



**ELABORACIÓN DE BEBIDAS PROBIÓTICAS A PARTIR DE LACTOSUERO
FERMENTADO**

ANDRÉS MAURICIO SALGADO LÓPEZ

**UNIVERSIDAD DEL VALLE
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS
SANTIAGO DE CALI
2018**

ELABORACIÓN DE BEBIDAS PROBIÓTICAS A PARTIR DE LACTOSUERO FERMENTADO

ANDRÉS MAURICIO SALGADO LÓPEZ

**Trabajo de grado, modalidad Revisión Crítica, requisito parcial para optar por el
Título de Ingeniero de Alimentos**

Director:

JUAN SEBASTIÁN RAMÍREZ-NAVAS, IQ, PhD.

Codirector

CRISTINA RAMÍREZ TORO, B, PhD.



**UNIVERSIDAD DEL VALLE
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS
SANTIAGO DE CALI
2018**

DEDICATORIA

*A mamá por ser mi dadora de vida, eterna amiga, voz de la consciencia y motor de cambio.
A papá por ser mi dador de vida, guía innovadora, crítico perspicaz y compañía certera y confiable.*

A hermano por ser compañero de vida, abogado del diablo en mis proyectos y camarada idealista.

A Vinka por ser mi musa, polo a Tierra y Luna en el firmamento, real y metafísica.

*Soy gracias a ustedes cuatro, y reencarnaría todas mis vidas
eligiéndolos de nuevo si pudiera.*

Y a la vida en la Tierra, en especial a los humanos y sus siguientes generaciones: ojalá protejamos y usemos sosteniblemente a tiempo, la riqueza biológica increíblemente preciosa y escasa a escala cósmica de la que somos testigos, y que inconscientemente damos por ilimitada. Este mundo no nos pertenece y sólo pasamos por él: hay que dejarlo mejor que como lo recibimos.

Andrés

AGRADECIMIENTOS

A mis papás y mi hermano por su paciencia, apoyo invaluable e incondicional en este proyecto y en mi carrera en general, cuyos pocos méritos también son de ustedes. Al director de trabajo de grado por su don de servicio, experta guía y recursos. A la codirectora por su revisión oportuna y acompañamiento.

Al director del programa de ingeniería de alimentos, Ph. D. Alfredo Ayala, y Ph. D. Juan Carlos Gómez, por su ayuda oportuna y eficaz. Al Comité Evaluador del Trabajo de Grado, al igual que a los profesores de mi carrera, personal administrativo de la Escuela. En especial a Ph. D. Harold Acosta y M. Sc. Rigo Alberto Magón, todos los cuales directa o indirectamente contribuyeron a mi formación. Y tantos otros amigos, familiares y allegados por su interés y apoyo en mi progreso académico y profesional.

A la ingeniera Mónica Domínguez, por su acompañamiento y valiosos aportes en la culminación de este documento.

“El motivo más importante para estudiar en el colegio, la universidad y la vida es el placer de trabajar y, por lo tanto, obtener los resultados que le sirvan a la comunidad”.

Albert Einstein

TABLA DE CONTENIDO

Lista de Ecuaciones	4
Lista de Tablas	5
Lista de Figuras	5
Resumen	6
Abstract	6
1 Introducción	7
2 Objetivos.....	8
2.1 General.....	8
2.2 Específicos	8
3 Vigilancia tecnológica.....	9
4 Lactosuero	11
4.1 Definición	11
4.2 Tipos de lactosuero	12
5 Fermentación	13
5.1 Generalidades de la fermentación	14
5.2 Tipos de fermentación	15
5.3 Fermentación de ls	18
6 Procesos de elaboración de bebidas funcionales.....	22
6.1 Descripción de procesos generales	22
6.2 Variables de proceso.....	34
6.3 Formulaciones.....	38
6.4 Parámetros de control	39
6.5 Modificación de las bebidas funcionales de ls por variables de proceso	39
7 Evaluación crítica	40
8 Conclusiones.....	41
9 Recomendaciones.....	41
10 Referencias Bibliográficas	43
11 Anexos.....	54
11.1 Anexo 1: Normatividad	54

LISTA DE ECUACIONES

Ecuación 1. Acidez titulable como ácido láctico	34
Ecuación 2. Concentración de O ₂ en solución de nutrientes	35

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Nutrientes en el lactosuero dulce y ácido.....	12
Tabla 2. Rendimiento de etanol a partir de LS por diferentes técnicas	19
Tabla 3. Propiedades funcionales de carbohidratos del LS	20
Tabla 4. Propiedades funcionales de lípidos del LS.....	21
Tabla 5. Propiedades funcionales de proteínas del LS	22
Tabla 6. Algunos efectos de la composición de LS inicial de macronutrientes en procesos y productos.....	24
Tabla 7. Microorganismos utilizados en bebidas lácteas fermentadas.....	27
Tabla 8. Pruebas para la selección de bacterias ácido-lácticas para cultivos iniciadores.....	27
Tabla 9. Microorganismos con beneficios funcionales generalmente utilizados en bebidas lácteas	28
Tabla 10. Ingredientes permitidos para leches fermentadas.....	30
Tabla 11. Combinaciones de probióticos en algunos productos comerciales para investigar en la incorporación en bebidas de LS fermentado	36
Tabla 12. Algunas formulaciones de LS fermentado	38
Tabla 13. Normatividad relacionada	54
Tabla 14. Sellos de calidad y certificaciones referentes.....	56

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Documentos publicados por año	9
Figura 2. Revistas que han publicado acerca de bebidas de lactosuero fermentado	9
Figura 3. Número de publicaciones por autor	10
Figura 4. Países que más han publicado acerca de bebidas de lactosuero fermentado	10
Figura 5. Tipo de documentos publicados	11
Figura 6. Vías de la fermentación para una bacteria ácido láctica	14
Figura 7. Esquema de la cinética general para la fermentación	15
Figura 8. Esquema de la fermentación por lote.....	16
Figura 9. Esquema de la fermentación continua	17
Figura 10. Esquema general de la fermentación de la lactosa del lactosuero	18
Figura 11. Diagrama de bloques general para proceso 1	23
Figura 12. Rango de aplicación de los fenómenos de separación a través de membranas.....	25
Figura 13. Esquema de un fermentador	29
Figura 14. Mecanismo de acción de un estabilizante	31
Figura 15. Diagrama de bloques general para proceso 2	33
Figura 16. Diagrama de bloques general para proceso 3	33

RESUMEN

El lactosuero es un coproducto de la industria láctea con múltiples usos industriales potenciales. Uno de ellos consiste en la elaboración de bebidas lácteas fermentadas funcionales, que aumentan su valor agregado. Además, aportan beneficios para la salud para una población que busca mejorarla a través de la alimentación. Existen múltiples procesos de elaboración y formulaciones que permiten aprovechar los beneficios funcionales y prebióticos que ofrece el lactosuero. Las cepas probióticas utilizadas en la fermentación, adicionalmente aportan beneficios funcionales. En este trabajo se presentó una revisión bibliográfica de diversos estudios sobre elaboración y formulaciones de estas bebidas. También se presentó un conjunto inicial de ingredientes, marco normativo técnico y acreditaciones que puede cumplir un fabricante para estos productos. Dicha revisión permitió comprobar que existe un potencial investigativo, industrial y comercial amplio y aún sin explotar plenamente.

Palabras clave: Lactosuero, bebida funcional, fermentación, probiótico.

ABSTRACT

Whey is a coproduct of dairy industries with many multi-purpose potential applications. One of them consist in manufacturing of functional fermented dairy beverages, which increase its value added. Besides, these beverages bring benefits for health in a population seeks to improve it through feeding. Multiple manufacturing process and formulations exist that allow to take advantage of functional and prebiotic benefits that whey offers. Probiotic strains used in fermentation, additionally provide functional benefits. This paper presented a bibliographic review about various studies about manufacturing and formulations of this beverages. Also, it presented an initial group of ingredients, technical regulatory framework and accreditations that a manufacturer can comply for these products. This review allowed to prove that exist an investigative, industrial and commercial comprehensive potential and yet not fully exploited.

Keywords: Whey, functional beverage, fermentation, probiotic.

1 INTRODUCCIÓN

Existe una relación directa entre alimentación y salud a lo largo del ciclo de vida humano (FAO y OMS, 2003). En Colombia, para 2015 las mayores causas de muerte consistieron en enfermedades isquémicas del corazón (16,3 %) y enfermedades cerebrovasculares (7,0 %) (DANE, 2017a). Además, uno de cada dos colombianos presentó exceso de peso para el año 2010 (ICBF, 2010). Estas enfermedades guardan relación directa con el exceso de peso y la ingesta desmedida de azúcares y grasas (FAO y OMS, 2003). Así, éticamente la industria debe ofrecer más productos que estén acordes a esta situación de Salud Pública. A su vez, la academia debe realizar más investigaciones pragmáticas que sigan impactando la sociedad de manera positiva.

El lactosuero (LS) es un coproducto de la fabricación quesera, produciéndose de 8 a 9 l/kg queso (Oliveira *et al.*, 2016). En Colombia, el consumo *per cápita* de quesos es de 1,3 kg/año (FEDEGAN, 2015), lo cual implica un potencial de 659 Ml de LS con posibilidades para el uso industrial (DANE, 2017b). Sin embargo, el consumo de queso es incipiente al compararlo con 26,3 kg *per cápita* de Francia (FEDEGAN, 2015). La producción de derivados del LS generará mayor rentabilidad para la industria láctea, cuyo mercado es creciente (La Opinión, 2017). Además del valor agregado, se generan beneficios como la protección del ambiente y la generación de empleos (Motta-Correa y Mosquera, 2015).

Gracias a su contenido de lactosa, el LS es utilizado como un sustrato para la fermentación bacteriana (Cury-Regino *et al.*, 2014). A partir de este proceso, se elaboran bebidas que poseen propiedades sensoriales, nutricionales y funcionales deseables (Jeličić, Božanić y Tratnik, 2008). Se ha investigado el desarrollo de productos, obtención de etanol, bebidas funcionales y alcohólicas con diferentes microorganismos (Motta *et al.*, 2015; Oliveira *et al.*, 2016). Se han otorgado alrededor de 7800 patentes (Google Patents, 2016), y se reportan permanentemente resultados de investigación sobre esta temática (Science Direct, 2016).

Este trabajo consistió en una investigación bibliográfica sobre los tipos de bebidas funcionales del LS fermentado. Además, se recopiló información sobre las principales tecnologías utilizadas y las variables de proceso involucradas en su producción. Así, se redactó un documento para mostrar las opciones, medios y condiciones de desarrollo de productos afines actuales. Todo con el fin de aumentar el uso intensivo de LS en productos funcionales en Colombia.

2 OBJETIVOS

2.1 GENERAL

Compilar y analizar bibliografía actualizada sobre bebidas de suero lácteo fermentado, tecnologías y efectos de variables del proceso.

2.2 ESPECÍFICOS

- Recopilar y comparar información sobre tipos de bebidas de suero lácteo fermentado y sus procesos de elaboración.
- Analizar información sobre los microorganismos probióticos involucrados en la elaboración de bebidas lácteas a partir de LS fermentado.
- Evaluar de manera crítica la información recolectada.

3 VIGILANCIA TECNOLÓGICA

Con el fin de comprender la importancia del tema en estudio, se realizó una revisión de las publicaciones registradas en SCOPUS (Scopus, 2017). En la Figura 1 se observa el número de documentos publicados en las mejores revistas a nivel internacional en los últimos 10 años. En la Figura 2 se presentan las revistas que más han publicado sobre esta temática; siendo *Journal of Dairy Science*, *Lwt Food Science and Technology* y *Mljekarstvo* las que ocupan los tres primeros lugares. En la base de datos, se registran 180 artículos en 60 revistas restantes.

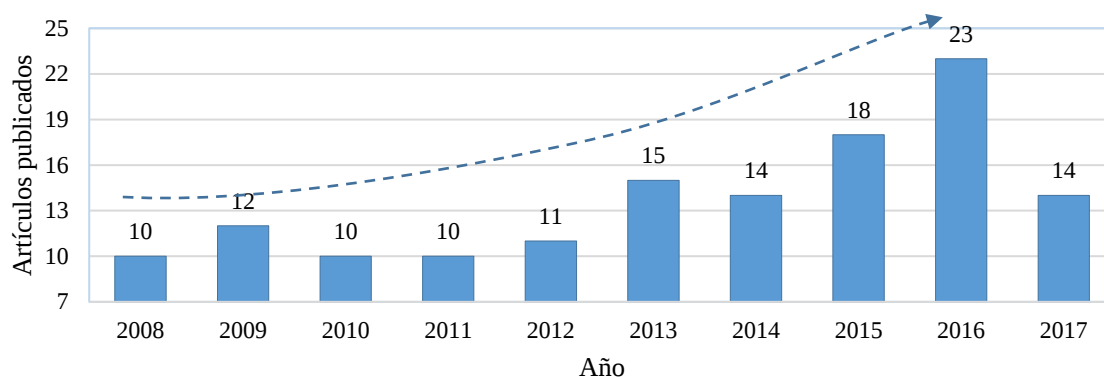


Figura 1. Documentos publicados por año

Fuente: Scopus, (2017)

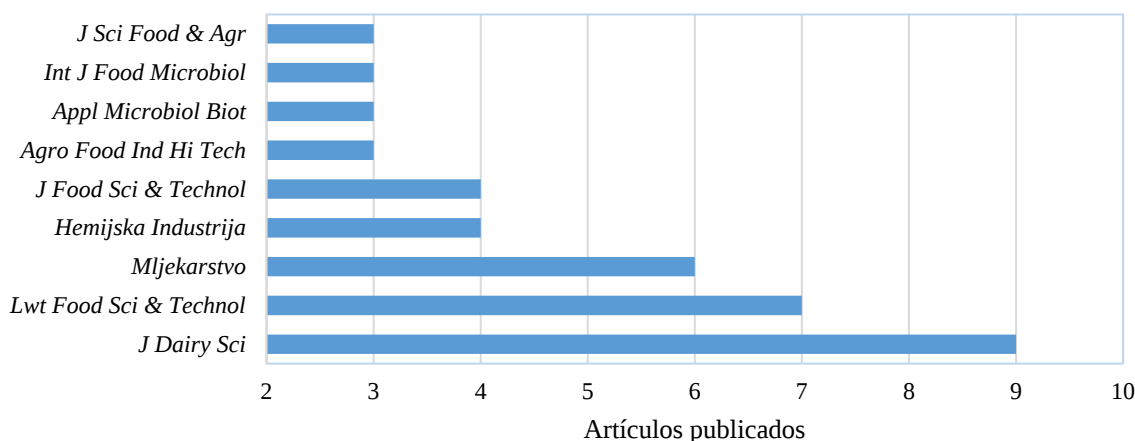


Figura 2. Revistas que han publicado acerca de bebidas de lactosuero fermentado

Fuente: Scopus, (2017)

En la Figura 3 se listan los autores que más publican sobre esta temática. Las profesoras Marica B Rakin y Maja Vukasinovic de la Universidad de Belgrado son quienes ocupan el

primero y segundo lugar, respectivamente; compartiendo el segundo lugar se encuentra la doctora Fernanda Mozzi del Centro de Referencia para Lactobacilos (CERELA)-CONICET de Argentina. En la base de datos se registran más de 130 autores con menos de cinco artículos publicados.

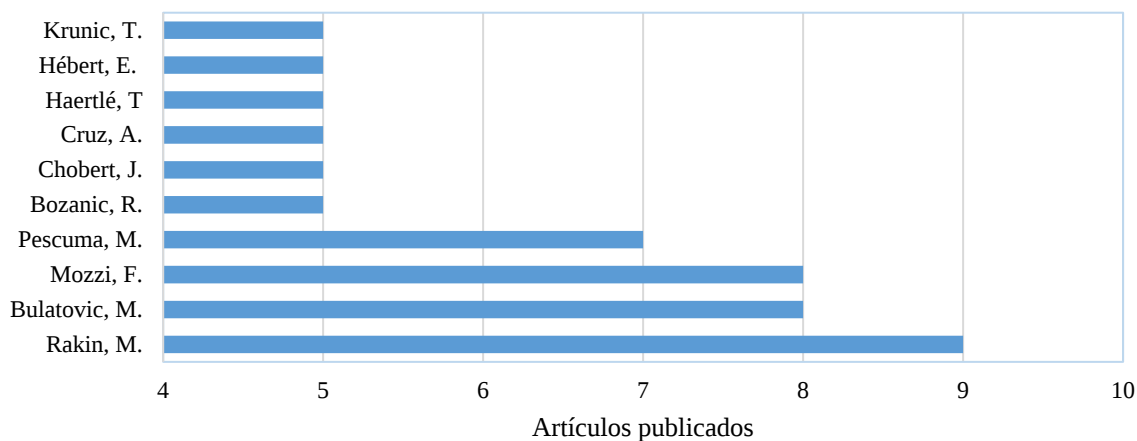


Figura 3. Número de publicaciones por autor

Fuente: Scopus, (2017)

En la Figura 4 se presentan los países de origen de las publicaciones. Se observa que los países líderes en investigación en el tema son Brasil y Argentina. Se reportan en Scopus 34 países con menos de 5 publicaciones.

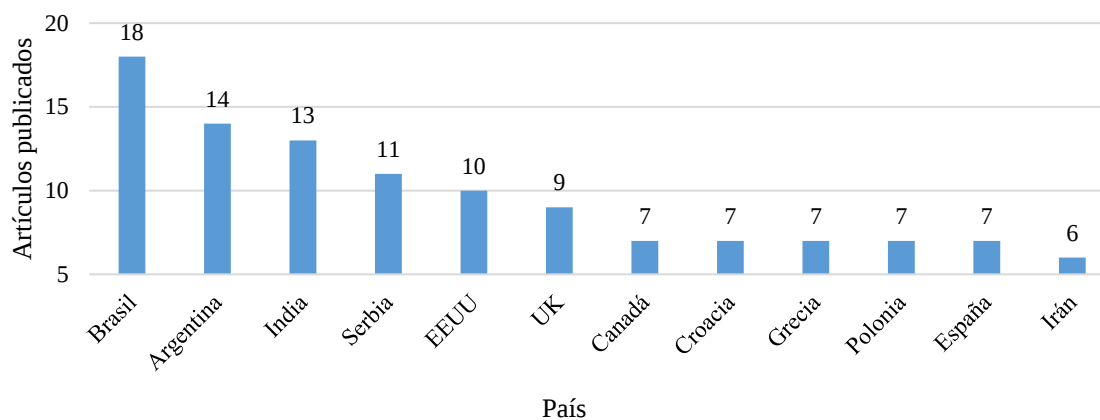


Figura 4. Países que más han publicado acerca de bebidas de lactosuero fermentado

Fuente: Scopus, (2017)

En la Figura 5 se observa que la mayoría de publicaciones han sido artículos, tan solo el 7,9% han sido revisiones científicas. Por lo cual, esta investigación tiene gran importancia a nivel científico y será un aporte importante para la ciencia.

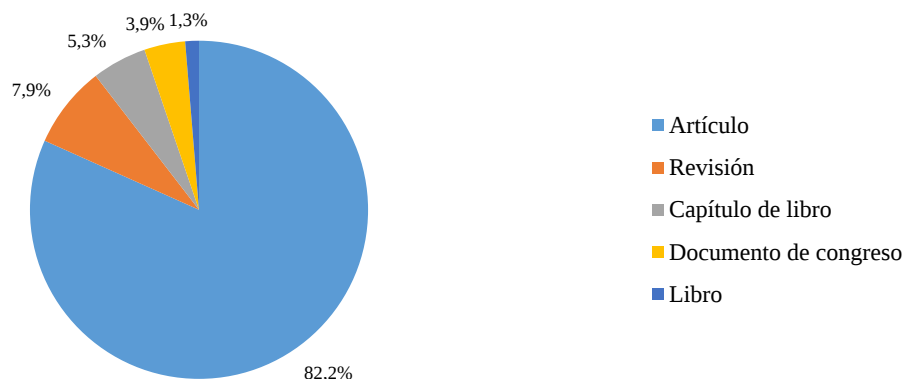


Figura 5. Tipo de documentos publicados

Fuente: Scopus, (2017)

4 LACTOSUERO

4.1 DEFINICIÓN

El LS es la fase líquida resultante de la precipitación de caseína y separación de grasa de la leche por sinéresis. Así como en la fabricación del queso, nata, leche desnatada, mantequilla, extracción de caseína y procesos afines (Ramírez-Navas, 2015). El LS es una emulsión de lípidos dispersos en una solución acuosa de polisacáridos, proteínas, vitaminas y minerales (Berlitz, Grosch y Schieberle, 2009). Contiene aproximadamente 50% de nutrientes de la leche, de alto valor biológico. Este porcentaje varía debido a la calidad de la leche coagulada, tipo de queso y sistema de coagulación. Está compuesto por 94% p/v de agua, 4,5-5% de lactosa, 0,6-0,8 % p/v de proteínas, 0,4-0,5% de grasas y 8-10% de extracto seco en sales minerales (Jeličić *et al.*, 2008). Sus proteínas tienen una mayor concentración de aminoácidos de cadena ramificada y de aminoácidos esenciales. Por esto, son consideradas de alto valor biológico (Galdámez-Gutiérrez *et al.*, 2009).

Sensorialmente, el LS puede presentar un color amarillo intenso, principalmente si se usan colorantes en la elaboración del queso, como el cheddar (Wadhwani y McMahon, 2012). Un color amarillo verdoso claro corresponde a la falta de colorantes, y es el resultado de su albúmina, β -carotenos, calcio, entre otros (Poveda, 2013). El LS de cabra y búfala es más

pálido debido a la ausencia de β -carotenos en la materia prima (Brandao, De Carvalho y Bell, 2016; Patiño, 2011). El LS posee turbiedad apreciable gracias a su contenido de lactosa, proteínas y otros sólidos en suspensión (Hernández *et al.*, 2012). Sin procesar, su *flavor* es fresco aromático dulce, con un sabor marcadamente ácido, con notas dulces y amargas (Mattos, 2015). Al almacenarse decrece el *flavor* aromático dulce, y se incrementa el *flavor* a cartón y oxidación lipídica (Park, Parker y Drake, 2016).

Reológicamente, la viscosidad aparente es directamente proporcional a la concentración de solutos y proteínas. Presenta cambios de comportamiento newtoniano a pseudoplástico, con dependencia del tiempo (Tang, 1993). La solubilidad de sus proteínas está influida por el pH, la temperatura y la concentración. En general son menos solubles al aumentar la temperatura, con pH de 4,5-5,2 incrementándose en pH alcalinos. Por lo tanto, para obtener mayor solubilidad y menor turbiedad, suele usarse pH ácido y alta temperatura, pero se produce astringencia. Por ello, para reducir la turbiedad a un pH neutro se puede aplicar ultrasonido, que no afecta negativamente sus propiedades sensoriales (Martini, Potter y Walsh, 2010).

El LS es considerado una de las mayores fuentes de contaminación de la industria láctea cuando es desechado. Al ser vertido en el suelo modifica su estructura química, afectando el rendimiento de los cultivos. Si es desechado en cuerpos de agua, reduce la vida acuática por el agotamiento del oxígeno disuelto. Su demanda bioquímica de oxígeno puede llegar a 50 000 mg/L, por ello se investiga activamente su utilización como co-producto (Panesar *et al.*, 2007).

4.2 TIPOS DE LACTOSUERO

En la Tabla 1 se presenta una comparación de nutrientes entre LS dulce y ácido.

Tabla 1. Nutrientes en el lactosuero dulce y ácido

Componente	LS dulce (g/L)	LS ácido (g/L)
Sólidos totales	63.0–70.0	63.0–70.0
Lactosa	46.0-52.0	44.0-46.0
Proteína	6.0-10.0	6.0-8.0
Grasa	5.0	4.0
Ácido láctico	2.0	6.4
Cenizas	5.0	8.0
Calcio	0.4-0.6	1.2-1.6
Fósforo	1.0-3.0	2.0-4.5
Cloro	1.1	1.1

Fuente: Singh *et al.* (2015).

El LS puede clasificarse de acuerdo a su pH en dulce, de mediana acidez y ácido. El LS ácido se obtiene por coagulación láctica o mixta, con adición o no de ácidos orgánicos o minerales (Mattos, 2015). El LS dulce se obtiene debido a una hidrólisis específica de la k-caseína, resultante de la coagulación enzimática. Tiene un valor de pH próximo al de la leche inicial y no varía su composición mineral. El LS ácido presenta un pH cercano a 4,5 por su contenido de ácido láctico, y 80% de los minerales iniciales (Ramírez-Navas, 2015).

5 FERMENTACIÓN

Las civilizaciones antiguas descubrieron una forma económica de preservar alimentos a través de la fermentación. La fermentación de leche, cereales y otros sustratos para producir bebidas funcionales tiene orígenes ancestrales. Se ha encontrado evidencia arqueológica de producción de cuajada en el norte de Europa, hace 8000 años (Salque *et al.*, 2013). También, se ha encontrado por análisis proteómico, leche fermentada por nódulos de kéfir de 3500 años en Asia (Yang *et al.*, 2014).

Actualmente, gracias a las técnicas biotecnológicas contemporáneas, se han investigado estas bebidas ancestrales y se ha verificado sus propiedades funcionales. Con base en esas investigaciones se desarrollan nuevas generaciones de bebidas fermentadas funcionales (Marsh *et al.*, 2014).

En Colombia, se han realizado varios trabajos sobre la temática, por ejemplo: se ha producido una bebida a partir del LS obtenido de la elaboración de mantequilla (Charris-Oeding y Rois-Romero, 2001). También, a partir del LS dulce, saborizándolo con maracuyá (*Passiflora edulis*) y enriqueciéndolo con vitamina A y D (Sepúlveda-Valencia, Flórez-Flórez y Peña-Álvarez, 2002). En otro trabajo se utilizó LS proveniente de la elaboración de queso costeño, en una bebida deslactosada, saborizada con maracuyá y enriquecida con L-glutamina (Martínez-Rodríguez, 2012). Se ha desarrollado yogur con LS dulce (Marulanda-Olier, 2012), y una bebida láctea con curuba (*Passiflora mollissima* Bailey) (Sánchez, Sepúlveda y Rojano, 2013). Se ha utilizado LS para la elaboración de ácido cítrico a partir de cepas de *Aspergillus niger* (López-Ríos *et al.*, 2006). Se han optimizado las condiciones de producción de ácido láctico con LS de leche caprina (Plata, Ramírez, y Riaño, 2012). Se han identificado molecularmente bacterias productoras de polihidroxialcanoatos en co-productos de lácteos y caña de azúcar (Cardona-Echavarría, Mora-Martínez y Marín-Montoya, 2012). Otros estudios involucraron LS vacuno (García, Arrázola, Villalba, 2013), y la fermentación de LS ácido vacuno desproteínizado (Cury-Regino *et al.* 2014).

En cuanto a revisiones bibliográficas, las temáticas tratadas sobre LS son: el papel funcional de las bacterias ácido-lácticas, describiendo el proceso de fermentación en lácteos, las cepas involucradas y el avance actual sobre el proceso (Parra-Huertas, 2010). El aprovechamiento del LS como sustrato para minimizar la contaminación (Araújo-Guerra, Monsalve-Castro y Quintero-Tovar, 2013). El empleo del LS como materia prima en la industria de alimentos (Motta-Correa et al. 2015). La obtención de derivados del LS y el desarrollo de nuevos productos (Ramírez-Navas, 2015), entre otros.

5.1 GENERALIDADES DE LA FERMENTACIÓN

La fermentación consiste en la obtención celular de energía evitando el uso de oxígeno. Se clasifica en homo y heterofermentación, cuyos productos son ácido láctico únicamente, o junto a etanol y CO₂, respectivamente (Berlitz et al., 2009). Proporciona cinco propósitos generales: 1) Diversificación de aspectos sensoriales. 2) Conservación de alimentos a través de ácido láctico, etanol, ácido acético y fermentaciones alcalinas. 3) Enriquecimiento de alimentos con proteína, ácidos grasos esenciales y vitaminas. 4) Reducción de agentes tóxicos y 5) Disminución de los tiempos de cocción y de energía requerida (Ramírez-Navas, 2012). En el Figura 6 se observa un esquema de las vías de fermentación de una bacteria ácido-láctica.

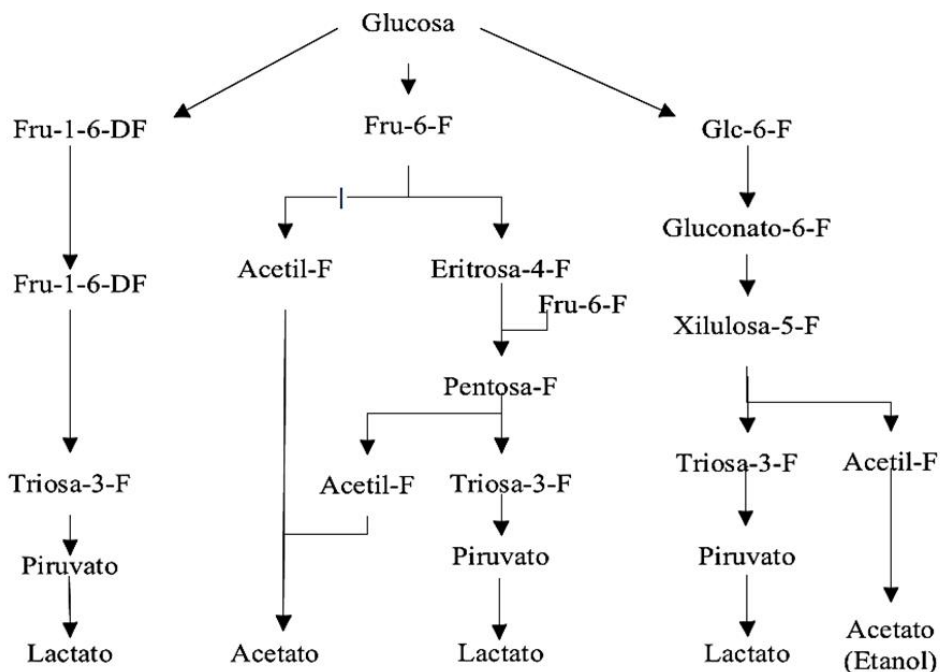


Figura 6. Vías de la fermentación para una bacteria ácido láctica

A: Homofermentación, B: Ruta metabólica *Bifidus*, C: Heterofermentación.

Fuente: Berlitz et al., (2009).

En cuanto a la cinética general de la fermentación, se tienen por lo general cuatro fases: 1) Adaptación o retraso, donde los microorganismos inoculados en medio fresco comienzan a establecer sus colonias. 2) Exponencial o reproductiva, caracterizada por el rápido crecimiento de las colonias una vez el medio comienza a ser asimilado. 3) Estacionaria, en un proceso cerrado, cesa el crecimiento por el aumento de desechos y la disminución de nutrientes. Se obtiene la máxima población de microorganismos y sus funciones celulares continúan, produciendo metabolitos secundarios debido a la escasez de medio fresco. 4) Decline o muerte, aunque el conteo microscópico directo puede ser constante, disminuyen los microorganismos viables debido a la disminución total de nutrientes. La duración de las fases, los productos y co-productos obtenidos dependen muy sensiblemente de las condiciones de proceso (Ramírez-Navas, 2012). En el Figura 7 puede observarse un esquema de esta cinética general.

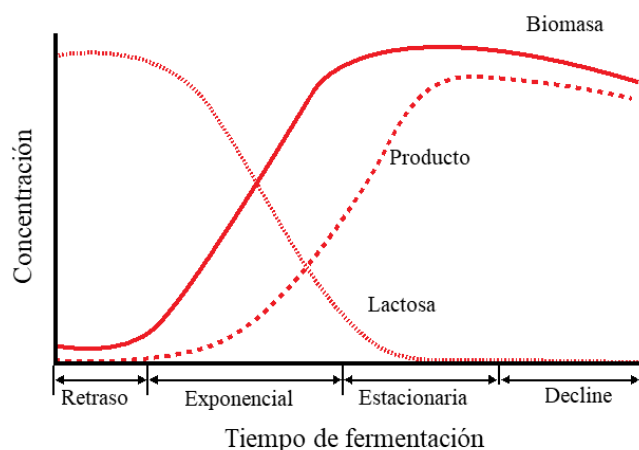


Figura 7. Esquema de la cinética general para la fermentación

Fuente: Ramírez-Navas, (2012).

5.2 TIPOS DE FERMENTACIÓN

El objetivo fundamental de la industria de las fermentaciones es minimizar costes e incrementar los rendimientos. Este objetivo puede alcanzarse si se desarrolla el tipo de fermentación más adecuado para cada paso en particular. A continuación, se explicarán los tipos de procesos para fermentaciones a nivel industrial.

5.2.1 Fermentación por lote

Una fermentación por lotes, también llamada discontinua o por *batch*, se considera un sistema cerrado. Al inicio de la operación se añade la solución esterilizada de nutrientes y se inocula con el microorganismo. En este tipo de proceso sólo se agregan aire para

oxigenar los microorganismos, además de antiespumante y reguladores de pH. Así, la incubación se lleva a cabo en condiciones óptimas de fermentación. En los procesos comerciales la fermentación frecuentemente se interrumpe al final de la fase estacionaria o antes de que comience la fase de decline. Se realiza así para obtener metabolitos primarios o secundarios, respectivamente (Mateos, 2000).

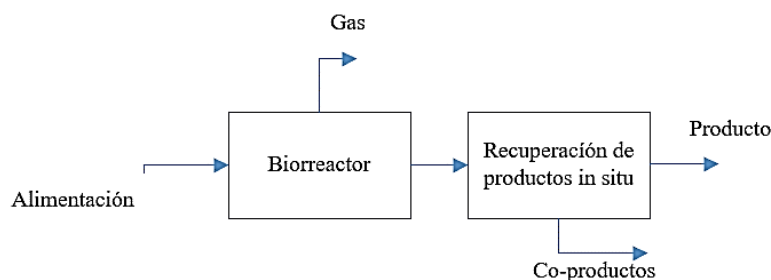


Figura 8. Esquema de la fermentación por lote

Adaptado de Ranjan y Moholkar, (2012).

5.2.2 Fermentación alimentada (*fed-batch*)

En el proceso anteriormente descrito, todos los sustratos se añaden al principio de la fermentación. Una mejora del proceso cerrado discontinuo es la fermentación alimentada que se utiliza en la producción de penicilina. En los procesos alimentados, los sustratos se añaden escalonadamente a medida que avanza la fermentación. La formación de muchos metabolitos secundarios está sometida a represión catabólica (efecto glucosa). Por esta razón, los nutrientes se añaden en pequeñas concentraciones durante la fase de producción (Mateos, 2000).

5.2.3 Fermentación continua

En la fermentación continua se establece un sistema abierto. La solución nutritiva estéril se añade continuamente al biorreactor y una cantidad equivalente de solución utilizada de los nutrientes, con los microorganismos, se extrae simultáneamente del sistema. La fermentación continua no se utiliza de forma general industrialmente debido a una mayor experiencia en fermentación discontinua. No obstante, el coste de producción mediante cultivo continuo es potencialmente inferior al de cultivo discontinuo. Así, se han instalado plantas para la producción continua de proteína de origen unicelular a partir de n-alcenos, compuestos C1 y almidones (Mateos, 2000).

Muchas fermentaciones para la producción de metabolitos funcionan bien como procesos continuos. No obstante, a nivel industrial sólo unos pocos procesos han resultado útiles por

varias razones, entre ellas. 1) Muchos métodos de laboratorio operan continuamente durante 20 h a 200 h. Para que sea de utilidad industrial el sistema debe ser estable durante al menos 500 h a 1 000 h. 2) Mantener las condiciones estériles a escala industrial a lo largo de un largo período de tiempo es difícil. 3) La composición de los sustratos debe ser constante a fin de obtener una producción máxima. Las composiciones de las soluciones de nutrientes industriales son variables (líquido de maceración del maíz, peptona, etc.). Todo lo cual puede originar cambios en la fisiología celular y disminuir la productividad. 4) Cuando se utilizan cepas de alto rendimiento se producen mutantes degenerados, que pueden crecer más deprisa agotando nutrientes. Así, menos cepas de producción sintetizan el producto de interés y disminuye el rendimiento (Mateos, 2000). En la Figura 9 puede observarse un esquema de esta fermentación.

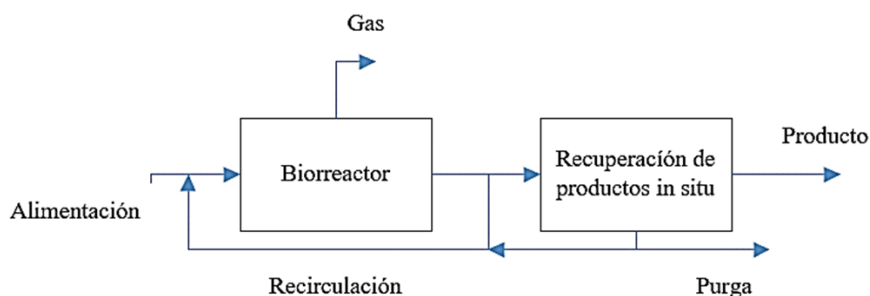


Figura 9. Esquema de la fermentación continua

Adaptado de Ranjan y Moholkar, (2012).

5.2.4 Reactores de enzimas o células inmovilizadas

Consiste en transportar el medio fresco a través de un biorreactor, en el que por diversas técnicas se han inmovilizado células o enzimas. En el biorreactor reacciona bioquímicamente y se recupera el producto transformado tras su paso por la columna. Así, se eliminan la inestabilidad del sistema continuo, y el producto resultante no contiene células. Presenta el inconveniente de que no todos los microorganismos pueden inmovilizarse (Mateos, 2000).

Existen tres métodos de inmovilizar las células: 1) Asociación física mediante resinas de intercambio iónico. Su inconveniente consiste en que la unión se puede romper fácilmente. 2) Unión covalente mediante glutaraldehído, tolueno, di-isocianato, iodo-acetil-celulosa. Proporciona unión fuerte, aunque puede causar inactivación. 3) Atrapamiento mediante colágeno, gelatina, agar, alginatos, poli-acril-amida, poliestireno. Es el método más utilizado en inmovilización de células. Para ello se mezclan las células con el polisacárido líquido y posteriormente se deja enfriar para que solidifique. Finalmente se fragmenta o granula y se empaqueta en una columna (Mateos, 2000).

5.3 FERMENTACIÓN DE LS

A nivel de lácteos, los productos fermentados involucran diversos microorganismos, como bacterias y levaduras. Las bacterias generalmente pertenecen a los géneros *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Escherichia* y *Pediococcus* (Berlitz *et al.*, 2009), las levaduras a los géneros *Kluyveromyces* y *Aspergiller* (Oliveira *et al.*, 2016). En la Figura 10 se presenta un esquema de la fermentación de la lactosa presente en el LS:

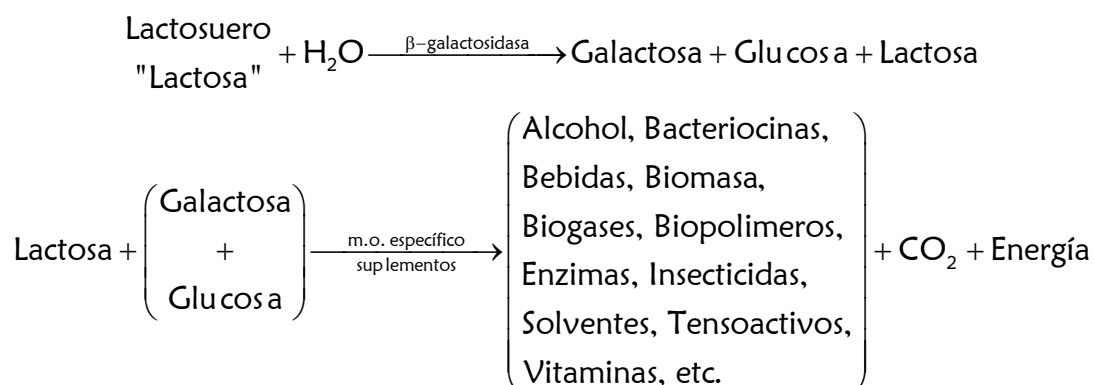


Figura 10. Esquema general de la fermentación de la lactosa del lactosuero

Fuente Ramírez-Navas, (2012)

La fermentación láctica ocurre mediante microorganismos iniciadores o cepas probióticas (Skudra *et al.*, 1998). Se han modificado genéticamente cepas de *S. cerevisiae* con genes de microorganismos del género *Kluyveromyces*, *Aspergiller* y *Escherichia Coli*. Esto permite crear cepas que fermentan la lactosa enzimáticamente, por medio de sus secreciones. Otro método utiliza secuencias indicadoras de la secreción de la levadura y los colaboradores de la fusión. Un método diferente libera las secuencias al medio, utilizando lisis espontánea o la permeabilización química de las células (Oliveira *et al.*, 2016).

La fermentación de LS hidrolizado por cepas modificadas genéticamente de *S. cerevisiae*, por tecnología de ADN recombinante, puede desarrollarse en dos pasos. Consiste en una pre-hidrolización de la lactosa con enzimas como β -galactosidasa, y fermentación de sus dos monosacáridos. También se realiza en un paso por co-inmovilización enzimática junto a la levadura o con cultivos mixtos utilizando células libres y co-inmovilizadas (Oliveira *et al.* 2016).

Se selecciona este tipo de cepas para fermentación alcohólica, debido a su buena capacidad fermentativa, mayor al 20% v/v. Además, tiene tolerancia al etanol, estado GRAS (*Generally Regarded As Safe*) y crecimiento rápido bajo condiciones anaerobias. Por

último, el vasto conocimiento científico e industrial, y la posibilidad de uso como co-producto (Guimarães, Teixeira y Domingues, 2010). Para la fermentación directa del LS se utilizan cepas de levadura del género *Kluyveromyces* (Koutinas *et al.*, 2007), lo que es más económico (Panesar *et al.*, 2007).

5.3.1 Bebidas alcohólicas

Se han elaborado diversos tipos de bebidas alcohólicas con LS fermentado. La cerveza puede producirse con o sin malta, ser fortificada o contener almidones hidrolizados (Jeličić, *et al.*, 2008). En la producción de vino, el LS puede utilizarse como sustrato para levaduras. Una vez fermentado, debe pasteurizarse para prevenir una segunda fermentación. Oliveira *et al.*, (2016) reportan aceptación sensorial de mezclas de este fermentado con frutas o vinos de frutas. En la Tabla 2 puede observarse el rendimiento de la producción a través de distintos medios y cepas.

Tabla 2. Rendimiento de etanol a partir de LS por diferentes técnicas

Técnica	Materia prima	Microorganismo utilizado	Rendimiento máximo (g Et/l LS . h)	Referencia
Cultivo por lote alimentado con ciclos repetidos	LS fresco y concentrado	Levadura <i>K. marxianus</i> ATCC 8554	4,73	(Araujo <i>et al.</i> , 2014)
Fermentación continua	Suero concentrado 60 g/l lactosa	Levadura <i>K. marxianus</i> NRRL Y-665	16.0	(Rapin <i>et al.</i> 1994)
Fermentación continua con catabolito	Suero concentrado al 15% lactosa	Cepa mutante de <i>S. cerevisiae</i> resistente a la represión	13.6	(Terrell, Bernard y Bailey, 1984)
Fermentación continua con sacarosa añadida	Solución de polvo de LS, 100 g sacarosa/ l de soln.	Levadura <i>K. marxianus</i> DSMZ 7239	54	(Ozmihci, y Kargi, 2007)
Fermentación por lotes con aireación	LS crudo con jugo de remolacha azucarera	<i>K. marxianus</i> KD-15	102	(Oda, <i>et al.</i> 2010)
Fermentación continua en bio-reactor de puente aéreo de 6 L	Suero concentrado 5% de lactosa	<i>S. cerevisiae</i> con genes de <i>K. lactis</i> LAC4 y LAC12	10	(Domingues, Lima, y Teixeira, 2001)

Pueden producirse otro tipo de bebidas destiladas con características organolépticas aceptables y sin presencia de metanol (Dragone *et al.*, 2009). A nivel sensorial, se han identificado 40 componentes volátiles a partir de una bebida alcohólica con LS. En dicho estudio, cuya materia prima fue LS fermentado con *K. marxianus*, se obtuvo etanol al 35,4% v/v. Los autores concluyeron que dicha bebida tuvo características organolépticas aceptables. Estas características consistieron en su semejanza cualitativa en componentes químicos con otras bebidas destiladas, difiriendo en concentración. Dentro de los compuestos obtenidos se encontraron alcohol isoamílico, isobutanol, 1-hexanol, 1-propanol

y acetato etílico. La presencia de terpenos contribuyó a su aroma, ofreciendo matices florales que permitieron distinguirla positivamente de otras bebidas destiladas (Dragone *et al.*, 2009). También se produce etanol por medio de la fermentación de LS.

5.3.2 Bebidas fermentadas no alcohólicas y funcionales

Los componentes alimenticios funcionales del LS aportan beneficios a la salud, además de cumplir una función nutricional (Valenzuela *et al.* 2014). En este sentido, la actividad biológica de las proteínas del LS se incrementa por acción de las bacterias ácido-lácticas (Korhonen y Pihlanto, 2003). Además, proporcionan propiedades bioactivas como actividad opioide, antihipertensiva, antimicrobiana (Rhicha, *et al.*, 2007), inmunomodulatoria, transporte de minerales y antitrombótica (Fitzgerald y Meisel, 2003). En la Tabla 3 se representan propiedades funcionales para diferentes componentes de LS.

Tabla 3. Propiedades funcionales de carbohidratos del LS

Componente	Precursor	Propiedad funcional	Referencia
Lactosa	Presente originalmente	Su sacárido galactosa hace parte de cerebrósidos, lípidos fundamentales en el sistema nervioso	(Ramírez-Navas, 2009)
Galacto-oligosacáridos (GOS)	β -Galactosidasa sobre lactosa	FIPRE: BIF y LAC	(Ramírez-Navas, 2009)
Lactulosa	Síntesis química, por isomerización de lactosa en medio básico; o síntesis enzimática utilizando lactosa y fructosa y β -galactosidasas de diferentes orígenes	FIPRE: BIF y LAC. Significativa disminución de bacteroides clostridios, estreptococos y enterobacterias	(Rodríguez-Olivenza, 2015)
Fructooligosacáridos (FOS)	β -fructofuranosidasas sobre inulina	FIPRE: BIF, LAC y disminución de clostridios y bacteroides	(Villamiel <i>et al.</i> , 2014)
Isomaltoligosacáridos (IMOS)	Transglucosidasas sobre almidón	FIPRE: BIF. Disminución de colesterol total y triglicéridos en pacientes con hemodiálisis. Estimulación del sistema inmune en ratones	(Macfarlane, Steed y Macfarlane, 2008)
Lactitol	Hidrogenación de lactosa	FIPRE: BIF	(Gibson, <i>et al.</i> 2004)

FIPRE: Fibra prebiótica. BIF: Bifidogénico. LAC: Lactobacteriogénico. Para una mayor revisión sobre fibra prebiótica cf. (Corzo *et al.*, 2015)

La fibra prebiótica consiste en oligosacáridos no digeribles que son usados por microorganismos en el colon humano. Así, producen energía, metabolitos y micronutrientes que el huésped sí metaboliza. Por lo cual se fomenta su consumo para el crecimiento de

especies benéficas intestinales, que colaboran en procesos digestivos (Corzo *et al.*, 2015). En la Tabla 4 se observan propiedades funcionales de algunos lípidos presentes en LS.

Tabla 4. Propiedades funcionales de lípidos del LS

Componente	Propiedad funcional	Referencia
Ácido dodecanoico (12:0, láurico)*	Agente antiviral, antibacteriano, antiprotozoario, hipercolesterolémico	(Hoffman, Han y Dawson, 2001. Ouattar <i>et al.</i> , 2000. Dawson <i>et al.</i> , 2002. Kris-Etherton, Zhao y Etherton, 2000)
Ácido tetradecanoico (14:0, mirístico)*	Hipercolesterolémico, reno-protector, antiaterogénico en ingesta moderada, antitumoral para el carcinoma de ascitis de Ehrlich, todas probadas en ratones	(Kris-Etherton <i>et al.</i> , 2000. Monserrat, Cutrin y Coll, 2000. Dabadie <i>et al.</i> , 2005. Bingham, Cohrsen y Powell, 2001)
Ácido hexadecanoico (16:0, palmítico)*	Cardioprotector en dosis moderadas	(Temme, Mensink, y Hornstra, 1996)
Ácido <i>cis</i> -9-octadecanoico (18:1 Δ^9 , oleico, omega 9)	Hipocolesterolémico, aumento de HDL (lipoproteína de alta densidad), disminución de LDL (lipoproteína de baja densidad, “colesterol malo”), cardioprotector. Aumento de antioxidantes, refuerzo de las paredes celulares. Contribuye a reparar los daños en tejidos y células, ayuda a mejorar el sistema nervioso y la piel	(Giacopini y Bosch, 2008. Kuang, 2008 Tholstrup <i>et al.</i> , 2004, Temme <i>et al.</i> , 1996)
Ácido <i>cis</i> -9,12,15-octadeca-trienoico (18:3 $\Delta^{9,12,15}$, α -linolénico, omega 3)	Coadyuvante en el tratamiento de la depresión, cardioprotector e inhibidor de aterosclerosis	(Kris-Etherton, Harris y Appel., 2002. Connor, 2000. Schacky <i>et al.</i> , 1999)
Ácido <i>cis</i> -9-12-octadecadienoico (18:2 $\Delta^{9,12}$, linoleico, omega 6)	Favorece la lipólisis y contribuye a aumentar el transporte de grasa hacia las mitocondrias, evitando su acumulación. Protección contra el cáncer comprobada en animales	(Stone, 1997. Kang y Leaf, 2000)
Ácido <i>cis</i> -9- <i>trans</i> -11-octadecadienoico (CLA, Conjunto de ácidos linoleico conjugados**)	Hipocolesterolémico y antiaterosclerótico, anticarcinogénico, antiinflamatorio, estimulante del sistema inmune. Antihipertensivo, antidiabético, antilipohipertrófica y antilipomegálico (antiobesidad)	(Nicolisi <i>et al.</i> , 1997. Viladomiu, Hontecillas y Bassanganya-Riera, 2016. Koba y Yanagita, 2014. Sanhueza, Nieto y Valenzuela, 2002)
Ácidos grasos de cadena corta y media: butanoico (4:0, butírico), octanoico (8:0, caproico), decanoico (10:0, cáprico), lauroleico (12:1), metildodecanoico (iso C-13:0), miristoleico (14:1)	Antifúngico, anticonvulsivo, proveen una fuente rápida de energía y favorecen la absorción de calcio, magnesio y lípidos en recién nacidos prematuros que no pueden lactar leche materna. No son almacenados en los adipocitos u otros tejidos, contribuyendo a un peso adecuado. Efecto termogénico, aumenta la saciedad, oxidación, y disminuyen la lipogénesis	(Clément <i>et al.</i> , 2008. Sáyo-Ayerdi <i>et al.</i> , 2008)
Esfingolípidos	Regulación del comportamiento celular, control de cáncer de colon, reducción de colesterol LDL, aumento de colesterol HDL	(Vesper <i>et al.</i> , 1999)

* Extraídos a partir de queso cheddar, madurado con *Lactococcus lactis* s. *lactis* (Tomaino, Parker y Larick, 2001). Los demás están presentes en LS naturalmente (Clément *et al.*, 2008. Torkamani *et al.*, 2016). ** Las isomerías y sus correspondientes propiedades funcionales pueden variar, cf. (Viladomiu *et al.*, 2016).

En la Tabla 5 se presentan algunas propiedades funcionales de las proteínas de LS.

Tabla 5. Propiedades funcionales de proteínas del LS

Componente	Propiedad funcional
Proteína total del LS	Anticarcinogénico, inmuno-estimulante, longevidad, hipocolesterolémico
β -lactoglobulina	Función digestiva
β -lactoferrina	Agonista opioide
Lactoferrina	Antimicrobiano, transporte y regulación de hierro, inmunoestimulador, anti-inflamatorio, crecimiento y proliferación celular
Lactoferricina	Antimicrobiano
Inmunoglobulinas	Inmunidad pasiva
Lactoperoxidasa	Antibacteriano
Factores de crecimiento	Diferenciación y crecimiento celular, reparación y protección de la mucosa intestinal, reparación de lesiones
Lactoalbúmina, serorrina	Agonista opioide

Fuente: (McIntosh et al., 1998). Para una revisión mayor cf. (Silva y Verdalet, 2003).

Se han desarrollado múltiples formulaciones para el desarrollo de bebidas no alcohólicas con base en LS. Por ejemplo, Vega-Montero, (2012) fermentó LS dulce suministrado por una mediana empresa láctea que sólo lo aprovecha para la alimentación porcina. Utilizó para una formulación *S. thermophilus* y *L. bulgaricus*, y otro con *S. cerevisiae*. Además, avena molida Quaker, leche UHT, azúcar, esencia de vainilla, canela, gelatina sin sabor, fermento láctico YO-MIXTM, y levadura activa seca. La primera formulación fue aceptada por los consumidores.

6 PROCESOS DE ELABORACIÓN DE BEBIDAS FUNCIONALES

Se describe a *grosso modo* un proceso general para la elaboración de bebidas funcionales de LS fermentado.

6.1 DESCRIPCIÓN DE PROCESOS GENERALES

Se pueden realizar múltiples procesos para producir bebidas fermentadas funcionales a partir de LS. No obstante, utilizarlo sin procesar puede ser inconveniente para la producción de bebidas funcionales fermentadas (Ramírez-Navas, 2012). Dentro de estos procesos se tienen la hidrólisis de sus proteínas, desmineralizado, y la hidrólisis de la lactosa (Tang y Silva, 1995). En este trabajo se omitirán las condiciones específicas del LS como materia prima porque dependen de cada microorganismo y conjunto de ellos. Además, dependen del producto que se quiere obtener, que requiere de investigación específica en ensayos experimentales en condiciones controladas. Todo lo cual excede el alcance de este trabajo. Se presentarán tres tipos de procesos con sus condiciones, con base en las tecnologías encontradas en la literatura.

6.1.1 Proceso 1

Es similar al utilizado para elaborar bebidas lácteas fermentadas (Barón, 2010). Puede resumirse en el siguiente diagrama de bloques generalizado (ver Figura 11), para la elaboración de bebidas con LS fermentado.

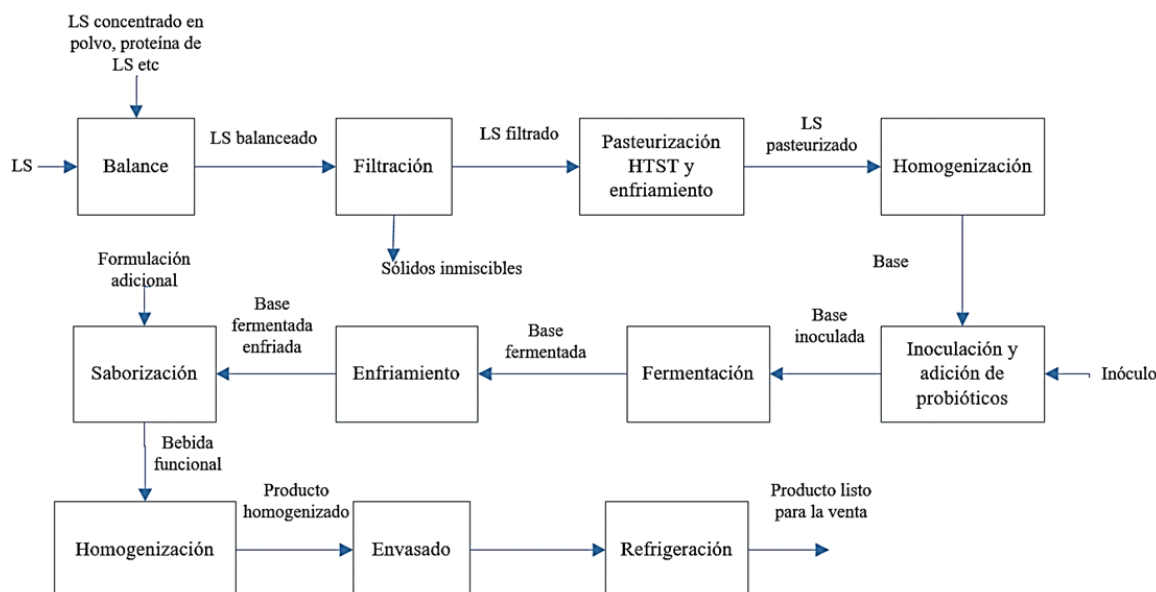


Figura 11. Diagrama de bloques general para proceso 1

Adaptado de Grupo INGCO, (2017).

6.1.1.1 Balance

El primer paso consiste en ajustar el contenido de sólidos, para obtener las características reológicas que precise el consumidor como aceptables (Berlitz *et al*, 2009). Asimismo, se aporta estabilidad durante la fermentación y contenido nutricional para el producto final (Barón, 2010). Como el LS consiste en una emulsión, su estandarización es necesaria por el grado de interacciones de sus componentes. Además, se puede obtener diferentes productos, dependiendo de las cepas empleadas en la fermentación, que requieren composiciones específicas (Ramírez-Navas, 2012). En la Tabla 6 se observa el efecto de la composición del LS en la fabricación de un producto fermentado.

Además de estandarizar el contenido de sólidos, debe comprobarse que las materias primas cumplan con requisitos sanitarios. Es decir, libres de antibióticos o cualquier sustancia que pueda inhibir el crecimiento posterior de los microorganismos fermentadores (Bacilio-Loo, 2015). Dentro de estas materias primas se encuentran sacarosa para atenuar la acidez del producto. Su concentración no debe llegar al 10% porque puede afectar la presión osmótica antes de la fermentación. Asimismo, estabilizantes para evitar la sinéresis luego del proceso

de fermentación. Por último, cabe agregar que la normatividad tiene una exigencia con respecto a la materia grasa de la bebida. Exige que su contenido graso debe como mínimo el correspondiente al 60% de la materia grasa de la leche original de donde se obtiene (ICONTEC, 2006). El equipo utilizado generalmente consiste en un mezclador “triblender” (Tamime, Robinson y Díaz, 1990).

Tabla 6. Algunos efectos de la composición de LS inicial de macronutrientes en procesos y productos

Macronutriente	Variación	Efecto
Concentración de sólidos global	+	Aumento de costos, turbidez, viscosidad. Si los sólidos son nutracéuticos, aumento en propiedades funcionales y valor económico. Disminución del flujo de permeado en filtración.
	-	La materia prima puede ser más económica, pero disminuye el contenido nutricional en productos obtenidos
Carbohidratos, en particular lactosa	+	Aumento en gelificación durante la fermentación, y por ello aumento en la viscosidad. Aumento del pH después de la fermentación
	-	Puede ser insuficiente para una fermentación adecuada para base y para probióticos por agotamiento rápido de sustrato. Posible pérdida de carbohidratos funcionales como fibra prebiótica
Proteínas	+	Aumento de efecto emulgente (efecto Marangoni), valorización nutricional, posible aparición de partículas inmiscibles por coagulación, distintos puntos isoeléctricos, Si la cantidad de nitrógeno no es suficiente, no se alcanzarán a producir suficientes colonias para la fermentación. Aumento del pH después de la fermentación debido a falta de efecto amortiguador de los péptidos. Posible pérdida de contenido nutricional y funcional.
	-	
Lípidos	+	Valorización nutricional, pero sin un surfactante puede observarse fácilmente glóbulos grasos (efecto Gibbs-Marangoni)
	-	Mejora emulsión o/w, contribuyendo a una mejor homogenización, pero posible pérdida de lípidos funcionales

Fuente: (Berlitz et al., 2009. Solís, 2014. Fennema y Tannenbaum, 2000)

6.1.1.2 Filtración

Este proceso se realiza para retirar material inmisible del flujo de LS balanceado que pueda resultar del proceso anterior. Adicionalmente, cualquier material sólido ajeno a la formulación, sea inocuo o no. Como se tienen sólidos en suspensión se emplea microfiltración, ya que el tamaño de partícula sólo alcanza la escala microscópica (Ibañez, 2007). Además, el proceso contribuye a separar microorganismos del LS balanceado, aunque no elimina enzimas o sustancias alteradoras del alimento. La inhibición enzimática sería controlada en la pasteurización HTST, y las sustancias alteradoras en la inspección de balance de LS. En la Figura 12 se puede observar el rango de aplicación de procesos de separación por membranas.

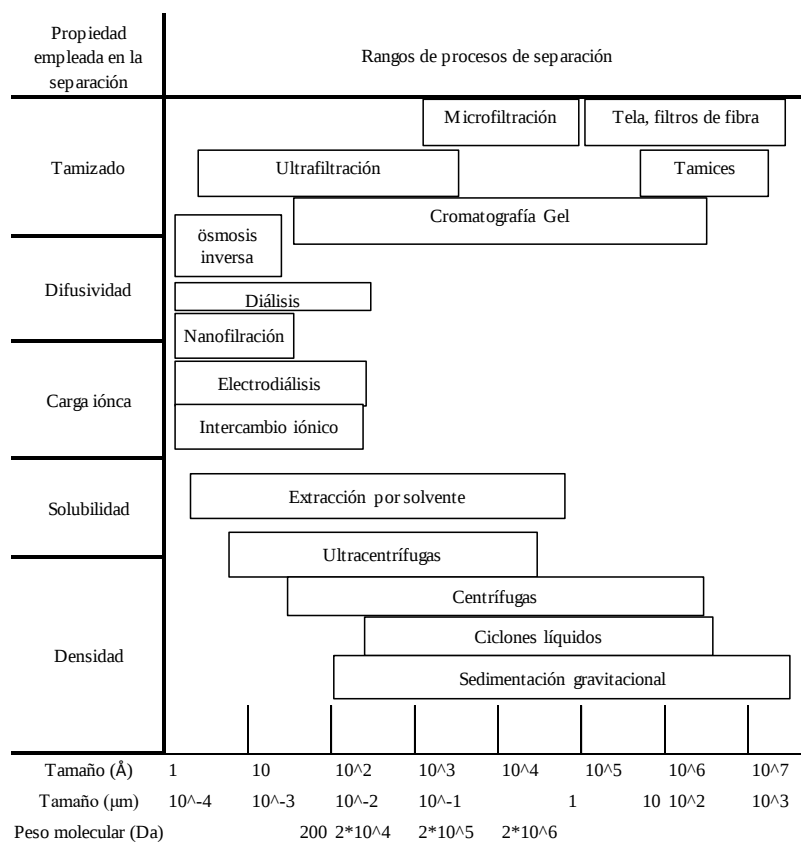


Figura 12. Rango de aplicación de los fenómenos de separación a través de membranas

Fuente: Romero-González, (2010).

6.1.1.3 Pasteurización HTST y enfriamiento

Con este proceso se busca reducir la población bacteriana inicial para controlar la fermentación una vez inoculada la base. La base de una bebida fermentada se define como la materia prima sobre la cual se realiza la fermentación (Hernández, 1999). Además, se busca desnaturalizar e inactivar enzimas que puedan permanecer en LS, y afecten su estabilidad. La pasteurización se realiza en tres etapas: calentamiento, sostenimiento y enfriamiento. En el caso de HTST (*High Temperature Short Time*), se utiliza vapor indirectamente a 136-138 °C de 5 a 8 s. Después se realiza un enfriamiento rápido hasta la temperatura adecuada para la inoculación (Berlitz *et al*, 2009).

Este proceso se realiza en intercambiadores de calor, de placas o de doble tubo, configurados para integrar los flujos de calor. Se aprovecha el calor extraído de la base que se enfría para precalentar la base que ingresa al intercambiador. De esta manera es posible ahorrar energía aprovechando cerca de un 90% de la energía transferida a la base (Geankoplis, 2006).

6.1.1.4 Homogenización

En este proceso se busca que la matriz láctea esté dispersa uniformemente para el uso de cultivos fermentativos. Además, se incrementa la viscosidad de la base y se evita la formación de una capa de crema. Para ello, LS pasteurizado es forzado por una abertura pequeña a alta velocidad, disminuyendo el tamaño de los glóbulos grasos. Esto sucede a presiones de 10-25 MPa, obteniéndose un diámetro globular menor a 1 μm , aumentando su área superficial. El equipo utilizado consiste en un homogeneizador con válvulas de diámetro angosto por donde fluye la base. A menudo, este equipo tiene integrada pasteurización (Barón, Godoy y Gutiérrez, 2010).

6.1.1.5 Inoculación y adición de probióticos

Cuando LS está homogenizado y a la temperatura adecuada, ya puede inocularse para la fermentación. En la preparación de bebidas lácteas fermentadas generalmente se utilizan cultivos de bacterias ácido-lácticas. Este tipo de microorganismos se nutren de lactosa y excretan ácido láctico, entre otros metabolitos. Así, se tienen tres clases de cultivos: inicial, madre, y el cultivo usual. Los cultivos iniciales (“*starter*”) son puros, a partir de estos se prepara el cultivo madre. Luego se desarrolla el cultivo usual para emplearlo directamente en el proceso. Este cultivo usual se desarrolla sobre un volumen menor de base de yogur en un tanque de fermentación adecuado. Normalmente el inóculo corresponde entre el 1 y el 2% v/v de la base a fermentar (Grupo INGCO, 2017).

Las bacterias ácido-lácticas pueden clasificarse en mesófilas y termófilas, dependiendo de su temperatura óptima de crecimiento. El rango de temperatura de las mesófilas es de 20-25 °C, el de las termófilas es de 40-45 °C. Un grupo relevante de microorganismos ácido-lácticos para la producción de bebidas lácteas fermentadas pueden observarse en la Tabla 7. En la Tabla 8 pueden observarse algunos criterios para determinar qué bacterias utilizar para los cultivos iniciadores.

Los microorganismos probióticos se definen como aquellos que aportan beneficios funcionales al huésped suministrados en dosis adecuadas (FAO y OMS, 2002). Además, un microorganismo probiótico cumple las siguientes condiciones:

- Capaces de resistir las barreras fisiológicas hasta llegar a intestino: jugos gástricos, bilis, sales biliares y enzimas.
- Producción de β -galactosidasa.
- Tolerantes a las condiciones bioquímicas del tracto intestinal.

- Capacidad de adherencia y colonización, competencia con microorganismos patógenos, o generación de metabolitos que los inhiban.
- Capacidad de sobrevivencia durante la vida media de almacenamiento.
- Ser biológicamente seguros.

Tabla 7. Microorganismos utilizados en bebidas lácteas fermentadas

Género	Especie
Bacterias	
<i>Lactococcus</i>	<i>lactis</i> ss. <i>lactis</i> , <i>lactis</i> ss. <i>cremoris</i>
<i>Lactobacillus</i>	<i>brevis</i> , <i>casei</i> ss. <i>casei</i> , <i>delbrueckii</i> ss. <i>delbrueckii</i> , <i>delbrueckii</i> ss. <i>bulgaricus</i> , <i>delbrueckii</i> ss. <i>lactis</i> , <i>fermentum</i> , <i>helveticus</i> , <i>kefir</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>salivarius</i> ss. <i>thermophilus</i>
<i>Leuconostoc</i>	<i>Lactis</i> , <i>mesenteroides</i> ss. <i>cremoris</i> , <i>mesenteroides</i> ss. <i>mesenteroides</i>
<i>Bifidobacterium</i>	<i>bifidum</i>
<i>Propionibacterium</i>	<i>freudenreichi</i> ss. <i>shermanii</i> , <i>freudenreichi</i> ss. <i>freudenreichi</i>
Levaduras	
<i>Candida</i>	<i>kefyr</i>
<i>Kluyveromyces</i>	<i>lactis</i> var. <i>lactis</i> , <i>marxianus</i> , <i>bulgaricus</i>

Fuente: Garibay, Quintero y Munguía, (2004).

Tabla 8. Pruebas para la selección de bacterias ácido-lácticas para cultivos iniciadores

Objeto	Pruebas a realizar
Fermentación	Efecto sensorial Velocidad de acidificación a distintas temperaturas Compatibilidad con otras cepas Resistencia a distintas temperaturas y aglutinación
Producción de cultivos	Actividad proteolítica Halo-tolerancia Estabilidad de características, viabilidad, actividad en proceso de manufactura, y para liofilización y congelación Rendimiento en la fermentación. Activación en forma de cultivos para inoculación directa Mantenimiento de la viabilidad y actividad durante el proceso de fabricación

Fuente: (Parra-Huertas, 2010. Macedo et al., 2002).

Así, un microorganismo probiótico provee actividad funcional. Existen bacterias ácido-lácticas que aportan beneficios funcionales, pero no sobreviven las barreras gastrointestinales ni se adhieren y forman colonias intestinales. Tal es el caso de *S. thermophilus* y *L. delbrueckii subespecie bulgaricus*. Por este motivo, la normatividad exige que una cepa cumpla todos los requisitos para ser denominada probiótica, no sólo su carácter funcional (ICONTEC, 2006).

En bebidas lácteas fermentadas funcionales, se acostumbra utilizar las especies representadas en la Tabla 9:

Tabla 9. Microorganismos con beneficios funcionales generalmente utilizados en bebidas lácteas

Género	Especie
<i>Lactobacillus</i>	<i>acidophilus</i> , <i>delbrueckii</i> subespecie <i>bulgaricus</i> , <i>reuteri</i> , <i>rhamnosus</i> , <i>casei</i> , <i>plantarum</i> , <i>helveticus</i> y <i>paracasei</i> , <i>amylovorus</i> , <i>crispatus</i> *, <i>gasseri</i> *, <i>jhonsii</i> *
<i>Streptococcus</i>	<i>thermophilus</i>
<i>Bifidobacterium</i>	<i>animalis</i> Subespecie <i>lactis</i> , <i>bifidum</i> , <i>longum</i> e <i>infantis</i>
<i>Propionibacterium</i>	<i>freudenreichii</i> subespecie. <i>shermanii</i>
<i>Enterococcus</i>	<i>faecius</i>

Fuente: (Oliveira et al. 2016. Bulatović et al., 2012), *(Marulanda-Olier, 2012).

Los microorganismos probióticos tienen, entre otros beneficios, los siguientes:

- Acción antagonista con efecto protector contra la colonización de bacterias indeseables, por la producción de sustancias antimicrobianas.
- Regulan la flora microbiana autóctona benéfica.
- Efecto barrera contra la migración de microorganismos indeseables del intestino delgado a otros órganos.
- Disminución del pH del intestino.
- Mejoran la digestión de la lactosa.
- Regulan las funciones digestivas.
- Efectos terapéuticos en el caso de las diarreas provocadas por virus (ICONTEC, 2006).

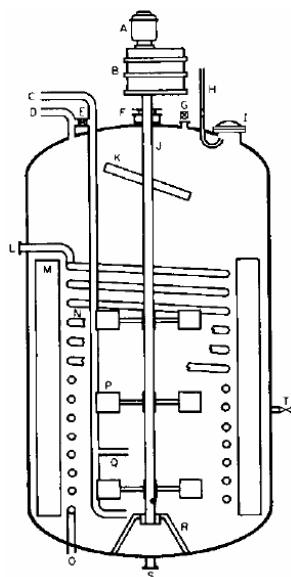
En este proceso (1) se inoculan simultáneamente los microorganismos fermentadores para la base y los probióticos, para aprovechar interacciones simbióticas. Aunque, como se expone en la Tabla 7, debe tenerse claras las condiciones para lograr los beneficios de cada cepa.

6.1.1.6 Fermentación

En esta etapa se metaboliza la lactosa en los metabolitos de interés, mediante el control condicional del sustrato. Este proceso bioquímico reduce gradualmente el pH, inhibiendo el crecimiento de otros microorganismos, aumentando la estabilidad del producto. Esto sucede gracias a los sinergismos simbióticos entre las colonias bacterianas. Inicialmente no ocurren cambios fisicoquímicos significativos, pero posteriormente se observan cambios sensoriales y texturales gracias a los exopolisacáridos y metabolitos (Berlitz et al., 2009). La fermentación se realiza en tanques agitados, como el que se muestra en la Figura 13:

Con respecto a un fermentador convencional se tienen algunos aspectos: 1. Una válvula de desviación en el sistema de aire permite dirigirlo para que la espuma no sea excesiva. Así,

el potencial de oxidación-reducción no es elevado mientras se eleva el inóculo. 2. Se agrega antiespumante cuando la espuma llega a una probeta electrónica de conductividad o capacitancia. 3. Toda la tubería está protegida contra la contaminación mediante el empleo de vapor. 4. El nivel del líquido al llenar el recipiente está calibrado con respecto a puntos dentro del tanque, como un travesaño de una escalera. 5. El peso del contenido del tanque se puede determinar mediante un balance hidrostático contra el aire que burbujea a través del rociador. 6. El recipiente, al tener presión positiva, no suele tener bombas para transferir el fluido (Bungay *et al.*, 1999).



Fermentador intermitente convencional. A= motor del agitador; B= mecanismo reductor de velocidad; C= entrada de aire; D= salida de aire; E= válvula de desviación de aire; F= sello del eje j; G= mirilla con luz; H=mirilla de la línea de limpieza; I=agujero de hombre con mirilla; J=eje del agitador; K=paleta para romper la espuma; L=salida del agua de enfriamiento; M=placa desviadora; N=serpentines de enfriamiento; O=entrada del agua de enfriamiento; P=mezclador; Q=rociador; R=cojinete y soporte del eje; S= salida(el sello de vapor no se muestra); T=válvula de muestreo (el sello de vapor no se muestra). En el diagrama no aparecen los peldaños de la escalera para mantenimiento, la probeta y sistema de antiespumante, y los sensores. Obsérvese que los serpentines pueden estar entre las placas desviadoras y la pared del tanque. También pueden conectarse a la parte superior para llevar al máximo las aberturas bajo el nivel de agua. Son factibles las entradas por la parte inferior para los mezcladores.

Figura 13. Esquema de un fermentador

Tomado de Bungay, Tsao y Humphrey, (1999).

Se utiliza calor a través de una chaqueta para el paso del vapor, manteniendo la temperatura adecuada para la cepa. La fermentación toma 3-5 h, con lo cual para garantizar una producción continua son necesarios varios tanques de fermentación. Una fermentación muy corta o muy larga afecta las características del producto final negativamente. Por ello, el proceso es controlado por el seguimiento del pH y la concentración de ácido láctico que sea adecuada (Grupo INGCO, 2017). Las variables físicas serán explicadas en 4.4. Variables de proceso, para algunos procesos ya probados.

6.1.1.7 Enfriamiento

Finalizada la fermentación la bebida es bombeada hacia un intercambiador de calor para reducir su temperatura hasta los 4°C. Gracias a ello, se detiene la actividad biológica y el proceso de producción de metabolitos (Grupo INGCO, 2017). Así, los microorganismos involucrados alcanzan su fase estacionaria, y pueden continuar procesos probióticos cuando las condiciones sean adecuadas.

6.1.1.8 Formulación adicional

En la Tabla 10 pueden observarse los aditivos e ingredientes aceptables dentro de una formulación de una bebida láctea. Esto de acuerdo a la normatividad más cercana a las bebidas de LS funcionales de LS fermentado. Por lo tanto, la formulación será definida por el mercado objetivo para el cual sea diseñado el producto.

Tabla 10. Ingredientes permitidos para leches fermentadas

Tipos de aditivos	Identificador o consideraciones	Límite máximo
Ingredientes	Leche higienizada; crema de leche; leche concentrada; leche en polvo; mantequilla; proteínas de la leche y otros derivados; edulcorantes naturales; frutas; jugos; pulpas; concentrados; mermeladas; jaleas; purés o jarabes de frutas; frutas deshidratadas; cereales; nueces; maní; cacao; café; miel; hortalizas procesadas; otros cultivos lácticos para dar características especiales al producto; especias y otros alimentos aromatizantes naturales e inocuos	Buenas prácticas de manufactura (BPM)
Aditivos para lácteos fermentados en general		
Colorantes	E160e*; E160f; 75530**; E163; 75100; E160; E140; 75470; E150 E141; E100; E101; E161; E162	(BPM)
Colorantes artificiales	E123; E104	30 mg/Kg
Saborizantes	Se permite la adición de saborizantes naturales, idénticos a los naturales o artificiales aprobados por la autoridad sanitaria competente.	Cantidad mínima indispensable para lograr el efecto deseado
Conservantes	Que procedan exclusivamente de frutas o productos con base en frutas, o de otros ingredientes saborizantes. Estos serán transferidos de acuerdo al porcentaje adicionado del ingrediente y con las normas individuales de los productos adicionados y del proceso biológico del cultivo láctico.	50 mg/Kg individuales o en mezcla en el producto final
Aditivos que dependen del contenido de grasa****		
No dependen del porcentaje < 70% contenido graso	Antioxidantes; antiespumantes; reguladores de la acidez; colorantes; conservantes; propulsores	BPM
	Emulsionantes, potenciadores del sabor, estabilizadores	
Aditivos permitidos para lácteos fermentados bajos en grasa, carbohidratos y bajos en calorías		
Estabilizantes y espesantes	Almidón; agar-agar; alginato de propilenglicol; alginatos de sodio; potasio; calcio y amonio; carboximetil celulosa sódica; goma de algarrobo; goma de garrofin; goma guar; goma tragacanto; gelatina***; pectina; almidones modificados: tratado ácido; alcalinamente u oxidado; carragenina; goma arábica; goma karaya; goma xantana; goma tara	BPM
	Aspartame	BPM
Edulcorantes artificiales	Sacarina y sus sales de calcio, potasio y sodio	400 mg/Kg
	Acesulfame K	1000 mg/Kg
	Sucralosa	400 mg/Kg
	Cualquier otro aprobado por la autoridad sanitaria competente	BPM

*E seguido de número significa número de la Comunidad Europea. ** Colour index, clasificado de acuerdo a "The Society of Dyers and Colourist, Bradford/England" y "The American Association of Textiles, Chemist and colourist, Lowell (Massachusetts, E.E.U.U.)". *** El uso de gelatina y almidón se permite sólo después de la fermentación. **** Para información detallada cf. (FAO/OMS, 2011). Tomado de (ICONTEC, 2006).

Asumiendo por tanto que el mercado objetivo no tenga inconveniente con los aditivos, se deben determinar las interacciones biológicas y tecnológicas. Por ejemplo, efectos como la generación de bacteriocinas pueden hacer innecesario cierto tipo o cantidad de conservante (cf. 4.4.2. variables biológicas). Asimismo, los estudios de vida útil determinarán la necesidad de añadir aditivos, pues factores como añadir frutas deshidratadas o pulpa pueden transferir pigmentos que eviten utilizar colorantes. En la misma medida se encuentra el uso de estabilizantes. Todos estos factores son variaciones que deberán estudiarse a nivel de pruebas preliminares en laboratorio. Dichas permutaciones pueden ser materia de investigación académica e industrial para el desarrollo de nuevos productos funcionales.

Los aditivos generalmente se adicionan por medio de bombas dosificadoras directamente a la línea de la base fermentada enfriada. Los demás ingredientes como frutas son añadidos en la máquina envasadora, ya que es deseable que su presencia sea notable (Grupo INGCO, 2017).

6.1.1.9 Homogenización

En esta etapa se busca mejorar la estabilidad de los componentes durante el almacenamiento, las propiedades reológicas y reducir la sinéresis. Así, se busca dispersar la matriz del alimento para lograr uniformidad en las propiedades a través de todo el volumen. De igual forma, la adición de estabilizantes contribuye a crear uniformidad en el producto, como lo muestra la Figura 14.

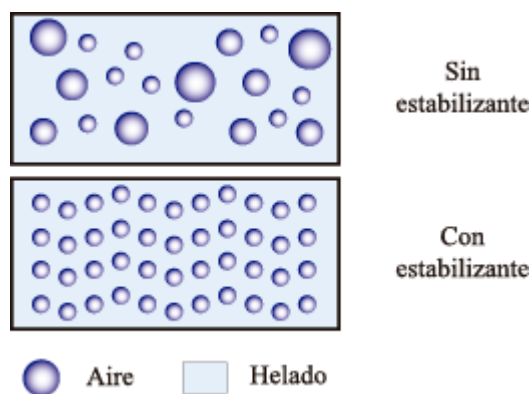


Figura 14. Mecanismo de acción de un estabilizante

Fuente: Jaimes-Duque, (2015).

A nivel experimental, se ha probado que los procesos de homogenización a ultra-alta presión mejoran aspectos de una bebida funcional. Se obtuvo mejores calificaciones

sensoriales y una mejora en parámetros reológicos, para muestras sometidas a 150 MPa y 15 °C (Masson *et al.*, 2010).

6.1.1.10 Envasado

En este proceso se introduce el alimento en bolsas plásticas o vasos de plástico sellados con papel aluminio. Se eligen estos materiales por ser estables química y físicamente, poco reactivos con el alimento y reciclables. Por lo tanto, se utiliza plástico PET (polietileno tereftalato), que es el que ofrece poca transferencia de plástico al alimento en almacenamiento adecuado (PlasticsInfo, 2010). El aluminio es dúctil, maleable, buen conductor del calor y antimicrobiano, por lo se utiliza para sellar herméticamente los envases (Asociación Europea del aluminio, 2017).

Los empaques deben estar higienizados, rotulados y estériles al momento del envasado, cumpliendo con la normatividad (ICONTEC, 2006). Una vez sellados, los envases se empaquetan en cajas para su transporte al almacenamiento (Grupo INGCO, 2017). El equipo generalmente utilizado consiste en un dispensador de fluidos automatizado.

6.1.1.11 Refrigeración

Los envases son empacados en cajas y estibados para su almacenamiento en el cuarto frío y posterior transporte a los puntos de venta. Los envases son empacados en cajas y estibados para su almacenamiento en el cuarto frío. Durante la refrigeración las bebidas lácteas siguen cambiando su viscosidad hasta terminar con la textura deseada. Así, se mantiene el producto envasado a una temperatura de 4 a 5 °C, prolongando a su vez el tiempo de vida útil (Ordinola-Miranda y Osorio-Paredes, 2012).

6.1.2 Proceso 2

Este proceso difiere del anterior en que se añaden las cepas probióticas posteriormente a las cepas ácido-lácticas que fermentan la base de la bebida láctea. Esto puede proceder cuando las cepas probióticas difieran en condiciones de inoculación, que inactiven unas y otras cepas. Este proceso puede observarse en la Figura 15.

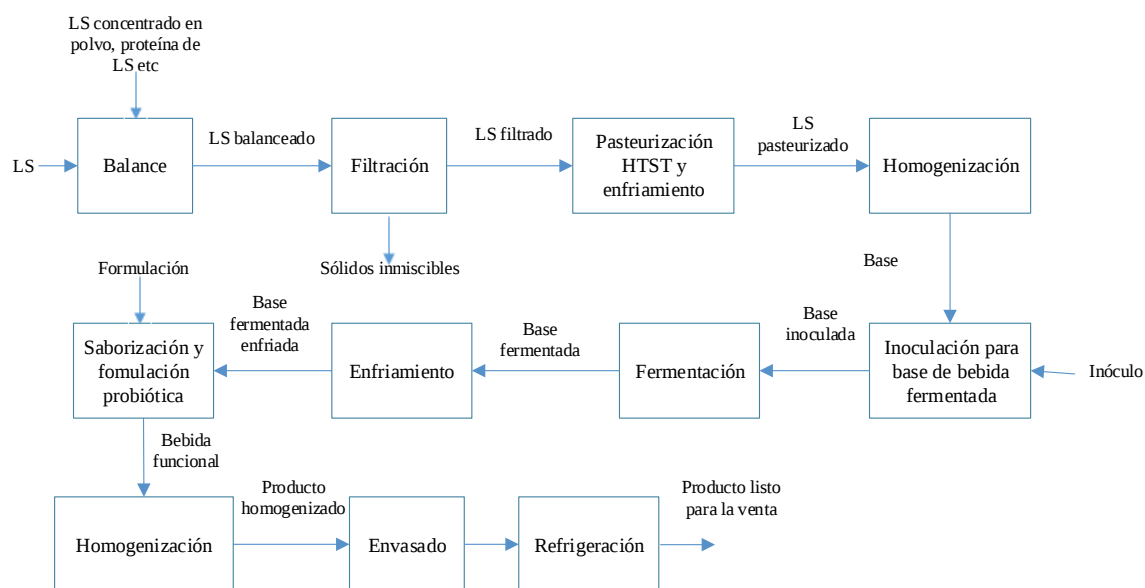


Figura 15. Diagrama de bloques general para proceso 2

Fuente: Grupo INCGO, (2017).

6.1.3 Proceso 3

Este proceso aparece en la mayoría de patentes encontradas que tienen que ver con LS fermentado para bebidas funcionales (Sakata, Akamatsu y Honda, 2010. Akahoshi *et al.*, 1990). Se encuentra representado en la Figura 16.

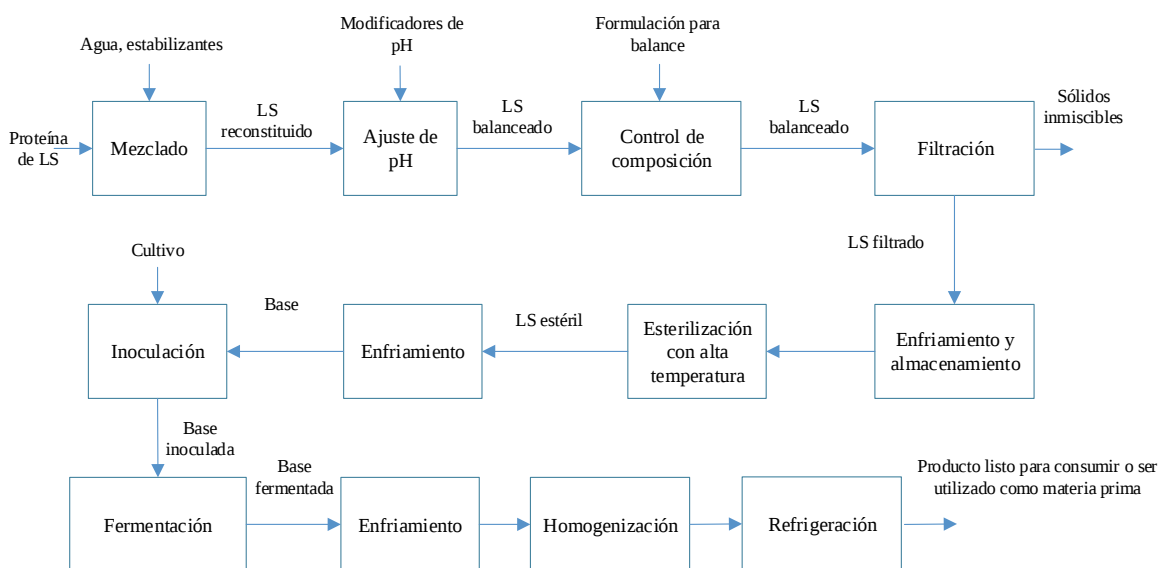


Figura 16. Diagrama de bloques general para proceso 3

Fuente: Adaptado de (Grupo INCGO, 2017).

6.2 VARIABLES DE PROCESO

6.2.1 Variables físicas y químicas

Consisten en las variables que corresponden a fenómenos fisicoquímicos dentro del proceso de elaboración. Se explicarán brevemente, y posteriormente serán mostrados los intervalos generales encontrados en la literatura.

6.2.2 Temperatura

Definida como la magnitud del nivel de energía de los equipos y materiales involucrados en las diversas operaciones unitarias (Geankoplis, 2006). Es crítica desde los procesos posteriores a la pasteurización, no sólo por inocuidad sino por todos los procesos biológicos involucrados. Estos procesos involucran la formación de las colonias bacterianas, la desnaturalización proteínica, la estabilidad de los componentes, entre otros. Esta variable está ligada con el tiempo, pues los procesos requieren agregar o disminuir su energía en intervalos de tiempo específico (Ramírez-Navas, 2012). Los intervalos de temperatura dependen de cada operación unitaria y microorganismos involucrados.

6.2.3 pH y acidez como ácido láctico

El pH se define como una medida de la concentración de iones H^+ en una solución no ideal (Chang y Goldsby, 2013). Dicho factor controla los procesos de coagulación, la actividad enzimática, el desarrollo de bacterias y la reacción del indicador de coloración (Bustamante *et al.*, 2009). La acidez como ácido láctico se refiere al resultado de pruebas de titulación que pueden indicar bacterias que aumenten el pH. Así, se expresa como % de ácido láctico/100 g de producto, se calcula mediante la ecuación 1:

$$W = \frac{V \times 0.9}{m}$$

Ecuación 1. Acidez titlable como ácido láctico

Fuente: Tomado de (Bustamante *et al.*, 2009).

Donde V es el volumen en mL de la solución de NaOH usada en la titulación. m corresponde a la masa en g de la muestra para ensayo. N representa el volumen de la muestra en cm^3 , y 0.9 es la equivalencia en ácido láctico. La toma de muestras adecuada para pruebas está explicada en la NTC 666 (ICONTEC, 1996). En la misma norma puede observarse los métodos de preparación de la muestra, el procedimiento y la expresión de

resultados. A nivel normativo, las bebidas lácteas fermentadas no deben exceder 0,60 % m/m ácido láctico (ICONTEC, 2006).

6.2.4 Intercambio gaseoso

El dióxido de carbono y el oxígeno son limitantes en el proceso de fermentación a gran escala. El oxígeno consiste en el sustrato gaseoso más importante, y el dióxido de carbono su producto gaseoso más importante. Debido a los componentes del cultivo, el contenido máximo de O₂ es más bajo que en el agua pura. La concentración de este gas en una solución saturada contiene aproximadamente 9 mg/l. Su suministro se logra suministrando aire en el fermentador durante el proceso. Por medio de la ley de Henry se puede describir la solubilidad del oxígeno en soluciones de nutrientes. Esto se relaciona con la presión parcial del oxígeno en la fase gaseosa, así:

$$C = \frac{P_0}{H}$$

Ecuación 2. Concentración de O₂ en solución de nutrientes

Fuente: Tomado de (Berlitz, et al. 2009).

Donde C representa la concentración de O₂ de la solución de nutrientes a saturación. P₀ consiste en la presión parcial del gas en la fase gaseosa. Por último, H representa la constante de Henry, específica para cada tipo de gas. A medida que aumenta la concentración de O₂ en la fase gaseosa, aumenta la proporción de O₂ en la solución de nutrientes. Por lo tanto, la concentración más alta de O₂ se consigue con aireación de oxígeno puro. Comparado con el valor obtenido al utilizar aire, en agua se disuelven 43 mg O₂/l cuando se utiliza oxígeno puro. Además, a medida que aumenta la temperatura descende la solubilidad del oxígeno (Berlitz *et al.*, 2009).

Una vez disuelto, el O₂ tiene que transferirse desde la burbuja de gas a cada célula individual. Para ello deben superarse varias resistencias parcialmente independientes: a) La resistencia dentro de la película de gas a la interfase. b) La penetración de la interfase entre la burbuja de gas y el líquido. c) Transferencia desde la interfase al líquido. d) Movimientos dentro de la solución de nutrientes. e) Transferencia a la superficie de la célula. La influencia del tipo de resistencia depende del tipo de fermentación realizada. Cuando se realiza con organismos multicelulares, cobra importancia la interfase entre la burbuja de gas y líquido. Las células próximas a la burbuja gaseosa pueden absorber directamente el O₂ aumentando la transferencia. La transferencia de gas es limitada al formarse las colonias bacterianas o el micelio, dependiendo del microorganismo.

Por último, se utiliza la concentración crítica de oxígeno como valor de la velocidad específica de absorción. Esto indica la respiración sin ningún tipo de impedimentos, y tiene valores concretos para cada microorganismo. Oscila de forma general entre el 5-25% de los valores de saturación de oxígeno en los cultivos (Mateos, 2000).

6.2.5 Variables biológicas: Microorganismos probióticos

En la Tabla 11 se presentan productos comerciales con microorganismos probióticos. Las combinaciones presentadas podrían servir en los productos.

Tabla 11. Combinaciones de probióticos en algunos productos comerciales para investigar en la incorporación en bebidas de LS fermentado

Nombre producto	Presentación	Especies/ UFC*
+Defens	10 viales	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>L. rhamnosus</i> (7*10 ⁸ UFC/ vial - 3.5*10 ⁸ UFC/ vial en la presentación para niños)
Floramax 6000	10 viales de 10 mL	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>B. bifidus</i> , <i>B. longum</i> , <i>S. thermophilus</i> , <i>S. faecium</i> (6*10 ⁹ UFC/ vial)
Immunilflor	12 viales	<i>L. casei</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>S. thermophilus</i> (2*10 ⁹ UFC/ vial)
Lactoflora protector intestinal niños	5 viales sabor a fresa	<i>B. lactis</i> BI-04, <i>L. acidophilus</i> La-14, <i>L. plantarum</i> Lp115, <i>L. paracasei</i> Lpc37 (25*10 ⁹ UFC/ vial- 1*10 ¹¹ UFC/ vial en la presentación para adultos)
Enterum	10 frascos	<i>Bacillus coagulans</i> , esporas vivas (2*10 ⁹ UFC/frasco)
Immunilflor junior	Jarabe 200 mL	<i>L. casei</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>S. thermophilus</i> (1*10 ⁹ unidades/200ml)
Microflorana	500 o 150 mL	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. helveticus</i> , <i>Bifidobacterium</i> sp. (6,4*10 ⁹ UFC/100ml)
Reuterin	Gotas 5 mL	<i>L. reuteri</i> sp. <i>protectis</i> (20*10 ⁶ UFC/gota)
Rotagermine	10 frascos 8 ml	<i>L. rhamnosus</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>S. thermophilus</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>L. bulgaricus</i> (3,5*10 ⁹ UFC/ frasco)
Arkoprobiotics flora y bienestar intestinal	Sobres	<i>L. acidophilus</i> La-14, <i>L. plantarum</i> Lp-115, <i>L. paracasei</i> Lpc-37, <i>L. rhamnosus</i> (5*10 ¹⁰ UFC/ sobre)
Axiboulardi junior	Sobres	<i>S. boulardii</i> I-3799 (5*10 ⁹ UFC/sobre)
Axiboulardi junior	Sobres de 1.5 g	<i>L. casei</i> LC-1, <i>B. lactis</i> BI-04 (1*10 ⁹ UFC/ sobre)
Bacilac infantil	Sobres	<i>L. rhamnosus</i> GG <i>B. lactis</i> Bb-12 (3,3*10 ⁹ UFC/sobre)
Bivos	10 minisobres 1.5 g	<i>L. rhamnosus</i> GG (6*10 ⁹ UFC/sobre)
Dieta viva lactuline	15 sobres de 30 g	<i>Lactobacillus</i> sp, <i>Bifidobacterium</i> sp. (12*10 ⁷ UFC/g)
Dasym pascoe®	50 sobres de 2 g	<i>L. acidophilus</i> , <i>B. bifidum</i> KBE (2*10 ⁷ UFC/ sobre)
Don regulo vientre plano	10 sobres de 5 g	<i>S. thermophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>B. longum</i> , <i>L. rhamnosus</i> (2*10 ⁸ UFC/ sobre)
Ergyphilus niños	14 sobres	<i>L. rhamnosus</i> GG, <i>L. fermentum</i> , <i>B. infantis</i> (3*10 ⁹ UFC/sobre)
FOS Complex	250 g	<i>L. bulgaricus</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>S. thermophilus</i> , <i>B. bifidum</i> (2,25*10 ⁵ UFC/ 250 g)
Kaleidon 60	12 sobres	<i>L. rhamnosus</i> GG (3*10 ⁹ UFC/sobre)
Ineldea pediakid probioticos 5m flora intestinal	10 sobres	<i>B. lactis</i> (5*10 ⁹ UFC/sobre)
Kallergen TH	30 sobres	<i>B. lactis</i> BS0, <i>L. rhamnosus</i> LR05 (2*10 ⁹ UFC/sobre)
Lactibiane enfant pileje	Sobres 1 g	<i>B. longum</i> LA 101, <i>L. acidophilus</i> LA 102, <i>Lactococcus lactis</i> LA 103, <i>S. thermophilus</i> LA 104, <i>L. rhamnosus</i> GG LA 801. (4*10 ⁹ UFC/sobre)
Lactibiane iki pileje	30 sobres	<i>B. lactis</i> LA 304, <i>L. acidophilus</i> LA 201 <i>L. salivarius</i> LA 302 (4*10 ¹⁰

Nombre producto	Presentación	Especies/ UFC*
Lactibiane reference pileje	30 sobres 2,5 g	UFC/sobre) <i>B. longum</i> LA 101, <i>L. acidophilus</i> LA102, <i>Lactococcus lactis</i> LA 103, <i>S.thermophilus</i> LA 104 (1*10 ¹⁰ UFC/ sobre)
Lactibiane tolerance pileje	30 sobres 2,5 g	<i>B. longum</i> LA 101, <i>L. acidophilus</i> LA 102, <i>Lactococcus lactis</i> LA 103, <i>S. thermophilus</i> LA 104, <i>L. rhamnosus</i> GG LA 801 (1*10 ¹⁰ UFC/ sobre)
Lactiflor + kids	10 sobres	<i>L. helveticus</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>B. infantis</i> , <i>B. longum</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>S. thermophilus</i> (1*10 ⁹ UFC/sobre)
Laviprobiotic	14 sobres	<i>B. infantis</i> , <i>B. lactis</i> , <i>B. longum</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Lactococcus lactis</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. plantarum</i> y <i>L. salivarius</i> (MEGAFLORA 9®) (1*10 ⁹ UFC/g)
Neo-lactofilus juven-tus	10 sobres 2 g	<i>L. acidophilus</i> R0052 (8*10 ⁸ UFC/sobre)
Pegastress	18 sobres 1,5 g	<i>L. helveticus</i> , <i>B. longum</i> . (3*10 ⁹ UFC/sobre)
Vitanatur simbiotics L	14 sobres 2,5 g	<i>B. lactis</i> Nizo 3680, <i>B. lactis</i> Nizo 3882, <i>B. animalis</i> Nizo 3884, <i>E. faecium</i> Nizo 3886, <i>L. faecium</i> Nizo 3891, <i>L. acidophilus</i> Nizo 3887, <i>L. casei</i> Nizo 3889, <i>L. plantarum</i> Nizo 3673, <i>L. rhamnosus</i> Nizo 3689, <i>L. salivarius</i> Nizo 3675 (1*10 ⁹ UFC/g)
Yobalex digestive balance polvo oral	30 sobres por dosis	<i>L. gasseri</i> K5, <i>B. bifidum</i> G9-1, <i>B. longum</i> MM-2 (1*10 ⁹ UFC/sobre o dosis)
Casenbiotic	10 sobres 4 g	<i>L. reuteri</i> (1*10 ⁸ UFC/sobre)

*UFC: Unidades formadoras de colonias. Tomado de (Sánchez, Ruiz y Morales, 2014)

Como se observó en la sección 4.1. Descripción de Procesos, dichos cultivos probióticos pueden añadirse previo o posterior a la fermentación de LS. Esta adición dependerá de las características de proceso de cada cepa.

6.2.6 Productos metabólicos

En la fermentación de LS pueden producirse componentes que inhiben el crecimiento de microorganismos funcionales. El sustrato que mejor funciona para la obtención de los siguientes compuestos consiste en LS permeado. En primer lugar, se tiene ácido propiónico, que es un conservante de alimentos. Se puede producir si se utiliza *Propionibacterium acidi*, con condiciones de pH 6.5 y 30°C en un biorreactor continuo de tanque agitado. Puede producirse etanol, sustancia antimicrobiana, como se observó en 2.3.1. Bebidas alcohólicas. Como microorganismos productores de alcoholes, se pueden utilizar: *Candida pseudotropicalis*, *E. coli*, *K. marxianus*, *K. fragilis*, *K. bulgaricus*, *K. lactis*, *L. delbrueckii ssp. Bulgaricus*, *S. cerevisiae* con o sin mutaciones, y *Zymomonas mobilis* (Jenq *et al.*, 1989. Kourkoutas *et al.*, 2002. Leite *et al.*, 2000, Mahmoud y Kosikowski, 1982. Rapin *et al.*, 1994. Shene y Bravo, 2007. Silveira *et al.*, 2005. Staniszewski, Kujawski y Lewandowska, 2007. Terrell *et al.*, 1984). La producción de etanol dependerá de las condiciones de cada cepa y sus interacciones. En términos generales se encuentran en rangos de 30-35°C; pH 4,5-5,5; concentración de lactosa entre 40-120 g/l. Además, mínimas concentraciones de O₂ y una correcta relación entre concentración inicial de M.O. y de lactosa (Ramírez-Navas, 2012). Otras sustancias antimicrobiana consiste en bacteriocinas, obtenidas con *Bacillus licheniformis* a pH inicial

entre 6,5 y 7,5 y temperatura entre 26 y 37 ° C (Cladera-Olivera, Caron y Brandelli, 2004). Por último, a partir de *Lactococcus lactis* puede obtenerse nisina, antibiótico, con un pH de 5,5 y 31 °C (Liu *et al.*, 2005).

6.3 FORMULACIONES

En la Tabla 12 se expone una recopilación de diversas formulaciones de bebidas funcionales con LS fermentado.

Tabla 12. Algunas formulaciones de LS fermentado

Identificador	Formulación	Condiciones generales	Fuente
Bebida funcional de LS fermentado, fortificada con isoflavonas de soya y fito-esteroles	Agua destilada, LS dulce en polvo desmineralizado 70%, <i>L. acidophilus</i> LA-5, <i>L. casei</i> LBC-81, estabilizante (mezcla de κ-carragenina y goma xantán, 70:30), sacarosa 5% p/v, isoflavonas de soya y fitosteroles	Pasteurización 85 °C/ 15 min., fermentación a 37 °C por 18 h, refrigeración a 4 °C por 28 días	(Seyhan, Yaman y Özer, 2016)
Bebida probiótica de LS fermentado con base en kéfir	Agua destilada, suero en polvo dulce desproteinizado o nominal (46 g/l), gránulos de kéfir	Pasteurización 115 °C/ 10 min, fermentación a 25 °C por 48 h	(Magalhães <i>et al.</i> , 2011)
Bebida probiótica con base en LS fermentado	Agua destilada, suero en polvo dulce desmineralizado, <i>S. thermophilus</i> CRL 804 y <i>L. delbrueckii</i> sp. <i>bulgaricus</i> CRL 454	Pasteurización 80 °C/ 30 min., fermentación a 37 °C por 24 h	(Pescuma <i>et al.</i> 2008)
Bebida funcional hipoalérgica con base en LS fermentado	Agua destilada, LS concentrado con 35% de proteína y bajo contenido de β-lactoglobulina, jugo de durazno, lactato cálcico 28x. <i>S. thermophilus</i> CRL 804, <i>L. delbrueckii</i> sp. <i>bulgaricus</i> CRL 656 y <i>L. acidophilus</i> CRL 636	Tratamiento térmico 116 °C/20 min., fermentación a 37 °C por 24 h	(Pescuma <i>et al.</i> 2010)
Bebida antioxidante de jugo de manzana y LS fermentado por kéfir	Mezcla de jugo concentrado de manzana y LS dulce a 14° brix, granos de kéfir (7.56% p/v)	Pasteurización de la mezcla de jugo y LS a 60°C por 30 minutos, fermentación a 24.82 °C por 48 h	(Sabokbar, Khodaiyan y Moosavi, 2015)
Bebida funcional a partir de jugo de granada, LS y kéfir	Mezcla de jugo concentrado de manzana y LS dulce a 14° brix, granos de kéfir (8 % p/v)	Pasteurización de la mezcla de jugo y LS a 60°C por 30 minutos, fermentación a 24.82 °C por 32 h	(Sabokbar y Khodaiyan, 2015b)
Bebida probiótica de LS ácido	Agua destilada, LS en polvo, LS ácido, leche UHT 3.2% de grasa, <i>L. acidophilus</i> La-5 y <i>B. animalis</i> Bb-12	Pasteurización de la mezcla 72 °C por 15 minutos, fermentación a 42 °C por 5 horas	(Skryplonek y Jasińska, 2015)
Bebida funcional de LS fermentado con avena	Agua destilada, LS dulce, avena tradicional molida 7 g/l, goma guar 0.35% de LS, aspartame 0,39 g/l, <i>L. casei</i> CCIA-B-13 y <i>L. acidophilus</i> CCIA-B-5, emulsión de naranja como aromatizante		(Arazo <i>et al.</i> , 2013)
Bebida funcional de LS fermentado con alto contenido de proteínas	Agua estéril, LS dulce en polvo (80% de proteínas), leche en polvo descremada, azúcar, <i>L. plantarum</i> DK211, <i>L. helveticus</i> LH 166, <i>L. plantarum</i> LP-5, <i>S. thermophilus</i> y <i>L. lactis</i> R704	Homogenización a 10000 RPM. Tratamiento térmico a 70 °C por 30 minutos. Enfriamiento a 40 °C. Inoculación a tasa de 20	(Cho <i>et al.</i> , 2015)

Identificador	Formulación	Condiciones generales	Fuente
		ml/l (10^8 UFC/ml). Fermentación a 37 °C por 10 h	
Bebida probiótica de LS fermentado	LS dulce, leche en polvo descremada, azúcar, <i>S. salivarius</i> sp. <i>thermophilus</i> y <i>L. casei</i> sp. <i>casei</i> .	Pasteurización 63 °C por 30 minutos. Enfriamiento entre 40 y 43 °C, fermentación a igual temperatura por 3 h.	(Marulanda., 2012)
Bebida funcional con base en LS probiótica enriquecida con prebiótico	LS dulce, leche descremada, azúcar, fructoligosacáridos (Nutra Flora P-95) <i>S. thermophilus</i> , <i>L. delbrueckii</i> sp. <i>bulgaricus</i> , <i>B. y L. acidophilus</i> , estabilizante	Tratamiento térmico a 85 °C por 20 minutos, enfriamiento a 42 °C, fermentación hasta alcanzar pH de 4.7-4.8. Almacenamiento a 5 °C	(Gianetti-Thamer y Barretto-Penna, 2006)
Bebida fermentada funcional de LS con maracuyá	Suero de queso fresco entero; crema de leche al 65% de materia grasa; cultivo probiótico: <i>L. casei</i> ; cultivos: <i>L. delbrueckii</i> sp. <i>bulgaricus</i> y <i>S. salivarius</i> sp. <i>thermophilus</i> ; sacarosa; jarabe de azúcar invertido; pulpa de maracuyá; carboxi-metil-celulosa (CMC)		(Londoño <i>et al.</i> , 2008)

6.4 PARÁMETROS DE CONTROL

Como parámetros de control en un proceso de fermentación pueden tenerse, entre otros, los siguientes:

- Tiempo.
- Temperatura.
- Aireación.
- Nutrientes y activadores.
- Grados Brix.
- pH.
- Acidez.
- Porcentaje de sólidos totales.
- Porcentaje de producto obtenido/Volumen de población.
- Porcentaje de reproducción
- Porcentaje de células muertas.
- Concentración inicial o final de azúcar, lactosa, glucosa o fuente de carbono dada para crecimiento celular.
- Porcentaje de producción de metabolitos de interés discriminados o en conjunto.
- Aspectos sensoriales y de congéneres de la bebida a producir (Guevara-Carmona, 2003).

6.5 MODIFICACIÓN DE LAS BEBIDAS FUNCIONALES DE LS POR VARIABLES DE PROCESO

A pesar de la información recopilada, no se encontraron artículos en los cuales se variaron condiciones de proceso. En las fuentes citadas, los autores reprodujeron condiciones según las cuales las cepas involucradas ofrecieron resultados. No obstante, es probable que dichos trabajos existan pero no fueron encontrados en las fuentes consultadas. Asimismo, las

fuentes consultadas estuvieron en inglés y español, y fueron mayoritariamente artículos de revistas. Todo lo anterior restringió la información específica que permitiría determinar la modificación de aspectos en los productos dados.

7 EVALUACIÓN CRÍTICA

Como materia prima, el LS sirve como sustrato para la fermentación láctica, sea en lotes o continua. También posee nutrientes funcionales y prebióticos dentro de sus carbohidratos, lípidos y proteínas. Más aún, puede utilizarse como sustrato de microorganismos probióticos e incrementar sus propiedades funcionales. Las fermentaciones pueden ser alcohólicas o lácticas, dependiendo de la cepa bacteriana o la levadura utilizada. También se pueden utilizar cepas modificadas genéticamente, lo cual incrementa la versatilidad de la fermentación. No obstante, no se encontraron trabajos donde se utilizaran procesos de fermentación continua, sólo se trabajó por lotes. Esto puede ser reflejo en el proceso de fabricación del queso, el cual es generalmente discontinuo.

Los procesos para producir las bebidas fermentadas de LS son similares en su concepción, difiriendo en condiciones dependiendo de las cepas involucradas y los productos deseados. Por tanto, puede ser difícil crear formulaciones generalizadas, como puede ocurrir con otros productos fermentados. También se puede dificultar hallar rangos de valores de variables generales, pues los microorganismos involucrados no se multiplican en condiciones iguales.

Asimismo, existe diversidad en las formulaciones donde se utilizan parte de estos microorganismos, pero aún puede calificarse de incipiente. Esto debido al número relativamente pequeño de trabajos encontrados. Tampoco se encontraron trabajos donde se evaluara el análisis económico de la elaboración de estas bebidas fermentadas. Esto con el fin de comprobar una hipotética rentabilidad de esta aplicación, y alentar estos estudios a nivel de cooperación academia-industria. Además, se podría optimizar procesos en empresas queseras donde ls sea subutilizado, si el análisis económico lo permite.

Todo lo anterior son hipótesis que podrían ser susceptibles de investigaciones a nivel de pregrado y posgrado para la región.

8 CONCLUSIONES

- A nivel académico, la elaboración de bebidas de LS en general es un campo de investigación activo y reciente, en términos generales. Además, puede ofrecer oportunidades para la elaboración de futuros proyectos de investigación y desarrollos de productos.
- Existen diversas metodologías, formulaciones e ingredientes para obtener bebidas fermentadas funcionales con LS. Sin embargo, se deben tener en cuenta muchos aspectos que pueden influir en la elaboración. Entre ellos el tipo de cepa, los sinergismos o antagonismos entre distintas cepas, la normatividad. También la inocuidad de las materias primas, el pH, la temperatura, el contenido y tipo de sólidos y la concentración de UFC del inóculo.
- No se encontró información sobre modificaciones en las bebidas probióticas a través de las variables de proceso. Sólo se encontraron formulaciones más no cambios en las variables y su impacto en las bebidas.

9 RECOMENDACIONES

- Según los estudios analizados, gran parte de los procesos se realizan por lotes y a nivel de laboratorio. Por lo tanto, pueden investigarse a nivel de fermentación continua, por lote alimentado y por inmovilización para pruebas piloto.
- Variables de transferencia de masa, momento y calor, y demás condiciones de proceso son susceptibles de investigación. Esto aplica para las cepas individuales o mezclas, operaciones unitarias y materias primas involucradas.
- Los beneficios prebióticos y probióticos de las bebidas fermentadas de LS deben ser investigados en estudios de vida útil y biodisponibilidad. Esto con el fin de verificar si los componentes funcionales siguen siendo biológicamente activos tanto a lo largo de la vida útil del producto como en la ingesta y la respuesta metabólica.
- Las modificaciones en variables de proceso pueden ser investigadas, con respecto a su impacto en las bebidas probióticas de LS fermentado.

- Apoyar procesos de práctica e investigación de pregrado de la producción de bebidas funcionales fermentadas en microempresas locales de producción de quesos locales. Esto con el fin de fomentar la creación de empleos y el fortalecimiento de las relaciones Universidad Pública-Mipymes, pues siendo el único Programa de Ingeniería de Alimentos del departamento también cumple una función social.

10 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Akahoshi, R., Kuma, Y., Miyagi, A. y Mizobuchi, T. (1999). *Lactic acid fermented food and method of manufacturing the same US 4970083* A. Estados Unidos de América. Recuperado de <http://www.google.ch/patents/US4970083>.
2. Araujo, K., Romero, A., Chirinos, P., Paéz, G., Mármol, Z. y Rincón, M. (2015). Producción de etanol a partir de suero de leche en cultivo por lote alimentado con ciclos repetidos. *Interciencia*, 40(5): 305-310.
3. Araújo-Guerra, A., Monsalve-Castro, L. y Quintero-Tovar, A. (2013). Aprovechamiento del lactosuero como fuente de energía nutricional para minimizar el problema de contaminación ambiental. *revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 4(2), 55-65.
4. Arazo, M., Hernández, A., Rodríguez, D., Alejo, Yeliet y Duarte, C. (2013). Elaboración de una bebida de lactosuero fermentada con cultivos probióticos. *Ciencia y tecnología de alimentos*, 23(2), 68-71.
5. Asociación Europea del Aluminio (2017). “El aluminio”. Recuperado de: <http://www.aluportal.com/aluminio.php>.
6. Bacilio-Loo, E. (2015). *Automatización de líneas de pasteurización, siembra y cultivo de fermentos para la fabricación de yogurt firme*. Tesis de grado de Magíster en Ingeniería de automatización e informática industrial. Universidad de Oviedo, Principado de Asturias, España.
7. Barón, M. (2010). *Desarrollo de bebidas lácteas funcionales con énfasis en ácido linoleico conjugado (CLA)*. Tesis de grado de Magíster en Ingeniería Química. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia.
8. Barón, M., Godoy, R y Gutiérrez, L. (2010). *Capítulo III: Efecto de las condiciones de operación en el perfil de ácidos grasos en yogur*. En “Seminario lípidos funcionales en derivados lácteos Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA) Universidad Nacional de Colombia”. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
9. Berlitz, H., Grosch, W. y Schieberle, P. (2009). *Food chemistry 4th revised and extended edition*, Berlín, Alemania, Springer- Verlag Berlin Heidelberg.
10. Bingham, E., Cohrssen, B., Powell, C. (2001). *Patty's Toxicology Volumes 1-9*. 5a. ed. John Wiley & Sons. New York. Pág. 742.
11. Brandao, M., De Carvalho, V. y Bell, M. (2016). Time resolved fluorescence of cow and goat milk powder. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 171, 193-199.
12. Bulatović, M., Rakin, M., Mojović, L., Nikolić, S., Sekulić, M. y Vuković, A. (2012). Selection of Lactobacillus strains for functional whey-based beverage production. *Journal of Food Science and Engineering*, 2, 705-711.

13. Bungay, H., Tsao, G. y Humphrey, A. (1999). Sección 27: Ingeniería bioquímica. En: Perry, R. Green, D. y Maleney, J. (1999) *Manual del ingeniero químico de Perry*. Tomo V. 6ª edición. Editorial Mc Graw-Hill. Barcelona, España.
14. Bustamante, A., Murillo, N., Ayala, A. y Casas, J. (2009). Estrategia didáctica para el aprendizaje de los conceptos de pH, efecto buffer y capacidad amortiguadora a partir del estudio de bebidas no alcohólicas. *Umbral Científico*, 14, 181-192.
15. Cardona-Echavarría, A., Mora-Martínez, A. y Marín-Montoya, M. (2013). Identificación molecular de bacterias productoras de polihidroxialcanoatos en subproductos de lácteos y caña de azúcar. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 66(2), 7129-7140.
16. Chang, R. y Goldsby, K. (2013). *Química general*. 11ª edición. Editorial McGraw-Hill. México D.F., México.
17. Charris-Oeding, M. y Rois-Romero, R. (2001). *Elaboración de una bebida láctea fermentada y saborizada a partir del suero obtenido como subproducto de la elaboración de mantequilla* (Proyecto de pregrado para obtener el título de ingenieros en producción agroindustrial). Universidad de La Sabana, Bogotá.
18. Cho, Y., Shin, I., Hong, S. y Kim, C. (2015). Production of Functional High-protein Beverage Fermented with Lactic Acid Bacteria Isolated from Korean Traditional Fermented Food. *Korean journal for food science of animal resources*, 35 (2), 189-196.
19. Cladera-Olivera, F., Caron, G. y Brandelli, A. (2004) Bacteriocin production by *Bacillus licheniformis* strain P40 in cheese whey using response surface methodology. *Biochemical Engineering Journal*, 21(1), 53-58.
20. Clément, M., Tremblay, J., Lange, M., Thibodeau, J. y Belhumeur, P. (2008). Purification and identification of bovine cheese whey fatty acids exhibiting in vitro antifungal activity. *Journal of Dairy Science*, 91(7), 2535-2544.
21. Connor, W. (2000). Importance of n-3 fatty acids in health and disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71 (1), 171S-175S.
22. Corzo, N., Alonso, J., Azpiroz, J., Calvo, M., Cirici, M., Leis, R., Lombó, F., Mateos-Aparicio I., Plou, F., Ruas-Madiedo, P. Rúperez, P., Redondo-Cuenca, R., Sanz, M. y Clemente, A. (2015). Prebióticos; concepto, propiedades y efectos beneficiosos. *Nutrición hospitalaria*, 31(1), 99-1118.
23. Cury-Regino, K., Arteaga-Márquez, M., Martínez-Flórez, G., Luján-Rhenals, D. y Durango-Villadiego, A. (2014). Evaluación de la fermentación del lactosuero ácido (entero y desproteinizado) utilizando *Lactobacillus casei*. *Colombia Biotecnológica*, 16(1), 137-145.
24. Dabadie, H., Peuchant, E., Bernard, M., LeRuyet, P. y Mendy, F. (2005). Moderate intake of myristic acid in sn-2 position has beneficial lipidic effects and enhances DHA of cholesteryl esters in an interventional study. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 16(6), 375-382.

25. DANE (2017a). Boletín técnico. Estadísticas vitales: Cifras preliminares 2014p - 2015p. Bogotá, Colombia.
26. DANE (2017b). Contador de población. Colombia: Departamento Administrativo Nacional de Estadística. Recuperado de http://www.dane.gov.co/reloj/reloj_animado.php.
27. Dawson, P., Carl, G., Acton, J. y Han, I. (2002). Effect of lauric acid and nisin-impregnated soy-based films on the growth of *Listeria monocytogenes* on turkey bologna. *Poultry Science*, 81(5), 721-726.
28. Domingues, L., Lima, N., y Teixeira, J. (2001). Alcohol production from cheese whey permeate using genetically modified flocculent yeast cells. *Biotechnology and Bioengineering*, 72, 507-514.
29. Dragone, G., Mussatto, S., Oliveira, J. y Teixeira, J. (2009). Characterization of volatile compounds in an alcoholic beverage produced by whey fermentation. *Food Chemistry*, 112(4), 929-935.
30. FAO y OMS. (2003). Organización Mundial de la Salud y Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Serie de informes técnicos, 916: Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas. Ginebra, Suiza.
31. FAO y OMS (2011). *Codex alimentarius mundi. Leches y productos lácteos*. 2ª edición. División de comunicación FAO. Roma, Italia.
32. FEDEGAN (2015). “¿Cómo está el consumo de quesos en Colombia?”. *Contexto Ganadero*. Federación Nacional Colombiana de Ganaderos. Recuperado de <http://www.contextoganadero.com/ganaderia-sostenible/como-esta-el-consumo-de-quesos-en-colombia>.
33. Fennema, O. y Tannenbaum, S. (2000). *Química de los alimentos*. 2ª edición. Editorial Acribia. Zaragoza, España.
34. Fitzgerald, R. y Meisel, H. (2003). Milk protein hydrolysates and bioactive peptides. *Advanced dairy chemistry: Proteins*. 3a. edición. Vol. 1, 675-698.
35. Galdámez-Gutiérrez, K., Gamboa-Coronel, M., Márquez-Montes, R., Noel-Ballinas, M., Gómez, López-Zúñiga, E. y Vela-Gutiérrez, G. (2009). “Elaboración y evaluación sensorial de galletas enriquecidas con harina de lactosuero”. *Revista de Ciencias de la Universidad de Ciencias y Artes y Chiapas. UNICACH*, 3(2), 23-28.
36. Garibay, M., Ramírez, R. y Canales, A. (2004). *Biotecnología alimentaria*. 5ª edición. Limusa Noriega Editores. México D.F.
37. García, C., Arrázola, G. y Villalba, M. (2013). Producción de ácido láctico de lactosuero suplementado utilizando *Lactobacillus casei*. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 11(1), 136-143.
38. Geankoplis, C. (2006). *Procesos de transporte y principios de procesos de separación*. 4ª edición. Editorial Continental. México D.F.

39. Giacopini, M. y Bosch, V. (2008). Efecto de dietas con aceites de palma, girasol o pescado sobre la susceptibilidad a la oxidación de las lipoproteínas LDL-HDL del plasma de la rata. *Anales Venezolanos de Nutrición*, 21(1), 20-24.
40. Gianetti-Thamer, K. y Barretto- Penna, A. (2006). Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. *Ciência e tecnologia alimentar*, 26 (3), 589-595.
41. Gibson, G., Probert, H., Loo, J., Rastall, R. y Roberfroid, M. (2004). Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research. Reviews*, 17(2) 259-275.
42. Google (2017). Búsqueda del término *fermented whey beverages* para patentes. Recuperado de <https://patents.google.com/?q=fermented&q=whey&q=beverages>.
43. Grupo INGCO (2017). VirtualPlant (2.0). Módulo de lácteos-yogur. Disponible en: <http://virtualplant.net/vptd/main/main.php#>.
44. Guevara-Carmona, M. (2003). “*Establecimiento de variables críticas, parámetros de control y análisis en los procesos productivos de la Industria Licorera de Caldas*” (Proyecto de grado para obtener el título de ingeniera en alimentos). Universidad Nacional de Colombia, Manizales, Colombia.
45. Guimarães, P., Teixeira, J., y Domingues, L. (2010). Fermentation of lactose to bio-ethanol by yeasts as part of integrated solutions for the valorisation of cheese whey. *Biotechnology Advances*, 28(3), 375-384.
46. Hernández, H. (1999). Elaboración de yogur a pequeña escala en el hogar. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*, 12(1), 55-57.
47. Hernández, J., García, F., Reyes, V., Marmolejo-Santillán, Y. y Méndez-Marzo, M. (2012). Caracterización fisicoquímica de un lactosuero: potencialidad de recuperación de fósforo. *Acta Universitaria*, 22(1), 11-18.
48. Ibañez, R. (2007). Estudio de la ultrafiltración de proteínas modelo con membranas cerámicas. Tesis de Tesis de Doctorado. Universidad de Granada, Granada, España.
49. ICBF. (2010). Instituto Colombiano de Bienestar Familiar. Encuesta Nacional de la Situación Nutricional en Colombia, ENSIN 2010. Bogotá, Colombia.
50. ICONTEC (1996). Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. Norma Técnica Colombiana 666: “Leche y productos lácteos. Toma de muestras (método de referencia)”. Segunda actualización. Bogotá, Colombia.
51. ICONTEC (2006). Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. Norma Técnica Colombiana 805: “Productos lácteos. Leches fermentadas”. Cuarta actualización. Bogotá, Colombia.
52. Jaimes-Duque, S. (2015). *Efecto de estabilizantes en las propiedades físicas y parámetros de calidad de helado* (Proyecto de grado para obtener el título de ingeniero de alimentos). Universidad del Valle, Cali, Colombia.

53. Jeličić, I., Božanić, R. y Tratnik, L. (2008). Whey-based beverages- a new generation of dairy products. *Mljekarstvo* ("Láctea" en croata), 58 (3) 257-274.
54. Jenq, W., Speckman, R., Crang, R. y Steinberg, M. (1989). Enhanced conversion of lactose to glycerol by *Kluyveromyces fragilis* utilizing whey permeate as a substrate. *Applied and Environmental Microbiology*, 55(3), 573-578.
55. Kang, J. y Leaf, A. (2000). Prevention of fatal cardiac arrhythmias by polyunsaturated fatty acids. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71, 202S-207S.
56. Koba, K. y Yanagita, T. (2014). Health benefits of conjugated linoleic acid (CLA). *Obesity research & clinical practice*, 8(6), e525–e532.
57. Korhonen, H. y Pihlanto, A. (2003). Bioactive peptides: new challenges and opportunities for the dairy industry. *Australian Journal of Dairy Technology*, 5, 129-134.
58. Kourkuotas, Y., Dimitropoulou, S., Kanellaki, M., Marchant, R., Nigam, P., Banat, I. y Koutinas, A. (2002). High temperature alcoholic fermentation of whey using *Kluyveromyces marxianus* IMB3 yeast immobilized on delignified cellulosic material. *Bioresource Technology*. 82, 177-181.
59. Koutinas, A., Athanasiadis, I., Bekatorou, A., Psarianos, C., Kanellaki, M., Agouridis, N., y Blekas, G. (2007). Kefir-yeast technology: Industrial scale-up of alcoholic fermentation of whey, promoted by raisin extracts, using kefir-yeast granular biomass. *Enzyme and Microbial Technology*, 41(5), 576-582.
60. Kris-Etherton, P., Zhao, G. y Etherton, T. (2000). Individual fatty acids and esterification effects on blood lipids. *International Dairy Federation Bulletin*, 353, 26-30.
61. Kris-Etherton, P., Harris, W., y Appel, L. (2002). Fish Consumption, Fish Oil, Omega-3 Fatty Acids, and Cardiovascular Disease. *Circulation*, 106(21), 2747-2757.
62. Kuang, C. (2008). *Fatty acids in foods and their health implications*. 3rd Edition, 1069-1077.
63. La Opinión. (2015). Colombianos, en el segundo lugar del consumo de lácteos. Reportaje de la sección "Economía" del 9 Febrero 2017. Recuperado de <https://www.laopinion.com.co/economia/colombianos-en-el-segundo-lugar-del-consumo-de-lacteos-127691#OP>.
64. Leite, A., Vieira-Guimarães, W., Fernandes de Araújo, E. y Silva, D. (2000). Fermentation of sweet whey by recombinant *Escherichia coli* K011. *Brazilian Journal of Microbiology*, 31(3), 212-215.
65. Liu, C., Liu, Y., Liao, W., Wen, Z. y Chen, S. (2005). Simultaneous production of nisin and lactic acid from cheese whey: optimization of fermentation conditions through statistically based experimental designs. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 114(1), 627-638.
66. Londoño, M., Sepúlveda, J., Hernández, A. y Parra, J. (2008). Bebida fermentada de suero de queso fresco inoculada con *Lactobacillus casei*. *Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional sede Medellín*, 61(1), 4409-4421.

67. López-Ríos, C., Zuluaga-Meneses, A., Herrera-Penagos, S., Ruiz-Colorado, A. Y Medina-DePérez, V. (2006). Producción de ácido cítrico con *Aspergillus niger* NRRL 2270 a partir de suero de leche. *Dyna*, 150(1), 39-57.
68. Macedo, M., Lacroix, C., Gardner, N. y Champagne, C. (2002). Effect of medium supplementation on exopolysaccharide production by *Lactobacillus rhamnosus* RW-9595M in whey permeate. *International Dairy Journal*, 12(5), 419-426.
69. Macfarlane, G., Steed, H. y Macfarlane, S. (2008) Bacterial metabolism and health-related effects of galacto-oligosaccharides and other prebiotics. *Journal of Applied Microbiology*, 104, 305-344.
70. Macmouhd, M. y Kosikowski, F. (1982). Alcohol and single cell protein production by *kluveromyces* in concentrated whey permeates with reduced ash. *Journal of dairy science*, 65(11), 2083-2087.
71. Magalhães, K., Dragone, G.de Melo, G., Oliveira, J., Domingues, L., Teixeira, J., Almeida, Silva, J. y Schwan, R. (2011). Comparative study of the biochemical changes and volatile compound formations during the production of novel whey-based kefir beverages and traditional milk kefir. *Food Chemistry*, 126, 249-253.
72. Marsh, A., Hill, C., Rossa, P. y Cottera, P. (2014). Fermented beverages with health-promoting potential: Past and future perspectives. *Trends in Food Science & Technology*, 38, 113-124.
73. Martínez-Rodríguez, A. (2012). Bebida deslactosada y fermentada a partir del lactosuero, con sabor a maracuyá y enriquecida con L-glutamina (Tesis de maestría en ingeniería de alimentos). Universidad de Córdoba, Ciénaga de Oro, Colombia.
74. Martini, S, Potter, R. y Walsh, M. (2010). Optimizing the use of power ultrasound to decrease turbidity in whey protein suspensions. *Food Research International*, 43(10), 2444–2451.
75. Marulanda-Olier, M. (2012). *Elaboración y evaluación de una bebida tipo yogurth a base de lactosuero dulce fermentada con Estreptococcus salivarius ssp Thermophilus y Lactobacillus casei ssp casei* (Proyecto de pregrado para obtener el título de ingeniero de alimentos). Universidad de Cartagena, Cartagena, Colombia.
76. Masson, L., Rosenthal, A., Calado, V., Deliza, R. y Tashima, L. (2010). Effect of ultra-high pressure homogenization on viscosity and shear stress of fermented dairy beverage. *LWT Food Science and Technology*, 44, 495-501.
77. Mateos, P. (2000). Procesos fermentativos. Universidad de Salamanca, España. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/261983467_PROCESOS_FERMENTATIVOS
78. Mattos, C. (2015). Valorización del lactosuero. *Alimentos Hoy*, 23, 7-20.
79. McIntosh, G., Royle, P., Le Leu, R., Regester, G., Johnson, M., Grinsted, R., Kenward, R. y Smithers, G. (1998). Whey Proteins as Functional Food Ingredients? *International Dairy Journal*, 8, (5), 425–434.

80. Monserrat, A., Cutrin, J. y Coll, C. (2000). Protective effect of myristic acid on renal necrosis occurring in rats fed a methyl-deficient diet. *Research in experimental medicine*, 199(4), 195-206.
81. Motta-Correa, Y. y Mosquera, W. (2015). Aprovechamiento del lactosuero y sus componentes como materia prima en la industria de alimentos. *@limentech Ciencia y tecnología alimentaria*, 13(1), 81-91.
82. Nicolisi, R., Rogers, E., Kritchevsky, D., Scimeca J. y Huth, P. (1997). Dietary conjugated linoleic acid reduces plasma lipoprotein and early aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic hamsters. *Artery*, 22, 266-277.
83. Oda, Y., Nakamura, K., Shinomiya, N. y Ohba, K., (2010). Ethanol fermentation of sugar beet thick juice diluted with crude cheese whey by the flex yeast *Kluyveromyces marxianus* KD-15. *Biomass and Bioenergy*, 34, 1263-1266.
84. Ordinola-Miranda, E. y Osorio-Paredes, L. (2012). *Viabilidad de las bacterias lácticas Streptococcus salivarius ssp Thermophilus y Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus durante el almacenamiento a temperatura ambiente y refrigeración de cuatro marcas de yogures comerciales* (Proyecto de grado para obtener el título de ingeniero agroindustrial). Universidad Nacional de Santa. Nuevo Chimbote, Perú.
85. Ouattar, B., Simard, R., Pielt, G., Bégin, A. y Holley, R. (2000). Inhibition of surface spoilage bacteria in processed meats by application of antimicrobial films prepared with chitosan. *International Journal of Food Microbiology*, 62(1), 139-148.
86. Ozmihci, S. y Kargi, K. (2007). Effects of feed sugar concentration on continuous ethanol fermentation of cheese whey powder solution. *Enzyme and Microbial Technology*, 41, 876-880.
87. Panesar, P., Kennedy, J., Gandhi, D. y Bunko, K. (2007). Bioutilisation of whey for lactic acid production. *Food Chemistry*, 105, 1-14.
88. Park, C., Parker, M. y Drake, M. (2016). The effect of liquid storage on the flavor of whey protein concentrate. *Journal of Dairy Science*, 99(6), 4303-4308.
89. Parra-Huertas, R. (2010). Bacterias ácido-lácticas: papel funcional en los alimentos. *Revista facultad de ciencias agropecuarias Universidad pedagógica y tecnológica de Colombia*, 8(1), 93-105.
90. Patiño, E. (2011). Producción y calidad de la leche bubalina. *Tecnología en Marcha*, 24(5), 25-35.
91. Pescuma, M., Hébert, E., Mozzi, F. y de Valdéz, G. (2008). Whey fermentation by thermophilic lactic acid bacteria: Evolution of carbohydrates and protein content. *Food Microbiology*, 25, 442-451.
92. Pescuma, M., Hébert, E., Mozzi, F. y de Valdéz, G. (2010). Functional fermented whey-based beverage using lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 141, 73-81.

93. Plata, A., Ramírez, S. y Riaño-Luna, C. (2012). Método de superficie de respuesta para optimizar las condiciones de producción de ácido láctico a partir de subproductos lácteos: SLC. *Nova*, 10(18), 135-250.
94. PlasticsInfo (2017). Plastics and safety: What you need to know. Recuperado de <https://plasticsinfo.org/Main-Menu/MicrowaveFood/Need-to-Know>
95. Poveda, E. (2013). Suero lácteo, generalidades y potencial uso como fuente de calcio de alta biodisponibilidad. *Revista Chilena de Nutrición*, 40(4), 397-403.
96. Oliveira, C., Dragone, G., Domingues, L. y Teixeira, J. (2016). Cheese whey fermentation. Fermented milk and dairy products. Cap. 16, 427-458. CRC Press.
97. Ramírez-Navas, J. (2009). Aprovechamiento Industrial de Lactosuero. XV Congreso Latinoamericano de Estudiantes de Ingeniería Química - XV COLAEIQ, San Salvador, El Salvador.
98. Ramírez-Navas, J. (2012). Aprovechamiento industrial de lactosuero mediante procesos fermentativos. *Revista Especializada en Ingeniería de Procesos en Alimentos y Biomateriales de la Universidad abierta y a distancia*, 6, 69-83.
99. Ramírez-Navas, J. (2015). Diseño de procesos en Industria Láctea: Transformación de lactosuero. Investigación aplicada a la Ingeniería de Procesos Págs. 54-63. Editorial UNIMAR. Universidad Mariana. Pasto, Colombia.
100. Ranjan, A. y Moholkar, V. (2012). Biobutanol: Science, engineering, and economics. *International Journal of Energy Research*. 36, 277-323.
101. Rapin, J., Marison, I, Stockar, U. y Reilly, P. (1994). Glycerol production by yeast fermentation of whey permeate. *Enzyme and Microbial Technology*, 16, 143-150.
102. Rhicha S., Radha, C., Jamuna, P. y Purnima, K. (2007). Whey protein hydrolysate: functional properties, nutritional quality and utilization in beverage formulation. *Food Chemistry*, 101(4), 1484-1491.
103. Rodríguez-Olivenza, D. (2015). *Estudio de la síntesis de GOS por la β -galactosidasa de Kluyveromices lactis* (Tesis de maestría en Biotecnología Avanzada). Universidade da Coruña. La Coruña, España.
104. Romero-González, J. (2010). *Control avanzado en procesos industriales de microfiltración y ultrafiltración tangencial* (Tesis de maestría en Automática e Informática Industrial). Universidad Politécnica de Valencia. Valencia, España.
105. Sabokbar, N. y Khodaiyan, F. (2015). Characterization of pomegranate juice and whey based novel beverage fermented by kefir grains. *Journal of Food Science and Technologies*, 52(6), 3711–3718.
106. Sabokbar, N. y Khodaiyan, F. y Moosavi, M. (2015). Optimization of processing conditions to improve antioxidant activities of apple juice and whey based novel beverage fermented by kefir grains. *Journal of Food Science and Technologies*, 52(6), 3422–3432.

107. Sakata, T., Akamatsu, A. y Honda, T. (2004). *Fermented whey preparation and method for producing the same* US 2010/0136203A1. Estados Unidos de América. Recuperado de <https://www.google.com/patents/US20100136203>.
108. Salque, M., Bogucki, P., Pyzel, J., Sobkowiak-Tabaka, I., Grygiel, R., Szmyt, M., y Evershed, R. (2013). Earliest evidence for cheese making in the sixth millennium BC in northern Europe. *Nature*, 493(1), 522-525.
109. Sánchez, N., Sepúlveda, J. y Rojano, B. (2013). Desarrollo de una bebida láctea con extractos de curuba (*Passiflora mollissima bailey*) como antioxidante natural. *Bioteconología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 11(1), 164 -173.
110. Sánchez, M., Ruiz, M., Morales, M. (2014). Microorganismos probióticos y salud. *Ars Pharmaceutica*, 56(1), 45-59.
111. Sanhueza, J., Nieto, S. y Valenzuela, A. (2002). Ácido linoleico conjugado: un ácido graso con isomeria *trans* potencialmente beneficioso. *Revista Chilena de Nutrición*, 29(2), 98-105.
112. Sáyago-Ayerdi, S., Vaquero, M., Schultz, A., Bastida, S. y Sánchez, F. (2008). Utilidad y controversias del consumo de ácidos grasos de cadena media sobre el metabolismo lipoproteico y obesidad. *Nutrición Hospitalaria*, 23(3), 191-202.
113. Schacky, C., Angerer, P., Kothny, W., Theisen, K. y Mudra, H. (1999) *Annals of Internal Medicine*, 130(7), 554-562.
114. ScienceDirect (2017). Búsqueda del término *whey fermentation*. Recuperado de: <http://www.sciencedirect.com.bd.univalle.edu.co/search?q=fermented+whey++beverage&authors=&pub=&volume=&issue=&page=&origin=home&zone=qSearch>.
115. Scopus (2017). Búsqueda del término *fermented whey beverage*. Recuperado de: <https://www-scopus-com.bd.univalle.edu.co/search/form.uri?display=basic>.
116. Sepúlveda-Valencia, J., Flórez-Flórez, L. y Peña-Álvarez, C. (2002). Utilización de lactosuero de queso fresco en la elaboración de una bebida fermentada con adición de pulpa maracuyá (*Passiflora edulis*) variedad púrpura y carboxi-metil-celulosa (CMC), enriquecida con vitaminas A y D. *Revista de la Facultad Nacional de Agronomía de Medellín*, 55(2), 1633-1674.
117. Seyhan, E., Yaman, U. y Özer, B. 2016. Production of a whey-based functional beverage supplemented with soy isoflavones and phytosterols. *International Journal of Dairy Technology*, 69(1), 114-121.
118. Shene, C. y Bravo, S. (2007). “Whey fermentation by *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* for exopolysaccharide production in continuous culture”. *Enzyme and Microbial Technology*, 40(6), 1578-1584.
119. Skryplonek, K. y Jasińska, M. (2015). Fermented probiotic beverages based on acid whey. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*. 14(4), 397-405.
120. Silva, E. y Verdalet, I. (2003). Revisión: alimentos e ingredientes funcionales derivados de la leche. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 53(4), 333-347.

121. Silveira, W., Passos, F., Mantovani, H. y Passos, F. (2005). Ethanol production from cheese whey permeate by *Kluyveromyces marxianus* UFV- 3: A flux analysis of oxidoreductive metabolism as a function of lactose concentration and oxygen levels. *Enzyme and Microbial Technology*, 36(7), 930-993.
122. Simanca, M., Arteaga, M., Pérez, Y., Soto, M., Salcedo, J. (2010). Caracterización y estudio de la fermentación espontánea del suero costeño producido en Montería. *Revista MVZ Córdoba*, 15(1), 1944-1953.
123. Singh, J., Yan, S., Pilli, S., Kumar, L., Tyagi, R. y Surampalli, R. (2015). Cheese whey: A potential resource to transform into bioprotein, functional/nutritional proteins and bioactive peptides. *Biotechnology Advances*, 33, 756-774.
124. Skudra, L., Blija, A., Sturmović, E., Dukańska, L., Áboltniš, A., y Krkliņa, D. (1998). Studies on whey fermentation using lactic acid bacteria *L. acidophilus* and *L. bulgaricus*. *Acta Biotechnologica*, 18(3), 277-286.
125. Staniszewski, M., Kujawski, W. y Lewandowska, M. (2007). Ethanol production from whey in bioreactor with co-immobilized enzyme and yeast cells followed by pervaporative recovery of product-Kinetic model predictions. *Journal of Food Engineering*, 82(4), 618-625.
126. Stone, N. (1997). Fish consumption, fish oil, lipids and coronary heart disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, 65, 1083-1086.
127. Tamime, A., Robinson, R. y Díaz, M. (1990). *Yogur: Ciencia y tecnología*. Editorial Acribia. Zaragoza, España.
128. Tang, Q. (1993). *Rheology of whey protein solutions and gels* (Tesis de doctorado en tecnología de alimentos). Masey University, Nueva Zelanda.
129. Tang, S. y Silva, E. (1995). "Novel products and new technologies for use of a familiar carbohydrate, milk lactose". *Journal of Dairy Science*, 78 (11), 2541-2562.
130. Terrell, S., Bernard, A. y Bailey, B. (1984). Ethanol from Whey: Continuous Fermentation with a Catabolite Repression-Resistant *Saccharomyces cerevisiae* Mutant. *Applied And Environmental Microbiology*, 48(3), 577-580.
131. Temme, E., Mensink, R. y Hornstra, G. (1996). Comparison of the effects of diets enriched in lauric, palmitic or oleic acids on serum lipids and lipoproteins in health y men and women. *American Journal of Clinical Nutrition*, 63, 897-903.
132. Tholstrup, T., Ehnholm, C., Jauhiainen, M., Petersen, M., Høy, C., Lund, P. y Sandström, B. (2004). Effects of medium-chain fatty acids and oleic acid on blood lipids, lipoproteins, glucose, insulin, and lipid transfer protein activities. *American Journal of Clinical Nutrition*, 9(4), 564-569.
133. Tomaino, R., Parker, J. y Larick, D. (2001). Analysis of free fatty acids in whey products by solid phase microextraction. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49 (8), 3993-3998.

134. Torkamani, A., Juliano, P., Fagan, P., Jiménez, Ajlouni, Said. y Singh, T. (2016). Effect of ultrasound-enhanced fat separation on whey powder phospholipid composition and stability. *Journal of Dairy Science*, 99, 4169–4177.
135. Valenzuela, A., Valenzuela, R., Sanhueza, J. y Morales, G. (2014). Alimentos funcionales, nutraceúticos y foshu: ¿vamos hacia un nuevo concepto de alimentación? *Revista chilena de nutrición*, 41(2), 198-204.
136. Vega-Montero, G. (2012). *Elaboración y control de calidad de una bebida a base de suero de leche y avena (Avena sativa), para Producoop “El Salinerito”*. Proyecto de grado para obtener el título de bioquímica farmacéutica. Escuela politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.
137. Vesper, H., Schmeltz, E., Nikolova, M., Dillehay, D. Lynch, D. y Merrill, A. (1999). Sphingolipids in food and the emerging importance of sphingolipids to nutrition. *Journal of nutrition*, 129, 1239-1250.
138. Viladomiu, M., Hontecillas, R. y Bassanganya-Reira, J. (2016). Modulation of inflammation and immunity by dietary conjugated linoleic acid. *European Journal of Pharmacology*, 785, 87-95.
139. Villamiel, M., Montilla, A., Olano, A. y Corzo N. (2014) Bioactivity of oligosaccharides derived from lactose. En: *Food Oligosaccharides: Production, Analysis and Bioactivity*. Wiley-Blackwell, Chichester, United Kingdom. Págs.137-167.
140. Wadhwani, R. y McMahon, D. (2012). Color of low-fat cheese influences flavor perception and consumer liking. *Journal Dairy Science*, 95(1), 2336–2346.
141. Yang, Y., Shevchenko, A., Knaust, A. Abuduresule, I., Li, W., Hu, X., Wang, C. y Shevchenko, A. (2014). Proteomics evidence for kefir dairy in Early Bronze Age China. *Journal of Archaeological Science*, 45, 178-186.

11 ANEXOS

11.1 ANEXO 1: NORMATIVIDAD

En la Tabla 13 se nombra cierta normatividad referente a bebidas funcionales de LS fermentado.

Tabla 13. Normatividad relacionada

Identificador	Consideraciones
Alimentos en general	
Resolución 2674/ 2013	Requisitos sanitarios para actividades de fabricación, procesamiento, preparación, envase, almacenamiento, transporte, distribución y comercialización de alimentos, materias primas; y requisitos para la notificación, permiso o registro sanitario de los alimentos
GTC* 85	Guía de limpieza y desinfección para plantas de alimentos
NTC** 1417	Aditivos para alimentos, sustancias aromatizantes
NTC 1453	Aditivos para alimentos, sustancias para conservación de alimentos
NTC 1474	Alimentos envasados para lactantes y niños
NTC 1582	Emulsionantes, estabilizantes y espesantes
NTC 1629	Gelatina
NTC 1979	Ácido cítrico
NTC 2022	Citrato de sodio
NTC 2024	Citrato de potasio
NTC 2376	Ácido láctico
NTC 4869	Alimentos refrigerados y congelados, almacenamiento, transporte, distribución y exhibición y venta
Productos lácteos	
NTC 506	Leche pasteurizada
NTC 732	Leche, determinación de la eficacia de la homogeneización
NTC 805	Leches fermentadas
NTC 930	Crema de leche
NTC 1036	Leche en polvo
NTC 1343	Leches en polvo modificadas
NTC 1419	Leche líquida saborizada
NTC 3856	Leche UAT (UHT) Ultra Alta Temperatura larga vida y leche ultrapasteurizada
NTC 4518	Leche y productos lácteos, muestreo e inspección por atributos
NTC 4722	Método para determinar el contenido de grasa, método gravimétrico (método de referencia)
NTC 4723	Método para determinar el contenido de grasa, método gravimétrico de Weibull-Berntrop (método de referencia)
NTC 2990	Materias primas, cuajos, o enzimas lacto-coagulantes
NTC 4978	Determinación de la acidez titulable (Método de referencia)
NTC 4979	Determinación del contenido de sólidos totales en leche, crema de leche, leche evaporada, leche condensada azucarada, arequipe, dulce de leche, helados y queso (método de referencia)
NTC 5025	Determinación del contenido de nitrógeno
NTC 5098	Suero en polvo
NTC 5201	Directrices para una descripción normalizada de ensayos de confirmación preliminar para la detección de residuos antimicrobianos
NTC 5219	Determinación del contenido de aflatoxina M, purificación mediante columna de inmunoafinidad y determinación por cromatografía líquida de alta eficiencia
NTC 5245	Prácticas de limpieza y desinfección para plantas y equipos utilizados en la industria láctea
NTC 5246	Bebida láctea con avena
NTC 5255	Prácticas en la industria de la leche pasteurizada

Identificador	Consideraciones
NTC 5370	Leche tratada térmicamente: determinación del contenido de lactulosa, método de cromatografía líquida de alta resolución
NTC 5371	Directrices para la descripción normalizada de ensayos de inhibidores microbianos
NTC 5393	Plantas de lácteos, condiciones de higiene, directrices generales sobre procedimientos de inspección y muestreo
Empaques	
NTC 512-1, NTC 512-2	Rotulado o etiquetado: Parte 1 Norma general; Parte 2. Rotulado nutricional de alimentos envasados
NTC 2167	Productos alimenticios empacados, contenido neto
NTC 4447	Análisis sensorial. Modelo estándar para la determinación del efecto del empaque en los productos alimenticios y bebidas durante el almacenamiento de los productos
Calidad	
GTC-ISO/TS 22004	Sistema de gestión de inocuidad de los alimentos. Guía para la aplicación de la norma NTC-ISO 22000:2005
NTC 5132	Directrices para la aplicación de la NTC-ISO 9001:2000 en la industria de alimentos y bebidas
NTC-ISO 22000	Sistemas de gestión de la inocuidad de los alimentos. Requisitos para cualquier organización en la cadena alimentaria
Análisis sensorial	
GTC 185	Metodología, guía general
NTC 2679	Metodología “A” y “NO A”
NTC 2680	Ensayo de comparación por pares
NTC 2681	Prueba triangular
NTC 3501	Vocabulario
NTC 3882	Aparatos de copa de cata para productos líquidos
NTC 3883	Prueba dúo-trío
NTC 3884	Guía general para el diseño de cuartos de prueba
NTC 3915	Metodología, método para investigar la sensibilidad del gusto
NTC 3929	Metodología, métodos del perfil del sabor
NTC 3932	Identificación y selección de descriptores para establecer un perfil sensorial por una aproximación multisensorial
NTC 4129, NTC 4130	Guía general para la selección, entrenamiento y seguimiento de evaluadores, Parte 1. Evaluadores seleccionados; Parte 2. Expertos
NTC 4489	Perfil de textura
NTC 4503	Metodología, iniciación y entrenamiento de evaluadores en la detección y reconocimiento de olores
NTC 4604	Directrices generales y método de ensayo para la evaluación del color en alimentos
NTC 4794	Análisis sensorial en bebidas que contienen alcohol
NTC 4934	Metodología, guía general para para establecer un perfil sensorial
NTC 5278	Metodología, análisis secuencial
Otros análisis	
NTC 440	Productos alimenticios: métodos de ensayo
NTC 1236	Alimentos envasados, toma de muestras e inspección
NTC 5034	Microbiología de alimentos y alimentos para animales: Método horizontal para el recuento de bacterias mesofílicas de ácido láctico. Técnica de recuento de colonias a 30 °C

*GTC: Sigla para Guía Técnica Colombiana. **NTC: Sigla para Norma Técnica Colombiana.

Adicionalmente, en la Tabla 14 se nombran sellos de calidad aplicables al subsector industrial.

Tabla 14. Sellos de calidad y certificaciones referentes

Identificador	Consideraciones
BPM	Buenas prácticas de manufactura
HACCP	Análisis de riesgos y control de puntos críticos
BPA	Buenas Prácticas Agrícolas
SQF	Certificación del estándar de seguridad y calidad alimentaria
ISO 9001	Sistema de Gestión de Calidad
ISO 14001	Sistema de Gestión Ambiental
ISO 22000	Sistema de Gestión de la Inocuidad de los alimentos
BASC	Business Alliance for Secure Commerce
GFSI	Iniciativa mundial de seguridad alimentaria
AF	Alimento funcional
DOP	Denominación de Origen Protegida
IGP	Identificación Geográfica Protegida
ETG	Especialidad Tradicional Garantizada
Agricultura orgánica y sostenible	Alimento ecológico, Canada organic, USDA organic, Biotrópico, UTZ certified, Sello ambiental colombiano, Certificación de la Unión Europea en agricultura biológica, RainForest Alliance Certified
Fair trade	Comercio justo, pequeños productores
USDA/FDA	Certificado por el Departamento de Agricultura y la Agencia de Medicamentos y Alimentos de Estados Unidos de América
AHA	Aprobado por la Asociación Estadounidense del Corazón
FFCP	Free Farmed Certificated Program
Halal	Alimentos aceptables dentro de la religión musulmana
Cashrut (<i>Kósher</i> , en yiddish)	Alimentos aceptables dentro de la religión judía