

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO



FACULTAD DE INGENIERÍA CARRERA DE AGROINDUSTRIAL

Proyecto de Investigación previo a la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial

TRABAJO DE TITULACIÓN

“OBTENCIÓN DE PROTEÍNA UNICELULAR A PARTIR DE LA
FERMENTACIÓN DEL SUERO ÁCIDO DE QUESERÍA”

Autora:

Paola Andrea Galán Robalino

Tutora:

Ing. Sonia Rodas PhD.

**Riobamba - Ecuador
Año 2020**

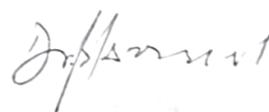
REVISIÓN DEL TRIBUNAL

Los miembros de tribunal de graduación, en relación al proyecto de investigación de título “OBTENCIÓN DE PROTEÍNA UNICELULAR A PARTIR DE LA FERMENTACIÓN DEL SUERO ÁCIDO DE QUESERÍA”, presentado por Paola Galán y dirigido por la Ing. Sonia Rodas PhD.

Una vez escuchada la defensa oral y revisado el informe final del proyecto de investigación con fines de graduación, en el cual se ha constado el cumplimiento de las observaciones realizadas, remito la presente para uso y custodia en la biblioteca de la facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de Chimborazo.

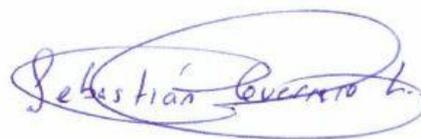
Para constancia de lo escrito firman:

Dr. Mario Salazar
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



Firma

MsC. Sebastián Guerrero
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Firma

MsC. Estefanía Peña
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Firma

Ing. Sonia Rodas PhD.
TUTORA DEL PROYECTO



Firma

AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

La responsabilidad del contenido de este trabajo de grado, corresponde exclusivamente a Galán Robalino Paola Andrea como autora y a la Ing. Rodas Espinoza Sonia Lourdes PhD. como directora del proyecto, incluyendo todas las tablas y figuras que se encuentran en el trabajo excepto las que contienen su propia fuente y el patrimonio intelectual de la misma a la Universidad Nacional de Chimborazo.

Riobamba, 4 de septiembre de 2020



Paola Andrea Galán Robalino
060459008-3
Autora del Proyecto



Ing. Sonia Lourdes Rodas Espinoza PhD.
CI: 0601864127
Directora del Proyecto de Investigación

DEDICATORIA

La presente Tesis va dedicada con todo mi cariño y amor a Dios, porque me diste la oportunidad de vivir, gracias a ti he logrado concluir mi Carrera y pasando los años he tenido muchas experiencias que me servirán para la vida.

A mis padres quienes siempre me han inculcado valores para ser una excelente persona, por darme la educación y una carrera para mi futuro y seguir adelante a pesar de los tropiezos que he tenido. A pesar de todos los momentos difíciles estuvieron siempre conmigo alentándome para alcanzar cada uno de mis propósitos.

A mis hermanos quienes siempre me han brindado su apoyo y me han enseñado a no rendirme jamás.

A mi abuelita que aunque no está conmigo me guía, me cuida y me ayuda a tomar las mejores decisiones en mi vida.

A mi novio Fer, que con su amor, su paciencia, su granito de arena siempre me ha brindado el tiempo necesario para realizarme profesionalmente.

Amigos, compañeros, y a todas aquellas personas que de una u otra manera han contribuido para el logro de mis objetivos.

AGRADECIMIENTO

Mi agradecimiento lo extiendo para mi bonita y prestigiosa UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO, porque además de ser un centro de educación fue mi segundo hogar.

Gracias a mi Carrera de Ingeniería Agroindustrial por abrirme las puertas, porque he conocido personas maravillosas y extraordinarias con las cuales hemos compartido muchos momentos alegres e inolvidables, aquellas aulas en donde se impartieron conocimientos no solamente para la vida profesional sino para la vida misma.

Agradezco a todos y cada uno de mis docentes porque gracias a ellos he aprendido a dar lo mejor de mí, gracias a todos mis docentes porque son amigos y familia.

A mí querida y estimada Dra. Sonia Rodas por ser un pilar fundamental en la vida de cada uno de sus estudiantes, gracias por enseñarme que la vida hay que lucharla por más difícil que a veces parezca, gracias por cada uno de sus consejos, por la confianza brindada y por cada una de las oportunidades que me ha dado y han sido muy incomparables.

Agradezco a mis padres, hermanos, a mi novio y a todas aquellas personas que hicieron posible que este sueño se haga realidad.

ÍNDICE

Portada	i
REVISIÓN DEL TRIBUNAL	ii
AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	ix
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 PROBLEMA	1
1.2 ANTECEDENTES	3
1.3 JUSTIFICACIÓN.....	5
1.4 OBJETIVOS.....	5
1.4.1 OBJETIVO GENERAL	5
1.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	5
CAPÍTULO II. ESTADO DEL ARTE Y MARCO TEÓRICO	6
2.1 MARCO TEÓRICO	6
2.1.1 SUERO LÁCTEO	6
2.1.2 TIPOS DE SUERO DE LECHE	7
2.1.3 ALTERNATIVAS DE TRATAMIENTO DEL SUERO DE LECHE	8
2.1.4 PROPIEDADES FUNCIONALES DE COMPONENTES DEL SUERO.....	9
2.1.5 PROTEÍNAS	10
2.1.6 PROTEÍNA UNICELULAR.....	11
2.1.7 USO DE LA PROTEÍNA UNICELULAR	11
2.1.8 PROTEÍNAS PRESENTES EN EL SUERO.....	12
2.1.9 LEVADURAS	12
2.2.9 LEVADURA <i>Kluyveromyces marxianus</i>	13
2.1.10 AGAR.....	15
2.1.11 DEFINICIÓN.....	15
2.1.12 DESCRIPCIÓN Y COMPOSICIÓN DEL AGAR YM.....	15
2.2 ESTADO DEL ARTE	15
2.2.1 OPTIMIZACIÓN DE PARÁMETROS PARA LA PRODUCCIÓN DE PROTEÍNA UNICELULAR A PARTIR DE LACTOSUERO	15

2.2.2 APROVECHAMIENTO DEL SUERO DE LECHE COMO BEBIDA ENERGIZANTE PARA MINIMIZAR EL IMPACTO AMBIENTAL	17
2.2.3 SUERO DE LECHE LA CIENCIA DETRÁS DE SU RESCATE.....	18
2.2.4 PERSPECTIVAS ACTUALES DE LA PROTEÍNA UNICELULAR SCP EN LA AGRICULTURA Y LA INDUSTRIA.	19
2.2.5 OBTENCIÓN DE PROTEÍNA UNICELULAR (SCP) A PARTIR DE ÁCIDO ACÉTICO POR <i>Saccharomyces exiguus</i>	20
CAPITULO III. METODOLOGÍA	21
3.1 TIPO DE LA INVESTIGACIÓN.....	21
3.2 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.....	21
3.3 TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	22
3.4 PROCEDIMIENTO.....	22
3.5 OBTENCIÓN DE PROTEÍNA UNICELULAR A PARTIR DE LA FERMENTACIÓN DEL SUERO ÁCIDO DE QUESERÍA	24
3.6 ANÁLISIS ANTES DE OBTENER LA PROTEÍNA	25
3.7 MÉTODO DE ANÁLISIS.....	25
3.7.1 PROCESAMIENTO DE DATOS	25
3.8 HIPÓTESIS GENERAL.....	26
VARIABLES.....	26
VARIABLE INDEPENDIENTE	26
VARIABLE DEPENDIENTE:.....	26
CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
4.1 RESULTADOS	27
4.1.2 CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO	36
4.1.3 ANÁLISIS INFERENCIAL.....	36
4.1.4 MUESTRA 1 / TRATAMIENTO 1	36
4.1.5 COMPROBACIÓN HIPÓTESIS	36
4.2 MUESTRA 2 / TRATAMIENTO 2	40
4.2.1 COMPROBACIÓN HIPÓTESIS	40
4.3 MUESTRA 3 / TRATAMIENTO 3	44
4.3.1 COMPROBACIÓN HIPÓTESIS	44
5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	48
5.1.1 PROTEÍNA UNICELULAR EN SUERO DE QUESO MOZZARELLA.....	48
5.1.2 PROTEÍNA UNICELULAR EN SUERO DE REQUESÓN.....	48
5.1.3 PROTEÍNA UNICELULAR EN SUERO DE QUESO FRESCO.....	49
6. CONCLUSIONES	50
7. RECOMENDACIONES	50
8. ANEXOS	51

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Propiedades funcionales del lactosuero	7
Tabla 2 . Clasificación de los tipos de suero según su acidez	8
Tabla 3. Funciones biológicas y fisiológicas	9
Tabla 4. Clasificación de Proteínas	10
Tabla 5. Composición de proteína en el lactosuero	12
Tabla 6. Géneros de levaduras dentro de la industria	14
Tabla 7. Composición del Agar YM.....	15
Tabla 8. Factores que influyen en el proyecto	16
Tabla 9. Tipos de tratamientos y los factores influyentes	16
Tabla 10. Resultados de las propiedades físicas del suero	18
Tabla 11. Composición del suero lácteo dulce y ácido	18
Tabla 12. Composición fisicoquímica	19
Tabla 13. Composición porcentual promedio en base seca de los principales microorganismos	19
Tabla 14. Suero de leche de los tres tipos de tratamientos queso mozzarella, requesón y queso fresco sin la adición de minerales	28
Tabla 15. Suero de leche de los tres tipos de tratamientos queso mozzarella, requesón y queso fresco después de la obtención de la proteína unicelular	30
Tabla 16. Contrastación de los análisis físicos químicos del suero sin la adición de minerales y después de haber obtenido la proteína	32
Tabla 17. Cantidad de proteína extraída a partir del suero de los tres tipos de tratamientos.	33
Tabla 18. Proteína unicelular de los tres tipos de tratamientos suero de queso mozzarella, requesón y queso fresco	34
Tabla 19. Queso mozzarella datos	38
Tabla 20 . Pruebas de Chi-Cuadrado Queso Mozzarella sin minerales.....	39
Tabla 21. Pruebas de Chi-cuadrado Queso Mozzarella con minerales	39
Tabla 22. Queso fresco datos.....	42
Tabla 23. Chi-cuadrado Queso fresco sin minerales	43
Tabla 24. Chi-cuadrado queso fresco con minerales	43
Tabla 25. Requesón Datos	46
Tabla 26. Chi-cuadrado Requesón sin minerales	47
Tabla 27. Chi-cuadrado Requesón con minerales	47

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Diagrama de flujo para la obtención de proteína unicelular	23
Ilustración 2. Distribución X ² , prueba Chi cuadrado.....	40
Ilustración 3. Distribución X ² , prueba Chi cuadrado.....	44
Ilustración 4. Distribución X ² , prueba Chi cuadrado.....	47

RESUMEN

Este proyecto de investigación se fundamentó en el aprovechamiento del suero ácido de quesería para la obtención de proteína unicelular mediante el uso de la levadura *Kluyveromyces marxianus*. La utilización del suero como un subproducto ayuda no solamente a la disminución de materia orgánica, sino que también permite la obtención de sustancias de mayor valor agregado porque posee una gran cantidad de nutrientes proteicos. La metodología escogida fue de tres tratamientos con distintos tipos de suero: queso mozzarella, queso fresco y requesón y dos repeticiones. A los distintos sueros empleados como sustrato para la fermentación se les realizó análisis fisicoquímicos antes y después de la adición de minerales. Para el análisis de proteína se utilizó el método de kjeldahl obteniéndose los siguientes resultados: 6.95% para suero de queso mozzarella, 6.41% para suero de requesón, y 10.4% para suero de queso fresco (N*6.38). El proceso de fermentación para la obtención de biomasa de *Kluyveromyces marxianus* se mantuvo a una temperatura de 39°C. En el contenido de cenizas no se encontró diferencias significativas, ya que en los tres tipos de tratamientos se colocaron la misma cantidad de minerales. El pH ácido que oscila desde 4 hasta 5 es esencial para la obtención de proteínas, la acidez la temperatura una correcta agitación del suero y uso de las levaduras lograron que se obtenga proteína unicelular.

ABSTRACT

This research was based on the use of acid cheese serum for obtaining single-cell protein through *Kluyveromyces marxianus* yeast. The use of whey as a by-product helps not only to reduce organic matter, but also to obtain substances with a higher added value. It is because its large amount of protein nutrients. There were three treatments as part of the methodology which included different types of whey such as: mozzarella cheese, fresh cheese and cottage cheese and two repetitions. The different sera used as a substrate for fermentation underwent physicochemical analyzes before and after the addition of minerals. For the protein analysis, the kjeldahl method is used. It allowed obtaining the following results: 6.95% for mozzarella cheese whey, 6.41% for cottage cheese whey, and 10.4% for fresh cheese whey ($N * 6.38$). The fermentation process to obtain biomass of *Kluyveromyces marxianus* took place at a temperature of 39 ° C. In the ash content, no differences were found, since the same amount of minerals will be placed in the three types of treatments. The acidic pH ranges from 4 to 5. It is essential for obtaining proteins, the acidity, the temperature, a correct agitation of the serum, and the use of yeasts in order to obtain a single-cell protein.

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

1.1 PROBLEMA

Riobamba es una ciudad que cuenta con 40 industrias lácteas; entre estas se encuentran las micro, pequeñas y medianas empresas, sin embargo, no todo lo que se obtiene de ellas es reutilizado y un sinnúmero de veces ocasionan contaminación ambiental. El suero de las fábricas es arrojado de tal manera que no se reconocen las cualidades que posee en cuanto a valor nutricional y genera un desperdicio de subproducto para las industrias. (Zambrano & Lopez, 2018)

Según (Pais, y otros, 2017) por cada 100kg de leche, se logran obtener 9.3 ± 0.7 kg de queso fresco y 90.7 kg de suero de leche. El lactosuero retiene la mayor cantidad de nutrientes, es por eso que posee un alto poder contaminante alcanzando valores de la demanda biológica de oxígeno (DBO) que oscilan entre 30000-50000 mg/l.

La eliminación del suero se debe entre otros aspectos, al desconocimiento de algunos productores sobre las bondades nutricionales de este subproducto y a la dificultad para acceder a las tecnologías apropiadas para su manejo y procesamiento, debido a que no existen personas que brinden capacitaciones, sin embargo; a pesar del valor nutricional potencial del suero y el aprovechamiento para la producción de otros alimentos, aun gran parte es descartado causando problemas de contaminación en ríos y suelos. (Poveda, 2013)

Los diversos empleos como sustrato para la producción de proteína unicelular microbiana para alimentación de animales, etanol, ácidos orgánicos, prebióticos y probióticos, no solamente ayudan a la disminución de materia orgánica contenida en el suero sino que también permite la obtención de sustancias de mayor valor agregado. (Pais et al., 2017)

La presente investigación va a resolver la siguiente pregunta:

¿De qué manera la fermentación a base de levaduras ayuda a obtener de una forma significativa proteína unicelular a partir de la fermentación de suero ácido de quesería?

1.2 ANTECEDENTES

Ecuador no realiza una adecuada reutilización del suero de quesería, aproximadamente destina a la producción de quesos 1.2 millones de litros diarios de leche y esto origina 900 000 litros de suero pero solo un 10% se utiliza en la industria láctea. Actualmente el desperdicio de suero ocasiona contaminación de las aguas por la alta demanda bioquímica de oxígeno (DBO) que posee, de ahí la necesidad de utilizarlo y darle valor como un subproducto. El suero contiene alrededor de 55% de los nutrimentos de la leche y cerca de un 20% de sus proteínas, estas se caracterizan por poseer un gran valor nutritivo y sus funciones aportan propiedades de tipo funcional (Comercio, 2018).

El lactosuero, es un líquido que está constituido por todos los componentes de la leche, proteínas y lactosa se convierten en contaminantes cuando el líquido es lanzado al ambiente sin haber realizado ningún procedimiento ya que estos componentes poseen alta carga de materia orgánica originando la reproducción de bacterias, cambiando la DBO que va desde los 30000 -50000 mg/l y altera los procesos biológicos del agua contaminándola (Brito A. , y otros, 2015).

Según (Chacon, Alejandro, 2004) , la proteína unicelular o también denominada bioproteína es la que se obtiene de toda biomasa proveniente de microorganismos como bacterias, algas, levaduras y hongos filamentosos que se cultivan en medios fermentativos enriquecidos con carbono, nitrógeno y fósforo. La proteína unicelular proviene del término proteína de organismos unicelulares refiriéndose en término anglosajón a SCP o “single cell protein”.

Las levaduras se utilizan desde inicios de 1980, como organismos modelo para la obtención de proteínas. Estos organismos unicelulares presentan una amplia ventaja ya que generan una practicidad de manipulación genética y poseen un acelerado desarrollo ya que engloban alrededor de 5 a 13 % de ácidos nucleicos realizando la función de servir como prototipo para la síntesis de proteínas. (Mejía et al., 2016)

Las levaduras que se utilizan para la obtención de proteína unicelular son las *Kluyveromyces marxianus* estas levaduras deben permanecer en incubación de 38 a 43°C por 4 días para que su crecimiento sea efectivo.

La metodología se basa en tres diferentes tipos de tratamientos: suero a base de queso mozzarella, suero a base de queso tipo fresco y suero de requesón con dos repeticiones cada uno; se implementa una incubadora con su respectivo sistema de agitación ya que las levaduras *Kluyveromyces marxianus* son aeróbicas y necesitan de aire para cumplir con su proceso fermentativo y adición de minerales para nutrir el suero esto permitirá realizar la respectiva experimentación y consecuentemente la obtención de resultados.

Se han realizado varias propuestas para evitar que la contaminación siga propagándose por el desperdicio de suero, una de estas soluciones, es el empleo de este en alimentación animal, tratamiento con lodos para abonos orgánicos y lo que genera mayor expectativa es la obtención de productos basados es el aislamiento de la proteína ya que brinda un concentrado proteico de excelente calidad tanto para humanos como para animales. (Pais, y otros, 2017)

1.3 JUSTIFICACIÓN

La presente investigación se enfocará en la obtención de proteína unicelular a partir de la fermentación de suero ácido de quesería, ya que debido al desperdicio de lactosuero en las empresas queseras este ha provocado una alta contaminación ambiental por reproducción de microorganismos a causa de sus componentes.

Reutilizar el lactosuero y darle un valor agregado como subproducto trae múltiples beneficios ya que posee componentes minerales, vitamínicos y proteicos, evitar desperdiciarlo ayuda a la obtención de concentrados de proteínas, ácidos orgánicos, bioetanol y lactosa además de la generación de piensos para animales aumentando su rendimiento tanto en ingesta diaria como en ganancia de peso (Moreno, Tello, & Cervantes, 2018)

Se evitará la contaminación del ambiente al momento en que se le da un nuevo uso al suero, en esta investigación se requiere obtener proteína unicelular por la razón de que conserva una fuente nutricional por excelencia y ha contribuido en los últimos años al desarrollo y formación de nuevos productos alimenticios.

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 OBJETIVO GENERAL

- Obtener proteína unicelular a partir de fermentación del suero ácido de quesería.

1.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Contrastar los análisis fisicoquímicos de la materia prima (suero) antes y después de obtener la proteína.
- Analizar la cantidad de proteína extraída a partir del suero de quesería y cuantificar la proteína de los tres tipos de tratamientos.

CAPÍTULO II. ESTADO DEL ARTE Y MARCO TEÓRICO

2.1 MARCO TEÓRICO

2.1.1 SUERO LÁCTEO

El suero lácteo es un componente que se obtiene después de la elaboración del queso, posee sólidos de la leche, incluyendo proteínas solubles 0.6-0.8% (lactoalbúminas y lactoglobulinas), vitaminas hidrosolubles 8.48% (tiamina, ácido pantoténico, riboflavina, ácido nicotínico, piridoxina, cobalamina y ácido ascórbico), sales minerales 8%, lactosa 4.5% y lípidos de 0.4-0.5%. Desde hace muchos años atrás el suero se mantiene como un residuo de la industria quesera, generando una amplia contaminación hacia el medio en que vivimos; no obstante, esta perspectiva ha cambiado debido a que este subproducto es rico en nutrientes y cada uno de estos pueden ser utilizados en la generación de nuevos productos (Parra Huertas, 2009).

La composición nutricional del lactosuero tiene una variación, dependiendo de la leche que se ha utilizado para el procesamiento del queso, cada lactosuero posee diferentes propiedades funcionales como hidratación, solubilidad, gelificación, emulsificación, espesantes, viscosidad y espumado (Tabla 1). El proceso por el cual se elabora el queso mediante empleo de enzimas proteolíticas o cuajo nos permite procesar subproductos de suero dulce, estas enzimas actúan sobre la proteína de la leche y las separan provocando que se desequilibren y se aceleren manteniéndose a una temperatura de 15 – 50 °C y un pH ligeramente ácido. Las proteínas globulares se precipitan y dan la formación de requesón que es la mezcla de un suero dulce y ácido. (Parra Huertas, 2009)

Tabla 1. Propiedades funcionales del lactosuero

Propiedades	Proteínas del lactosuero
Hidratación	Capacidad de retención de agua incrementándose con desnaturalización de la proteína
Solubilidad	Insoluble a pH 5 si es termodesnaturalizado
Gelificación	Gelificación térmica desde 70°C, influencia de pH y sales
Emulsificación	Buenas propiedades emulsificantes excepto pH 4-5 si es termodesnaturalizada
Viscosidad	Soluciones no muy viscosas fuera de las termodesnaturalizadas
Espumado	Excelente estabilidad espumante

Fuente: (Parra Huertas, 2009)

El suero de leche es capaz de proporcionar diversas propiedades funcionales al organismo, tal es la razón que se ha aumentado la práctica de proteínas del suero como ingrediente de alimentos funcionales que son aquellos que tienen compuestos biológicos con un resultado positivo en el organismo, mejorando y reduciendo el riesgo de sufrir enfermedades. El suero ácido es un tipo de suero que posee menos cantidad de lactosa y mayor cantidad de minerales a diferencia de un suero dulce. Una clara distinción entre ambos sueros es la concentración de calcio. El suero dulce tiene un bajo contenido de calcio que varía desde los 0,6%-0.7% el calcio de este suero queda retenido en la cuajada en forma de paracaseinato, en cambio en el suero ácido se concentra en el ácido láctico el calcio del complejo del paracaseinato cálcico que varía desde 1,85 – 1,9% de calcio produciendo así el lactato cálcico. (Ramirez Navas, 2011)

2.1.2 TIPOS DE SUERO DE LECHE

En estos últimos años la producción de queso va en aumento y por ende también la producción de suero, es por este motivo que se debe generar un buen aprovechamiento

del mismo. La tabla 2 indica la clasificación de los tipos de suero de acuerdo con la acidez y el pH.

Tabla 2 .Clasificación de los tipos de suero según su acidez

Tipo	Acidez (% de ácido láctico)	pH
Suero dulce	0.10 – 0.20 %	5.8 – 6.6
Suero medio ácido	0.20 – 0.40 %	5.0 – 5.8
Suero ácido	0.40 – 0.60 %	4.0 – 5.0

Fuente: (Loaiza, 2011)

2.1.3 ALTERNATIVAS DE TRATAMIENTO DEL SUERO DE LECHE

El suero de leche presenta diversas alternativas al momento de innovar un producto:

- **Métodos fermentativos:** con en el suero de leche se logra obtener un medio de cultivo para producir biomasa; por ejemplo, se puede producir levadura como biomasa, a la cual conocemos como proteína unicelular, además es posible utilizando a suero como sustrato para producir enzimas y metabolitos importantes como: lípidos, pigmentos, alcoholes, ácidos orgánicos y biopolímeros. (Valencia & Ramirez, 2009)
- **Elaboración de bebidas:** las bebidas que son elaboradas a base de suero de leche presentan un alto valor nutritivo entre estas tenemos las fórmulas lácteas que contienen nutrientes esenciales y son encaminadas principalmente a programas de gobierno. (Valencia & Ramirez, 2009)
- **Producción de biofertilizantes:** los biofertilizantes son un tipo de abono que sustenta el suelo y a la vez mejora los cultivos. Funcionan como reconstructor de la flora microbiana del cultivo ya que el ácido láctico elimina microorganismos patógenos. (Valencia & Ramirez, 2009)

- **Tecnología de empaques:** mediante fermentación el lactosuero se usa para generar un ingrediente que inhibe microorganismos el mismo que se emplea para la elaboración de empaques comestibles. Se crea películas que alargan la vida útil de los productos. (Valencia & Ramirez, 2009)

2.1.4 PROPIEDADES FUNCIONALES DE COMPONENTES DEL SUERO

El suero de quesería o llamado lactosuero contribuye con un excelente valor nutricional para la salud de las personas que lo consumen, con propiedades únicas que protegen al sistema cardiovascular, inmunomoduladoras, antioxidantes, antimicrobianas y anticancerígenas, con funciones biológicas o fisiológicas como se puede observar en la Tabla N°3

Tabla 3. Funciones biológicas y fisiológicas

Sistemas	Función
Digestivo	Efectos positivos en colitis ulcerosa Mejora sensibilidad de insulina Reducción de niveles de glucosa por sus propiedades insulínótropicas
Óseo	Impacta en el crecimiento de osteocitos Biodisponibilidad de hierro para evitar anemia
Inmunológico	Efecto anticancerígeno a nivel de los intestinos Ácido retinoico ayuda a infecciones y disminución de la expansión de tumores.
Nervioso	Mejorar calidad del sueño y disminución de niveles de estrés.
Cardiovascular	Ayuda a la hipertensión, dislipidemia e hiperglucemia Disminuye niveles de triglicéridos.
Antioxidante	Captan radicales libres en nivel sistémico y productos alimenticios.

Fuente: (Chacon et al., 2017)

2.1.5 PROTEÍNAS

La proteína estructura proteica está hecha de una composición biomolecular contiene oxígeno, hidrógeno, nitrógeno y carbono. A demás, cierto tipo de proteínas, presentan hierro, azufre, cobre y fósforo. Son monómeros unidad de aminoácidos que pueden autonombrarse polímeros de moléculas pequeñas, los cuales se unen por medio de enlaces peptídicos. Un péptido da lugar cuando los aminoácidos se acoplan en inferior número; si el número no es mayor a 10 de aminoácidos en una molécula este da lugar a un oligopéptido, después si despunta este valor es un polipéptido, pero, ya se puede hablar de proteína cuando supera los 50 aminoácidos (Luque, 2010)

Tabla 4. Clasificación de Proteínas

Por		Características
Su composición	Simples	Generan aminoácidos
	Conjugadas	Glucoproteínas, lipoproteínas, nucleoproteínas, fosfoproteínas, metaloproteínas
Su forma tridimensional	Fibrosas	Fibras alargadas, se encuentran presentes en músculos, tendones, pezuñas, uñas y cuernos
	Globulares	Enrolladas en formas compactas y se movilizan en hormonas y células de transporte
Su función	Estructurales	Colágeno
	De transporte	Hemoglobina
	Protectoras	Inmunoglobina
	Hormonales	Insulina
	Enzimáticas	Catalizadores biológicos

Fuente: (Unam, 2010)

Las proteínas son utilizables y de alto valor biológico para el hombre si su ingesta posee los aminoácidos esenciales, pero cuando los aminoácidos esenciales son en menor cantidad se los denomina aminoácidos limitantes. El valor biológico de las proteínas animales es más alto al de origen vegetal, su estructura es más semejante a las proteínas corporales en aminoácidos. (Carbajal Azcona, 2013)

2.1.6 PROTEÍNA UNICELULAR

Es aquella proteína que es obtenida de la biomasa de células bacterianas, de levaduras, algas cultivadas y hongos que son de tipo filamentosos en condiciones de fermentación adecuadas y controladas garantizando una tasa de crecimiento, se emplea como una fuente de proteína y estos poseen un elevado contenido de compuestos nitrogenados como ácidos nucleicos y proteínas. (Carbajal Azcona, 2013)

2.1.7 USO DE LA PROTEÍNA UNICELULAR

Generalmente el uso de la proteína unicelular es principalmente en piensos, de una manera inmediata, con un proceso fácil y con menos técnica. Si el producto va dirigido a los seres humanos su desarrollo es más elaborado, dentro de este proceso implica la remoción de ácidos nucleicos por lo tanto se perdería características nutricionales; sin embargo se debe asegurar la calidad del producto. (Chacon A. , 2004)

El fragmento fundamental del nitrógeno no proteico es la biomasa microbiana, está compuesto por ácidos nucleicos y son utilizados como una estimación analítica indirecta sin embargo el contenido de ácidos nucleicos en la proteína unicelular comparativamente elevado respecto a otros alimentos convencionales aparece como principal inconveniente para el empleo de las PUC. (Vázquez)

Otro uso que se le da a la proteína unicelular es en el campo medicinal de una manera efectiva, evaluando el papel PUC que se caracteriza por ser un nutrimento inmunitario para pacientes con hipoproteinemia, hiperglucemia, anemia e hipercolesterolemia. (Chacon A. , 2004)

2.1.8 PROTEÍNAS PRESENTES EN EL SUERO

Las proteínas que se encuentran presentes dentro del suero son la α - lactoalbumina y la β - lactoglobulina, estas logran acoplarse con el calcio y juntas llegan a obtener una buena biodisponibilidad. Las proteínas juntas del suero consiguen obtener un impacto tangible sobre la salud ósea ya que incitan la diferenciación y el crecimiento de células óseas. (Poveda, 2013). En la Tabla 5 se observa la composición de la proteína en el Lactosuero

Tabla 5. Composición de proteína en el lactosuero

Proteína	Concentración	Proporción relativa en las proteínas del suero (%)	Estabilidad Térmica (Temperatura de desnaturalización)
α -lactoglobulina	3,30	55,00 - 65,00	Termolábil (74°C)
β -lactoalbúminas	1,20	15,00 – 25,00	Ligeramente inestable al calor (63°C)
Inmunoglobulinas	0,50	10,00 – 15,00	Muy termolábil (79°C)
Seroalbúmina vacuna	0,30	5,00 – 6,00	Termolábil (87°C)
Proteosas- peptonas	0,60	10,00 – 20,00	Estable al calor
Beta-caseína	<0,10	1,00 – 2,00	Estable al calor
Proteínas menores	<0,05	<0,50	-
Caseino macro péptidos (suero dulce)	1,3	-	-

Fuente: (Ramirez & Posada, 2011)

2.1.9 LEVADURAS

Las levaduras pertenecen al reino fungi, en la naturaleza existen diversidad de levaduras encontrándose en el suelo, plantas e insectos y aguas naturales. Se desarrollan en forma unicelular y efectúan una reproducción por gemación, en comparación con otros microorganismos las levaduras son escasas 39 géneros y 350 especies. (Ancasi, 2007)

Hoy en día, las levaduras como *Candida utilis*, *Saccharomyces cerevisiae* *Kluyveromyces fragilis* (*k. marxianus*) realizan una importante síntesis proteica en un corto lapso de tiempo y con unas materias primas con un bajo valor, entre los productos que se pueden elaborar están subproductos de algunos procesos alimenticios, residuos que son orgánicos y estos poseen un buen sabor y excelente digestibilidad. (Ancasi, 2007)

2.2.9 LEVADURA *Kluyveromyces marxianus*

Kluyveromyces marxianus (*K. marxianus*), era conocida anteriormente como *S. fragilis* y *K. fragilis*. Ha sido aislada de fruta, queso, yogurt, leche, fermentaciones espontáneas, y se ha utilizado en el procesamiento del lactosuero; fermenta galactosa, sacarosa, rafinosa, lactosa, crece a temperaturas entre 20-30°C y pH 4,5-5, y con ella se obtienen etanol, glicerol, enzimas y proteína unicelular. (Padín & Díaz, 2009)

La levadura láctea *Kluyveromyces marxianus* es de particular interés a este respecto por sus características que la hacen especialmente adecuada para aplicaciones industriales. Estos incluyen la tasa de crecimiento más rápida de cualquier microbio eucariota, la termotolerancia, la capacidad de asimilar una amplia gama de azúcares, la secreción de enzimas líticas y la producción de etanol por fermentación. (Lane & Morrissey, 2010)

La disponibilidad de nuevas herramientas y recursos moleculares para *K. marxianus*, sus interesantes rasgos metabólicos y celulares, y el potencial para convertirse en la levadura líder para muchos procesos biotecnológicos, abogan fuertemente por una mayor investigación en esta especie en particular. (Lane & Morrissey, 2010)

Las levaduras realizan la producción de proteína unicelular y constituye una opción que es sostenible utilizando desechos agrícolas, comerciales e industriales los mismos que al no poseer un manejo adecuado provocan contaminación. Las levaduras son individuos aerobios que fermentan unos pocos glúcidos en general disacáridos y hexosas, por ejemplo, del género de *Saccharomyces* y otros más, son fermentadores energéticos de azúcares bajo condiciones anaeróbicas. En productos lácteos se encuentran *Kluyveromyces marxianus*, *D. hansenii*, *R. mucilaginosa*, *Yarrowia lipolytica* y *Cándida parapsilosis*. (Unsa, 2007)

En la Tabla 6 se muestran algunos géneros de importancia dentro de la industria

Tabla 6. Géneros de levaduras dentro de la industria

TIPO DE LEVADURA	IMPORTANCIA Y USO
<i>Schizosaccharomyces</i>	-Admite el estudio de la célula eucariota
<i>Saccharomyces</i>	-Fermentación de pan -Fermentación de cerveza -Fermentación de vinos -Producción de alcohol, glicerol e invertasa.
<i>Kluyveromyces (marxianus)</i>	-Productos lácteos capacidad de fermentar lactosa.
<i>Zygosaccharomyces</i>	-Crece en medios con concentraciones de azúcar altas. -Trabajan en la alteración de la miel, melazas y jarabes. -Fermentación de soja y algunos vinos.
<i>Pichia</i>	-Producción de películas sobre los vinos y la cerveza.
<i>Debaromyces</i>	-Producción de superficie en quesos y embutidos.
<i>Hanseniaspora</i>	-Poseen forma de limón y generan un crecimiento en zumo de frutas.
<i>Torulopsis</i>	-Fermentación de la lactosa -Altera productos lácteos como leche condensada. -Altera concentrados de extractos de fruta. -Altera algunos alimentos ácidos.
<i>Candida utilis</i>	-Producción de proteína unicelular para piensos y alimentos.
<i>Candida krusei</i>	-Se usa con los cultivos iniciadores de productos lácteos y produce modificación en mantequilla y margarina.
<i>Brettanomyces</i>	-Produce ácido -Intervienen en la fermentación de cerveza belga "lambic"
<i>Trichosporon</i>	-Crecimiento en temperaturas bajas -Se usa en cervecería
<i>Rhodotorula</i>	-Sus colores rojo, rosa y amarillo producen manchas en las superficies de carnes.

Fuente: (Camacho, 2009)

2.1.10 AGAR

2.1.11 DEFINICIÓN

Un agar es un compuesto solidificante y se lo utiliza para preparar medios de cultivo microbiológicos, se lo extrae de algas de color rojo-púrpura del tipo *Gelidium* spp.

El agar mantiene sus propiedades físico-químicas a temperatura ambiente, pero también resiste temperaturas hasta de 65°C, se mezcla en el medio de cultivo para su preparación aproximadamente a una temperatura de 85 a 91°C la siendo su temperatura de solidificación va desde los 34 a 36 °C (Neogen F. s., 2019)

2.1.12 DESCRIPCIÓN Y COMPOSICIÓN DEL AGAR YM

El agar YM es utilizado para el cultivo de levaduras, mohos y microorganismos acidúricos, formulado para el aislamiento selectivo de levaduras de cultivos mixtos que contiene bacterias y mohos. Se pueden añadir antibióticos a los medios estériles y compuestos fungistáticos al agar YM para la exclusión de mohos y generar numerosas levaduras. (Neogen, 2019) En la (Tabla 7) se observa la composición del agar YM.

Tabla 7. Composición del Agar YM

Formula	Cantidad
Digerido enzimático de gelatina	5g
Extracto de levadura	3g
Extracto de malta	3g
Agar	20g

Fuente: (Neogen, 2019)

2.2 ESTADO DEL ARTE

2.2.1 OPTIMIZACIÓN DE PARÁMETROS PARA LA PRODUCCIÓN DE PROTEÍNA UNICELULAR A PARTIR DE LACTOSUERO

Suero de queso utilizado

Se utilizó suero de leche ácido residual de la fabricación de queso fresco con un pH de 4.3.

Tabla 8. Factores que influyen en el proyecto

Factor A		Factor B		Factor C	
Sulfato de Amonio(ml)		Temperatura °C		Agitación (rpm)	
Nivel Alto	Nivel Bajo	Nivel Alto	Nivel Bajo	Nivel Alto	Nivel Bajo
100	150	25	30	200	300

Fuente: (Mora & Bravo, 2014)

Tabla 9. Tipos de tratamientos y los factores influyentes

Tratamiento	Horas	Crecimiento de biomasa	Condiciones (fuente de nitrógeno consumida totalmente)
1	12 horas en proceso de fermentación	Punto óptimo 4,4	100 ml SO ₄ (NH ₄) ₂ , 25°C y 200 rpm)
a	10 horas en proceso de fermentación	Punto óptimo 4,59	150 ml SO ₄ (NH ₄) ₂ 25°C y 200 rpm
b	8 horas en proceso de fermentación	Punto óptimo 5,39	(100 ml SO ₄ (NH ₄) ₂ , 30°C y 200 rpm
ab	18 horas en proceso de fermentación	Punto óptimo 5.58	150 ml SO ₄ (NH ₄) ₂ , 30°C y 200 rpm
c	18 horas en proceso de fermentación	Punto óptimo 4,88	100 ml SO ₄ (NH ₄) ₂ , 25°C y 300 rpm
ac	10 horas en proceso de fermentación	Punto óptimo 5.06	(150 ml SO ₄ (NH ₄) ₂ , 25°C y 300 rpm
bc	16 hora en proceso de fermentación	Punto óptimo 5,03	100 ml SO ₄ (NH ₄) ₂ , 30°C y 300 rpm
abc	10 horas en proceso de fermentación	Punto óptimo 4,90	150 ml SO ₄ (NH ₄) ₂ , 35°C y 300 rpm

Fuente: (Mora & Bravo, 2014)

Se determinó mediante el análisis fisicoquímico, el porcentaje de ceniza, concluyendo que el tratamiento cuatro (ab), presenta mayor porcentaje de ceniza (10,80%), lo que quiere decir que contiene mayor cantidad de minerales.

En estudios similares realizados por Mora & Bravo en 2014 concluyeron que al producir 100 g de proteína unicelular a partir de lactosuero se necesita una inversión de 2,40 USD.

En la presente investigación se acepta parcialmente la hipótesis alternativa ya que la temperatura, y la fuente de nitrógeno si influyen en el rendimiento y la calidad nutricional de la proteína unicelular, no obstante la agitación no influyó en el proceso de la misma, sin embargo, es necesario mantener una agitación constante, concluyendo que el mejor tratamiento es el (ab), con una Temperatura: 30°C, 150 ml de Sulfato de Amonio y 200 rpm, con una fermentación en un tiempo óptimo de 18 horas, produciendo 28,2 g de biomasa seca con 42,23% de proteína (Mora & Bravo, 2014)

Se concluye que el lactosuero, principal subproducto de la industria láctea, puede ser utilizado en la transformación de productos útiles, como es el caso de la proteína unicelular, proporcionando un valor agregado a dichas industrias a la vez que se evita la contaminación ambiental. (Mora & Bravo, 2014)

2.2.2 APROVECHAMIENTO DEL SUERO DE LECHE COMO BEBIDA ENERGIZANTE PARA MINIMIZAR EL IMPACTO AMBIENTAL

Según (Brito H. et al., 2015), la composición de la lactosa, proteínas y materia grasa depende de factores como el origen de la leche y del tipo de queso elaborado, el contenido aproximado es de 93.1% agua, 4.9% lactosa, 0,9% proteína cruda, 0.6% cenizas, 0,3% grasa. En la Tabla 10 se detalla resultados de las propiedades físicas del suero de leche.

Tabla 10. Resultados de las propiedades físicas del suero

Parámetros	Valor	Valor de referencia bibliográfica
Humedad	84,64%	93,5
Ceniza	0,55%	0,587
Proteína	0,87%	0,86
Acidez	0,178%	0,37
pH	6,45	5.8-6,6
Temperatura	20°C	-
°Brix	6,6°Bx	10-12

Fuente: (Brito H. , y otros, 2015)

Se puede observar en la Tabla 10, que los datos obtenidos de los análisis físicos químicos del suero de leche en este estudio se encuentran dentro de los rangos y se considera una óptima calidad del lactosuero. (Brito et al., 2015)

2.2.3 SUERO DE LECHE LA CIENCIA DETRÁS DE SU RESCATE

Según (García, Sanchez, & Ramón, 2018), la composición del tipo de suero depende de la leche utilizada, el producto con el cual se precipita la caseína, y el proceso utilizado para su elaboración. En la Tabla 11 se observa la composición del suero lácteo dulce y ácido.

Tabla 11. Composición del suero lácteo dulce y ácido

Componente	Suero dulce (g/kg)	Suero ácido (g/kg)
Proteína Total	9-14	7-12
Cenizas	4-6	6-8
pH	>6,0	<4,5
Grasa Total	0-5	0-5
Grados Dornic	<20°	>60

Fuente: (García, Sanchez, & Ramón, 2018)

La adición de ácido cítrico para ajustar el pH, ayuda a obtener resultados satisfactorios en la coagulación de las proteínas solubles combinando con un buen proceso térmico, es decir a mayor temperatura incide una mejor textura del producto. (García, Sanchez, & Ramón, 2018)

La Tabla 12 Indica valores de los análisis fisicoquímicos en productos unttables

Tabla 12. Composición fisicoquímica

Parámetros de análisis	Resultados
Acidez expresada como ácido láctico	0,63%
Proteínas	9,65%
Humedad	71,55%
pH	4,83%
Cenizas	1,77

Fuente: (García, Sanchez, & Ramón, 2018)

2.2.4 PERSPECTIVAS ACTUALES DE LA PROTEÍNA UNICELULAR SCP EN LA AGRICULTURA Y LA INDUSTRIA.

Según (Chacón, 2004), el valor principal de la biomasa microbiana es su gran aporte de proteína, la Tabla 13 muestra contenidos de proteína, logran un máximo en las bacterias un mínimo en hongos filamentosos quedando en una situación intermedia las levaduras. Las levaduras mantienen proteínas similares a las de soya.

Tabla 13. Composición porcentual promedio en base seca de los principales microorganismos

Componente	Hongos filamentosos	Algas	Levaduras	Bacterias
Proteína	30-50%	40-63%	45-56%	50-83%
Grasa	2-8%	7-20%	2-6%	1,5-3%
Cenizas	9-14%	8-10%	5-9,5%	3-7%
Humedad	13,0	6%	4,5%	2,8%

Fuente: (Chacón, 2004)

El suero que es complementado con sales garantiza la nutrición de las levaduras (Crueger & Crueger, 1989), si se desea emplear como alimento humano cabe estudiar la posibilidad de reducir el contenido de ácidos nucleicos. (Chacón, 2004)

2.2.5 OBTENCIÓN DE PROTEÍNA UNICELULAR (SCP) A PARTIR DE ÁCIDO ACÉTICO POR *Saccharomyces exiguus*

Los microorganismos más utilizados hoy en día son las levaduras debido a que sintetizan grandes cantidades de proteína, en poco tiempo, con materias primas de bajo costo y se da uso para subproductos alimenticios y residuos orgánicos. (Saldaña & Zapata, 2017)

CAPITULO III. METODOLOGÍA

3.1 TIPO DE LA INVESTIGACIÓN

La metodología a utilizar en la obtención de proteína unicelular a partir de la fermentación de suero ácido de quesería es un método a base de tres tratamientos y dos repeticiones, se procede a realizar un diseño investigativo considerando las siguientes unidades de análisis:

- QM: Suero a base de queso mozzarella
- QF: Suero a base de queso fresco
- QR: Suero a base de requesón

3.2 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

El diseño de investigación es un diseño experimental correlacional en el cual se manipula la variable independiente (causa) y se ven los efectos de la variable dependiente. Se realizaron los respectivos análisis por duplicado.

Dentro de esta metodología, se utiliza un proceso para llegar a obtener los distintos resultados, los mismos que al abordar diferentes datos ayudarán a identificar una estadística precisa en el tema de investigación. Se emplean tres tipos de tratamientos suero a base de queso mozzarella, requesón y suero a base de queso fresco y en los tres tipos se realizan dos repeticiones tomando en cuenta su temperatura que oscila desde los 39°C hasta los 43°C, su pH ácido y su acidez. Se implementa una incubadora con su respectivo sistema de agitación ya que las levaduras *Kluyveromyces marxianus* son aeróbicas y necesitan de aire para poder realizar su proceso fermentativo, además se realiza la adición de minerales como sulfato de amonio, sulfato monopotásico y magnesio para una buena nutrición del suero logrando una excelente obtención de proteína unicelular.

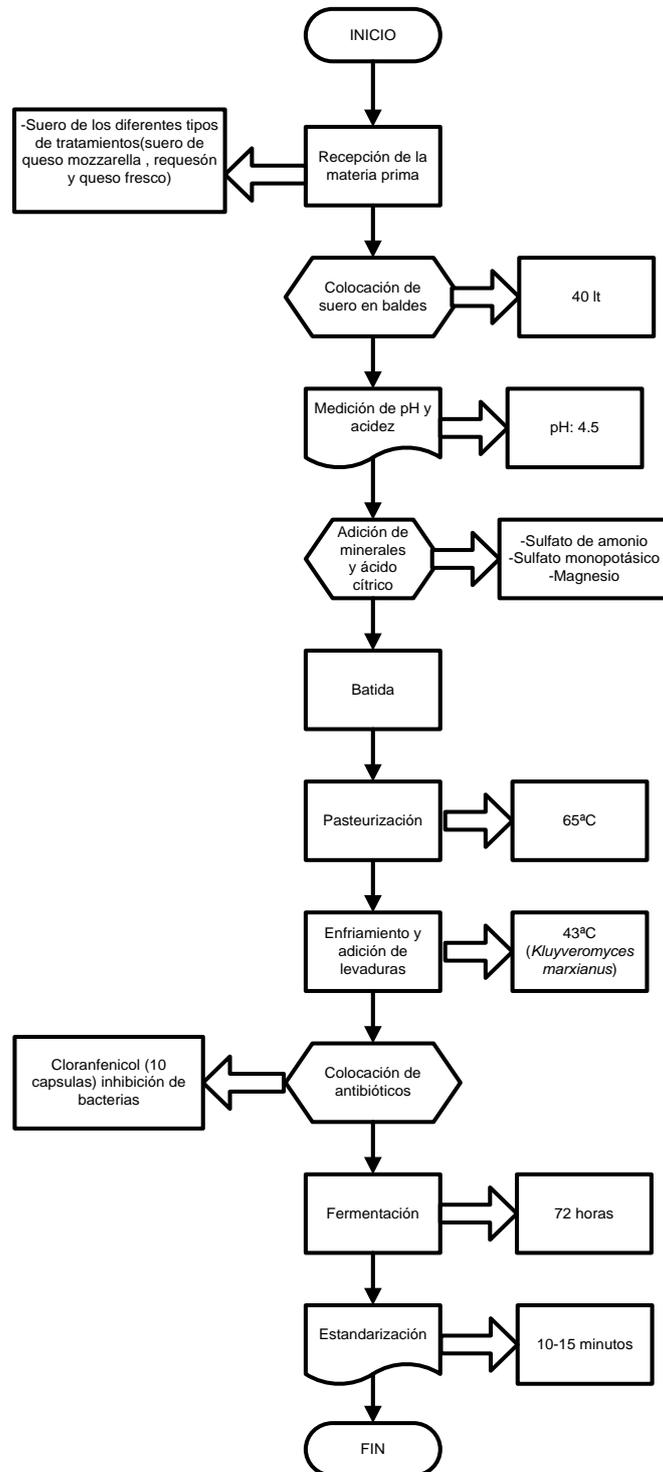
3.3 TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

El procedimiento para la obtención de los diferentes resultados se lo realiza en la Planta de Lácteos “San Salvador”, y posteriormente después de la obtención de la proteína se emplearon los equipos del laboratorio de Control de Calidad de la Universidad Nacional de Chimborazo los cuales ayudaron a obtener pruebas fisicoquímicas, método de proteína en Kjeldahl (NTE INEN 16) (INEN, 2013), cenizas (NTE INEN 14) (INEN, NTE, 2013) , acidez (NTE INEN 13) (NTE, 2013) y pH (NTE INEN 2594:2011) (NTE, 2013).

3.4 PROCEDIMIENTO

El procedimiento realizado para la obtención de proteína unicelular (PUC) se encuentra esquematizado en el siguiente diagrama de flujo a partir de la fermentación de suero ácido de quesería, y se trabajó con los tres patrones.

Ilustración 1 .Diagrama de flujo para la obtención de proteína unicelular



Fuente: Paola Galán

3.5 OBTENCIÓN DE PROTEÍNA UNICELULAR A PARTIR DE LA FERMENTACIÓN DEL SUERO ÁCIDO DE QUESERÍA

Para realizar la obtención de proteína unicelular se utiliza un proceso de fermentación de las levaduras empleadas mediante una incubadora adaptada a la temperatura deseada.

Se detalla cada paso del procedimiento:

1. Se ocupa 40lt de suero y se coloca en baldes.
2. Se mide el pH, acidez, grasa, contenido de agua.
3. Se estabiliza el pH con ácido cítrico hasta obtener un pH ácido de aproximadamente 4.5.
4. A continuación, se procede a colocar diferentes tipos de minerales como son sulfato de amonio (1g por litro), sulfato monopotásico (1g por litro) y magnesio (0.5g por cada litro de suero).
5. Se mezcla y posteriormente se realiza una pasteurización hasta llegar a los 65°C.
6. Se realiza un enfriamiento hasta llegar a los 43°C y se coloca levaduras del género *Kluyveromyces marxianus* para su fermentación, para obtenerlas se realizó una inoculación que poseía un crecimiento total elevado de levaduras sobre la superficie inclinada del agar YM. Finalmente se agrega antibióticos para inhibición de microorganismos (cloranfenicol 10 capsulas cada una de 250mg)
7. Se lo deja fermentar en una incubadora a una temperatura de 39 a 43 °C por 72 horas.
8. Para extraer las proteínas de cada tipo de tratamiento se utiliza una estandarizadora de 10 a 15 minutos.

3.6 ANÁLISIS ANTES DE OBTENER LA PROTEÍNA

PRUEBAS FÍSICO QUÍMICAS

pH: (NTE INEN 2594:2011)

Acidez: (NTE INEN 13)

Cenizas: (NTE INEN 14)

Proteína: (NTE INEN 16)

3.7 MÉTODO DE ANÁLISIS

El método estadístico para comprobar la hipótesis fue diseño de bloques completamente aleatorizados para dos o más variables, porque es un método a base de tres tratamientos y dos repeticiones, con ayuda del programa SPSS el que permitirá obtener resultados de la comprobación de la proteína unicelular a partir del suero ácido de quesería. El equipo que se utilizó el ECOMILK para abordar datos del suero con minerales y después de haber obtenido la proteína datos sin minerales.

3.7.1 PROCESAMIENTO DE DATOS

En el presente trabajo de investigación se realizó la codificación y se creó una base de datos de los instrumentos aplicados, con el programa estadístico SPSS. Para los procesamientos estadísticos, para el cálculo de las técnicas del análisis estadístico, las diferencias de medias, la confiabilidad de los instrumentos, la prueba de hipótesis, la distribución estadística de los datos y el efecto de la variable dependiente sobre la variable independiente, se utilizaron los estadísticos acordes al tipo y diseño de la investigación.

El método estadístico para comprobar la hipótesis fue diseño de bloques completamente aleatorizados para dos o más variables, porque es un método a base de tres tratamientos y dos repeticiones, que se procedió a realizar un diseño investigativo considerando las siguientes unidades de análisis: queso fresco, queso mozzarella y requesón, la obtención de los diferentes resultados permitió medir la proteína en la Planta de Lácteos “San Salvador”, aspectos cuantitativos de las respuestas que se obtuvieron en los equipos del

laboratorio de Control de Calidad de la Universidad Nacional de Chimborazo; información que permitió medir la relación que existe entre las variables de las hipótesis en estudio.

3.8 HIPÓTESIS GENERAL

La fermentación de suero ácido de quesería aumentará significativamente la obtención de proteína unicelular.

VARIABLES

VARIABLE INDEPENDIENTE

V1: La fermentación de suero ácido de quesería.

VARIABLE DEPENDIENTE:

V1: Proteína unicelular.

De acuerdo al diseño de la investigación, al tipo de datos recogidos y a las hipótesis planteadas el estadístico más apropiado es Chi-cuadrado χ^2 .

Ecuación 1.

$$\chi^2 = \sum \frac{(f_o - f_e)^2}{f_e}$$

Donde:

- f_o = es la frecuencia observada (respuestas del análisis de suero lectura ECOMILK para la obtención de la proteína sin y con minerales)
- f_e = Frecuencia esperada (respuestas que se esperaban de los tres tipos de tratamientos: el metodo kjeldahl , cenizas , acidez , pH)

El criterio para la comprobación de las hipótesis se define así: si χ^2_c (calculada) es mayor que χ^2_t (tabla) se acepta la hipótesis de trabajo y se rechaza la hipótesis nula; en caso contrario que χ^2_t sea mayor que χ^2_c se acepta la hipótesis nula y se rechaza la de trabajo.

CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 RESULTADOS

4.1.1 RESULTADOS DE ANÁLISIS FISICOQUÍMICOS DE LOS TRES TIPOS DE TRATAMIENTOS SUERO DE QUESO MOZZARELLA (QM), REQUESÓN (QR) Y QUESO FRESCO (QF) SIN Y CON LA ADICIÓN DE MINERALES

Tabla 14. Suero de leche de los tres tipos de tratamientos queso mozzarella, requesón y queso fresco sin la adición de minerales

Suero de leche sin minerales															
Tratamiento	Acidez (% ácido láctico)			pH			Temperatura(°C)			Proteína (%)			Cenizas (%)		
	Primera Repetición	Segunda Repetición	\bar{x}	Primera Repetición	Segunda Repetición	\bar{x}	Primera Repetición	Segunda Repetición	\bar{x}	Primera Repetición	Segunda Repetición	\bar{x}	Primera Repetición	Segunda Repetición	\bar{x}
QM	1.56	1.13	1.345	6.4	5.4	5.9	18.6	21.5	20.05	2.7	2.6	2.65	1.4	1	1.2
QR	1.35	0.63	0.99	5.9	6.8	6.35	25.2	36.1	30.65	2.4	2.4	2.4	0.67	0.58	0.625
QF	0.9	0.72	0.81	5.15	6.7	5.93	31.6	36.1	33.85	2.5	2.4	2.45	0.58	0.7	0.64

En la Tabla 14 se logran observar los diferentes resultados del lactosuero recién extraído de los tres tipos de tratamientos sin la adición de minerales, en donde se puede ver que el tratamiento con mayor acidez es el suero de queso mozzarella (QM) con un valor de 1.35%, en intermedio se encuentra el requesón (QR) con 0.99% y con más baja acidez el de queso fresco (QF) encontrándose entre rangos de 0.81%. Los niveles de pH varían en los tres tipos de suero y mediante la aplicación de ácido cítrico se logró obtener un pH bajo para la fermentación de las levaduras el que mayor número de pH presentó es el de requesón (QR) con 6.35 a continuación el de queso fresco (QF) con 5.93 y el pH más bajo en mozzarella (QM) con 5.9. La temperatura se encuentra en el rango establecido para su incubación que iba incrementando desde los 20°C hasta llegar a los 39°C. El mayor porcentaje de proteína se puede observar en el suero de queso mozzarella (QM) con 2.55% siguiéndole el suero de queso fresco (QF) con 2.45% y finalmente con poca diferencia el suero de requesón (QR) con 2.4% y para concluir con esta Tabla la mayor cantidad de cenizas se encuentra en el suero de queso mozzarella (QM) con un total de 1.2% es decir contiene mayor número de minerales, en valor intermedio se encontró en el de queso fresco (QF) con 0.65% y con baja cantidad de minerales el suero de requesón (QR) con 0.63% respectivamente .

Tabla 15. Suero de leche de los tres tipos de tratamientos queso mozzarella, requesón y queso fresco después de la obtención de la proteína unicelular

Suero de leche después de obtener proteína															
Tratamiento	Acidez (% ácido láctico)			pH			Temperatura(°C)			Proteína (%)			Cenizas (%)		
	Primera Repetición	Segunda Repetición	\bar{x}	Primera Repetición	Segunda Repetición	\bar{x}	Primera Repetición	Segunda Repetición	\bar{x}	Primera Repetición	Segunda Repetición	\bar{x}	Primera Repetición	Segunda Repetición	\bar{x}
QM	1.37	1.26	1.315	4.2	4.0	4.1	37.5	36	36.7	0.74	0.87	0.81	0.21	0.20	0.205
QR	0.99	1	0.995	5.3	4.9	5.1	38	34	36	0.89	0.9	0.9	0.31	0.29	0.3
QF	0.89	0.90	0.895	4.9	5.12	5.01	39.5	37.8	38.7	0.85	1.2	1.02	0.614	0.28	0.447

En la Tabla 15 se logran observar los diferentes resultados de los tres tipos de tratamientos queso mozzarella, requesón y queso fresco después de la obtención de la proteína unicelular, en donde se puede ver que el tratamiento con mayor acidez es el suero de queso mozzarella (QM) con un valor de 1.315%, en intermedio se encuentra el requesón (QR) con 0.995% y con más baja acidez el de queso fresco (QF) encontrándose entre rangos de 0.895%. Los niveles de pH se encuentran dentro de los rangos establecidos que corresponde a un pH ácido que oscila de 4 a 5 el tratamiento que presenta menor pH es suero a base de queso mozzarella (QM), y en intermedio el suero a base de requesón y queso fresco con un pH de 5 a 5.01. La temperatura se encuentra en el rango establecido para su incubación que iba incrementando desde los 20°C hasta llegar a los 39°C. Al realizar el proceso de estandarización el suero(líquido) es separado del medio sólido(proteína unicelular) por lo tanto procede a quedarse sin nutrientes y al analizarlo el mayor porcentaje de proteína se puede observar en el suero de queso fresco (QF) con 1.02% siguiéndole el suero de requesón (QR) con 0.9% y finalmente con poca diferencia de queso mozzarella (QM) con 0.81% y para concluir con esta Tabla la menor cantidad de cenizas se encuentra en el suero de queso mozzarella(QM) con un total de 0.205% en intermedio el suero a base de requesón con un total de 0.3% y en suero a base de queso fresco obteniendo una cantidad de 0.447% siendo estas cantidades muy bajas en cuanto a nutrientes es decir el suero(líquido) queda desmineralizado.

Tabla 16. Contrastación de los análisis físicos químicos del suero sin la adición de minerales y después de haber obtenido la proteína

Contrastación de los análisis físico químicos										
Tratamiento	Acidez(% de ácido láctico)		pH		Temperatura(°C)		Proteína (%)		Cenizas(%)	
	\bar{x}		\bar{x}		\bar{x}		\bar{x}		\bar{x}	
	Sin minerales	Después de obtener proteína	Sin minerales	Después de obtener proteína	Sin minerales	Después de obtener proteína	Sin minerales	Después de obtener proteína	Sin minerales	Después de obtener proteína
QM	1.345	1.315	5.9	4.1	20.05	36.7	2.65	0.81	1.2	0.205
QR	0.99	0.995	6.35	5.1	30.65	36	2.4	0.9	0.625	0.3
QF	0.81	0.895	5.93	5.01	33.85	38.7	2.45	1.02	0.64	0.447

En la Tabla 16 se observa la contrastación de los análisis físicos químicos del suero sin la adición de minerales y después de haber obtenido la proteína los mismos que abordan una disminución de resultados al haber obtenido la proteína unicelular (medio sólido) ya que los nutrientes se quedaron añadidos en este medio, mientras tanto el suero (líquido) queda desmineralizado.

Tabla 17. Cantidad de proteína extraída a partir del suero de los tres tipos de tratamientos.

Rendimiento de Proteína en peso(g)			
Tratamiento	Primera Repetición	Segunda Repetición	\bar{x}
QM	333g	183g	258g
QR	110g	164g	137g
QF	120g	117g	118g

En la siguiente Tabla 17 se logra observar los diferentes resultados de la cantidad de proteína extraída en la primera y segunda repetición, a partir de los tres diferentes tipos de tratamientos suero de queso mozzarella, suero de requesón y suero de queso fresco en donde se puede ver que el tratamiento con mayor rendimiento en gramos es la proteína a partir del suero de queso mozzarella con un promedio de 258g, en intermedio se encuentra la proteína extraída a partir del suero de requesón con un promedio de 137g y finalmente con menor rendimiento la proteína a base de queso fresco con 118g.

Tabla 18. Proteína unicelular de los tres tipos de tratamientos suero de queso mozzarella, requesón y queso fresco

Proteína Unicelular															
Tratamiento	Acidez (% ácido láctico)			pH			Temperatura(°C)			Proteína (%)			Cenizas (%)		
	Primera Repetición	Segunda Repetición	\bar{x}	Primera Repetición	Segunda Repetición	\bar{x}	Primera Repetición	Segunda Repetición	\bar{x}	Primera Repetición	Segunda Repetición	\bar{x}	Primera Repetición	Segunda Repetición	\bar{x}
QM	1.5	1.53	1.515	4.2	3.4	3.8	31	31.7	31.35	5.02	8.88	6.95	1.13	1.84	1.49
QR	1.13	1.14	1.135	4.5	4	4.25	31	30	30.5	10.6	2.22	6.41	1.75	1.67	1.71
QF	0.99	0.99	0.99	5.4	4.2	4.8	31	34	32.5	10.4	10.4	10.4	1.08	1.68	1.38

En la Tabla 18 se observan los resultados de la producción de proteína unicelular extraída en los tres tipos de tratamientos, en donde se puede ver que la mayor acidez se encuentra en la proteína a base de suero de mozzarella (QM) con 1.52%, en intermedio la proteína a base de suero de requesón (QR) con 1.14% y con baja acidez la de queso fresco (QF) 0.99%. Los niveles de pH para los tres tratamientos son bajos, debido a que las levaduras trabajan con un pH ácido siendo la proteína de queso fresco (QF) la que contiene mayor pH de 4.8, y el pH más bajo se obtuvo en queso mozzarella (QM) con 3.8 y requesón (QR) cuenta con un pH intermedio de 4.25. El mayor porcentaje de proteína se obtuvo en el tratamiento con el suero de queso fresco (QF) con un total de 10.4% en intermedio la de queso mozzarella (QM) con 6.95% y el porcentaje más bajo de proteína fue de requesón (QR) 6.41% respectivamente. El contenido de cenizas tiene una variación porque se añadió minerales, existiendo resultados similares pero con mayor cantidad la proteína de requesón (QR) con 1.71% siguiendo con la proteína de suero de mozzarella (QM) con 1.49% y finalmente queso fresco (QF) con 1.38% respectivamente.

4.1.2 CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO

Para establecer la confiabilidad de la medición de la proteína unicelular antes del proceso de fermentación de las levaduras, en la muestra madre con y sin minerales se aplicó la lectura con el equipo Ecomilk, en la repetición al menos de dos veces a una pequeña muestra después de un corto período (grado de correlación).

Para los análisis realizados después de haber obtenido la proteína, se enviaron al laboratorio de la Universidad Técnica de Ambato seis tipos de muestras examinados en dos tratamientos: proteína por el método Kjeldahl y las pruebas fisicoquímicas cenizas, acidez y pH.

4.1.3 ANÁLISIS INFERENCIAL.

- H_i : El nivel de proteína unicelular obtenido es mayor después de la fermentación de suero ácido.
- H_o : El nivel de proteína unicelular obtenido es igual después de la fermentación de suero ácido.

Para la comprobación de las hipótesis se considera dos variables y el proceso paso a paso.

4.1.4 MUESTRA 1 / TRATAMIENTO 1

V1: Rendimiento de proteína obtenida antes de la fermentación de suero ácido de queso mozzarella

V2: Rendimiento de proteína obtenida después de la fermentación de suero ácido de queso mozzarella

4.1.5 COMPROBACIÓN HIPÓTESIS

1. Se define la hipótesis nula:

$$H_0 : \mu_1 = \mu_2$$

H_0 : EL NIVEL DE PROTEÍNA UNICELULAR OBTENIDO ES IGUAL DESPUÉS DE LA FERMENTACIÓN DEL SUERO ÁCIDO DE QUESO MOZZARELLA

2. Luego se define la hipótesis alternativa

$$H_\alpha: \mu_1 \neq \mu_2$$

H_i : EL NIVEL DE PROTEÍNA UNICELULAR OBTENIDO ES MAYOR DESPUÉS DE LA FERMENTACIÓN DEL SUERO ÁCIDO DE QUESO MOZZARELLA.

3. Nivel de significación y nivel de confianza

Una decisión adecuada al medir el nivel de significación es utilizar uno fijo de 0,05 que representa las áreas de riesgo (de rechazo de la hipótesis H_0) o de confianza (de aceptación de la Hipótesis de investigación H_i). Se llama nivel de confianza al valor $1 - \alpha$, es la zona de aceptación de la hipótesis nula. A mayor confiabilidad de los datos, menor será el valor de α y viceversa.

$$\alpha = 0,05$$

4. Técnica estadística

En la Tabla 16 se observa dos repeticiones realizadas al primer tratamiento (QM) con el equipo de ECOMILK el cual aborda resultados aproximados de grasa, sólidos, densidad, lactosa, residuos, punto crioscópico, agua y proteína del suero a analizar. Se realizó análisis a un suero A y un suero B existiendo variación al momento de agregar los minerales al suero.

Tabla 19. Queso mozzarella datos

A: Suero sin minerales
B: Suero con minerales

ANÁLISIS	QM1		QM2	
	A	B	A	B
(%) Grasa	0	0	0	0
(%) Sólidos	7.4	5.2	7.3	5.2
(kg/m3) Densidad	13.6	11	13.5	12.5
(%) Lactosa	4.1	2.4	4	2.2
(%) Residuos	0.6	0.3	0.6	0.3
(°C) Punto Crioscopico	0.455	0.361	0.454	0.364
(%) Agua	8.5	18.5	8.6	20.5
(%) Proteína	2.7	8.88	2.6	5.02

Fuente: Paola Galán

5. Criterio

Rechace la H_0 si $\chi_c^2 \geq \chi_t^2 = 32,67$; caso contrario acepte la alternativa o resérvese el juicio.

Grados de libertad

$$V = (F-1) (C-1)$$

En donde:

F=Filas

C=Columnas

$$V = (8-1) (4-1)$$

$$V = (7) \cdot (3)$$

$$E=21$$

CÁLCULO PRUEBA CHI-CUADRADO

Tabla 20 .Pruebas de Chi-Cuadrado Queso Mozzarella sin minerales

	Valor	df	Significación Asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	56,000 ^a	49	,229
Razón de verosimilitud	33,271	49	,958
Asociación lineal por lineal	6,998	1	,008
N de casos válidos	8		

Tabla 21. Pruebas de Chi-cuadrado Queso Mozzarella con minerales

	Valor	df	Significación Asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	56,000 ^a	49	,229
Razón de verosimilitud	33,271	49	,958
Asociación lineal por lineal	6,628	1	,010
N de casos válidos	8		

Por lo tanto: $\chi_c^2 = 0,229$

Se rechaza la Ho y se acepta la H1.

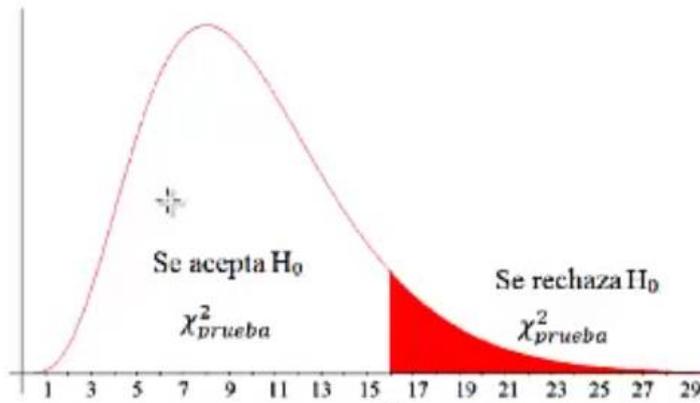


Ilustración 2. Distribución X^2 , prueba Chi cuadrado

6. Decisión

$$\text{Como } x_c^2 = 0,229 < x_t^2 = 32,67$$

Se rechaza la hipótesis nula (H_0) y se acepta la hipótesis de trabajo (H_1) por lo que se determina que **la fermentación de suero ácido de queso mozzarella** aumenta significativamente la obtención de **proteína unicelular.**

4.2 MUESTRA 2 / TRATAMIENTO 2

V1: Rendimiento de proteína obtenida antes de la fermentación de suero ácido de Queso Fresco

V2: Rendimiento de proteína obtenida después de la fermentación de suero ácido de Queso Fresco

4.2.1 COMPROBACIÓN HIPÓTESIS

1. Se define la hipótesis nula:

$$H_0 : \mu_1 = \mu_2$$

H_0 : EL NIVEL DE PROTEÍNA UNICELULAR OBTENIDO ES IGUAL DESPUÉS DE LA FERMENTACIÓN DEL SUERO ÁCIDO DE QUESO FRESCO

2. Luego se define la hipótesis alternativa

$$H_{\alpha} : \mu_1 \neq \mu_2$$

Hi: EL NIVEL DE PROTEÍNA UNICELULAR OBTENIDO ES MAYOR DESPUÉS DE LA FERMENTACIÓN DEL SUERO ÁCIDO DE QUESO FRESCO.

3. Nivel de significación y nivel de confianza

Una decisión adecuada al medir el nivel de significación es utilizar uno fijo de 0,05 que representa las áreas de riesgo (de rechazo de la hipótesis H_0) o de confianza (de aceptación de la Hipótesis de investigación H_i). Se llama nivel de confianza al valor $1 - \alpha$, es la zona de aceptación de la hipótesis nula. A mayor confiabilidad de los datos, menor será el valor de α y viceversa.

$$\alpha = 0,05$$

4. Técnica Estadística

En la Tabla 19 se observa dos repeticiones realizadas al segundo tratamiento (QF) con el equipo de ECOMILK el cual aborda resultados aproximados de grasa, sólidos, densidad, lactosa, residuos, punto crioscópico, agua y proteína del suero a analizar. Se realizó análisis a un suero A y un suero B existiendo variación al momento de agregar los minerales al suero.

Tabla 22. Queso fresco datos

A: Suero sin minerales
B: Suero con minerales

ANÁLISIS	QF1		QF2	
	A	B	A	B
(%) Grasa	0	0	0	0
(%) Sólidos	7.0	3.6	6.7	2.6
(kg/m3) Densidad	13.0	9.4	12.4	8.4
(%) Lactosa	3.9	2.2	3.7	2.0
(%) Residuos	0.6	0.3	0.5	0.3
(°C) Punto crioscópico	0.432	0.343	0.410	0.346
(%) Agua	12.8	20.2	16.9	18.6
(%) Proteína	2.5	10.4	2.4	10.4

Fuente: Paola Galán

5. Criterio

Rechace la H_0 si $x_c^2 \geq x_t^2 = 32,67$; caso contrario acepte la alternativa o resérvese el juicio.

Grados de libertad

$$V = (F-1) (C-1)$$

En donde:

F=Filas

C=Columnas

$$V = (8-1) (4-1)$$

$$V = (7). (3)$$

$$E=21$$

CÁLCULO PRUEBA CHI –CUADRADO

Tabla 23. Chi-cuadrado Queso fresco sin minerales

	Valor	df	Significación Asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	56,000 ^a	49	,229
Razón de verosimilitud	33,271	49	,958
Asociación lineal por lineal	6,677	1	,010
N de casos válidos	8		

Tabla 24. Chi-cuadrado queso fresco con minerales

	Valor	df	Significación Asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	56,000 ^a	49	,229
Razón de verosimilitud	33,271	49	,958
Asociación lineal por lineal	6,973	1	,008
N de casos válidos	8		

Por lo tanto: $\chi_c^2 = 0,229$

Se rechaza la Ho y se acepta la H1

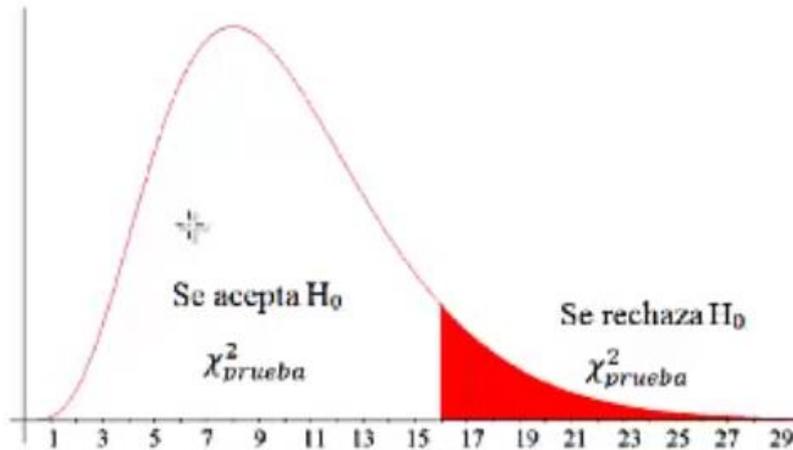


Ilustración 3. Distribución χ^2 , prueba Chi cuadrado

6. Decisión

$$\text{Como } x_c^2 = 0,229 < x_t^2 = 32,67$$

Se rechaza la hipótesis nula (H_0) y se acepta la hipótesis de trabajo (H_1), por lo que se determina que **la fermentación del suero ácido de queso fresco** aumenta significativamente la obtención de **proteína unicelular**.

4.3 MUESTRA 3 / TRATAMIENTO 3

V1: Rendimiento de proteína obtenida antes de la fermentación de suero ácido de Queso Requesón

V2: Rendimiento de proteína obtenida después de la fermentación de suero ácido de queso requesón

4.3.1 COMPROBACIÓN HIPÓTESIS

1. Se define la hipótesis nula:

$$H_0 : \mu_1 = \mu_2$$

H_0 : EL NIVEL DE PROTEÍNA UNICELULAR OBTENIDO ES IGUAL DESPUÉS DE LA FERMENTACIÓN DEL SUERO ÁCIDO DE REQUESÓN

2. Luego se define la hipótesis alternativa

$$H_a : \mu_1 \neq \mu_2$$

H_i : EL NIVEL DE PROTEÍNA UNICELULAR OBTENIDO ES MAYOR DESPUÉS DE LA FERMENTACIÓN DE SUERO ÁCIDO DE REQUESÓN

3. Nivel de significación y nivel de confianza

Una decisión adecuada al medir el nivel de significación es utilizar uno fijo de 0,05 que representa las áreas de riesgo (de rechazo de la hipótesis H_0) o de confianza (de aceptación de la Hipótesis de investigación H_i). Se llama nivel de confianza al valor $1 - \alpha$, es la zona de aceptación de la hipótesis nula. A mayor confiabilidad de los datos, menor será el valor de α y viceversa.

$$\alpha = 0,05$$

4. Técnica Estadística

En la Tabla 22 se observa dos repeticiones realizadas al tercer tratamiento (QR) con el equipo de ECOMILK el cual aborda resultados aproximados de grasa, sólidos, densidad, lactosa, residuos, punto crioscópico, agua y proteína del suero a analizar. Se realizó análisis a un suero A y un suero B existiendo variación al momento de agregar los minerales al suero.

Tabla 25.Requesón Datos

A: Suero sin minerales
B: Suero con minerales

ANÁLISIS	QR1		QR2	
	A	B	A	B
(%) Grasa	0	0	0	0
(%) Sólidos	6.8	6.4	6.7	5.8
(kg/m3) Densidad	12.5	10.9	12.3	10.4
(%) Lactosa	3.7	3.2	3.7	2.4
(%) Residuos	0.5	0.6	0.5	0.4
(°C) Punto crioscópico	0.412	0.346	0.404	0.315
(%) Agua	16.7	22.6	18.1	20.6
(%) Proteína	2.4	10.6	2.4	2.22

Fuente: Paola Galán

5. Criterio

Rechace la H_0 si $x_c^2 \geq x_t^2 = 32,67$; caso contrario acepte la alternativa o resérvese el juicio.

Grados de libertad

$$V = (F-1) (C-1)$$

En donde:

F=Filas

C=Columnas

$$V = (8-1) (4-1)$$

$$V = (7). (3)$$

$$E=21$$

Tabla 26. Chi-cuadrado Requesón sin minerales

	Valor	df	Significación Asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	56,000 ^a	49	,229
Razón de verosimilitud	33,271	49	,958
Asociación lineal por lineal	6,974	1	,008
N de casos válidos	8		

Tabla 27. Chi-cuadrado Requesón con minerales

	Valor	df	Significación Asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	56,000 ^a	49	,229
Razón de verosimilitud	33,271	49	,958
Asociación lineal por lineal	,245	1	,621
N de casos válidos	8		

Por lo tanto: $\chi_c^2 = 0,229$

Se rechaza la H_0 y se acepta la H_1

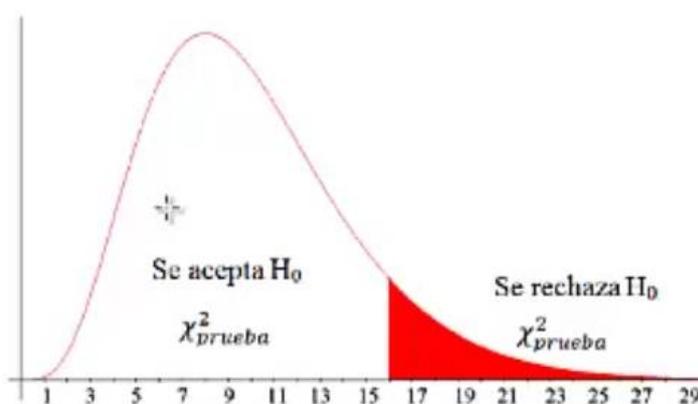


Ilustración 4. Distribución χ^2 , prueba Chi cuadrado

6. Decisión

$$\text{Como } x_c^2 = 0,229 < x_t^2 = 32,67$$

Se rechaza la hipótesis nula (H_0) y se acepta la hipótesis de trabajo (H_1), por lo que se determina que **la fermentación del suero ácido de queso requesón** aumenta significativamente la obtención de **proteína unicelular**.

5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.1.1 PROTEÍNA UNICELULAR EN SUERO DE QUESO MOZZARELLA

- Mediante la realización del método de Kjeldahl se demostró que la proteína unicelular obtenida en este suero presenta un intervalo promedio de 6.95%(N*6.38), este resultado difiere del resto de estudios realizados, comparando con los resultados obtenidos por (García, Sanchez, & Ramón, 2018) la proteína unicelular se encuentra con un 0.5% menor al rango establecido todo esto depende a que su temperatura no fue la óptima al momento de realizar la fermentación o existieron tiempos de inactividad que no permitieron que se logre un buen proceso de obtención .
- El contenido de cenizas tiene una variación diferente al de suero recién obtenido porque se realizó la adición de tres tipos de minerales sulfato de amonio ,sulfato monopotásico y magnesio en cantidades bajas, el análisis en este tipo de proteína abordó un resultado de 1.49% comparando con (García, Sanchez, & Ramón, 2018) este valor se encuentra probablemente bajo a diferencia del rango establecido que es 1.77%, el suero que es complementado con sales garantiza la nutrición de las levaduras, si se desea emplear como alimento humano cabe estudiar la posibilidad de reducir el contenido de ácidos nucleicos (Chacón, 2004). (García, Sanchez, & Ramón, 2018).Los procedimientos que se realizan para la obtención de proteína unicelular agregan minerales para nutrir nuevamente al suero. (Taron, Perez, & Martinez, 2012)
- Se rechaza la hipótesis nula (h_0) y se acepta la hipótesis de trabajo (H_1) por lo que se determina que la fermentación de suero ácido de Queso Mozzarella aumenta significativamente la obtención de proteína unicelular.

5.1.2 PROTEÍNA UNICELULAR EN SUERO DE REQUESÓN

- Al realizar el análisis por el método de Kjeldahl en el suero de requesón se obtuvo un resultado promedio de 6.41%(N*6.38), el cual no indica mucha variación de los diferentes tipos de tratamientos ya que según (García, Sanchez, & Ramón, 2018) comparando la proteína unicelular en dicho estudio no posee un valor tan bajo en cuanto a este tipo de suero y se encuentra un mínimo de diferencia, todo depende a su temperatura que no fue la óptima (Mora & Bravo, 2014) la agitación no influyó en el proceso de obtención .
- De los análisis de cenizas realizados en este tipo de proteína, se abordó un promedio de 1.71 respectivamente siendo este suero de requesón el que mayor número de cenizas posee encontrándose en un rango cerca del rango de estudio de (García, Sanchez, & Ramón, 2018) con una diferencia muy baja.
- Se rechaza la hipótesis nula (ho) y se acepta la hipótesis de trabajo (H1) por lo que se determina que la fermentación de suero ácido de queso requesón aumenta significativamente la obtención de proteína unicelular.

5.1.3 PROTEÍNA UNICELULAR EN SUERO DE QUESO FRESCO

- Al realizar los respectivos análisis por el método de Kjeldahl y obtener los resultados se observa que en este tipo de suero se consigue el mayor porcentaje de proteína unicelular con un promedio de 10.4%(N*6.38) encontrándose dentro del rango según el estudio de (García, Sanchez, & Ramón, 2018) 7-12 ,el cual habla sobre una buena adición de ácido cítrico para ajustar el pH, ayuda a obtener resultados satisfactorios en la coagulación de las proteínas solubles combinando con un buen proceso térmico, es decir a mayor temperatura incide una mejor textura del producto. En este tipo de suero se colocó una cantidad considerable de ácido cítrico para poder establecer su pH y hacerlo ácido para que se pueda desarrollar de una mejor manera la obtención de la proteína.
- La cantidad de cenizas obtenidas en la proteína de este tipo de suero fue la más baja con un promedio de 1.38%, a diferencia del estudio de (García, Sanchez, & Ramón, 2018) 1.77%, los minerales añadidos fueron los mismos en los diferentes tipos de tratamiento.

- Se rechaza la hipótesis nula (H_0) y se acepta la hipótesis de trabajo (H_1) por lo que se determina que la fermentación de suero ácido de queso fresco aumenta significativamente la obtención de proteína unicelular.

6. CONCLUSIONES

- Se realizó un procedimiento mediante tres tipos de tratamientos (queso mozzarella, requesón y queso fresco) en donde se integró sales minerales llegando a que el suero se nutra y en conjunto con las levaduras *Kluyveromyces marxianus* logró una excelente fermentación obteniendo así proteína unicelular.
- Realizar productos con suero de leche ayuda a disminuir la carga contaminante de los efluentes y también ayuda al sector lácteo de pequeñas y medianas industrias, debido a que diariamente desechan este líquido y al dar un valor agregado permitiría una gran fuente de ingresos.
- La proteína unicelular obtenida de microorganismos como bacterias, levaduras, algas y hongos tienen gran potencial de ser utilizados para la producción animal.
- La realización de los análisis fisicoquímicos del suero ayudó a verificar que es apto para la obtención de proteína porque se encuentran dentro de los rangos establecidos.
- El tratamiento con mayor cantidad de proteína unicelular en términos de porcentaje fue el suero de queso fresco, considerándose un excelente medio para generar biomasa con posible aplicación en productos alimenticios animales.

7. RECOMENDACIONES

- El uso de suero de leche para la producción de proteína unicelular ayudaría a minimizar la contaminación ambiental dado a que posee elevados valores de

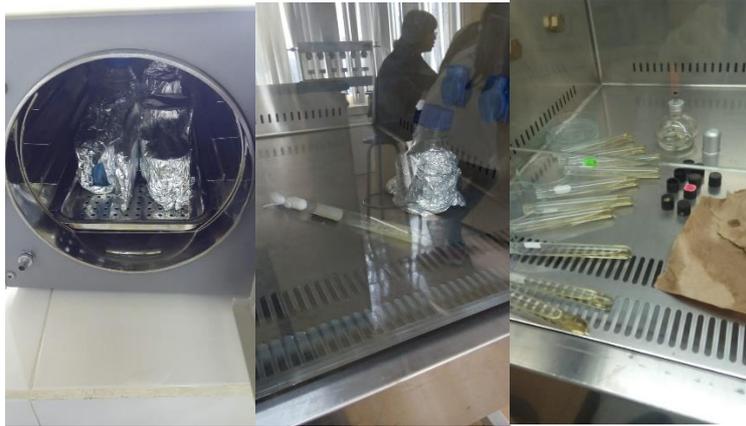
DQO y DBO, al verlo como un subproducto del queso permite la generación de nuevos productos ya que contiene una fuente rica en vitaminas, minerales y proteínas consiguiendo alimentos de carácter funcional.

- Utilizar un mecanismo de homogenización que sea eficiente para evitar zonas anaeróbicas que se puedan estar dando dentro del fermentador.
- Si es que el uso es destinado para el ser humano, se recomienda no añadir muchos minerales en la producción de proteína dado que al añadirlos se ven modificados los ácidos nucleicos y se genera alimentos solo para animales.
- Realizar la trazabilidad del suero de quesería para contrastar de mejor manera los resultados obtenidos.
- En el laboratorio de análisis de la Escuela de Ingeniería Agroindustrial es necesario que se brinde un mantenimiento previo de todos los equipos, dado que al querer usarlos a veces no se cuenta con el imprescindible.

8. ANEXOS

Siembra de la cepa (Levaduras)





Obtención de Proteína unicelular





Acidez en los Tres tipos de tratamientos (Queso mozzarella, requesón, queso fresco)



Tabla para la comprobación de la Hipótesis

DISTRIBUCION DE χ^2

Grados de libertad	Probabilidad											
	0,95	0,90	0,80	0,70	0,50	0,30	0,20	0,10	0,05	0,01	0,001	
1	0,004	0,02	0,06	0,15	0,46	1,07	1,64	2,71	3,84	6,64	10,83	
2	0,10	0,21	0,45	0,71	1,39	2,41	3,22	4,60	5,99	9,21	13,82	
3	0,35	0,58	1,01	1,42	2,37	3,66	4,64	6,25	7,82	11,34	16,27	
4	0,71	1,06	1,65	2,20	3,36	4,88	5,99	7,78	9,49	13,28	18,47	
5	1,14	1,61	2,34	3,00	4,35	6,06	7,29	9,24	11,07	15,09	20,52	
6	1,63	2,20	3,07	3,83	5,35	7,23	8,56	10,64	12,59	16,81	22,46	
7	2,17	2,83	3,82	4,67	6,35	8,38	9,80	12,02	14,07	18,48	24,32	
8	2,73	3,49	4,59	5,53	7,34	9,52	11,03	13,36	15,51	20,09	26,12	
9	3,32	4,17	5,38	6,39	8,34	10,66	12,24	14,68	16,92	21,67	27,88	
10	3,94	4,86	6,18	7,27	9,34	11,78	13,44	15,99	18,31	23,21	29,59	
	No significativo								Significativo			

Referencias bibliográficas

- Ancasi. (2007). *Unsa*. Obtenido de <http://www.unsa.edu.ar/biblio/repositorio/malim2007/4%20levaduras.pdf>
- Brito, A., Santillan, A., Arteaga, M., Ramos, E., Villalón, P., & Rincón, A. (2015). Aprovechamiento del suero de elche como bebida energizante para minimizar el impacto ambiental. *Researchgate*, 3.
- Brito, H., Santillan, A., Arteaga, M., Ramos, E., Villalón, P., & Rincon, A. (2015). Aprovechamiento del suero de leche como bebida energizante para minimizar el impacto ambiental. *Researchgate*, 3-6.
- Camacho, A. . (2009). *Unam Mexico*. Obtenido de http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/TecnicBasicas-Cuenta-mohos-levaduras_6530.pdf
- Carbajal Azcona, Á. (24 de 07 de 2013). *Manual de Nutricion y Dietetica*. Obtenido de <https://www.ucm.es/data/cont/docs/458-2013-07-24-cap-5-proteinas.pdf>
- Chacon, A. (2004). Perspectivas actuales de la proteína unicelular (SCP). *Redalyc*, 3-4.
- Chacón, A. (2004). Perspectivas actuales de la proteína unicelular SCP en la agricultura y la industria. *Redalyc*, 8-12.
- Chacon, Alejandro. (2004). Perspectivas actuales de la proteína unicelular scp en la agricultura y la industria. *Agronomia mesoamericana*, 2.
- Chacon, L., Chavez, A., Renteria, A., & Rodriguez, C. (2017). Proteínas del lactosuero usos relacion con la salud y bioactividades. *Interciencia*, 1-3.
- Comercio, E. (26 de 11 de 2018). Industria usa el 10% del suero de la leche que se produce en el país. págs. 1-2.
- Crueger, W., & Crueger, A. (1989). *Bioteología: Manual de Microbiología Industrial*. . Zaragoza, España: Acribia.
- Faría, J., García, A., & de Hernandez, A. (2002). Efecto de la tecnología quesera sobre la composición del suero lacteo . *Redalyc*, 4-6.
- García, V., Sanchez, R., & Ramón, T. (2018). Suero de leche la ciencia detras de su rescate. En V. García, R. Sanchez, & T. Ramón, *Suero de leche la ciencia detras de su rescate* (págs. 15-48). Guayaquil: Grupo Compás.

- INEN, N. (04 de 01 de 2013). Obtenido de Leche determinación de proteínas: <https://archive.org/details/ec.nte.0016.1984/mode/2up>
- INEN, NTE. (04 de 01 de 2013). Obtenido de Determinación de sólidos totales y cenizas: <https://archive.org/details/ec.nte.0014.1984>
- Loaiza, M. (2011). *Dspace Udla*. Obtenido de <http://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/752/1/UDLA-EC-TIAG-2011-07.pdf>
- Luque, M. (2010). *Estructura y propiedades de las proteínas*. Obtenido de https://www.uv.es/tunon/pdf_doc/proteinas_09.pdf
- Mejía, J., Montoya, R., Cortés, C., & Saavedra, A. (2016). Levaduras Termotolerantes aplicaciones industriales , estres oxidativo , y respuesta antioxidante. *Scielo*, 3-4.
- Mora, R., & Bravo, C. (9 de 10 de 2014). *Repositorio*. Obtenido de <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/4491/2/03%20EIA%20368%20ARTICULO%20PERIODISTICO.pdf>
- Moreno, Á., Tello, M., & Cervantes, L. (2018). La reutilización del lacto suero: Una forma de disminuir los impactos ambientales y obtener energía alternativa. *Research Gate*, 2.
- Neogen. (s.f.). *Neogen*. Obtenido de <https://www.neogen.com/es/solutions/microbiology/acumedia-ym-agar/>
- Neogen, F. s. (2019). *Food safety neogen*. Obtenido de <https://foodsafety.neogen.com/sp/agar-bacteriological>
- NTE, I. (05 de 01 de 2013). Obtenido de <https://archive.org/details/ec.nte.2594.2011/page/n7/mode/2up>
- NTE, I. (2013). Determinación de acidez titulable. En I. NTE. Quito .
- Pais, J., Nuñez, J., Lara, M., Rivera, L., Trujillo, L., & Cuaran, M. (2017). Valorización del suero de leche: Una visión desde la biotecnología. *Revista Bionatura*.
- Parra Huertas, R. (2009). Importancia en la Industria de Alimentos . *Scielo*, 1-6.
- Poveda, E. (2013). Suero lácteo, generalidades y potencial uso como fuente de calcio de alta biodisponibilidad. *Scielo*, 6.
- Ramirez Navas, J. (2011). Empleo de lactosuero y sus componentes en la elaboración de postres y productos de confitería. *ResearchGate*, 1-5.
- Ramirez, J., & Posada, D. (2011). Empleo de lactosuero y sus componentes en la elaboracion de postres y productos de confiteria. *Researchgate*, 3.
- Saldaña, J., & Zapata, E. (2017). Obtención de proteína unicelular SCP a partir de ácido acético por *Saccharomyces exiguus*. *Revista de investigación y desarrollo Ecorfan España*, 2.
- Taron, A., Perez, J., & Martinez, J. (2012). Obtención de proteína unicelular a partir de lactosuero . *Redalyc*, 2-4.
- Unam. (20 de 06 de 2010). *Departamento de la facultad de química UNAM*. Obtenido de [http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/PROTEINAS\(CLASIFICACION\)_20610.pdf](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/PROTEINAS(CLASIFICACION)_20610.pdf)
- Unsa. (2007). *Unsa*. Obtenido de <http://www.unsa.edu.ar/biblio/repositorio/malim2007/4%20levaduras.pdf>
- Valencia, E., & Ramirez, M. L. (2009). La industria de la leche y la contaminacion del agua. *Elementos*, 5.
- Vázquez, M. (s.f.). Eliminación de ácidos nucleicos. En M. Vázquez, *Avances en seguridad alimentaria* (págs. 106-107). España : Altaga .
- Zambrano, D., & Lopez, E. (2018). La industria de lácteos de Riobamba – Ecuador: dinámicas en la economía local. *ResearchGate*, 1-2.

