</b>	<b>864,0</b>	240	125	125	125
<b>Calcio (mg/L)</b>	<b>379,4</b>	N.C	15,5	N.C	11,2
<b>Magnesio (mg/L)</b>	<b>51,4</b>	N.C	6,0	N.C	4,8
<b>Fósforo (mg/L)</b>	<b>200,0</b>	N.C	N.C	N.C	N.C
<b>Osmolaridad (mOsm/L)</b>	<b>308,4</b>	330,6	322,0	372,6	62,4
<b>°Brix</b>	<b>4,40</b>	6,27	6,06	5,91	0,48
<b>pH</b>	<b>3,92</b>	3,05	3,22	3,01	3,53

*Nota.* N.C: No contiene.

Las bebidas de Gatorade, Powerade, Sporade y Powerade Light tienen un porcentaje de azúcares totales entre 0 % y 5,9 %, la bebida formulada tiene 3,5 % lo cual presenta menores calorías, bajo azúcar y con gran aporte electrolítico de potasio, calcio, fósforo y magnesio muy superior a las bebidas comerciales del Perú.

Los resultados microbiológicos son conformes y cumplen con los límites microbiológicos establecidos en la “Norma sanitaria que establece los criterios

microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano” según Resolución Ministerial N° 591-2008/MINSA.

## 6.2 Contrastación de los resultados con otros estudios similares

En la actualidad se encuentran muchas investigaciones en la elaboración de bebidas nutritivas en base al suero de leche. Las características fisicoquímicas del permeado concentrado de la leche analizado en esta investigación son similares al suero de leche en algunos aspectos. Según Forero y Ordoñez (2017) en su trabajo de investigación para la elaboración de una bebida energizante a partir de suero de leche, este subproducto tiene altas concentraciones minerales como sodio, potasio, calcio y magnesio, y bajo porcentaje de proteínas y grasa. En la Tabla 31 se tiene un comparativo del suero de leche y el permeado de leche concentrado analizado en la presente investigación:

**Tabla 31**

*Comparativo de la composición de suero de leche y permeado concentrado de leche*

Análisis	Unidad	Suero de leche (Fuente 1)	Permeado concentrado de leche (Fuente 2)
Grasa	%	0,40	0,08
Proteína	N x 6.38 %	0,65	0,23
Carbohidratos	%	4,30	8,37
Sólidos totales	%	4,83	9,40
Calcio	mg/L	534,3	371,4
Magnesio	mg/L	71,2	131,1
Potasio	mg/L	820,6	2121,5
Sodio	mg/L	388,8	651,2

Fuente 1: Forero y Ordoñez (2017). Fuente 2: NSF INASSA S.A.C. (2020). Informe de ensayo n°166679 y n°166681.

Por lo tanto, se confirma que el permeado concentrado de leche puede ser utilizado para la elaboración de bebidas funcionales al igual que el suero de leche por tener alto contenido de minerales y carbohidratos.

Según Filomeno et al. (2015) realizaron una bebida electrolítica en base al permeado de leche de ultrafiltración obteniendo una osmolaridad de 311,6 mOsm/L. Esta bebida se elaboró utilizando directamente el permeado de leche sin concentrar, ni hidrolizar y con la adición de azúcar sacarosa al 2%. En contraste, en este trabajo de investigación se utilizó permeado concentrado de leche y se hidrolizó la lactosa para que sea de fácil digestión. La hidrólisis de la lactosa aumentó la osmolaridad de la bebida por lo que era necesario realizar una dilución hasta alcanzar una osmolaridad adecuada. Además, no se utilizó sacarosa sino stevia como edulcorante debido a que aporta poca osmolaridad a la bebida y esto permite utilizar un mayor porcentaje de permeado concentrado y así aprovechar sus minerales en mayor concentración. A continuación en la Tabla 32 se muestra un comparativo entre la bebida en base a permeado de leche sin hidrolizar y la bebida realizada en el presente trabajo en base a permeado concentrado hidrolizado donde se obtiene concentraciones de minerales similares.

**Tabla 32**

*Comparativo de bebidas isotónicas en base a permeado de leche y permeado concentrado hidrolizado de leche*

Análisis	Unidad	Bebida en base al permeado de leche ultrafiltrada sin hidrolizar (Fuente 1)	Bebida en base a permeado concentrado de leche hidrolizado (Fuente 2)
Calcio	mg/L	243,4	379,4
Magnesio	mg/L	48,4	51,4
Potasio	mg/L	769,5	864,0
Sodio	mg/L	408,2	321,8
Fósforo	mg/L	No se realizó	200,0
Osmolaridad	mOsm/L	311,6	308,4

Fuente 1: Filomeno et al. (2015). Fuente 2: La Molina Calidad Total Laboratorios (2021). Informe de ensayo N° 002692-2021. Cerper (2021). Informe de ensayo N° 1-05349/21.

Según la tabla se observa en ambas bebidas un alto contenido de minerales presentes naturalmente en el permeado, que puede utilizarse como buena fuente de electrolitos después de hacer ejercicios.

### **6.3 Responsabilidad de ética de acuerdo a los reglamentos vigentes**

El autor de la investigación se responsabiliza por la información emitida en el presente informe final de investigación, de acuerdo al Reglamento del Código de Ética de la investigación de la UNAC, Resolución de Consejo Universitario N° 260-2019-CU.

## CONCLUSIONES

- 1) Se identificó las características fisicoquímicas del permeado concentrado de leche la leche de vaca obteniendo altos contenidos en minerales como sodio (651,2 mg/L), potasio (2121,5 mg/L), fósforo (65,55 mg/100g), calcio (371,4 mg/L) y magnesio (131,1 mg/L), y carbohidratos (8,37 %) que pueden ser aprovechados para la elaboración de una bebida isotónica.
- 2) Se determinó la proporción adecuada de componentes para la formulación F3 de la bebida isotónica en función a la aceptabilidad de los panelistas, la cual estuvo compuesto por 48,8% de permeado concentrado hidrolizado, 0,0133 % de stevia, 0,23 % de ácido cítrico, 0,05 % de sabor piña, 0,005 % de betacaroteno, 0,03 % de carboximetilcelulosa de sodio, 0,018 % de sorbato de potasio y 0,012 % de benzoato de sodio.
- 3) Se logró formular una bebida isotónica obteniendo una osmolaridad de 308,4 mOsm/L y una adecuada concentración de minerales de sodio (321,8 mg/L), potasio (864,0 mg/L), fósforo (200,0 mg/L), calcio (379,4 mg/L) y magnesio (51,4 mg/L).

## RECOMENDACIONES

- 1) Realizar un estudio de tiempo de vida útil a la bebida isotónica a temperatura ambiente (20 °C a 25 °C) y de refrigeración (2 °C a 8 °C).
- 2) Realizar un estudio en la bebida isotónica utilizando otros saborizantes comerciales similares a las bebidas del mercado nacional.
- 3) Realizar un estudio en la bebida isotónica utilizando otros edulcorantes o una mezcla de edulcorantes para darle mayor dulzor a la bebida.
- 4) Realizar un estudio de factibilidad para la producción y comercialización de la bebida isotónica.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Advanced Instruments. (2007). *Monitoring Lactose Hydrolysis in Milk and Milk Products with Cryoscopy*. Aicompanies.

[https://www.aicompanies.com/wp-content/uploads/2020/01/AppNote\\_Lactose-Hydrolysis.pdf](https://www.aicompanies.com/wp-content/uploads/2020/01/AppNote_Lactose-Hydrolysis.pdf)

Blanco, P. (2016). *Intolerancia a la Lactosa. Problemática y Alimentación*. Salamanca, España: Universidad de Salamanca.

<https://lactosa.org/wp-content/uploads/2017/02/ES-2016.pdf>

Bylund, G. (1996). *Manual de Industrias Lácteas*. Madrid, España: Tetra Pack Iberia.

Campbell, N., & Reece, J. (2007). *Biología*. Madrid, España: Médica Panamericana.

[https://books.google.com.co/books?id=QcU0yde9PtkC&printsec=frontcover&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.co/books?id=QcU0yde9PtkC&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)

Campos, Y. (2019). *Formulación y elaboración de una bebida nutritiva a base de lactosuero con jugo de naranja (Tesis de grado)*. Cajamarca, Perú: Universidad Nacional de Cajamarca.

<https://1library.co/document/z3d069ey-formulacion-elaboracion-bebida-nutritiva-lactosuero-naranja-citrus-sinensis.html>

Caric, M. & Akkerman, J. (2009). *Dairy Powders and Concentrated Products*. Reino Unido: Blackwell Publishing Ltd.

- Chant, J. (2018). *The Role of Citric Acid in the Food & Drink Industry*. Monarch Chemicals  
<https://www.monarchchemicals.co.uk/Information/News-Events/440-/The-Role-of-Citric-Acid-in-the-Food-amp-Drink-Industry>
- Chóez, J., & Morales, M. (2010). *Elaboración de una bebida hidratante base de lactosuero y enriquecido con vitaminas (Tesis de grado)*. Guayaquil, Ecuador: Escuela Superior Politécnica del Litoral.  
<http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/13599/1/Elaboracion%20de%20una%20bebida%20hidratante.pdf>
- Collazos, C., Alvistur, E., Vásquez, J., Quiroz, A., & Herrera, N. (1996). *Tablas peruanas de composición de alimentos*. Lima, Perú: Instituto Nacional de Salud.
- Coppini, T. (7 de Mayo de 2020). *Carboximetilcelulosa sódica, estabilizante para bebidas con más apariencia*. The Food Tech:  
<https://thefoodtech.com/ingredientes-y-aditivos-alimentarios/carboximetilcelulosa-sodica-estabilizante-para-bebidas-con-mas-apariencia/>
- Correa, J. (2012). *Nomenclatura y clasificación de enzimas*. Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- Cuellas, A. & Wagner, J. (2010). Elaboración de una bebida energizante a partir de suero de quesería. *Revista del Laboratorio Tecnológico del Uruguay*,

5,54-57.

[https://catalogo.latu.org.uy/opac\\_css/doc\\_num.php?explnum\\_id=513](https://catalogo.latu.org.uy/opac_css/doc_num.php?explnum_id=513)

Dini, E., De Abreu, J. & López, E. (2004). Osmolalidad de bebidas de consumo frecuente. *Investigación Clínica*, 45(4), 323-335.

[https://www.researchgate.net/publication/262709908\\_Osmolalidad\\_de\\_bebidas\\_de\\_consumo\\_frecuente](https://www.researchgate.net/publication/262709908_Osmolalidad_de_bebidas_de_consumo_frecuente)

Diplock, A. , Aggett, P., Ashwell, M. ,Bornet, F., Fern, E., & Roberfroid, M. (1999).

Scientific concepts of functional foods in Europe: Consensus document.

*British Journal of Nutrition*, 81(1), 1-27.

<https://ils.eu/publication/scientific-concepts-of-functional-foods-in-europe-consensus-document/>

*Elite Sports*. (2019). Obtenido de Conoce las diferencias entre bebidas isotónicas, hipertónicas e hipotónicas:

[https://www.elitesports.com.mx/conoce-las-diferencias-entre-bebidas-](https://www.elitesports.com.mx/conoce-las-diferencias-entre-bebidas-isotonicas-hipertonicas-e-hipotonicas/#:~:text=Las%20disoluciones%20isot%C3%B3nicas%20son%20aquellas,el%20volumen%20de%20las%20c%C3%A9lulas.)

[isotonicas-hipertonicas-e-](https://www.elitesports.com.mx/conoce-las-diferencias-entre-bebidas-isotonicas-hipertonicas-e-hipotonicas/#:~:text=Las%20disoluciones%20isot%C3%B3nicas%20son%20aquellas,el%20volumen%20de%20las%20c%C3%A9lulas.)

[hipotonicas/#:~:text=Las%20disoluciones%20isot%C3%B3nicas%20son%20aquellas,el%20volumen%20de%20las%20c%C3%A9lulas.](https://www.elitesports.com.mx/conoce-las-diferencias-entre-bebidas-isotonicas-hipertonicas-e-hipotonicas/#:~:text=Las%20disoluciones%20isot%C3%B3nicas%20son%20aquellas,el%20volumen%20de%20las%20c%C3%A9lulas.)

Encinas, R. (2014). *Elaboración de una bebida a base de lactosuero con la adición de fruta de la región (Tesis de grado)*. Iquitos, Peru: Universidad Nacional de Amazonía Peruana.

Filomeno, E., Cerceau, Y., Fontes, P., & Rodrigues, V. (2015). Bebida electrolítica en base al permeado de leche de ultrafiltración: evaluación

física, química y microbiológica durante el almacenamiento. *Ciencia Rural*, 45 (2), 342-348.  
<https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20131432>

Forero, M. & Ordoñez, L. (2017). *Propuesta para la elaboración de una bebida láctea energizante a partir del lactosuero en la empresa Casalac (Tesis de grado)*. Bogotá, Colombia: Fundación Universidad de América.  
<https://hdl.handle.net/20.500.11839/6590>

Gancedo, M. (2012). Lo que hay que saber de las bebidas deportivas. *ISDe Sports Magazine*, 5 (14), 1-3.  
<http://www.isde.com.ar/ojs/index.php/isdesportsmagazine/article/viewFile/79/95>

Geilman, W. (1993). Preparation and properties of syrups made by the hydrolysis of lactose. *Bull Int Dairy Fed*, 289, 33–37.

Harju, M. (2012). Lactose hydrolysis and other conversions in dairy products technological aspects. *International Dairy Journal*, 104-109.

Hattem, H. , Elham, H. , & Mehanna, N. (2010). Utilization of milk permeate in the manufacture of sport drink. *J.Food and Dairy Sci*, 1(11), 735-742.  
[https://jfds.journals.ekb.eg/article\\_82511\\_0bb396cfc267b8d51236a61d5248f11c.pdf](https://jfds.journals.ekb.eg/article_82511_0bb396cfc267b8d51236a61d5248f11c.pdf)

Hernández, J., Espinoza, J., Peñaloza, M., Rodriguez, J., Chacón, J., Toloza, C., Arenas, M., Carrillo, S., & Bermúdez, V. (2018). Sobre el uso adecuado del coeficiente de correlación de Pearson: definición, propiedades y

suposiciones. *Revista AVFT*, 37 (5), 587-595.  
[https://www.revistaavft.com/images/revistas/2018/avft\\_5\\_2018/25sobre\\_uso\\_adeecuado\\_coeficiente.pdf](https://www.revistaavft.com/images/revistas/2018/avft_5_2018/25sobre_uso_adeecuado_coeficiente.pdf)

Ilic, D., Milanovic, S. & Ilicic, M. (2013). Permeate components valorisation for beverage for manufacturing. *Agro Food Industry Hi Tech*, 24(5), 24-27.  
[http://www.teknoscienze.com/Contents/Riviste/PDF/AF5\\_RGB\\_2013\\_26-29.pdf](http://www.teknoscienze.com/Contents/Riviste/PDF/AF5_RGB_2013_26-29.pdf)

Limsawat.P & Pruksasri S. (2010). Separation of lactose from milk by ultrafiltration. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, 3, 236-243.

Loaiza, M. (2011). *Aprovechamiento del suero de leche para la elaboración de una bebida funcional (Tesis de grado)*. Quito, Ecuador: Universidad de las Américas.  
<http://dspace.udla.edu.ec/bitstream/123456789/87/1/TIA-2011-7.pdf>

Londoño, M., Sepúlveda, J., Hernández, A., & Parra, J. (2008). Bebida fermentada de suero de queso fresco inoculada con lactobacillus casei. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 61 (1), 4409-4421.

Mammarella, E. (2001). *Estudio del Sistema de Inmovilización de Enzimas para la Hidrólisis de la Lactosa*. Santa Fe, Argentina: Universidad Nacional del Litoral.  
<https://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8443/xmlui/bitstream/handle/11185/25/Tesis.pdf>

- Mandal, A. (26 de febrero de 2019). *Importancia de la Salud del Electrólito*. News Medical Life Sciences.  
[http://www.news-medical.net/health/Electrolyte-Health-Importance-\(Spanish\).aspx](http://www.news-medical.net/health/Electrolyte-Health-Importance-(Spanish).aspx)
- Mann, E. (1994). Dairy beverages. *Dairy Ind Int*, 59(11), 16–17.
- Marcelo, E., & Aurora, E. (2019). Formulación y nivel de aceptabilidad de una bebida elaborada a partir de pitahaya. *Ingeniería: Ciencia, Tecnología e Innovación*,6(1).  
<http://revistas.uss.edu.pe/index.php/ING/article/view/1080/921>
- Martínez, J., Urdampilleta, A., & Mielgo, J. (2013). Necesidades energéticas, hídricas y nutricionales en el deporte. *Motricidad. European Journal of Human Movement*, 30, 37-52.  
<https://www.redalyc.org/pdf/2742/274228060004.pdf>
- Maubois J. & Schuck P. (2005). Membrane Technologies for the fractionation of dairy components. *Bulletin Int. Dairy Fed*, 400, 2.
- Mena, P. (2002). *Formulación y elaboración de dos bebidas refrescantes con base en suero dulce de queso fresco y sabores de frutas (Tesis de grado)*. Francisco Morazán, Honduras: Universidad Zamorano.  
<https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1523/1/AGI-2002-T027.pdf>
- Minsal. (2019). *Reglamento Sanitario de los Alimentos de Chile*.  
<http://www.indap.gob.cl/docs/default-source/default-document->

library/reglamento-sanitario-de-los-alimentos-decreto-977\_96-  
actualizado-enero-2019.pdf?sfvrsn=0

- Miranda, O., Fonseca, P., Ponce, I., Cedeño, C., Rivero, L., & Martí, L. (2014). Elaboración de una bebida fermentada a partir del suero de leche que incorpora lactobacillus acidophilus y streptococcus thermophilus. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*, XXIV(1), 24 (1), 7-16.  
<https://www.medigraphic.com/pdfs/revcubalnut/can-2014/can141b.pdf>
- Mogollón, D. (2015). *Desarrollo y caracterización de una bebida isotónica a partir de la uva ( vitisvinifera ) y maracuya ( passifloraedulis ) edulcorado con miel de abejas*. Piura, Peru: Universidad Nacional de Piura.  
<http://repositorio.unp.edu.pe/handle/UNP/672>
- Morales, P., Muñeton, E., Orozco, S., Ruiz, J., Tobón, L. & Vásquez, M. (2009). *Bebidas Hidratantes*. Antioquía, Colombia: Universidad de Antioquía.
- Moreiras, O., Carbajal, A., Cabrera, L., & Cuadrado, C. (2013). *Tabla de composición de alimentos*. Madrid, España: Ediciones Pirámide.
- Mulder, M. (1991). *Basic principles of membrane technology*. Dordrecht, Países Bajos: Kluwer Academic Publisher.
- Murray, R. & Stofan, J. (2001). Formulating carbohydrate-electrolyte drinks for optimal efficacy. *Sports Drinks. Basic Science and Practical Aspects*, 183-195.
- Ordoñez, J. (1996). *Características generales de la leche y componentes fundamentales*. Madrid, España: Editorial Síntesis.

- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.  
(2019). *Norma General para los Aditivos Alimentarios (Codex Alimentarius)*.  
[http://www.fao.org/gsfaonline/docs/CXS\\_192s.pdf](http://www.fao.org/gsfaonline/docs/CXS_192s.pdf)
- Pandey, R. & Upadhyay, S. (2012). *Food Additive*. Rijeka, Croacia: InTech.  
[https://www.researchgate.net/publication/221925228\\_Food\\_Additive](https://www.researchgate.net/publication/221925228_Food_Additive)
- Ramirez, J. (2012). Análisis Sensorial: Pruebas Orientadas al Consumidor.  
*Revista Reciteia*, 12 (1), 83-102. Obtenido de  
[https://www.researchgate.net/publication/257890512\\_Analisis\\_sensorial\\_pruebas\\_orientadas\\_al\\_consumidor](https://www.researchgate.net/publication/257890512_Analisis_sensorial_pruebas_orientadas_al_consumidor)
- Ramos, D. (2007). *Cambios hidroelectrolíticos con el ejercicio : el porqué de la hidratación*. Bogotá, Colombia: Universidad del Rosario.  
<https://repository.urosario.edu.co/bitstream/handle/10336/3669/HIDROELECTRICOS.pdf?sequence=4&isAllowed=y>
- Rexroat, T. & Bradley, R. (1986). Stability of concentrated, decolourized, deionised hydrolyzed whey permete. *J Dairy Sci*, 69(7), 1762-1766.  
[https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(86\)80598-7/pdf](https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(86)80598-7/pdf)
- Rodríguez, R. (2009). *Elaboración y estabilidad de una bebida isotónica a base de kiwi (Actinia chinensis) y guayaba (Psidium guajava) adicionado con ácido linolénico conjugado*. Veracruz, México: Universidad Veracruzana.  
<https://cdigital.uv.mx/handle/123456789/46779>



- Salvador, R., Sotelo, M., & Paucar, L. (2014). Estudio de la stevia como edulcorante natural y su uso en beneficio de la salud. *Scientia Agropecuaria*,5(3),157-163.  
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=357634226006>
- Sanchez, C., Rosales, M. & Bustamante, A. (2015). Modelo de Hidrólisis de Lactosa Para Fermentación Láctica en una Base Probiótica y Simbiótica. *Revista Tecnológica ESPOL - RTE*, 28 (3), 53-68.  
<http://200.10.150.204/index.php/tecnologica/article/view/399>
- Sánchez, L. (2017). *Bebidas isotónicas para deportistas y su implicancia para la salud (Tesis de grado)*. Madrid, España: Universidad Complutense de Madrid.  
<https://eprints.ucm.es/id/eprint/57012/1/LORENA%20SANCHEZ-VALERO%20MARTIN.pdf>
- Sandoval, E. (2017). *Elaboración de una bebida isotónica a base de coco y camu camu (Tesis de grado)*. Iquitos, Perú: Universidad Nacional de Amazonía Peruana.  
<http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/UNAP/5313>
- Segura, R. (2011). *Bebidas Hipo, Iso e Hipertónicas ¿Qué son, en qué se diferencian y cuál es su función?* Alto rendimiento.  
<http://altorendimiento.com/bebidas-deportivas/>
- Singh, S., Khemariya, P. & Rai, A. (2011). Process Optimization for the Manufacture of Lemon Based Beverage From Hydrolyzed Whey. *Journal*

*of Food Science and Technology*, 51(4), 691-699.  
[https://www.academia.edu/4453484/Process\\_optimization\\_for\\_the\\_manufacture\\_of\\_lemon\\_based\\_beverage\\_from\\_hydrolyzed\\_whey](https://www.academia.edu/4453484/Process_optimization_for_the_manufacture_of_lemon_based_beverage_from_hydrolyzed_whey)

Toker, J. (s.f). The Importance of Potassium Supplementation in Endurance Training and Racing. *Saltstick*.  
[http://www.health-mall.in/files\\_hl/Potassium\\_Supplementation.pdf](http://www.health-mall.in/files_hl/Potassium_Supplementation.pdf)

Vázquez, S. (2017). *Puesta a Punto de Metodologías Analíticas de Lactosa en Bases Lácteas*. Oviedo, España: Universidad de Oviedo.  
<http://hdl.handle.net/10651/43653>

Zadow, J. (1984). Lactose: properties and uses. *Journal of dairy science*, 67, 2655-2679.

Zadow, J. (1992). *Lactose and Whey Processing*. London: Elsevier Applied Science.

Zudaire, M. & Yoldi, G. (2004). Eficaces cuando el deporte es intenso y se suda mucho. *Revista Consumer*, 79, 26-29.

# **ANEXOS**

**ANEXO 1:**

**TÍTULO: FORMULACIÓN DE UNA BEBIDA ISOTÓNICA A PARTIR DEL PERMEADO CONCENTRADO HIDROLIZADO DE LA LECHE DE VACA**

**MATRIZ DE CONSISTENCIA**

<b>PROBLEMA GENERAL</b>	<b>OBJETIVO GENERAL</b>	<b>HIPOTESIS GENERAL</b>	<b>VARIABLES DEPENDIENTES</b>	<b>INDICADORES</b>	<b>DIMENSIONES</b>	<b>MÉTODO</b>
¿Cuál debe ser la formulación de una bebida isotónica a partir del permeado concentrado hidrolizado de la leche de vaca?	Formular una bebida isotónica a partir del permeado concentrado hidrolizado de la leche de vaca.	Mediante una dilución del hidrolizado del permeado concentrado de leche de vaca y con la adición de aditivos, se logrará formular una bebida isotónica con una adecuada concentración de minerales.	Z = Formulación de una bebida isotónica a partir del permeado concentrado hidrolizado de la leche de vaca.	Osmolaridad Minerales Microbiológico	mOsm/L mg/L UFC/ml	Crioscopia Espectrofotometría de absorción atómica y colorimetría Recuento por siembra en placa
<b>PROBLEMAS ESPECÍFICOS</b>	<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b>	<b>HIPÓTESIS ESPECÍFICAS</b>	<b>VARIABLES INDEPENDIENTES</b>	<b>INDICADORES</b>	<b>DIMENSIONES</b>	<b>MÉTODO</b>
a) ¿Cuáles son las características fisicoquímicas del permeado concentrado de la leche de vaca?	a) Identificar las características fisicoquímicas del permeado concentrado de la leche de vaca.	a) El permeado concentrado de la leche de vaca tiene un alto contenido de minerales y carbohidratos que puede utilizarse en la formulación de una bebida isotónica.	W = Características fisicoquímicas del permeado concentrado de la leche de vaca.	Minerales (sodio, potasio, fósforo, calcio, magnesio) Sólidos totales Potencial de hidrógeno Osmolaridad	mg/L % pH mOsm/L	Espectrofotometría de absorción atómica y colorimetría Gravimétrico en estufa Potenciometría Crioscopia

b) ¿Cuál es la proporción de componentes a utilizar en la formulación de una bebida isotónica?	b) Determinar la proporción de componentes a utilizar en la formulación de una bebida isotónica.	b) Mediante un diseño factorial se podrá encontrar la formulación adecuada que cumpla con la osmolaridad y el contenido de minerales de una bebida isotónica.	X = Proporción de componentes	Permeado concentrado Stevia Saborizante Colorante Conservante Estabilizante Regulador de acidez	% p/p	Deductivo, Observativo, comparativo y experimental  Revisión de normas internacionales y fichas técnicas de insumos  Ensayos experimentales
c) ¿Cuáles son las características organolépticas de la bebida isotónica?	c) Determinar la evaluación sensorial de la bebida isotónica.	c) La evaluación sensorial de seis formulaciones propuestas mediante una escala hedónica estructurada por atributos de olor, color, sabor y textura, permitirá determinar la bebida de mayor preferencia.	Y = Evaluación sensorial	Olor, color, sabor, textura	Evaluación Sensorial	Observativo y comparativo  Escala hedónica

**RELACIÓN DE VARIABLES:  $Z = f(W, X, Y)$**

**Z = Formulación de una bebida isotónica a partir del permeado concentrado hidrolizado de la leche de vaca.**

**W = Características fisicoquímicas del permeado concentrado de la leche de vaca.**

**X = Proporción de componentes**

**Y = Evaluación sensorial**

## ANEXO 2

### Ficha técnica de la stevia



11 Bellwether Way, Suite 305 | Bellingham, WA 98225 | USA | Office: 360-483-4555 | Fax: 360-483-4554 | www.sweetgreenfields.com

#### **Sweetesse Stevia™ 97** **PRODUCT DESCRIPTION SHEET**

<b>Product Name</b>	Rebaudioside A (97%)	<b>Country of Origin</b>	China
<b>Botanical Name</b>	<i>Stevia Rebaudiana</i> Bertoni	<b>Plant Source/Part</b>	Stevia leaf
<b>E Number: E960</b>	Steviol Glycosides	<b>Sweetener</b>	

**Part Number: 970091**

**Product Description:** Sweet fine powder extract from the *Stevia Rebaudiana* plant. It is a sugar-like glycoside molecule that can be used in cooking similar to table sugar but 250-300 times sweeter.

**Expiration Date:** 36 months after the date of manufacture of the product.

Specification Parameter	Specification	Analytical Method
<i>Chemical Specifications</i>		
Rebaudioside A (dry weight)	≥ 97%	HPLC, JECFA 2010
Other related steviol glycosides (dry weight)	< 3%	HPLC, JECFA 2010
Loss on Drying (L.O.D)	≤ 6% (105°C, 2h)	JECFA 2010
Water Content (Karl-Fischer)	< 6%	FCC Vol. 7
Residue on Ignition (Ash)	< 0.2%	FCC Vol. 7
pH	4.5-7.0 (1% w/v in water)	FCC Vol. 7
Solubility	Slightly to Freely (0.1% to 10% in H <sub>2</sub> O at 20°C)	EC960 /WHO Pharm. Vol. 4
<i>Physical Specifications</i>		
Appearance	White powder	Visual inspection
Color in solution	≤ 0.05 Abs at 400nm 10% w/v in water at 25°C	UV/VIS spec.
Odor	None	Organoleptic
Taste	Sweet	Organoleptic
Particle Size	100% through 40-mesh >90% through 80-mesh Report data through 100 mesh	USP<786>
Loose Bulk Density	≥0.25g/ml	USP<616>

## ANEXO 3

### Ficha técnica de la enzima Ha- Lactase 5200



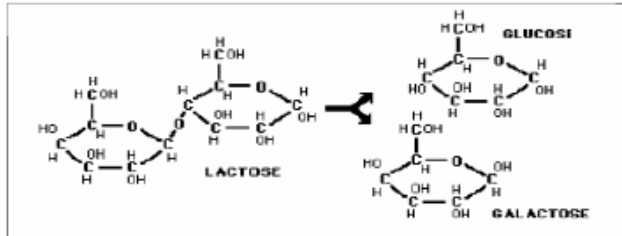
## Ha-Lactase 5200

### Product Information

Version: 3 PI-GLOB-EN 03-14-2014

### Description

Ha-Lactase 5200 is a highly-purified, standardized liquid neutral  $\beta$ -galactosidase (lactase). It is produced by submerged fermentation on a vegetable substrate using a select strain of the yeast *Kluyveromyces lactis* kept under contained conditions and not present in the final product. The product hydrolyses lactose to a mixture of glucose and galactose.



Material No: 450804

Size 5 L

Type Can

Storage temp: 0 - 8 °C / 32 - 46 °F

Conditions: Cool. Keep closed in the original container.

### Shelf life

24 months from quality release when stored according to the recommended storage conditions. The shelf life is limited to 3 months after opening, provided the product is maintained according to the recommended storage conditions.

### Transport

The product should be transported between -5 and 20 °C with a maximum transit time of 4 days outside this interval. Prolonged exposure to heat above this temperature may influence the shelf life and activity of the product.

### Application

Ha-Lactase 5200 may be used in various dairy-based products such as milk, cream, fermented products, cheese, whey drinks, whey/whey permeate, dulce de leche, ice cream and other desserts. The product is suitable for

- Lactose free/reduced lactose products (Lactose malabsorption/intolerance);
  - Increased sweetness without increasing caloric content;
  - Reduction of added sugar, flavors;
  - Improved appearance/stability by preventing lactose crystallization;
  - Improved product characteristics (e.g. improved scoopability in ice cream);
- Separate application sheets on milk, fermented milk products, ice cream and dulce de leche are available upon request.



## Ha-Lactase 5200

Product Information

Version: 3 PI-GLOB-EN 03-14-2014

Color:	Light brown	Form:	Liquid
Solubility:	Water soluble	Odor:	Characteristic
pH:	6.50 - 8.00	Density:	1.10 - 1.20

The product may exhibit batch-to-batch color variations. This has no influence on the activity.

### Formulation

Glycerol %: >=45 %

### Microbiological quality

Total count:	< 100 cfu/ml	Yeast and mould:	Negative in 1 ml
Clostridia:	< 1 cfu/ml	Coliform bacteria:	Negative in 5 ml
Escherichia coli:	Negative in 25 ml	Salmonella:	Negative in 25 ml
Listeria:	Negative in 25 ml	Staphylococcus aureus:	Negative in 1 ml

### Conformity

Protease side activity PU/g: <= 75,00 PU/G

### Comments

Methods are available on request.

Our fermentation produced enzymes are tested for the relevant mycotoxins and metabolites according to JECFA's General Specifications for Enzymes.

This product complies with the recommended purity specifications for food-grade enzymes given by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) and the Food Chemical Codex (FCC) with heavy metal specifications for Lead ( $\leq 5$  ppm), Cadmium ( $\leq 0,5$  ppm), Mercury ( $\leq 0,5$  ppm) and Arsenic ( $\leq 3$  ppm).

### Certificate of Analysis

A Certificate of Analysis (CoA) will normally accompany the goods.

## Technical Data

### Temperature

The desired degree of hydrolysis can be obtained by selecting the appropriate temperature, time and dosage for the reaction. The optimal temperature is between 35-45°C (95-113°F). The enzyme is denatured at temperatures above 50°C (122°F).



## ANEXO 4

### Ficha técnica del ácido cítrico

TEL: +86-536-2262228 FAX: +86-536-4221500  
Http://www.ttca.com.cn E-mail: [am@ttca.com.cn](mailto:am@ttca.com.cn)



#### TECHNICAL DATA SHEET

PRODUCT NAME: CITRIC ACID ANHYDROUS BP2011

CHEMICAL FORMULA:  $C_6H_8O_7$

MOLECULAR WEIGHT: 192

SPECIFICATIONS:

ASSAY: 99.5-101.0 %

MOISTURE: 0.5% MAX

SULPHATED ASH: 0.05% MAX

SULPHATE: 30 PPM MAX

OXALATE: 20 PPM MAX

CALCIUM: 20 PPM

HEAVY METALS: 1 PPM MAX

IRON: 1 PPM MAX

CHLORIDE: 5 PPM MAX

READILY CARBURETED SUBSTANCE: LESS THAN STANDARD COLOUR

BARIUM: PASS THE TEST

ALUMINIUM: 0.2 PPM MAX

ARSENIC: 0.1 PPM MAX

MERCURY: 0.1 PPM MAX

LEAD: 0.5 PPM MAX

BACTERIAL ENDOTOXIN: 0.5 IU/MG

ORGANIC VOLATILE IMPURITY: PASS

CONCLUSION: THE QUALITY OF THE ABOVE SAID COMMODITY IS IN CONFORMITY WITH BP2011

山东柠檬生化有限公司  
TTCA CO., LTD.  
刘梅子

## ANEXO 5

### Ficha técnica del saborizante de piña



#### ESPECIFICACIONES TECNICAS

Documentos Técnicos  
Technical Documents

#### SABORIZANTE NATURAL A PIÑA 3P2034-00

Página 1 de 4

#### Descripción del producto

Nombre Producto	SABORIZANTE NATURAL A PIÑA
Código	3P2034-00

#### Declaración de Ingredientes

Saborizante Natural, elaborado con ingredientes FEMA y GRAS.

#### Propiedades del Producto

Parámetros	Características	Método
Estado	Líquido	M-AC-04 (**)
Color (*)	Incoloro a amarillo	M-AC-04
Aroma y sabor	PIÑA	M-AC-04
Solubilidad	Hidrosoluble	Test realizado a una dosis de 0.5 g/l

(\*) El color indicado es considerado como típico, pudiendo existir diferencias entre lotes. Además el color puede cambiar durante el almacenamiento  
(\*\*) M-AC-04 Manual Interno de Métodos de Análisis.

#### Uso Previsto

Este Producto NO ha sido diseñado para ingesta directa del consumidor. Su uso previsto será como ingrediente en formulaciones alimentarias y farmacéuticas. La funcionalidad principal del Producto será otorgar sabor y aroma y en el caso de mezclas de ingredientes tendrá una finalidad tecnológica y funcional. La dosificación utilizada del Producto será variable, dependiendo entre otros de las características del proceso productivo o del impacto aromático que desee lograr quien elabore la formulación, pudiendo solicitar las dosificaciones recomendadas

#### Almacenamiento

Almacenar en su envase original sellado, en un lugar seco, fresco y ventilado. Mantener a temperatura ambiente (15-30 °C) y protegido de la luz solar

Vida útil	18 Meses
-----------	----------

#### Envases

Envase Primario	BIDON PEAD
Envase Secundario	CAJA CARTÓN CORRUGADO
Formatos de venta (Kg)	5

## ANEXO 6

### Ficha técnica del betacaroteno



#### Product Information

##### Product Data Sheet

### **β-Carotene 1% CWS/M**

#### Microbiological purity:

- |                                      |                            |
|--------------------------------------|----------------------------|
| • Total aerobic microbial count      | max. 10 <sup>3</sup> CFU/g |
| • Total combined yeasts/moulds count | max. 10 <sup>2</sup> CFU/g |
| • Enterobacteria                     | < 10 CFU/g                 |
| • Escherichia coli                   | negative in 10 g           |
| • Salmonella spp.                    | negative in 25 g           |
| • Staphylococcus aureus              | negative in 10 g           |
| • Pseudomonas aeruginosa             | negative in 10 g           |

#### Dispersibility

β-Carotene 1% CWS/M is dispersible in water, yielding a yellow coloration.

#### Stability and storage

β-Carotene 1% CWS/M is sensitive to air, heat, light and humidity. The product may be stored for 30 months from the date of manufacture in the unopened original container and at a temperature below 15°C. The 'best used before' date is printed on the label. Keep container tightly closed. Once opened, use contents quickly.

#### Uses

β-Carotene 1% CWS/M can be used as a nutrient or colour in food applications including food/dietary supplements and as colouring matter in pharmaceutical preparations. A suitable stock solution can be prepared by adding slowly the desired quantity of powder to 10-15 times its weight of cold or warm water under continuous stirring.

#### Safety

β-Carotene 1% CWS/M is safe for the intended use. Avoid ingestion, inhalation of dust or direct contact by applying suitable protective measures and personal hygiene.

For full safety information and necessary precautions, please refer to the respective DSM Material Safety Data Sheet.

#### Legal notice

The information given in this publication is based on our current knowledge and experience, and may be used at your discretion and risk. It does not relieve you from carrying out your own precautions and tests. We do not assume any liability in connection with your product or its use. You must comply with all applicable laws and regulations, and observe all third party rights.

## ANEXO 7

### Ficha técnica del sorbato de potasio



Address: No.968 Jiangshan Road Nantong Economic and Technological Development Zone ,Jiangsu ,China  
Tel: 0086-513-85559168 Fax: 0086-513-85559208  
HTTP: //www.ntacf.com E-MAIL: Service@ntacf.com

## Specification

**Product: Potassium Sorbate Granular**

**CAS number:24634-61-5 Chemical formula:C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>KO<sub>2</sub>**

**Issue Date: Mar.,20,2013**

Item	Specification
Appearance	White to off- white granular
Odor	Slight characteristic odor
Solubility	Freely soluble in water and practically insoluble in ether
Heat stability	No change in color after heating for 90 minutes at 105 °C
Identification test	(1) Potassium test: Passes Test (2) Test of double bonds:Passes Test (3) UV: conforms with standard spectrum (4) Melting point:133.0~135.0 °C
Assay	99%~101.0%
Alkalinity(as K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> )	≤ 0.8ml of 0.1N hydrochloric acid
Chloride(as Cl)	0.018% max
Sulfate(as SO <sub>4</sub> )	0.038% max
Loss on drying	1.0 % max
Aldehydes (as formaldehyde):	0.1% max
Arsenic (as As)	3mg/kg max
Lead	2mg/kg max
Mercury	1mg/kg max
Heavy metals(as Pb)	10mg/kg max
Total Count Colony	100cfu/g max
Mould&Yeast	100cfu/g max
Coliform	30cfu/g max
<b>Shelf Life: 24 months</b>	
<b>Note: The quality meets E202/FCC/NF standard</b>	
<b>Special explanation: The product is made in China.</b>	

## ANEXO 8

### Ficha técnica del benzoato de sodio



Sales Specification  
Page 1 of 3

## Kalama® Sodium Benzoate NF/FCC

CAS REGISTRATION NUMBER: 532-32-1

EINECS REGISTRATION NUMBER: 208-534-8

### SALES SPECIFICATIONS – NATIONAL FORMULARY / FOOD CHEMICALS CODEX GRADE:

IDENTIFICATION (NF/FCC)	Passes NF & FCC Tests (Tests A, B, and C)
ASSAY (NF/FCC)	99.0% - 101.0% of $C_7H_5NaO_2$ , calculated on the anhydrous basis
ALKALINITY (NF/FCC)	Not more than 0.04%, as NaOH
HEAVY METALS (NF)	Not more than 10 mg / kg (as Pb)
ARSENIC	Not more than 3 mg / kg
LEAD (FCC)	Not more than 2 mg / kg
WATER (NF/FCC)	Not more than 1.5% (wt)
RESIDUAL SOLVENTS	Passes NF Limit Tests

### SALES SPECIFICATIONS – EUROPEAN PHARMACOPEIA GRADE:

IDENTIFICATION	Responds to EP tests for Sodium and Benzoate
ASSAY (by EP Method)	NLT 99.0 and NMT 100.5% of $C_7H_5NaO_2$ , calculated with reference to the dried substance
ALKALINITY	Not more than 0.2 mL of 0.1 M HCl per 20 mL of a 5% (w/v) solution. (0.08% as NaOH)
ACIDITY	Not more than 0.2 mL of 0.1 M NaOH per 20 mL of a 5% (w/v) solution. (0.244% as Benzoic)
CLARITY OF SOLUTION	10% (w/v) solution is clear
COLOUR OF SOLUTION	Not more intensely coloured than reference solution.
HEAVY METALS (as Pb)	Not more than 10 mg / kg.
HALOGENATED COMPOUNDS	
Ionised chlorine	Passes EP Test (limit is 200 ppm)
Total chlorine	Passes EP Test (limit is 300 ppm)
LOSS ON DRYING	When dried to a constant weight @ 100 to 105° C, not more than 2.0% of its weight is lost.
RESIDUAL SOLVENTS	Passes Limit Tests

### SALES SPECIFICATIONS – EEC E-211 GRADE:

IDENTIFICATION	Passes Tests
ASSAY	Not less than 99% on the anhydrous basis
LOSS ON DRYING	Not more than 1.5% @105° C

REV 17  
October 2013

File: 75705045

## ANEXO 9

### Ficha técnica del carboximetilcelulosa de sodio

**amtex**  
Colombia  
Carrera 51 No. 13-66  
Medellín, Colombia  
tel +57 (4) 444-9991  
fax +57 (4) 265-7252  
[www.amtex.com.co](http://www.amtex.com.co)

#### FICHA TÉCNICA

## Gelycel F1 4000

Especificación 13031

### 1.0 Descripción fisicoquímica

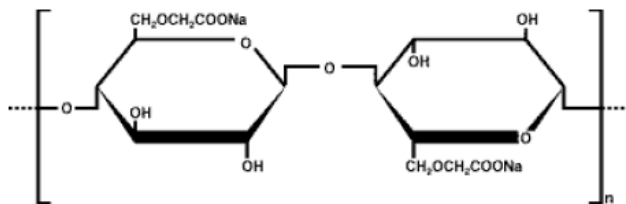
Nombre químico: **Carboximetil Celulosa de Sodio (CMC).**

Sinónimos: **CMC, Goma de celulosa. NaCMC.**

SIN : 466

Eter celulósico de carácter aniónico y soluble en agua.

Estructura:



### 2.0 Especificaciones

Item	Parámetro	Método
Humedad, %	8.0 máximo	ASTM-D1439
Pureza BS, %	99.50 mínimo	ASTM-D1439
DS ( grado de sustitución)	0.70 – 0.90	ASTM-D1439
Viscosidad LVF 1%, (CPS), AG 3, 30 RPM, 25°C	3,000- 4,000	ASTM-D1439
pH, 25 °C	6.50 – 8.50	Método Amtex
Retención M-40, (W/W), %	10.0 Máximo	Método Amtex
Retención M-80, (W/W), %	50.0 Máximo	Método Amtex
Sodio, %	12.4 Máximo	Método Amtex
Cloruro de Sodio, %	0.5 Máximo	Método Amtex

## ANEXO 10

### Hoja de respuesta para realizar la evaluación sensorial de una bebida isotónica a partir del permeado concentrado hidrolizado de la leche de vaca

Fecha:...../...../ 2021

#### INSTRUCCIONES

Frente a usted se presentan seis muestras de una bebida sabor piña con minerales. Por favor, observe y pruebe cada una de ellas, yendo de izquierda a derecha. Indique el grado en que le gusta o le disgusta cada atributo de cada muestra, de acuerdo al puntaje/categoría, escribiendo el número correspondiente en la línea del código de la muestra.

Puntaje	Categoría	Puntaje	Categoría
1	Me disgusta extremadamente	6	Me gusta levemente
2	Me disgusta mucho	7	Me gusta moderadamente
3	Me disgusta moderadamente	8	Me gusta mucho
4	Me disgusta levemente	9	Me gusta extremadamente
5	No me gusta ni me disgusta		

CÓDIGO	Calificación para cada atributo			
	OLOR	COLOR	SABOR	TEXTURA

#### COMENTARIOS:

.....  
.....  
.....

## ANEXO 11

### Informe de análisis de proximal



NSF INASSA S.A.C.

#### Informe de Ensayo N° 166681

##### DATOS PROPORCIONADOS POR EL CLIENTE

Solicitante	LECHE GLORIA SOCIEDAD ANONIMA - GLORIA S.A.
Domicilio legal	AV. REPUBLICA DE PANAMA NRO. 2461 URB. SANTA CATALINA LA VICTORIA
Contacto	Gonzalo Barrera
Dirección de entrega	AV. REPUBLICA DE PANAMA NRO. 2461 URB. SANTA CATALINA LA VICTORIA
Producto	PERMEADO 9% ST
Procedencia	Muestra proporcionada por el Cliente

Identificación	Cantidad	Descripción - Presentación	Precinto	FV	FP
PERMEADO UF 27/12/19	400g c/u.	Envases de Hojalata sellados, identificados y sin etiqueta	--	--	--

##### INFORMACIÓN DEL SERVICIO

Ensayos realizados en	Av. La Marina 3035-3059 San Miguel - Lima
Fecha de recepción	2019.12.30
Fecha Inicio Análisis	2019.01.02
Fecha Término Análisis	2019.01.04
Referencia	S/R
Identificación de Laboratorio	M-228803

##### RESULTADOS

Identificación	Análisis	Unidad	Resultado
PERMEADO UF 27/12/19	Carbohidratos	%	8.37
PERMEADO UF 27/12/19	Ceniza	%	0.72
PERMEADO UF 27/12/19	Grasa	%	0.08
PERMEADO UF 27/12/19	Humedad	%	90.60
PERMEADO UF 27/12/19	Proteína	N x 6.38 %	0.23
PERMEADO UF 27/12/19	Sólidos Totales	%	9.40

(\*) Los métodos indicados no han sido acreditados por el INACAL - DA.

"Los ensayos acreditados del presente informe al estar en el marco de la acreditación del INACAL-DA, se encuentran dentro del ámbito de reconocimiento mutuo de los miembros firmantes de IAAC e ILAC".

##### Métodos

**Carbohidratos, Humedad:** Determinación por cálculo

**Ceniza:** NTP 202.012 2008 (Rev 2018) LECHE Y PRODUCTOS LACTEOS. Leche. Ensayo de determinación de Ceniza Total

**Grasa:** AOAC Official Method 963.15 Vol II, C.31, p.10 21 st Edition 2019 Fat in Cacao Products. Soxhlet Extraction Method.

**Proteína:** NTP 202.119 1998 (Rev 2014) LECHE Y PRODUCTOS LACTEOS. Leche cruda. Determinación de nitrógeno (total) en leche. Método Kjeldahl.

**Sólidos Totales:** NTP 202.118 Método 1 1998 (Rev 2014) LECHE Y PRODUCTOS LACTEOS. Leche cruda. Determinación de sólidos totales

Av. La Marina 3035-3059 San Miguel - Lima 32 Perú  
Tel: (511) 616-5200 Email: inassa@nsf.org Web: www.nsfinaassa.pe

ER11-2; Versión 02; 2019-06-06. Documento de referencia PER11-1

IE N° 166681

pág. 1 de 2

El presente informe no podrá ser reproducido parcial o totalmente, excepto con la aprobación por escrito de NSF INASSA. Estos resultados no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con las normas del producto ni la autorización de uso de la marca NSF. Los resultados se refieren únicamente a los elementos analizados, en la condición de muestra proporcionada por el cliente. De tener alguna queja o apelación presentarla mediante el correo inassa@nsf.org, con la información sustentatoria.



## ANEXO 12

### Informe de análisis de minerales



NSF INASSA S.A.C.

#### Informe de Ensayo N° 166679

##### DATOS PROPORCIONADOS POR EL CLIENTE

<b>Solicitante</b>	LECHE GLORIA SOCIEDAD ANONIMA - GLORIA S.A.
<b>Domicilio legal</b>	AV. REPUBLICA DE PANAMA NRO. 2461 URB. SANTA CATALINA LA VICTORIA
<b>Contacto</b>	Gonzalo Barrera
<b>Dirección de entrega</b>	AV. REPUBLICA DE PANAMA NRO. 2461 URB. SANTA CATALINA LA VICTORIA
<b>Producto</b>	PERMEADO
<b>Procedencia</b>	Muestra proporcionada por el Cliente

Identificación	Cantidad	Descripción - Presentación	Precinto	FV	FP
PERMEADO UF 27/12/19	400g c/u.	Envases de Hojalata sellados, identificados y sin etiqueta	--	--	--

##### INFORMACIÓN DEL SERVICIO

<b>Ensayos realizados en</b>	Av. La Marina 3035-3059 San Miguel - Lima
<b>Fecha de recepción</b>	2019.12.30
<b>Fecha Inicio Análisis</b>	2020.01.03
<b>Fecha Término Análisis</b>	2020.01.06
<b>Referencia</b>	S/R
<b>Identificación de Laboratorio</b>	M-228801

##### RESULTADOS

Identificación	Análisis	Unidad	Resultado
PERMEADO UF 27/12/19	Calcio	mg/L	371.38
PERMEADO UF 27/12/19	Fósforo	mg/100g	65.55
PERMEADO UF 27/12/19	Magnesio	mg/L	131.11
PERMEADO UF 27/12/19	Potasio	mg/L	2 121.47
PERMEADO UF 27/12/19	Sodio	mg/L	651.21

##### Métodos

- ◆ **Calcio:** AOAC Official Method 985.35, p.15, vol III, c. 50, 21st ed. 2019 Minerals in Infant Formula, Enteral Products, and Pet Foods. Atomic Absorption Spectrophotometric Method. Método modificado
- ◆ **Fósforo:** AOAC Official Method 986.24 Vol III, C.50, p.13 21 st Edition 2019 Phosphorus in Infant Formula and Enteral Products
- ◆ **Magnesio:** AOAC Official Method 985.35, p.15, vol III, c. 50, 21st ed. 2019 Minerals in Infant Formula, Enteral Products, and Pet Foods. Atomic Absorption Spectrophotometric Method. Método modificado
- ◆ **Potasio:** AOAC Official Method 985.35, p.15, vol III, c. 50, 21st ed. 2019 Minerals in Infant Formula, Enteral Products, and Pet Foods. Atomic Absorption Spectrophotometric Method. Método modificado
- ◆ **Sodio:** AOAC Official Method 985.35, p.15, vol III, c. 50, 21st ed. 2019 Minerals in Infant Formula, Enteral Products, and Pet Foods. Atomic Absorption Spectrophotometric Method. Método modificado
- ◆ **Fuera del alcance del método**

Av. La Marina 3035-3059 San Miguel - Lima 32 Perú  
Tel: (511) 616-5200 Email: inassa@nsf.org Web: www.nsf.inassa.pe

## ANEXO 13

### Puntuaciones de la evaluación sensorial de olor

EVALUACIÓN SENSORIAL DE OLOR						
Nº Evaluador	F1	F2	F3	F4	F5	F6
1	7	7	7	8	7	7
2	8	8	8	8	7	8
3	7	7	7	7	6	6
4	7	8	7	8	7	8
5	8	8	8	8	8	8
6	8	7	7	7	7	7
7	7	8	8	8	8	8
8	7	7	8	7	8	7
9	5	5	5	5	5	5
10	8	7	8	8	8	7
11	8	8	7	7	7	7
12	7	7	7	7	7	7
13	7	8	8	8	8	8
14	6	6	6	5	6	6
15	7	7	7	8	7	8
16	8	8	8	8	8	7
17	5	5	5	5	5	5
18	8	8	8	7	8	7
19	7	8	8	7	8	8
20	8	8	7	8	7	8
21	5	5	5	5	5	5
22	6	6	6	6	6	6
23	8	8	7	7	7	7
24	5	5	5	5	5	5
25	8	8	8	8	8	8
26	7	7	8	7	7	7
27	8	8	8	8	8	8
28	8	8	8	8	8	8
29	7	7	7	8	7	7
30	7	8	8	8	7	7
31	5	5	5	5	5	5
32	7	7	7	7	7	7
33	6	6	6	6	7	7
34	7	7	8	8	8	8
35	9	8	9	8	8	8
36	8	7	8	8	8	7
37	7	7	8	8	8	8
38	6	6	6	6	6	6
39	7	7	7	7	7	7
40	8	7	8	8	8	8
41	8	8	8	8	7	8
42	8	8	8	8	8	8
43	7	8	8	8	7	7
44	5	5	5	5	5	5
45	7	7	7	7	8	7
46	6	6	6	6	6	6
47	7	7	7	7	7	7
48	8	7	7	8	8	8
49	8	8	7	7	8	7
50	8	7	8	8	8	8

## Puntuaciones de la evaluación sensorial de color

EVALUACIÓN SENSORIAL DE COLOR						
Nº Evaluador	F1	F2	F3	F4	F5	F6
1	8	8	8	8	8	8
2	8	8	8	8	8	8
3	7	7	7	7	7	7
4	8	8	8	8	8	8
5	7	7	7	7	7	7
6	5	5	5	5	5	5
7	7	7	7	7	7	7
8	7	7	7	7	7	7
9	8	8	8	8	8	8
10	8	8	8	8	8	8
11	7	7	7	7	7	7
12	7	7	7	7	7	8
13	8	8	8	8	8	7
14	6	6	6	6	6	6
15	8	8	8	8	8	8
16	8	8	8	8	8	8
17	6	6	6	6	6	6
18	7	7	7	7	7	7
19	7	7	7	7	7	7
20	8	8	8	7	8	8
21	8	8	8	8	8	8
22	8	7	7	7	7	7
23	7	7	7	7	7	7
24	7	7	7	7	7	7
25	5	5	5	5	5	5
26	7	7	7	7	7	7
27	8	8	8	8	8	8
28	8	8	8	8	8	8
29	5	5	5	5	5	5
30	8	8	8	8	8	8
31	8	8	8	8	8	8
32	7	7	7	7	7	7
33	7	7	7	7	7	7
34	8	7	7	7	7	7
35	8	8	8	8	8	8
36	7	7	7	7	7	7
37	8	8	8	8	8	8
38	8	8	8	8	8	8
39	8	8	8	8	8	8
40	6	6	6	6	6	6
41	8	8	8	8	8	8
42	6	6	7	7	7	7
43	5	5	5	5	5	5
44	8	8	8	8	8	8
45	8	8	8	8	8	8
46	7	7	7	7	7	7
47	7	7	7	7	7	7
48	7	7	7	7	7	7
49	8	8	8	8	8	8
50	7	7	7	7	7	7

## Puntuaciones de la evaluación sensorial de sabor

EVALUACIÓN SENSORIAL DE SABOR						
Nº Evaluador	F1	F2	F3	F4	F5	F6
1	7	6	8	6	6	4
2	8	6	7	6	4	4
3	8	6	8	4	5	4
4	8	4	7	4	4	4
5	8	4	8	4	4	4
6	8	5	9	7	4	5
7	6	6	7	6	5	5
8	8	6	8	6	4	4
9	6	4	8	4	4	4
10	6	6	8	6	4	4
11	6	5	6	4	3	3
12	6	6	8	4	5	4
13	6	5	8	5	6	6
14	7	6	7	6	6	4
15	6	6	8	6	5	4
16	6	6	7	5	4	4
17	7	7	8	5	6	5
18	7	4	8	6	5	5
19	7	4	8	4	4	3
20	6	4	8	5	4	4
21	6	6	7	5	6	5
22	6	4	8	6	6	4
23	8	4	8	4	4	4
24	7	6	7	6	4	4
25	8	6	8	5	4	3
26	7	4	9	6	4	4
27	8	6	8	4	6	4
28	6	6	8	6	5	5
29	8	6	9	6	4	4
30	6	5	8	6	5	5
31	6	6	8	6	5	5
32	8	7	9	7	4	4
33	8	4	8	6	6	4
34	7	4	8	6	5	4
35	8	5	8	5	3	3
36	7	4	7	4	4	4
37	6	4	8	5	5	4
38	8	5	8	6	6	5
39	8	6	8	4	4	4
40	8	6	8	6	5	5
41	7	4	7	4	5	4
42	7	6	8	6	5	5
43	8	6	7	6	6	5
44	6	6	7	6	6	6
45	6	5	8	6	6	5
46	7	4	7	6	6	5
47	6	4	7	5	5	4
48	8	4	9	4	4	4
49	8	5	8	4	5	4
50	7	6	8	5	6	5

## Puntuaciones de la evaluación sensorial de textura

EVALUACIÓN SENSORIAL DE TEXTURA						
Nº Evaluador	F1	F2	F3	F4	F5	F6
1	6	6	7	8	8	8
2	7	7	8	8	7	7
3	6	6	8	7	8	7
4	7	7	8	8	8	7
5	7	8	8	8	7	7
6	6	6	7	6	8	7
7	6	7	8	8	8	8
8	7	6	8	8	8	8
9	7	7	8	7	7	8
10	7	8	8	7	7	7
11	8	8	7	8	8	7
12	6	6	6	7	7	7
13	7	7	7	8	8	8
14	6	6	7	7	7	7
15	6	6	8	8	8	7
16	7	7	8	8	8	7
17	5	5	5	5	5	5
18	7	7	8	7	7	7
19	7	7	8	8	7	7
20	6	6	7	8	8	7
21	6	7	8	8	7	7
22	7	6	8	8	8	7
23	7	7	8	8	8	8
24	5	5	5	5	5	5
25	6	6	7	7	7	7
26	6	6	8	7	7	8
27	7	6	8	8	7	7
28	6	6	8	8	8	8
29	5	5	7	7	7	7
30	6	7	7	8	7	7
31	6	6	8	8	8	8
32	6	6	8	8	8	8
33	6	6	8	7	7	8
34	7	7	7	7	8	8
35	6	6	9	9	8	8
36	6	6	7	7	8	7
37	6	6	6	6	6	6
38	7	7	8	8	8	8
39	6	6	8	7	8	8
40	6	6	7	7	7	7
41	6	7	7	8	8	7
42	8	8	7	7	7	8
43	6	6	7	8	7	7
44	7	6	7	7	7	7
45	7	6	8	8	7	7
46	5	5	5	5	5	5
47	7	7	8	7	7	7
48	7	7	7	7	7	7
49	7	7	8	8	8	8
50	6	6	8	7	8	8

## Puntuaciones de la aceptación general

ACEPTACIÓN GENERAL						
Nº Evaluador	F1	F2	F3	F4	F5	F6
1	7,00	6,75	7,50	7,50	7,25	6,75
2	7,75	7,25	7,75	7,50	6,50	6,75
3	7,00	6,50	7,50	6,25	6,50	6,00
4	7,50	6,75	7,50	7,00	6,75	6,75
5	7,50	6,75	7,75	6,75	6,50	6,50
6	6,75	5,75	7,00	6,25	6,00	6,00
7	6,50	7,00	7,50	7,25	7,00	7,00
8	7,25	6,50	7,75	7,00	6,75	6,50
9	6,50	6,00	7,25	6,00	6,00	6,25
10	7,25	7,25	8,00	7,25	6,75	6,50
11	7,25	7,00	6,75	6,50	6,25	6,00
12	6,50	6,50	7,00	6,25	6,50	6,50
13	7,00	7,00	7,75	7,25	7,50	7,25
14	6,25	6,00	6,50	6,00	6,25	5,75
15	6,75	6,75	7,75	7,50	7,00	6,75
16	7,25	7,25	7,75	7,25	7,00	6,50
17	5,75	5,75	6,00	5,25	5,50	5,25
18	7,25	6,50	7,75	6,75	6,75	6,50
19	7,00	6,50	7,75	6,50	6,50	6,25
20	7,00	6,50	7,50	7,00	6,75	6,75
21	6,25	6,50	7,00	6,50	6,50	6,25
22	6,75	5,75	7,25	6,75	6,75	6,00
23	7,50	6,50	7,50	6,50	6,50	6,50
24	6,00	5,75	6,00	5,75	5,25	5,25
25	6,75	6,25	7,00	6,25	6,00	5,75
26	6,75	6,00	8,00	6,75	6,25	6,50
27	7,75	7,00	8,00	7,00	7,25	6,75
28	7,00	7,00	8,00	7,50	7,25	7,25
29	6,25	5,75	7,00	6,50	5,75	5,75
30	6,75	7,00	7,75	7,50	6,75	6,75
31	6,25	6,25	7,25	6,75	6,50	6,50
32	7,00	6,75	7,75	7,25	6,50	6,50
33	6,75	5,75	7,25	6,50	6,75	6,50
34	7,25	6,25	7,50	7,00	7,00	6,75
35	7,75	6,75	8,50	7,50	6,75	6,75
36	7,00	6,00	7,25	6,50	6,75	6,25
37	6,75	6,25	7,50	6,75	6,75	6,50
38	7,25	6,50	7,50	7,00	7,00	6,75
39	7,25	6,75	7,75	6,50	6,75	6,75
40	7,00	6,25	7,25	6,75	6,50	6,50
41	7,25	6,75	7,50	7,00	7,00	6,75
42	7,25	7,00	7,50	7,00	6,75	7,00
43	6,50	6,25	6,75	6,75	6,25	6,00
44	6,50	6,25	6,75	6,50	6,50	6,50
45	7,00	6,50	7,75	7,25	7,25	6,75
46	6,25	5,50	6,25	6,00	6,00	5,75
47	6,75	6,25	7,25	6,50	6,50	6,25
48	7,50	6,25	7,50	6,50	6,50	6,50
49	7,75	7,00	7,75	6,75	7,25	6,75
50	7,00	6,50	7,75	6,75	7,25	7,00

## ANEXO 14

### Tablas de análisis de varianza

**Tabla 33**

*Análisis de varianza (ANOVA) para evaluación de olor*

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	5	0,43	0,086	0,08	0,995
Error	294	308,14	1,0481		
Total	299	308,57			

**Tabla 34**

*Análisis de varianza (ANOVA) para evaluación de color*

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	5	0,057	0,01133	0,01	1
Error	294	234,86	0,79884		
Total	299	234,917			

**Tabla 35**

*Análisis de varianza (ANOVA) para evaluación de sabor*

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	5	465,3	93,0513	132,2	0
Error	294	206,9	0,7039		
Total	299	672,2			

**Tabla 36**

*Análisis de varianza (ANOVA) para evaluación de textura*

<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC Ajust.</b>	<b>MC Ajust.</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor p</b>
Factor	5	58,79	11,758	18,79	0
Error	294	183,94	0,6256		
Total	299	242,73			

**Tabla 37**

*Análisis de varianza (ANOVA) para aceptación general*

<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC Ajust.</b>	<b>MC Ajust.</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor p</b>
Factor	5	31,89	6,3788	28,57	0
Error	294	65,63	0,2232		
Total	299	97,52			



# ANEXO 15

## Informe de análisis de minerales del producto final



### LA MOLINA CALIDAD TOTAL LABORATORIOS UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

Instituto de Certificación, Inspección y Ensayos



#### INFORME DE ENSAYOS

N° 002692-2021

**SOLICITANTE** : MERCADO RIVAS SAMUEL BENJAMÍN  
**DIRECCIÓN LEGAL** : CALLE LAS ROSAS MZP N140 URB LOS VIÑEDOS COMAS  
RUC : 45964556 Teléfono : 982 771 372  
**PRODUCTO** : BEBIDA ISOTONICA SABOR PIÑA CON MINERALES  
**NUMERO DE MUESTRAS** : Uno  
**IDENTIFICACIÓN/MTRA** : Lote: 230421  
**CANTIDAD RECIBIDA** : 1262,5 g (+envase) de muestra proporcionada por el solicitante.  
**MARCA(S)** : S.M.  
**FORMA DE PRESENTACIÓN** : Envasado, la muestra ingresa en botella sellada.  
**SOLICITUD DE SERVICIOS** : S/S N°EN- 001627 -2021  
**REFERENCIA** : PERSONAL  
**FECHA DE RECEPCIÓN** : 04/06/2021  
**ENSAYOS SOLICITADOS** : FÍSICO / QUÍMICO  
**PERÍODO DE CUSTODIA** : No aplica

#### RESULTADOS:

##### ENSAYOS FÍSICOS / QUÍMICOS:

ALCANCE: N.A.

ENSAYOS	PROMEDIO	RESULTADO 1	RESULTADO 2
1 - Sodio (partes por millon)	321,8	321,55	321,98
2 - Calcio (partes por millon)	379,4	379,40	379,33
3 - Magnesio (partes por millon)	51,4	51,51	51,38
4 - Azúcares Totales (g/100 g de muestra original)	3,5	3,52	3,50

##### MÉTODOS UTILIZADOS EN EL LABORATORIO:

- 1.- AOAC 970.39 Cap. 37, Pág. 8-9, 21st Edition 2019
- 2.- AOAC 975.03 Cap. 3, Pág. 5-6, 21st Edition 2019
- 3.- AOAC 975.03 Cap. 3, Pág. 5-6, 21st Edition 2019
- 4.- NTP 209.173:1999 (Revisada el 2019)

Observaciones: El presente informe reemplaza al informe de ensayo N° 002152-2021 de fecha 07 de Mayo de 2021 y se expide a solicitud del interesado.

FECHA DE EJECUCIÓN DE ENSAYOS: Del 27/04/2021 Al 07/05/2021.

##### ADVERTENCIA:

- 1.- El muestreo, las condiciones de muestreo, tratamiento y transporte de la muestra hasta su ingreso a La Molina Calidad Total - Laboratorios son de responsabilidad del Solicitante.
- 2.- Se prohíbe la reproducción parcial o total del presente Informe sin la autorización de La Molina Calidad Total - Laboratorios.
- 3.- Válido sólo para la cantidad recibida. No es un certificado de Conformidad ni Certificado del Sistema de Calidad de quien lo produce.

La Molina, 7 de Junio de 2021



LA MOLINA CALIDAD TOTAL LABORATORIOS - UNALM

Mg. Quim. Elsa Huaman Paredes  
Directora Técnica (e)  
C.Q.P. N° 470

## ANEXO 16

### Informe de análisis de minerales del producto final



#### INFORME DE ENSAYO N° 1-05349/21

Pág. 1/1

Solicitante : MERCADO RIVAS, SAMUEL  
Domicilio legal : Calle Las Rosas Mz. P N° 140 Urb.Los Vinedos - Comas - Lima  
Producto declarado : BEBIDA ISOTÓNICA SABOR PIÑA CON MINERALES  
Cantidad de Muestras para el Ensayo : 1 muestra x 400 mL  
Muestra proporcionada por el solicitante  
Identificación de la muestra : LOTE: 230421  
Forma de Presentación : En botella pet cerrada y a temperatura ambiente  
Fecha de recepción : 2021 - 05 - 26  
Fecha de inicio del ensayo : 2021 - 05 - 27  
Fecha de término del ensayo : 2021 - 06 - 02  
Ensayo realizado en : Laboratorio Físico Química - Alimentos / ICP-AA  
Identificado con : H/S 21004357 (EXAI-06406-2021)  
Validez del documento : Este documento es válido solo para la muestra descrita

#### Análisis Físico Químico:

Ensayo	LCM	Unidad	Resultados
Fósforo	0,02	g/100mL	0,02

LCM:Límite de cuantificación del método

#### Análisis ICP-AA:

Ensayo	LCM	Unidad	Resultado
Potasio	0,2	mg/100 g	86,4

LCM:Límite de cuantificación del método

#### MÉTODOS

**Fósforo:** AOAC 995.11, c 45, 21st Ed.2019. Phosphorus (Total) in Foods. Colorimetric Method.

**Potasio:** AOAC Method 40-71.01, 11 th Edition 2009. Sodium and Potassium by Atomic Absorption Spectrophotometry.

#### OBSERVACIONES

Prohibida la reproducción parcial de este informe, sin la autorización escrita de CERPER S.A.

Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de la calidad de la entidad que lo produce.

Callao, 02 de junio de 2021  
AA

CERTIFICACIONES DEL PERU S.A.

ING. SONIA GARCÍA CANALES  
C.I.P. 33422  
ASIST. GESTIÓN LABORATORIOS


AREQUIPA  
Calle Teniente Rodríguez N° 1415  
Miraflores - Arequipa  
T. (054) 265572

CALLAO  
Oficina Principal  
Av. Santa Rosa 601, La Perla - Callao  
T. (511) 319 9000


info@cerper.com - www.cerper.com

# ANEXO 17

## Informe de análisis microbiológico del producto final



**LA MOLINA CALIDAD TOTAL LABORATORIOS**  
**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA**  
*Instituto de Certificación, Inspección y Ensayos*



**INFORME DE ENSAYOS**  
**Nº 002151 - 2021**

**SOLICITANTE** : MERCADO RIVAS SAMUEL BENJAMÍN  
**DIRECCIÓN LEGAL** : CALLE LAS ROSAS MZP N140 URB LOS VIÑEDOS COMAS  
: RUC: **45964556** Teléfono: 982 771 372

**PRODUCTO** : **BEBIDA ISOTONICA SABOR PIÑA CON MINERALES**  
**NÚMERO DE MUESTRAS** : Uno  
**IDENTIFICACIÓN/MTRA.** : S.I  
**CANTIDAD RECIBIDA** : 1262,5 g (+envase) de muestra proporcionada por el solicitante.  
**MARCA(S)** : S.M.

**FORMA DE PRESENTACIÓN** : Envasado, la muestra ingresa en botella sellada.  
**SOLICITUD DE SERVICIO** : S/S N°EN-001200 -2021  
**REFERENCIA** : PERSONAL

**FECHA DE RECEPCIÓN** : 26/04/2021  
**ENSAYOS SOLICITADOS** : **MICROBIOLÓGICO**  
**PERÍODO DE CUSTODIA** : No aplica

**RESULTADOS :**

**ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS :**  
ALCANCE : N.A.

ENSAYOS	RESULTADO
1.- N. de Aerobios Mesófilos (UFC/mL)	20 Estimado
2.- N. de Coliformes (NMP/mL)	<3
3.- N. de Levaduras (UFC/mL)	<1
4.- N. de Mohos (UFC/mL)	<1

**MÉTODOS UTILIZADOS EN EL LABORATORIO :**

- 1.- ICMSF Vol. I Parte II Ed. II Pág. 120-124 (Traducción Versión Original 1978) Reimpresión 2000 (Ed. Acribia) 1983
- 2.- ICMSF Vol. I Parte II Ed. II Pág. 131-134 (Traducción Versión Original 1978) Reimpresión 2000 (Ed. Acribia) 1983
- 3.- APHA/CMMEF 5Th. Ed. Chapter 21 Pág. 278-279 2015
- 4.- APHA/CMMEF 5Th. Ed. Chapter 21 Pág. 278-279 2015

FECHA DE EJECUCION DE ENSAYOS: Del 27/04/2021 Al 07/05/2021.

CONTINÚA INFORME DE ENSAYOS N° 002151 - 2021

Pág 1/2