



**DEVELOPMENT OF A CARBONATED DRINK
BASED ON SWEET WHEY ULTRAFILTRATION
PERMEATE ENRICHED WITH UCHUVA (*Physalis
peruviana L.*)**

LUCAS CARMONA ZULUAGA

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA-SEDE MEDELLÍN
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS
MEDELLÍN
2022

DESARROLLO DE UNA BEBIDA CARBONATADA A BASE DE PERMEADO DE ULTRAFILTRACIÓN DE LACTOSUERO DULCE ENRIQUECIDA CON UCHUVA (*Physalis peruviana L.*)

LUCAS CARMONA ZULUAGA

Trabajo Final presentado como requisito parcial para optar al título de:
Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos (Línea de Profundización)

Director:

JOSÉ URIEL SEPÚLVEDA VALENCIA, MSc.

Codirector:

HÉCTOR JOSÉ CIRO VELÁSQUEZ, MSc.,PhD.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA-SEDE MEDELLÍN

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

MEDELLÍN

2022

Agradecimientos

A mi Director de tesis José Uriel Sepúlveda Valencia por su gran apoyo, paciencia y dedicación y quien me orientó en la realización de este proyecto.

A mi Co-Director Héctor José Ciro Velásquez por su orientación en el desarrollo de este proyecto, por su gran apoyo, paciencia y dedicación.

A mi equipo de trabajo del proyecto de regalías: “Desarrollo de derivados lácteos a partir de la tecnología de filtración de membranas”, por el tiempo compartido en todo este proceso de investigación, por el apoyo moral, los consejos, y los momentos vividos.

A los funcionarios del Laboratorio de Productos Lácteos, Laboratorio de Control y Calidad de Alimentos y el Laboratorio de Procesos Agrícolas de la Universidad Nacional de Colombia-Sede Medellín, por su ardua colaboración.

A los docentes de la Maestría, con los cuales tuve la oportunidad de ver clases, quienes compartieron sus conocimientos y afianzaron mi formación.

A las personas del Laboratorio de Calidad de Postobón S.A., por su colaboración durante el desarrollo de este proyecto.

A la Universidad Nacional de Colombia y en especial, a la Facultad de Ciencias Agrarias, por las oportunidades brindadas durante el período de estudio.

Resumen

Con la creciente demanda de alimentos a nivel mundial, así como la búsqueda de fuentes de proteína de alto valor nutricional de bajo costo, el procesamiento y aprovechamiento del lactosuero (dulce o ácido), se ha convertido en una interesante alternativa en la industria alimentaria. Éste es un líquido verde-amarilloso, el cual representa entre el 80%-90% del volumen de la leche procesada, durante la producción de queso, además, conserva alrededor de un 50% de los nutrientes de la leche. Actualmente, cada año, se nota una mayor producción de lactosuero, la cual está ligada al volumen de leche que es destinado en la producción quesera. El lactosuero presenta una amenaza medioambiental debido a que, por su alto contenido de lactosa, se generan altas demandas biológicas de oxígeno (DBO) y químicas de oxígeno (DQO), cuando es vertido en aguas; así mismo, representa una oportunidad económica, por sus contenidos de proteína de alto valor biológico, carbohidratos y minerales. Dentro de los usos dados a este coproducto, se encuentra la producción de concentrados protéicos (WPC), por sistemas de separación por membranas, particularmente, por ultrafiltración, proceso que deja como remanente, un permeado rico en lactosa, sales, minerales y agua.

En Colombia y a nivel mundial, los refrescos de frutas son bebidas altamente populares, que consisten, principalmente, en agua, azúcar, saborizantes y estabilizantes. Sin embargo, el desarrollo de bebidas gasificadas con CO₂ o carbonatadas han ganado un significativo espacio, debido a su naturaleza efervescente, que induce unas características sensoriales únicas. No obstante, por sus altos contenidos de azúcar han sido asociadas a diversas problemáticas de salud pública, tales como sobrepeso y diabetes. Así, la nueva tendencia es el desarrollo de bebidas carbonatadas, con características nutricionales sobresalientes, sumado al uso de tecnologías limpias, incorporando materias primas no tradicionales, tales como coproductos. Así, el uso del permeado de

lactosuero proveniente de la ultrafiltración, se convierte en un producto que, debido a sus características nutricionales (carbohidratos, minerales y agua), tiene el potencial para ser usado como base alimentaria para el desarrollo de bebidas gasificadas. Dada la tendencia de buscar productos funcionales o con algunos componentes benéficos para la salud, se están realizando, cada vez, más investigaciones para emplear frutas frescas o procesadas, que aporten estos beneficios, siendo una de ellas, la uchuva (*Physalis peruviana L.*), la cual es rica en compuestos antioxidantes y metabolitos secundarios, entre otros compuestos de interés.

Dada la necesidad de desarrollar nuevos productos, que permitan el aprovechamiento del permeado de lactosuero, así, como la diversificación de la oferta en el mercado, de las bebidas carbonatadas saludables, se desarrolló un estudio, con el fin de obtener una bebida carbonatada, a partir de este coproducto, adicionando jugo de uchuva. El estudio fue desarrollado en las instalaciones de la Universidad Nacional de Colombia- Sede Medellín, en donde se estableció una formulación final de la bebida a través de una prueba sensorial de ordenamiento, posteriormente se realizó un estudio de estabilidad bajo refrigeración para la bebida carbonatada enriquecida con jugo de uchuva (*Physalis peruviana L.*).

El permeado de lactosuero dulce fue obtenido a través de un proceso de separación por membranas, por ultrafiltración, usando un sistema de marca PERINOX (modelo E0FT) e hidrolizado de forma enzimática, hasta alcanzar un grado de hidrólisis entre el 80%-85%. Para la elección de la bebida, se establecieron cuatro formulaciones con 5% (F1), 6% (F2), 7% (F3) y 8% (F4) de jugo de uchuva, tomando como base una concentración final de 7 °Bx, ajustando este valor, con la respectiva adición de sacarosa. La carbonatación se realizó con CO₂ de grado alimenticio, a una presión de 3,3 bar, donde todas las bebidas fueron servidas en envases ámbar de 330 mL, a una presión de 0,8 bar y almacenadas bajo refrigeración a 4°C. Se realizó una prueba de ordenamiento, de acuerdo con un criterio específico (ranking), buscando evaluar diferencias entre las bebidas, con base en la intensidad de un solo atributo, el sabor. La prueba

sensorial se realizó con siete (7) jueces entrenados, y se utilizó la prueba de Friedman (análisis de varianza por rangos), para la comparación de productos. Los resultados de acuerdo con la suma de rangos, muestran que la bebida con 6% de fruta (F2), obtuvo el mayor valor, es decir, la de mejores atributos de sabor, a nivel general y un buen sabor a uchuva, comparada con las otras tres formulaciones. A esta formulación, se le realizó un perfil sensorial, por aproximación multidimensional, con el objetivo de describir y cuantificar la intensidad de los atributos sensoriales de olor y sabor; ésta, se realizó con seis (6) jueces entrenados. La calidad general de esta bebida fue de 9,6, en una escala máxima de 10, considerándose como excelente aceptación del producto, mostrando, así, que sus condiciones son adecuadas.

La estabilidad de la bebida seleccionada (F2) fue evaluada en un período de 30 días. Se realizó un seguimiento a las variables pH, acidez titulable, sólidos totales (°Brix), color, recuento microbiológico (*Escherichia coli*/g, mohos y levaduras/g) y solubilidad de CO₂; además de una cuantificación de carotenoides totales, polifenoles totales y actividad antioxidante, en los días 0, 8, 15, 23 y 30 de almacenamiento del producto.

Los resultados muestran una disminución del pH de 3,2 a 3,15 y un aumento en la acidez titulable (expresada como porcentaje equivalente de ácido cítrico) de 0,358 a 0,362, durante el almacenamiento bajo refrigeración. Los sólidos totales, medidos como grados Brix, muestran una ligera tendencia al aumento, variando de 7,007 °Bx a 7,013 °Bx, pero sin ser un cambio estadísticamente significativo ($p > 0,05$). Este comportamiento depende, en gran medida, de la degradación de polisacáridos en oligosacáridos y monosacáridos, como sacarosa y fructosa, respectivamente. Se observaron cambios estadísticamente significativos ($p < 0,05$), en los valores de las coordenadas colorimétricas, el valor de L* (29,84 a 32,45), coordenadas, a* (-0,23 y 14,97) y b* (-0,37 y 15,55), esto puede ser dado por la degradación enzimática y por la oxidación de los pigmentos de la uchuva, como son las clorofilas durante el almacenamiento. Adicionalmente, la solubilidad del CO₂ varió entre 3,193 a 3,177, sin ser estadísticamente significativa ($p > 0,05$) y

estando dentro de los parámetros establecidos por la NTC 2740-2020. Las condiciones microbiológicas de la bebida se mantuvieron estables y de acuerdo con lo establecido en la normatividad colombiana. En cuanto a los carotenoides totales y compuestos fenólicos, se observó una disminución en el tiempo, de 3,36 a 3,34 mg/100 g y de 8,414 a 8,316 AGE / 100 g, lo que se presenta, posiblemente, por las reacciones oxidativas y cambios en los pigmentos, debido a la destrucción enzimática, durante el período de almacenamiento. En cuanto a la actividad antioxidante evaluada por los métodos ABTS y DPPH, presentó cambios de 5,36 a 5,32 y 3,87 a 3,83 mg Trolox/ 100 g, respectivamente; este cambio está directamente relacionado con las reacciones oxidativas dadas en carotenos y polifenoles, productos de los cuales depende la actividad antioxidante.

Palabras clave: lactosuero, permeado, carbonatación, uchuva, almacenamiento.

DEVELOPMENT OF A CARBONATED DRINK BASED ON SWEET WHEY ULTRAFILTRATION PERMEATE ENRICHED WITH UCHUVA (*Physalis peruviana L.*)

Abstract

With the growing demand for food worldwide, as well as the search for low-cost sources of protein with high nutritional value, the processing and use of whey (sweet or acid) has become an interesting alternative in the food industry. This is a green-yellow liquid, which represents between 80%-90% of milk volume processed during cheese production, and it also conserves around 50% of the milk's nutrients. Its production has been increasing for the last few years, which is linked to the volume of milk that is destined for cheese production. Whey presents an environmental threat due to its high lactose content, a high biological oxygen demand (BOD) and chemical oxygen demand (COD) are generated, when it is discharged into water, it represents an economic opportunity due to its protein content of high biological value, carbohydrates and minerals. One of the uses given to this product is the production of protein concentrates (WPC) by membrane separation systems, particularly by ultrafiltration, a process by which a permeate rich in lactose, salts, minerals, and water is left over.

Fruit soft drinks are beverages that consist mainly of water, sugar, flavorings, and stabilizers, they are highly popular both in Colombia and worldwide. However, the development of carbonated beverages has gained significant popularity due to their effervescent nature that induces unique sensory characteristics. However, due to their high sugar content, they have been associated with various public health problems such as overweight and diabetes. Thus, a new trend is the development of carbonated beverages with outstanding nutritional characteristics, together with use of clean technologies incorporating non-traditional raw materials

such as co-products. Therefore, the use of whey permeate from ultrafiltration processing becomes a product due to its nutritional characteristics (carbohydrates, minerals and water), that has the potential to be used as a food base for the development of carbonated beverages. Given the trend of make functional products with some beneficial components for health, a great quantity of research is being conducted to use fresh or processed fruits that provide these benefits, one of these is the possibility of using cape gooseberry (*Physalis peruviana L.*) which it is rich in antioxidant compounds.

Given the need to develop new products that allow the use of whey permeate, as well as the diversification of the offer in the market of healthy carbonated beverages, a study was developed in order to obtain a carbonated beverage using the whey as base with the addition of cape gooseberry fruit. The study was developed at the facilities of the Universidad Nacional de Colombia- Medellín, where a final formulation of the drink was established through a sensory ordering test, later a stability study was carried out under refrigeration for the carbonated drink enriched with cape gooseberry juice.

The sweet whey permeate was obtained through an ultrafiltration membrane separation process using a system of the brand PERINOX (model E0FT), and by hydrolyzing enzymatically until reaching a degree of hydrolysis between 80-85%. For the choice of the drink, four formulations were established with 5% (F1), 6% (F2), 7% (F3) and 8% (F4) of cape gooseberry juice, based on a final concentration of 7 °Bx, adjusting this value with the respective addition of sucrose. Carbonation was carried out with food grade CO₂ at a pressure of 3.3 bar, where all the drinks were served in 330 mL amber packages at a pressure of 0.8 bar and stored under refrigeration at 4 °C. A ranking test was conducted according to a specific criterion (ranking) seeking to evaluate differences between the drinks, based on the intensity of a single attribute, flavor. The sensory test was carried out with seven (7) trained judges, and the Friedman test (analysis of variance by ranges) was used for the comparison of products. The results according to the sum of ranges, show that beverage with 6% fruit (F2), obtained the highest value, that is, the one

with the best flavor attributes at a general level and a good gooseberry flavor compared to the other three formulations. A sensory profile by multidimensional approach was performed on this formulation, to describe and quantify the intensity of the sensory attributes of smell and taste, it was carried out with six (6) trained judges. The overall quality of this drink was 9.6 on a maximum scale of 10, considered as excellent acceptance of the product, therefore showing that its conditions are adequate.

The stability of the product for selected beverage (F2) was evaluated in a period of 30 days. The variables monitored were pH, titratable acidity, total soluble solids ($^{\circ}$ Brix), color, microbiological count (*Escherichia coli*/g, molds and yeasts/g) and CO₂ solubility. In addition, a quantification of total carotenoids, total polyphenols and antioxidant activity was assessed on days 0, 8, 15, 23 and 30 of product storage under controlled refrigeration.

The results show a decrease in pH value from 3.2 to 3.15 and an increase in titratable acidity (% citric acid) from 0.358 to 0.362 during storage under refrigeration. Total soluble solids measured as brix degrees show an increasing trend from 7.007 $^{\circ}$ Bx to 7.013 $^{\circ}$ Bx, not being a statistically significant ($p > 0.05$). This behavior is highly dependent on the degradation of polysaccharides into oligosaccharides and monosaccharides such as sucrose and fructose respectively. Significant statistical changes were observed ($P < 0.05$) in the values of the color coordinates, the value of L * (29.84 to 32.45), coordinates, a * (-0.23 and 14.97) and b * (-0.37 and 15.55), this can be given by the enzymatic degradation and oxidation during storage of gooseberry pigments such as chlorophylls. Additionally, the solubility of CO₂ varied from 3.193 to 3.177, without being statistically significant ($p > 0.05$) and being within the parameters established by NTC 2740-2020. The microbiological conditions of the beverage remained stable and in accordance with the Colombian regulations. Regarding to carotenes and phenolic compounds, a decrease in time was observed from 3.36 to 3.34 mg/100 g and from 8.414 to 8.316 AGE/100 g respectively, this possibly due to oxidative reactions and changes in pigments due to enzymatic destruction during the storage

period. Antioxidant activity ABTS and DPPH showed changes from 5.36 to 5.32 and 3.87 to 3.83 mg Trolox / 100g respectively, where this change is directly related to the oxidative reactions given in carotenes and polyphenols, since these products depends on the antioxidant activity.

Keywords: whey, permeate, carbonation, cape gooseberry, storage.

CONTENIDO

	pág.
Introducción.....	1
1. Capítulo 1. Objetivos	5
1.1 Objetivo General.....	5
1.2 Objetivos Específicos.....	5
2. Capítulo 2. Revisión de Literatura.....	7
2.1 Marco Teórico.....	7
2.1.1 Generalidades del lactosuero.....	7
2.1.2 Procesos de Separación por Membrana: Permeado de lactosuero.....	9
2.1.3 Generalidades de la uchuva.....	12
2.1.4 Capacidad antioxidante y metabolitos secundarios.....	13
2.1.4.1 Capacidad antioxidante.....	13
2.1.4.2 Polifenoles.....	14
2.1.4.3 Carotenoides.....	15
2.1.5 Bebidas carbonatadas.....	15
2.2 Estado del Arte.....	16

3. Capítulo 3. Formulación y evaluación de la estabilidad de una bebida carbonatada a base de permeado de lactosuero dulce obtenido por ultrafiltración y jugo de uchuva (<i>Physalis peruviana</i> L.)	20
3.1 Resumen	20
3.2 Introducción	22
3.3 Materiales y métodos	24
3.3.1 Acondicionamiento y Caracterización del permeado	24
3.3.2 Acondicionamiento y Caracterización de la uchuva.....	25
3.3.3 Formulación y elección de la bebida.....	27
3.3.4 Estabilidad de la bebida carbonatada.....	29
3.4 Resultados y discusión.....	29
3.4.1 Acondicionamiento y Caracterización.....	29
3.4.2 Formulación y elección de la bebida.....	31
3.4.3 Estabilidad de la bebida carbonatada.....	34
3.5 Conclusiones.....	41
4. Capítulo 4. BIBLIOGRAFÍA	42

Lista de figuras

Figura 1. Separación en membrana tubular.....	11
Figura 2. Intensidades de los descriptores sensoriales para la bebida formulada con 6% de participación de jugo de uchuva.....	33
Figura 3. Estabilidad de las propiedades fisicoquímicas de la bebida en el tiempo.....	34
Figura 4. Coordenadas colorimétricas CIE Lab de la bebida en el tiempo.....	36
Figura 5. Análisis de metabolitos y capacidad antioxidante de la bebida carbonatada bajo estabilidad.....	38

Lista de tablas

Tabla 1. Composición de los lactosueros dulce y ácido.....	9
Tabla 2. Procesos de separación por membranas.....	10
Tabla 3. Formulaciones de las bebidas en porcentaje de participación.....	27
Tabla 4. Caracterización del permeado de lactosuero y el jugo de uchuva.....	30
Tabla 5. Parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de las cuatro formulaciones de bebidas.....	32
Tabla 6. Suma de rangos para las diferentes formulaciones en la bebida carbonatada.....	32
Tabla 7. Calificación de las intensidades de los descriptores sensoriales para la bebida seleccionada.....	34
Tabla 8. Recuento microbiológico de la bebida seleccionada durante la estabilidad	37

Introducción

Según las proyecciones dadas por la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos - OCDE y por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura - FAO (2015), la producción mundial de leche llegará a 175 millones de toneladas, para el año 2024, siendo el queso, uno de los productos de mayor consumo y representando alrededor del 40% de la producción láctea mundial. Un aumento en la producción quesera, a nivel mundial, trae, a su vez, una mayor producción de lactosuero; en Colombia, para el año 2019, la producción de leche fue de 7.301 millones de litros, y se estima que el volumen de lactosuero haya sido cercano a 950.000 toneladas (Fondo Nacional de Garantías - FNG, FEDEGAN, 2020).

El lactosuero dulce se entiende como un subproducto originado en la producción quesera por la acción proteolítica de enzimas coagulantes sobre las micelas de caseína de la leche (Salazar, Oblitasb & Rojas, 2016). El lactosuero constituye alrededor del 85%-90%, del volumen de la leche procesada en quesos y contiene, aproximadamente, el 50% de los nutrientes de ésta, como son proteínas séricas, péptidos, vitaminas, sales minerales, trazas de grasa y lactosa. Por lo anterior, es considerado un subproducto de alto valor nutricional que puede ser utilizado en una gran variedad de productos (López, Becerra & Borrás, 2018). Además, debido al alto contenido de lactosa, este producto es considerado como un elemento contaminante para el medio ambiente; se considera que un 1 kg de lactosuero puede contaminar 1000 litros de agua, esto es debido a su alta demanda biológica de oxígeno (DBO) y demanda química de oxígeno (DQO) (Freire, Gonçalves, Lumi & Suguimoto, 2017; Salazar, Oblitasb & Rojas, 2016).

El lactosuero ha sido considerado, tradicionalmente, como un desecho de la industria láctea; esto, debido a la falta de conocimiento sobre sus propiedades

nutricionales y a la carencia de información, para su reutilización, procesamiento y uso en otros productos alimenticios. Con el paso del tiempo, se ha tratado de implementar el uso del lactosuero en otros productos de la industria o como un ingrediente funcional o materia prima para el desarrollo de diversos productos, en las industrias química, alimentaria, biotecnológica y farmacéutica, entre otras. El uso de la tecnología de separación por membranas, para el lactosuero, se ha convertido en una de las más usadas, siendo el proceso de ultrafiltración, el más significativo para la obtención de concentrados protéicos (WPC), de alto consumo en la industria del deporte y en la suplementación nutricional (Freire, Gonçalves, Lumi & Sugimoto, 2017).

Una de las alternativas para el uso del permeado proveniente de la ultrafiltración de lactosuero, teniendo en cuenta sus potenciales características funcionales, es utilizarlo como base para elaborar bebidas lácteas gasificadas o carbonatadas, siendo este tipo de productos, de gran aceptación en el mercado (Silva, Spadoti, Zacarchenco & Trento, 2018). El proceso de carbonatación es económico, seguro, y, aparentemente, no tiene ningún efecto negativo sobre las características tecnofuncionales y sensoriales de los productos lácteos.

A nivel científico, se busca elaborar bebidas carbonatadas que, además de ser nutricionalmente llamativas para los consumidores, puedan considerarse como biofuncionales, término empleado para indicar que un alimento contiene metabolitos naturales con beneficios reconocidos para la salud, tales como propiedades anticancerígenas, antimicrobianas, antihipertensivas y antiinflamatorias, que ayudan al correcto funcionamiento del organismo ya la eliminación de radicales libres, entre otras (Silva, Spadoti, Zacarchenco & Trento, 2018).

Teniendo en cuenta lo anterior, la adición de frutas ricas en nutrientes y compuestos biológicos en la bebida (metabolitos), pueden ayudar a cumplir con los requerimientos necesarios para que ésta, sea considerada como un alimento funcional. En este estudio, se desarrolló una bebida a la que se le adicionó jugo de uchuva (*Physalis peruviana L.*). Esta fruta ha sido considerada como “superfruit”,

por su alto contenido de vitaminas, además de algunos compuestos fitoquímicos, como polifenoles y carotenos, que actúan como limpiadores de radicales libres, otorgándole a la fruta su capacidad antioxidante, que brindan valor agregado, con potencial benéfico para la salud (Ruiz, Castellanos & Jair, 2018; Narváez, Mateus, & Restrepo, 2014).

De acuerdo con lo expuesto, a través del presente estudio, se logró desarrollar una bebida carbonatada a base de permeado de lactosuero dulce, con adición de jugo de uchuva (*Physalis peruviana L.*), evaluando su estabilidad fisicoquímica, su actividad antioxidante y sus metabolitos, durante 30 días, almacenada bajo refrigeración a 4°C.

1. Capítulo 1. Objetivos

1.1 Objetivo General

Desarrollar una bebida carbonatada a base de permeado de lactosuero dulce enriquecida con uchuva (*Physalis peruviana L.*).

1.2 Objetivos Específicos

- Formular y evaluar una de bebida carbonatada a base de permeado de lactosuero dulce hidrolizado obtenido por ultrafiltración, con adición de jugo de uchuva (*Physalis peruviana L.*).
- Evaluar bajo estudios de estabilidad, las características fisicoquímicas, de capacidad antioxidante y tecnofuncionales de la bebida desarrollada.

2. Capítulo 2. Revisión de Literatura

2.1 Marco Teórico

2.1.1 Generalidades del lactosuero

En una escala global, algunos de los mayores representantes en la alimentación son la leche y sus derivados. El crecimiento en la producción y consumo de leche fresca, quesos y mantequilla está proyectado en un 36%, entre el 2014 y el 2024. En la actualidad y de acuerdo con las proyecciones, la producción quesera es la más representativa, siendo alrededor del 40% (Asas, Llanos, Matavaca & Verdezoto, 2021).

La producción de queso en Colombia es un renglón muy representativo de la industria láctea, dada su participación en la canasta familiar y su contribución en la economía nacional. De esta producción, se obtiene como coproducto, el lactosuero; de forma generalizada, se tiene que, por cada kilogramo de queso elaborado se generan cerca de nueve (9) Litros de lactosuero, cantidad que varía según el tipo de queso y la tecnología disponible para su elaboración. El lactosuero, en ocasiones, es eliminado de forma incorrecta vertiéndolo directamente en afluentes de agua y en el suelo, lo que genera un grave efecto negativo ambiental, originado por su alto nivel de materia orgánica, en particular, de lactosa, debido a su capacidad para actuar como sustrato de fermentación microbiana (Dinikaa, Verma, Balia, Utama & Patel, 2020).

Una fracción considerable de las plantas de procesamiento lácteas, no tienen un adecuado sistema para el tratamiento del lactosuero, lo que genera el vertimiento

del mismo, dando así, una pérdida de un valioso coproducto, además de ser un grave problema ambiental ya que por cada 100 Kg de lactosuero, se produce una demanda química de oxígeno (DQO) y demanda bioquímica de oxígeno (DBO) de 60000 mg O₂/L - 80000 mg O₂/L y de 30000 mg O₂/L - 50000 mg O₂/L respectivamente (Ramírez, 2017).

El lactosuero ha sido considerado, tradicionalmente, como un desecho de la industria láctea; pero debido a sus componentes, se considera como un alimento biofuncional, importante para la integridad y para la motilidad intestinal y para el funcionamiento y fortalecimiento del sistema linfático y del sistema cardiovascular. Puede ser utilizado en una gran variedad de productos, como bebidas, quesos, helados; además de estar disponible a bajo costo, para la industria colombiana (Freire, Gonçalves Lumi & Suguimoto, 2017; López, Becerra & Borrás, 2018). El lactosuero es un producto, cada vez, más abundante, a nivel mundial, siendo una excelente fuente nutricional; no obstante, sólo alrededor del 50 % es utilizado en la industria, bien sea de forma líquida o deshidratado o para separar sus compuestos por tecnologías de membranas, entre otras. El sector lácteo colombiano comparte esta problemática, en parte, por las tecnologías disponibles, en la que un gran porcentaje del lactosuero producido, no es utilizado, representando un costo adicional para las empresas o se convierte en un problema ambiental. Cada vez más, se observa una tendencia a buscar nuevos usos para éste, como la producción de bebidas lácteas, lactosuero en polvo, concentrado de proteína del suero (WPC), reproceso en quesos y obtención de galactooligosacáridos (GOS), entre otros (Chacón, Martínez, Rentería & Rodríguez, 2017).

En la industria, se pueden encontrar dos tipos de lactosuero, el primero es el ácido, dado durante la elaboración de queso, acidificando la leche con un ácido orgánico o por la acción de bacterias ácido lácticas; éste tiene un pH promedio de 4,6, niveles de calcio de 1,4 g/L y fosfatos de 3,2 g/L. En segundo lugar, se presenta el lactosuero dulce, obtenido por medio de una coagulación enzimática, presenta un pH de 5,6, niveles de calcio de 0,5 g/L y fosfatos de 2 g/L (Marciniak et al., 2020).

Los componentes nutricionales del lactosuero varían dependiendo de la leche usada en la elaboración del queso y del tipo de lactosuero obtenido durante el proceso de elaboración (Tabla 1). Entre los nutrientes más abundantes del lactosuero dulce están la lactosa (44-52 g/L), las proteínas séricas (6-10 g/L) y las sales minerales (8%-10% de extracto seco), como el potasio, el calcio, el fósforo y el magnesio, además de vitaminas A, D y B₂; este producto genera un aporte calórico, por cada 100g, de 286cal (Araujo, Monsalve & Quintero, 2013).

Tabla 1. Composición de los lactosueros dulce y ácido.

Componente	Composición g/L	
	Lactosuero dulce	Lactosuero ácido
Sólidos totales	63-70	63-70
Lactosa	46-52	44-46
Proteína	6-10	6-8
Calcio	0,4-0,6	1,2-1,6
Fosfato	1-3	2-4,5
Lactato	2	6,4
Cloruro	1,1	1,1

Fuente: Gómez y Sánchez (2019).

2.1.2 Procesos de Separación por Membranas: Permeado de lactosuero

El proceso de separación por membranas es definido como la separación de dos o más componentes de diferente tamaño, que se encuentran en un líquido primario. Se basa en la separación del líquido, en dos corrientes, un permeado y un concentrado, lo cual se consigue al pasar el líquido, a través de una membrana con permeabilidad selectiva. Entre las principales tecnologías de separación por membranas, que se han implementado en el sector alimentario, se encuentran: microfiltración (MF), ultrafiltración (UF), nanofiltración (NF) y ósmosis inversa (OI). La fuerza motriz para el transporte de materiales, a través de la membrana, en

esos cuatro procesos, es la diferencia de presión. Las presiones aplicadas para cada una de las tecnologías son diferentes, debido a la energía necesaria para atravesar los poros de la membrana, siendo MF y UF de bajas presiones y NF y OI de altas. En la Tabla 2, se presentan los rangos comunes de presión y los tamaños de partículas, así, como el contenido del permeado y del concentrado en los diferentes procesos (Berk, 2018; Ramírez, Solís & Vélez, 2018; Benavides & Muvdi, 2014).

Tabla 2. Procesos de Separación por membranas

	MF	UF	NF	RO
Permeado	Agua, minerales, lactosa y proteínas	Agua, minerales, lactosa	Agua, lactosa y iones monovalentes	Agua
Concentrado	Grasa y proteína	Grasa y proteína	Todos los solutos (excepto iones monovalentes)	Todos los solutos
Tamaño de partícula (nm)	100-10000	1-100	0,5-5	0,5-5
Presión de operación (MPa)	0,1-0,3	0,2-1	1-4	3-10
Microfiltración (MF), ultrafiltración (UF), nanofiltración (NF) y ósmosis inversa (RO o OI).				

Fuente: Berk 2018.

En la industria láctea, uno de los usos más comunes es la recuperación y el fraccionamiento de los componentes del lactosuero, por medio de la ultrafiltración. Este proceso de separación por membranas impulsado por presión, selecciona macromoléculas que tienen peso entre 1000 – 200000 Da, al pasar por poros con una variación de tamaño de 0,001 a 0,1 mm. La ultrafiltración (Figura 1) es considerada un proceso de baja presión, realizada a valores inferiores de 1000 kPa, a diferencia de la NF y OI. El resultado de este proceso es un concentrado de proteína que, también, puede contener grasa y sales coloidales; además de un

permeado, que contiene, principalmente, lactosa, minerales solubles, agua y compuestos de bajo peso molecular, como nitrógeno no protéico y vitaminas solubles en agua (Berk, 2018; Solís, Vélez & Ramírez, 2017).

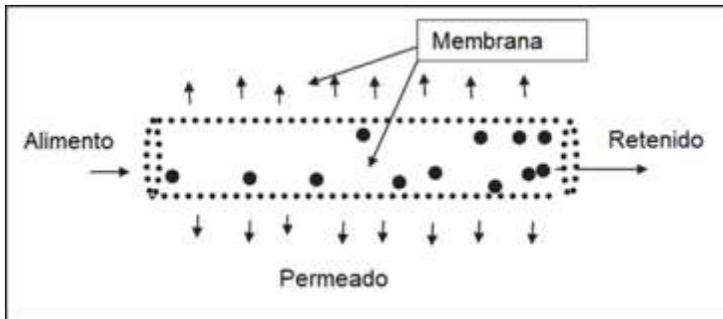


Figura 1. Separación en membrana tubular.

Fuente: Berk 2018.

El permeado es el líquido resultante de la ultrafiltración del lactosuero, y su característica es ser de color verde-amarillo, siendo considerado como un co-producto de la producción del concentrado de proteína de lactosuero y del aislado de proteína de lactosuero. Este producto es rico en su contenido de lactosa y minerales, posee una buena solubilidad y un sabor lácteo agradable, esto hace que sea un excelente ingrediente para otras formulaciones alimenticias (López, Becerra & Borrás, 2018).

El permeado de lactosuero tiene un contenido del 76%-85% de lactosa, esto hace que su funcionalidad sea definida por este elemento; además, es rico en minerales, como calcio y fósforo, algunas sales, lactosa y agua. El contenido de grasa es muy bajo o nulo, y es prácticamente, nula, la presencia de proteínas. Éste es una materia prima rica nutricionalmente, que aporta beneficios de sabor, al ser utilizada en otras matrices alimenticias. En la industria de los alimentos, el costo es un factor importante, al determinar el uso de ingredientes, siendo que el valor del permeado es bajo, lo hace ideal para ser utilizado en la industria reemplazando el uso de agua (López, Becerra & Borrás, 2018).

2.1.3 Generalidades de la uchuva

La uchuva (*Physalis peruviana L.*), es una fruta climatérica, nativa de la región andina, perteneciente a la familia de las *Solanaceae*s y al género *Physalis*. Cuenta con más de ochenta variedades, que se encuentran en estado silvestre y que se caracterizan porque sus frutos están encerrados dentro de un cáliz o capacho. Por sus características sensoriales y nutricionales es una fruta de alta demanda, siendo los mayores productores Colombia y Sudáfrica (Ruiz, Castellanos & Jair, 2018; Osorio et al., 2016). El extracto líquido de este fruto constituye el 72,6% de su volumen total; posee un nivel de acidez titulable entre 0,9%-1,0% de ácido cítrico, tiene una variación de pH entre 3,79-3,86, y se caracteriza por un contenido relativamente alto de polifenoles, superior a los 125 mg EAG/100 g muestra (Hemalatha et al., 2018).

La composición química y su valor nutricional, hacen que esta fruta sea objetivo para la producción de alimentos de alto valor. Se encuentran contenidos de materia entre el 10,4% al 17,24%, de éste, alrededor del 15% es compuesto por sustancias solubles; además, contiene un valor protéico de 1,85%, el contenido de carbohidratos totales es de 13,22% y la grasa es de 3,16%, su valor energético es 88,72 kcal. El contenido total de azúcares es cercano al 9%, de los cuales, aproximadamente, 6,4% son azúcares reductores (Olszanska, Stepień, Biesiada, Ostek & Oziembłowski, 2017).

Esta fruta es rica en vitaminas C, la cual se encuentra en cantidades que varían de 38 a 43 mg, con un contenido promedio de 1,6 mg de carotenos; además, posee tiamina, niacina y riboflavina, que hacen parte del complejo B; también, se encuentran tocoferoles, vitamina K, fibra y una rica composición de macro y micronutrientes (con hierro, zinc y cobre). Además, posee ácidos grasos poliinsaturados, siendo el omega-6, su mayor representante (Olszanska, Stepień, Biesiada, Ostek & Oziembłowski, 2017).

La Uchuva (*Physalis peruviana L.*) se destaca por sus propiedades biofuncionales, dadas por sus compuestos activos; de éstos, se destacan las lactonas, como el 28 hidroxiwitanólido, witanólidos, physalinas, phygrina; y flavonoides, como el kempferol y glucósidos de quercetina; también su contenido de provitamina A (caroteno), vitamina C (ácido ascórbico), vitamina E (α -tocoferol), fisalina, pectina y melatonina, que han mostrado actividad antioxidante y preventiva al daño peroxidativo, en microsomas hepáticos y hepatocitos, efectos citotóxico, antiinflamatorio, antibacteriano e hipotensor (Olszanska, Stepien, Biesiada, Ostek & Oziembłowski, 2017; Areiza, Maldonado & Rojano, 2013).

2.1.4 Capacidad antioxidante y metabolitos secundarios

2.1.4.1 Capacidad antioxidante

Los radicales libres son una especie química, con uno o más electrones desapareados; cuando existe un exceso de éstos, pueden atacar lípidos, proteínas, ADN, ciertos tipos de hidratos de carbono y neurotransmisores, lo que genera en el organismo, una serie de reacciones en cadena, formándose nuevos radicales libres y otros compuestos, como carbonilos y aldehídos. Los radicales libres están relacionados con la salud, ya que los compuestos generados en este proceso, se relacionan con enfermedades y procesos degenerativos, como enfermedad cardiovascular, ciertos tipos de cáncer (debido a las mutaciones que producen en el ADN) y patologías del sistema cognitivo, entre otros (Araneda et al., 2017).

Los antioxidantes, son un grupo de compuestos capaces de prevenir los procesos degenerativos, asociados a un exceso de radicales libres en el organismo, ya que al interactuar con éstos, generan un nuevo radical menos reactivo que el radical libre original o potenciando otros sistemas antioxidantes, como ciertas enzimas (Araneda et al., 2017).

La capacidad antioxidante del fruto, no es la suma de las capacidades antioxidantes de cada uno de sus componentes, ya que entre éstos, hay una serie de interacciones, que pueden producir efectos sinérgicos o antagónicos (Jurado et al., 2016).

Para el caso de la uchuva, se observó que la fruta en un estado de maduración 4 (escala 1-6), presenta un 78% de inhibición DPPH, el cual sigue aumentando con el nivel de maduración, hasta llegar al 91,7%, en el estado de sobre maduración, 6 en la escala. La capacidad antioxidante de esta fruta está relacionada con el alto contenido de compuestos fenólicos, lo cual indica que posee una buena capacidad de inhibir radicales libres causantes de la oxidación, en el organismo (Olszanska, Stepien, Biesiada, Ostek & Oziembłowski, 2017).

2.1.4.2 Polifenoles

Los polifenoles, actúan contra los radicales libres, donando un hidrógeno de los grupos OH del anillo B, además, un electrón a radical hidroxilo, peroxilo y peroxinitrito, estabilizándolos y transformándose en una molécula relativamente estable. Otra manera de actuar es que algunos de éstos pueden potenciar las actividades de enzimas antioxidantes, como la genisteína, una isoflavona que potencia la catalasa, la glutatión peroxidasa, la glutatión reductasa y la SOD (Jurado, et al., 2016).

En el caso de la uchuva, se ha encontrado que la quercitina domina sobre los demás compuestos fenólicos de esta fruta; otros que tienen relevancia en el porcentaje de este tipo de compuestos, son la miricetina y el kaempferol; se habla de que, en estados de maduración 4 – 5, se pueden encontrar niveles de 130 -196 equivalentes de ácido gálico (EAG)/100 g de muestra fresca (Olszanska, Stepien, Biesiada, Ostek & Oziembłowski, 2017).

2.1.4.3 Carotenoides

Son triterpenoides, con una cadena larga isoprénica; éstos, se clasifican como componentes activos de la vitamina A. Los carotenoides pueden captar radicales peroxilo, mediante transferencia de electrones o sustracción de átomos de hidrógeno, mecanismos que llevan a la formación de una gran variedad de carotenoides radicálicos. Además, pueden captar oxígeno singlete que, al igual que los radicales libres, tiene consecuencias sobre la salud. En la uchuva, se habla de valores entre 230 y 310 mg de carotenos, por 100g de muestra fresca de fruta, en escala de maduración 4 y 6, teniendo esta última, como estado de sobre maduración (Cárcamo, Elezar & Ordóñez, 2019).

2.1.5 Bebidas carbonatadas

Las bebidas con gas carbónico pueden tener como matriz base, distintas soluciones, la más común es el agua. Buscando una alternativa que proporcione un componente nutricional a este tipo de bebidas, el lactosuero o permeado, pueden ser una excelente base para éstas. Existe una gran variedad de productos e investigación sobre la carbonatación y sus efectos sobre los atributos sensoriales de las bebidas lácteas, como el yogurt, el lactosuero y la leche (Newbold & Koppel, 2018).

El mercado de este tipo de bebidas está establecido desde hace más de un siglo. En la actualidad, ocupa un importante renglón en el consumo de bebidas y, aunque el mercado tenga cambios hacia algo más saludable, las empresas se adaptan al mercado. En el entorno nacional colombiano, se habla de una participación aproximada del 47%, en bebidas carbonatadas, agua embotellada en un 19% y jugos de frutas con 17%; otro tipo de bebidas ocupan un menor porcentaje (Londoño & Giraldo, 2018; Colmenares, 2014).

El proceso de carbonatación para elaboración de bebidas, se basa en adicionar una determinada cantidad de CO₂, que varía entre 3 a 5 veces el punto de equilibrio de saturación de la bebida. Esta clase de bebida debe estar refrigerada

entre 4° y 7°C, para que la absorción del gas, por el líquido, sea ideal entre 92 % a 98%. Realizar este proceso, mejora las características organolépticas del producto y puede extender su vida útil, siempre y cuando, se mantenga en las condiciones adecuadas de temperatura (Newbold & Koppel, 2018).

2.2 Estado del Arte

Se han realizado diversos estudios de carbonatación sobre bebidas de frutas y matrices lácteas, que buscan mejorar las condiciones organolépticas del producto, además de entregar una bebida, con un mayor valor nutricional, que las bebidas tradicionales, que tiene como base agua y su sabor y color están dados por colorantes y saborizantes artificiales.

Solanke, Sontakke & Verma (2017), examinaron el efecto de la temperatura sobre la solubilidad del CO₂ y el efecto de la presión del CO₂ sobre jugo de naranja; los resultados indicaron que el jugo puede ser fácilmente carbonatado, además para óptimos resultados en la disolución del CO₂, en la bebida, es necesario mantener bajas temperatura y altas presiones.

De acuerdo con Patil, Kurhekar & Patil (2011), este tipo de bebidas, generalmente, contienen colorantes sintéticos y agentes aromatizantes y pueden ser alergénicos; al utilizar jugos de frutas, las hacen más interesantes, desde el punto de vista nutricional y se evita la necesidad de utilizar aditivos sintéticos. Los autores desarrollaron una bebida carbonatada, a partir de chirimoya (*Annona cherimola*), buscando aumentar el valor nutricional y dar un valor añadido al producto final. Los resultados mostraron que las bebidas carbonatadas con chirimoya, son una buena fuente de proteínas (0,7%), carbohidratos (12,9%) y grasas (0,18%), siendo superior a otras bebidas sintéticas.

Shah & Prajapati (2014), buscaban establecer las condiciones ideales para una bebida en base leche, con adición de probióticos *Lactobacillus helveticus* MTCC

5463, en combinación con *Streptococcus thermophilus* MTCC 5460, con respecto a la presión de dióxido de carbono, concentraciones de azúcar y sal, en base a parámetros sensoriales, físico-químicos y microbianos. El producto final optimizado contenía 15% de azúcar, 0,8% de sal y se carbonató a 14,7 bar (15 kgf/cm²) de presión, el cual presentó una vida útil de 28 días, a 5° ± 1° C, aunque se observó una disminución significativa para la aceptabilidad general.

Walsh, Cheng & Guo (2014), teniendo en consideración que el yogur es una bebida popular, en los Estados Unidos, formularon bebidas de yogur de granada y vainilla, que contenían inulina, como prebiótico, junto con las bacterias probióticas *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium*, para producir productos simbióticos, evaluando dos (2) volúmenes de dióxido de carbono (CO₂). Las muestras se almacenaron en botellas de vidrio, selladas a 4 °C, durante nueve (9) semanas, para evaluar las propiedades fisicoquímicas y funcionales. Los resultados indicaron que, tanto el *Lactobacillus acidophilus* como el *Bifidobacterium*, se mantuvieron estables y por encima de 10⁶ UFC/g, para ambos sabores de bebidas, con y sin carbonatación.

Silva, Spadoti, Zacarchenco & Trento (2018), desarrollaron una bebida carbonatada funcional probiótica (*Bifidobacterium animalis subsp. lactis.*), utilizando CO₂ a una concentración de 10,3 bar (10,5 kgf/cm²), a partir de lacto lactosuero y evaluar sus características microbiológicas y fisicoquímicas, poco después de la producción y durante el almacenamiento. Encontraron que el probiótico, se mostró aceptable en viabilidad y estabilidad, durante el almacenamiento; la calidad microbiológica de la bebida permaneció dentro de los límites establecidos; además, el pH y la acidez titulable permanecieron estables.

Patel (2017), evaluó una bebida carbonatada, realizada con una presión de carbonatación de 103,4 kPa (15 psi), a base de lactosuero al que se le realizó hidrólisis de lactosa y distintas variaciones en el porcentaje de jugo de limón y sacarosa. Los resultados mostraron que la bebida más aceptada y de mejor calidad tenía 4,5% de jugo de limón, 10% de azúcar y 0,6% de sal; la bebida de lactosuero preparada fue aceptable hasta 49 días en refrigeración a (7 ± 1 ° C).

Park et al., (2020), realizaron un estudio, en el cual se investigó la solubilidad del CO₂, según la fuente de carbono, a diferentes temperaturas y los efectos del CO₂, tanto en la mejora de la calidad, como en la extensión de la vida útil del jugo de manzana. Los resultados indicaron que la carbonatación genera un impacto positivo sobre el color, evitando su degeneración, durante el almacenamiento e inhibió el crecimiento de microorganismos, además de reducir cambios en otros factores fisicoquímicos.

Shams & Wadhawan (2019), realizaron un estudio con el objetivo de utilizar ciruela india (*Ziziphus mauritiana*), en la producción de bebidas carbonatadas listas para el consumo; haciendo uso de esta fruta buscaban generar un valor agregado al producto final. Este estudio encontró que la bebida presentaba las bondades de la fruta, manteniendo un buen desempeño en las variables analizadas de pH, acidez titulable, grados brix, contenido de ácido ascórbico y azúcares; el análisis microbiológico mostró que las bebidas permanecieron libres de mohos y levaduras, hasta el día 30 de almacenamiento, siendo un éxito, además, por su aceptabilidad en el análisis sensorial.

La Polifenol oxidasa (PPO) es la enzima que inicia la reacción de pardeamiento y deteriora la calidad de los zumos de frutas; la tecnología de dióxido de carbono a alta presión (HP-CO₂) es una técnica prometedora, para obtener zumos de manzana de alta calidad, con baja actividad enzimática. Murtaza, Iqbal, Linhu, Liu, Xu, Pan & Hu (2019), analizaron el efecto de diferentes concentraciones de CO₂ y temperatura, sobre la actividad y modificación estructural de la polifenol oxidasa (PPO) del jugo de manzana. Hallaron que la actividad de PPO disminuyó, gradualmente, a medida que aumentaban la temperatura y la presión; la PPO fue completamente inactivada, en el estado supercrítico.

Atallah & Gemiel (2020), buscaban realizar nuevas bebidas carbonatadas, a partir de lactosuero hidrolizado con un enzima lactasa, que fuera aceptable para el mercado. Las bebidas de lactosuero hidrolizado se carbonataron, inyectando CO₂, a una presión de 103,4 kPa (15 psi), durante 15 segundos. A partir de este estudio, se pudo concluir que las bebidas carbonatadas de lactosuero,

suplementadas con limón y menta, podrían recomendarse como nuevas bebidas de lactosuero carbonatadas funcionales. Se concluyó que podría incorporarse con éxito, para la elaboración de productos finales de jugos de frutas y algunos extractos de hierbas.

3. Capítulo 3. Formulación y evaluación de la estabilidad de una bebida carbonatada a base de permeado de lactosuero dulce obtenido por ultrafiltración y jugo de uchuva (*Physalis peruviana* L.).

3.1 Resumen

En el mundo, se observa una tendencia al aumento en la producción de leche y al procesamiento de quesos, el cual deja como remanente de producción, el lactosuero; según el uso que se le dé a éste, podría ser tomado como una grave problemática ambiental o como una oportunidad económica. Dado el crecimiento de la utilización de lactosuero, con la finalidad de obtener aislados de proteína, por métodos de separación por membranas (ultrafiltración), este proceso deja un remanente llamado permeado con condiciones adecuadas para ser considerado como un coproducto. El objetivo de este estudio fue desarrollar y caracterizar una bebida carbonatada a base de permeado de lactosuero dulce, adicionando jugo de uchuva (*Physalis peruviana* L.). Para la elección de la bebida se establecieron cuatro (4) formulaciones con 5%, 6%, 7% y 8% de participación de jugo de uchuva, con una presión de carbonatación de 3,3 bares, y se realizó una prueba de ordenamiento con siete (7) jueces entrenados, para elegir la de mejor sabor. Para esta formulación, se evaluó la estabilidad durante 30 días de almacenamiento (0, 8, 15, 23 y 30) bajo refrigeración a 4 °C, evaluando pH, acidez

titulable, sólidos solubles totales ($^{\circ}\text{Bx}$), color, recuento microbiológico (*Escherichia coli*/g, mohos y levaduras/g), solubilidad de CO_2 , carotenoides totales, fenoles totales y actividad antioxidante. Los resultados de los análisis sensoriales mostraron a la bebida carbonatada con 6% de fruta, como la mejor, desde el punto de vista de atributos sensoriales (aceptabilidad de 9,6/10). El estudio de estabilidad mostró una tendencia leve a la disminución del pH de 3,2, a 3,15 y a un aumento en la acidez titulable (% de ácido cítrico) de 0,358 a 0,362. Se observó que la solubilidad del CO_2 fue estable, presentado un cambio de 3,193 a 3,177 g/L, sin ser significativa, y los parámetros microbiológicos estuvieron de acuerdo con la normatividad. En cuanto a los carotenos y compuestos fenólicos se observó una disminución en el tiempo, de 3,36 a 3,34 mg/100 g y de 8,414 a 8,316 AGE / 100 g, respectivamente; la actividad antioxidante evaluada por los métodos ABTS y DPPH, presentaron cambios de 5,36 a 5,32 y de 3,87 a 3,83 mg Trolox/ 100g, respectivamente.

Palabras clave: lactosuero, carbonatación, uchuva, almacenamiento.

Abstract

The production of milk and cheese has the tendency to increase worldwide, this leaves a large production of whey that can be taken as a serious environmental problem or an economic opportunity. The growth of the use of this residual whey to obtain protein isolates, leaves a permeate with adequate conditions to be considered as a co-product. The objective of this study was to develop and characterize a carbonated drink based on sweet whey permeate by adding juice of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.). For the choice of the drink, four (4) formulations were established with 5%, 6%, 7% and 8% of cape gooseberry juice, with a carbonation pressure of 3.3 bars, a ranking test was carried out with seven (7) trained judges to choose the one with the best flavor. This formulation was evaluated for stability during 30 days of storage at 4 °C, evaluating pH, titratable acidity, total soluble solids ($^{\circ}\text{Bx}$), color, microbiological count (*Escherichia coli*/g,

molds and yeasts /g) and CO₂ solubility on days 0, 8, 15, 23 and 30. According to the performed sensory profile analysis, carbonated beverage with 6% fruit had the best flavor attributes, with a quality of 9.6 on a scale of 10. The stability study showed a slight tendency to decrease the pH from 3.2 to 3.15 and an increase in titratable acidity (% citric acid) from 0.358 to 0.362. It was observed that the solubility of CO₂ was stable, with a change from 3.193 g/L to 3.177 g/L, not being significant, and the microbiological parameters were in accordance with the Colombian regulations. In carotenes and phenolic compounds, during the stability period a decrease was observed from 3.36 to 3.34 mg / 100 g and from 8.414 to 8.316 AGE / 100 g respectively. During the storage time, the antioxidant activity ABTS and DPPH changed from 5.36 to 5.32, and 3.87 to 3.83 mg Trolox / 100g , respectively.

Keywords: whey, permeate, carbonation, cape gooseberry, storage

3.2 Introducción

En Colombia, la utilización, a nivel industrial, del lactosuero es baja y, gran parte de éste, es vertido a afluentes hídricos o en el suelo; esto sucede pese a las regulaciones ambientales y significa un grave problema de contaminación, dada sus altas DBO (35000-45000 mg/L) y DQO (60000-80000 mg/L) (Freire, Gonçalves, Lumi & Suguimoto, 2017; Salazar, Oblitasb & Rojas, 2016).

La industria alimentaria busca nuevas formas de utilizar este coproducto, y una de estas alternativas es la concentración de proteínas (WPC) por ultrafiltración. Este producto, además de ser rico en minerales y compuestos biofuncionales, se considera como un alimento dinámico, fundamental en diversas áreas, como la integridad y motilidad intestinal, funcionamiento y fortalecimiento del sistema linfático y del sistema cardiovascular, entre otros. Esto, lo convierte en un coproducto de alto valor nutricional, que puede ser utilizado en una gran variedad de productos, disponible a bajo costo, para la industria alimentaria (López, Becerra & Borrás, 2018).

Una de las formas más eficientes, desde el punto de vista de procesamiento, para utilizar el permeado proveniente del proceso de ultrafiltración de lactosuero dulce, es su combinación con jugos de frutas y/o vegetales, ya que, así, se limita o reemplaza, totalmente, la utilización de agua en la formulación, además de aprovechar su potencial nutricional y biofuncional. Uno de los tipos de bebidas de mayor preferencia, a nivel global, son las bebidas gasificadas azucaradas, cuyo consumo contribuyen al aumento de los problemas de salud pública, ya que un alto consumo de este tipo de bebidas, se relaciona con un mayor riesgo de padecer diabetes, enfermedades cardiovasculares y ciertos tipos de cáncer; además de poseer otros aditivos, como colorantes, saborizantes y conservantes (Araneda et al., 2017). Por esto, se busca ofrecer bebidas carbonatadas, que tengan una composición nutricional y que ofrezcan otros beneficios para los consumidores, como el aporte de compuestos de capacidad antioxidante (Newbold & Koppel, 2018).

La adición de zumos o jugos de frutas a las bebidas puede ayudar a aumentar las características nutricionales y funcionales, por lo que la uchuva (*Physalis peruviana L.*), fruta climatérica, cultivada en Colombia y que ocupa el segundo puesto en exportaciones de frutas, después del plátano, es una buena posibilidad (Narváez, Mateus & Restrepo, 2014). La uchuva (*Physalis peruviana L.*) se conoce como “superfruit”, por sus valores de fibra, contenido de sacarosa y fructosa, su alto contenido de pro-vitamina A, ácido ascórbico y en algunas vitaminas del complejo B (tiamina, niacina y vitamina B₁₂) y vitamina E (alfa, beta y tocoferoles). Además, la fruta es rica en proteínas crudas, fósforo, potasio y hierro (Osorio et al., 2016; Fischer, Almanza & Miranda, 2014). Esta fruta se destaca por diferentes propiedades biofuncionales, como son la actividad antioxidante, es decir, que promueve una reducción del estrés oxidativo en las células, es rica en fisalina, pectina, polifenoles, carotenoides y melatonina, así, como en lactonas. Estos compuestos bioactivos poseen un amplio espectro de propiedades medicinales, como protector del hígado, antitumoral, citotóxico, previenen el derrame cerebral; por esto, se considera una fuente de compuestos ideales para una bebida (Hemalatha et al., 2018).

Lo anterior indica, que la búsqueda de alternativas para bebidas carbonatadas más saludables, es de suma importancia. A través del presente estudio, se desarrolló una bebida carbonatada a base de permeado de lactosuero dulce, con adición de jugo de uchuva (*Physalis peruviana L.*), evaluando su estabilidad fisicoquímica, su actividad antioxidante y sus componentes con actividad antioxidante (carotenoides y polifenoles totales), durante 30 días en refrigeración a 4°C.

3.3 Materiales y métodos

El desarrollo experimental de la bebida, se llevó a cabo en las instalaciones del Laboratorio de Productos Lácteos, el laboratorio de Procesos Agrícolas y el laboratorio de Control de Calidad de Alimentos, adscritos al Departamento de Ingeniería Agrícola y Alimentos, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.

3.3.1 Acondicionamiento y Caracterización del permeado

En este estudio, se utilizó el lactosuero dulce obtenido en el proceso de elaboración de quesos frescos, suministrado por la empresa de productos lácteos AURALAC S.A., ubicada en el municipio de Rionegro, Antioquia. Una vez recibido, se filtró con una malla de tela de tamaño de poro de 0,1 mm de diámetro; posteriormente, se termizó a 45°C para ser descremado en una centrífuga Westfalia, a 8050 rpm. Finalmente, el producto fue pasteurizado a 62°C, por 30 minutos.

El lactosuero se sometió a un proceso de separación por membranas, por ultrafiltración, utilizando el sistema de flujo continuo de marca PERINOX, modelo E0FT. El procesamiento se llevó a cabo a una temperatura de 48°C, un factor de concentración de 18, una presión de entrada de 1 bar y una presión de salida de 3 bar. El permeado de ultrafiltración obtenido fue sometido a refrigeración y cuando

alcanzó una temperatura de 10°C o inferior, fue sometido a una hidrólisis enzimática (Enzima: Saphera 2600), bajo una relación de adición de 0,3 mL/L, durante 18 horas. Posterior a esto, se realizó una termización a 61°C, y después de que alcanzó una temperatura menor a los 30°C, fue llevado a refrigeración a 4°C, buscando que el permeado fuera acondicionado a un grado de hidrólisis entre el 80%-85%, evaluando este valor por punto crioscópico, siguiendo la metodología dada por Beltrán y Acosta (2012). Para el permeado, se caracterizaron las siguientes variables:

- Sólidos solubles totales. Esta variable fue medida como grados Brix (°Bx), utilizando un refractómetro HANNA HI 96801 (AOAC 981.12, 1997).
- Acidez titulable. Fue medida por titulación, tomando una muestra de 9 mL y fue llevada a un crisol de porcelana, en donde se aplicaron 2 gotas de fenolftaleína al 2% como indicador, titulando con hidróxido de sodio a 0,1 N (AOAC 947.05, 1997). La acidez fue expresada como porcentaje equivalente de ácido láctico.
- pH. Se realizó con un potenciómetro de electrodo, siguiendo la metodología dada (AOAC 981.12, 1997; NTC 3651, 2012).
- Color. Se utilizó el espacio de color CIE L*a*b*, empleando un colorímetro (Konica Minolta®, modelo Chroma meter CR-400, Japón), con iluminante D65 y un ángulo visual de 2°. A partir de los espectros de reflexión de las muestras, se determinaron las coordenadas del L*a*b* (NTC 4623, 1999).

3.3.2 Acondicionamiento y Caracterización de la uchuva

La fruta de uchuva previamente desinfectada (hipoclorito a 100 ppm), se sometió a un proceso de trituración, usando una licuadora industrial (CI TALSA LI30 de 30 litros). El producto resultante, se pasó por una malla metálica de 1 mm, con el fin de separar residuos de cáscara y semillas; luego, se caracterizaron las siguientes variables:

- pH. Se realizó con un potenciómetro de electrodo (OHAUS Starter 3100), en pulpa homogeneizada (AOAC 942.15, 2012; NTC 3651, 2012).
- Acidez titulable. Se pesaron 0,5 g de pulpa de fruta homogeneizada y se adicionaron 10 mL de agua destilada, con solución de hidróxido de sodio 0,1 N y fenolftaleína (1%), como indicador. Se expresó como porcentaje (%) de ácido cítrico, por cada 100 g de muestra (AOAC 942.15; NTC 4580, 1999).
- Sólidos soluble totales. Se determinaron por lectura refractométrica, utilizando un refractómetro HANNA HI 96801 (NTC 4580, 1999).
- Color. Se trabajó en el espacio de color CIE $L^*a^*b^*$, empleando un colorímetro (Konica Minolta®, modelo Chroma meter CR-400, Japón), con iluminante D65 y un ángulo visual de 2°. A partir de los espectros de reflexión de las muestras, se determinaron las coordenadas del CIE- $L^*a^*b^*$ (NTC 4623, 1999).
- Actividad antioxidante y polifenoles totales. Se realizaron las pruebas de ABTS y DPPH, donde la extracción metanólica, se llevó a cabo con modificaciones de la metodología descrita por Bravo, Sepúlveda, Lara, Navas & Osorio (2014); se pesaron 3 g de pulpa de fruta en tubos falcón de 50 mL. Luego, se adicionaron 20 mL de una mezcla metanol/agua 30:70, se agitó en vórtex a 15000 rpm, durante 5 minutos y se centrifugó a 8000 rpm, por 15 min., a 20°C; posteriormente, se pasó la muestra por un papel filtro, a un balón aforado de 25 mL.
- Carotenoides totales. Su caracterización siguió la metodología propuesta por Ferreira, Aires, Barreira & Estevinho (2009): se utilizó 1 gramo de la muestra, la cual se agitó con 10 mL de una mezcla de n-hexano y acetona (6: 4) (SOLVENTE), durante 10 minutos, a temperatura ambiente y se filtró a través de un papel de filtro Whatman No.4. La absorbancia del filtrado se midió a 450 nm, con un blanco de reactivos.

3.3.3 Formulación y elección de la bebida

La elección de la bebida, se realizó variando el porcentaje de participación del permeado de lactosuero y de la participación de jugo de uchuva (Tabla 3), tomando como máximo 8% para este último, teniendo en cuenta las indicaciones de la NTC 2740 (INCONTEC, 2020). El porcentaje remanente fue definido por la participación de sacarosa y ajustando los sólidos totales a un valor de 7 %. Las bebidas ya preparadas, según cada formulación, fueron pasteurizadas a 63°C, por 30 minutos. Las bebidas fueron analizadas fisicoquímicamente, en sólidos totales, acidez titulable, pH y color, siguiendo las metodologías previamente descritas.

Tabla 3. Formulaciones de las bebidas, en porcentaje de participación

Formulación	Permeado de lactosuero	Jugo de uchuva	Sacarosa
1	91,2	5	0,8
2	91,4	6	0,6
3	91,6	7	0,4
4	92,0	8	0,0

Proceso de Carbonatación: este proceso se realizó por carbonatación forzada, utilizando un tanque de carbonatación y una pipeta con CO₂; inicialmente, se realizó un proceso por ciclos de inyección de gas, a una presión de 3,3 bar; se obtuvo un primer ciclo, para estabilizar la presión de tanque y después seis (6) ciclos de inyección (7,5 minutos cada uno), alternados con períodos de refrigeración (30 minutos cada uno), para así, llegar al nivel de CO₂ disuelto en la bebida, que se tomó como mínimo de 2,5, según la normatividad colombiana NTC 2740 (INCOTEC, 2020). Posteriormente, se estabilizó el sistema, para un proceso de servido en botellas ámbar, las cuales fueron selladas manualmente y sometidas a refrigeración a 4°C.

A las bebidas, se les realizaron los siguientes análisis, según la metodología descritas anteriormente; pH, acidez titulable, sólidos totales, color. Adicionalmente, se realizaron las siguientes determinaciones:

- **Caracterización microbiológica.** Cuantificación para *Escherichia coli*, mohos y levaduras, siguiendo la metodología propuesta por la normatividad colombiana NTC 2740 (ICONTEC, 2020).
- **Solubilidad de CO₂.** La muestra almacenada a 4°C fue analizada, usando el equipo Anton Paar CarboQC type MFD 2015; se instaló en el dispositivo de llenado PDF, el cual perfora la tapa, permitiendo la entrada de aire comprimido limpio y empuja la muestra a la cámara de medición, la válvula se cierra de forma automática y el flujo de la muestra se detiene, el sistema equilibra la presión y temperatura de la fase líquida y gaseosa. Luego, es medido el valor de carbonatación I (cálculo del CO₂ en volúmenes). Este proceso fue realizado en tres (3) réplicas, para cada formulación.
- **Análisis sensorial:** se realizó una prueba de ordenamiento, de acuerdo con un criterio específico (ranking), buscando evaluar diferencias entre varias muestras, con base en la intensidad de un solo atributo, de varios atributos o de una impresión total según la norma NTC 3930 (INCONTEC, 2015). La prueba sensorial, se realizó con siete jueces entrenados, y se utilizó la prueba de Friedman (análisis de varianza por rangos), para la comparación de productos, en donde no se asume un orden y se plantea la hipótesis nula (H₀) y la hipótesis alternativa (H₁): H₀: X₁ = X₂ = X₃ = X₄; H₁: X₁ ≤ X₂ ≤ X₃ ≤ X₄. Si F_{Test} > F_{Tabulado}, se rechaza la hipótesis nula (H₀) de ausencia de diferencias entre las muestras.

A la bebida seleccionada, se le realizó un análisis descriptivo cuantitativo; esta prueba sensorial, se hizo con el propósito de describir y cuantificar la intensidad de los atributos sensoriales de olor y sabor – Identificación y selección de descriptores, para establecer un perfil sensorial, por aproximación multidimensional. La prueba sensorial análisis descriptivo cuantitativo QDA, se realizó con seis jueces entrenados. Los descriptores

sensoriales fueron calificados en una escala de intensidad de 10 puntos, donde 0,0 es ausencia; para valores entre 0,6 y 2,9 es muy leve; de 3,0 a 4,9 es leve; entre 5,0 y 6,9 es moderada, entre 7,0 y 8,9 es marcada y de 9,0 a 10,0 muy marcada.

3.3.4 Estabilidad de la bebida carbonatada

La mejor bebida seleccionada, se sometió a un estudio de estabilidad, en el tiempo, bajo condiciones de refrigeración controlada, a 4°C. Para los días 0, 8, 15, 23 y 30 de almacenamiento del producto, se realizaron las siguientes determinaciones: pH, acidez titulable, sólidos totales, color, recuento microbiológico, solubilidad de CO₂, fenoles totales, carotenoides totales y actividad antioxidante, según las metodologías descritas anteriormente. Todas las mediciones, se hicieron con tres réplicas. Para cada una de estas variables, se realizó un análisis de varianza y prueba de diferenciación de medias, con el 5% de significancia.

3.4 Resultados y discusión

3.4.1 Acondicionamiento y caracterización del permeado de lactosuero dulce y el jugo de uchuva

En la Tabla 4, se muestra la caracterización fisicoquímica del permeado de lactosuero dulce y el jugo de uchuva. El permeado de lactosuero presentó un pH de 6,47 y una acidez de 0,081 de % ácido láctico; estos valores concuerdan con los hallados por Herrera (2018), quien indica que el lactosuero dulce obtenido en la producción quesera, por la adición de enzimas proteolíticas, generan un fraccionamiento proteico, dando lugar a una precipitación, presentándose, así, un

valor de pH levemente ácido. Pérez (2018), presentó unos valores similares para el permeado de ultrafiltración; según su información es importante que este parámetro esté entre 6,2 y 6,8, debido a que la membrana está cargada negativamente, favoreciendo la permeación de cationes monovalentes.

Según Pérez (2018), los valores de sólidos solubles están dados, principalmente, por la presencia de lactosa, siendo uno de los principales elementos retenidos en el permeado de ultrafiltración; sus valores son muy similares a los obtenidos en la caracterización realizada. Se observa un color característico de tonalidad color verde- amarillosa, dado por las coordenadas colorimétricas (L^* , a^* , b^*).

Tabla 4. Caracterización del permeado de lactosuero y el jugo de uchuva.

Parámetro	Permeado	Jugo de Uchuva
Sólidos solubles ($^{\circ}$ Bx)	$5,5 \pm 0,05$	$15,17 \pm 0,10$
Acidez (% ác. láctico)	$0,081 \pm 0,004$	-
Acidez (% ác. cítrico)	-	$1,636 \pm 0,095$
pH	$6,47 \pm 0,15$	$3,46 \pm 0,01$
L^*	$44,920 \pm 0,233$	$47,49 \pm 1,91$
a^*	$-1,166 \pm 0,255$	$6,08 \pm 0,27$
b^*	$3,855 \pm 0,269$	$40,63 \pm 2,47$
Ácidos Fenólicos (AGE /100 g)	-	$84,14 \pm 4,83$
Carotenoides mg /kg	-	$33,59 \pm 1,278$
ABTS (mg Trolox/ 100g)	-	$53,6 \pm 5,11$
DPPH (mg Trolox/ 100g)	-	$38,73 \pm 5,05$

La uchuva utilizada para obtener el jugo se buscó bajo un estado de maduración entre 3 y 5, según la escala de color dada en la NTC 4580 (INCONTEC,1999), siendo lo ideal 5. Los parámetros obtenidos de las mediciones realizadas fueron de acuerdo con lo esperado, teniendo el color característico naranjado de esta fruta, dado por la interacción de las coordenadas a^* ($6,08 \pm 0,27$) hacia un amarillo no muy marcado y b^* ($40,63 \pm 2,47$) hacia un color rojo más dominante. Estos valores fueron similares a los obtenidos por Olszanska, Stepien, Biesiada, Ostek & Oziembłowski (2017), quienes obtuvieron una coordenada L^* de 43,28, aunque es

inferior al hallado en la investigación, está dentro de lo normal, para esta fruta, según su estado de maduración.

Con respecto a los polifenoles totales, se encontró un valor de 84,14 mg de ácido gálico/100 g, siendo muy superior a lo encontrado por Olszanska, Stepień, Biesiada, Ostek & Oziembłowski (2017). Mier & Cález (2011), indican que el principal compuesto fenólico es la quercitina, seguido por la miricetina y el kaempferol; la uchuva en estado 3 de maduración tenía valores superiores al 120 mg ácido gálico/100g, esto indica que la fruta puede ser muy variable, incluso, con el mismo grado de madurez puede haber una influencia por las prácticas de cultivo o la zona a la que pertenece. Adicionalmente, estos autores comentan que cuando se encuentra un alto contenido de compuestos polifenólicos, esto puede influir en una alta capacidad antioxidante. Según Cárcamo, Elezar & Ordóñez (2019), los carotenoides totales tienen una relación muy cercana con el color y el estado de madurez de la fruta.

3.4.2 Formulación y elección de la bebida

En la Tabla 5, se muestra la caracterización fisicoquímica, microbiológica y tecnofuncional (nivel de carbonatación de CO₂), para las formulaciones de la bebida definidas, resaltando que se elaboraron definiendo un valor constante de 7% en los sólidos totales. Los resultados indicaron que todas las bebidas cumplen con los parámetros estipulados en la NTC 2740 de 2020. Las bebidas presentaron valores en las coordenadas colorimétricas (L*, a*, b*) muy similares, así como en el volumen de carbonatación de CO₂, esto hace que se tenga una menor variación entre formulaciones y pueda ser más objetivo el análisis sensorial.

Tabla 5. Parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de las cuatro formulaciones de bebidas

Parámetro	Formulación			
	F1	F2	F3	F4
Sólidos solubles (°Bx)	7,0 ± 0,1	7,0 ± 0,1	7,0 ± 0,1	7,0 ± 0,1
Acidez (% ác. cítrico)	0,35 ± 0,1	0,35 ± 0,1	0,36 ± 0,1	0,37 ± 0,1
pH	3,18 ± 0,1	3,2 ± 0,1	3,23 ± 0,1	3,3 ± 0,1
Volumen de CO ₂ (g/L)	3,1 ± 0,1	3,1 ± 0,1	3,1 ± 0,1	3,1 ± 0,1
L*	29,98 ± 0,23	29,84 ± 0,23	29,67 ± 0,23	29,43 ± 0,23
a*	-0,21 ± 0,21	-0,23 ± 0,21	-0,25 ± 0,21	-0,28 ± 0,21
b*	14,26 ± 0,25	14,27 ± 0,25	14,32 ± 0,25	14,36 ± 0,25
Recuento de <i>Escherichia coli</i> /g	<10 UFC	<10 UFC	<10 UFC	<10 UFC
Recuento de Mohos y Levaduras/g	<10 UFC	<10 UFC	<10 UFC	<10 UFC

El análisis estadístico realizado a las pruebas sensoriales, usando la prueba de Friedman para las formulaciones definidas en la Tabla 3, muestra que no se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$). Sin embargo, en la suma de rangos (Tabla 6), se observa que la Formulación 2, obtuvo el mayor valor, es decir, mayor sabor uchuva, comparada con las otras tres muestras. Por lo tanto, se procedió a realizar, un análisis de descriptores sensoriales, siguiendo la normatividad NTC 3932 (INCONTEC, 1996) y NTC 5328 (INCONTEC, 2004), en la bebida codificada como formulación 2 (Tabla 7).

Tabla 6. Suma de rangos para las diferentes formulaciones en la bebida carbonatada.

Parámetro	Formulación			
	F1	F2	F3	F4
SUMA DE RANGOS₂	361	400	225	256

La apariencia es una característica que, para esta bebida, está mayormente influenciada por las condiciones propias de la uchuva, que provee un color naranjado característico de esta fruta, influenciado por la relación de las coordenadas a^* y b^* . El olor y sabor característicos del permeado de lactosuero, se ve enmascarado por el de la fruta, así, como por el efecto generado por realizar una hidrólisis de la lactosa superior al 80% (reducción en el sabor lácteo característico del permeado) (Figura 2). El sabor salino de intensidad leve que se pudo detectar en esta bebida, está dado por los valores de las sales minerales de calcio y de fósforo, así, como otros compuestos minerales característicos del permeado de lactosuero. La sensación refrescante y burbujeante están dados por la influencia que genera el CO_2 disuelto en la bebida.

La calidad general de esta bebida (Formulación 2) fue de 9,6, en una escala máxima de 10, definiendo la bebida con características sensoriales de aprobación sobresalientes (Tabla 7).

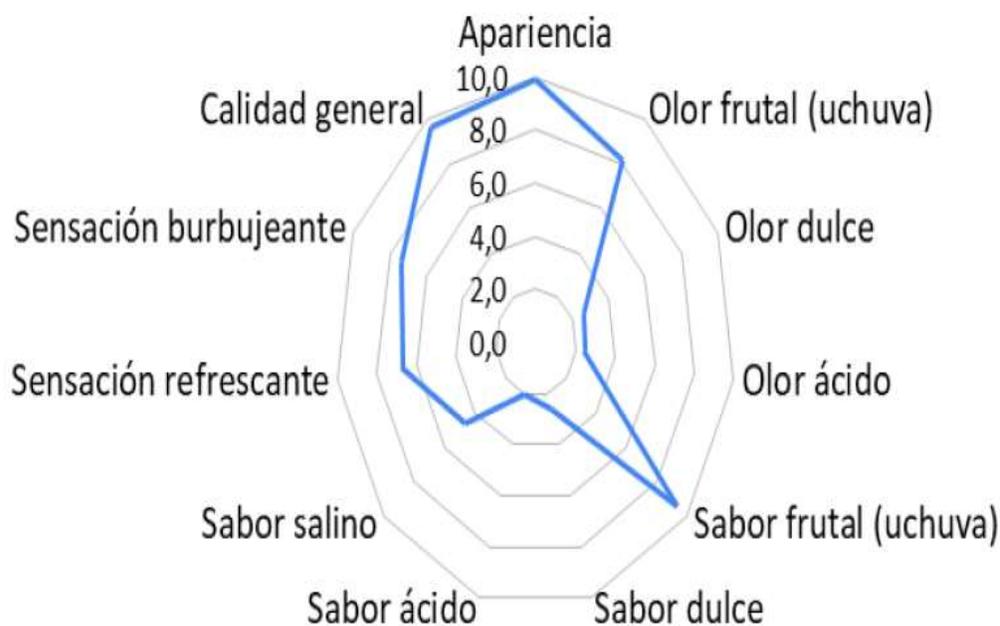


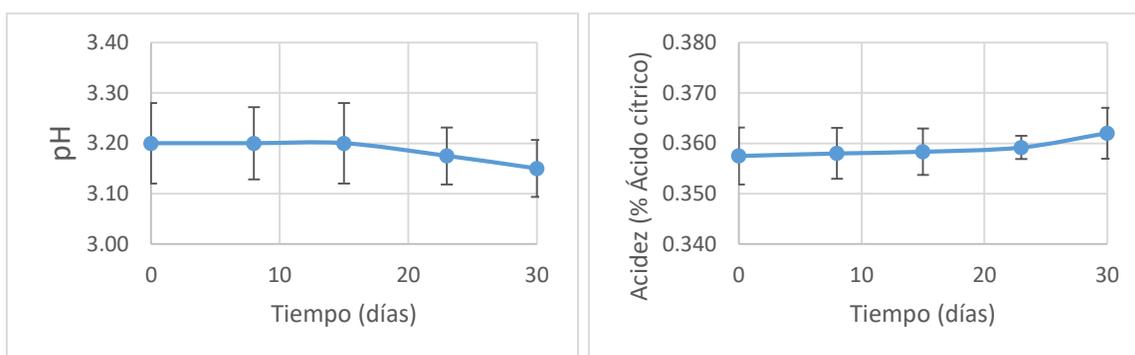
Figura 2. Intensidades de los descriptores sensoriales para la bebida formulada con 6% de participación de jugo de uchuva.

Tabla 7. Calificación de las intensidades de los descriptores sensoriales para la bebida seleccionada.

Descriptores	Formulación 2	Intensidades
Apariencia	9,9	Muy marcado
Olor frutal (uchuva)	8,1	Marcado
Olor dulce	2,6	Muy leve
Olor ácido	2,4	Muy leve
Sabor frutal (uchuva)	9,4	Muy marcado
Sabor dulce	2,6	Muy leve
Sabor ácido	2,0	Muy leve
Sabor salino	4,6	Leve
Sensación refrescante	6,8	Moderado
Sensación burbujeante	7,4	Marcado
Calidad general	9,6	Muy marcado

3.4.3 Estabilidad de la bebida carbonatada

En la Figura 3, se observa el comportamiento de la bebida carbonatada, bajo condiciones de refrigeración a 4°C y sus intervalos de confianza a un nivel de significancia del 5% (Prueba de Fisher). Los resultados indicaron diferencias estadísticamente no significativas ($p > 0,05$), durante el tiempo de evaluación en las variables analizadas.



A)

B)

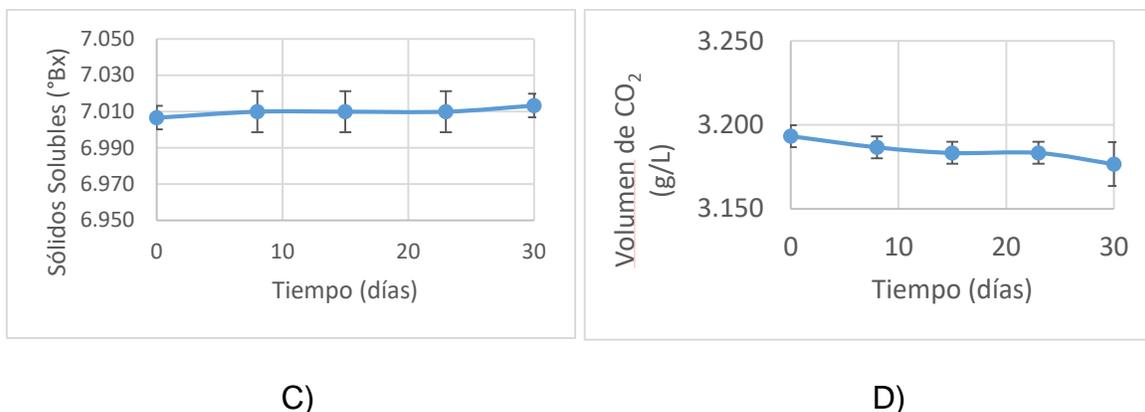


Figura 3. Estabilidad de las propiedades fisicoquímicas en el tiempo, para la bebida carbonatada: A) pH B) acidez titulable (% de Ácido Cítrico); C) sólidos solubles (°Bx); D) nivel de carbonatación.

Según Dhinesh, Ramasamy & Jerish (2016), esta variación en el pH de la bebida está dentro de lo esperado y puede deberse a las reacciones enzimáticas ocurridas, las cuales no presentan un efecto significativo, por la temperatura de almacenamiento.

La acidez titulable tomada como % de ácido cítrico, inicialmente mostró un valor de 0,358. Durante el período de almacenamiento, se dio un leve aumento, sin presentar diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$), siendo para el día 30 de 0,362. Shams & Wadhawan (2019), indican que el cambio en la acidez, puede deberse a las condiciones de almacenamiento (luz y temperatura), que pueden haber dado lugar a cambios químicos y enzimáticos, en las propiedades de la bebida.

Con relación a los sólidos totales (°Bx), inicialmente la bebida carbonatada e hidrolizada mostró, un valor de 7,007. Finalizando el período de almacenamiento, se observó una tendencia al aumento, con un valor final de 7,013 °Bx, pero sin ser un cambio estadísticamente significativo ($p > 0,05$). Según Patel (2017), este comportamiento depende, en gran medida, de la degradación de polisacáridos en oligosacáridos y monosacáridos, como sacarosa y fructosa, respectivamente.

El nivel de carbonatación del CO_2 , en el tiempo, no mostró cambios estadísticamente significativos ($p > 0,05$), indicando, además, que el proceso de servido y sellado fue adecuado, evitando fugas. Durante los 30 días de evaluación de la bebida, las mediciones obtenidas estuvieron dentro de lo establecido en la NTC 2740-2020.

Las coordenadas colorimétricas CIE Lab, se muestran en la Figura 4.

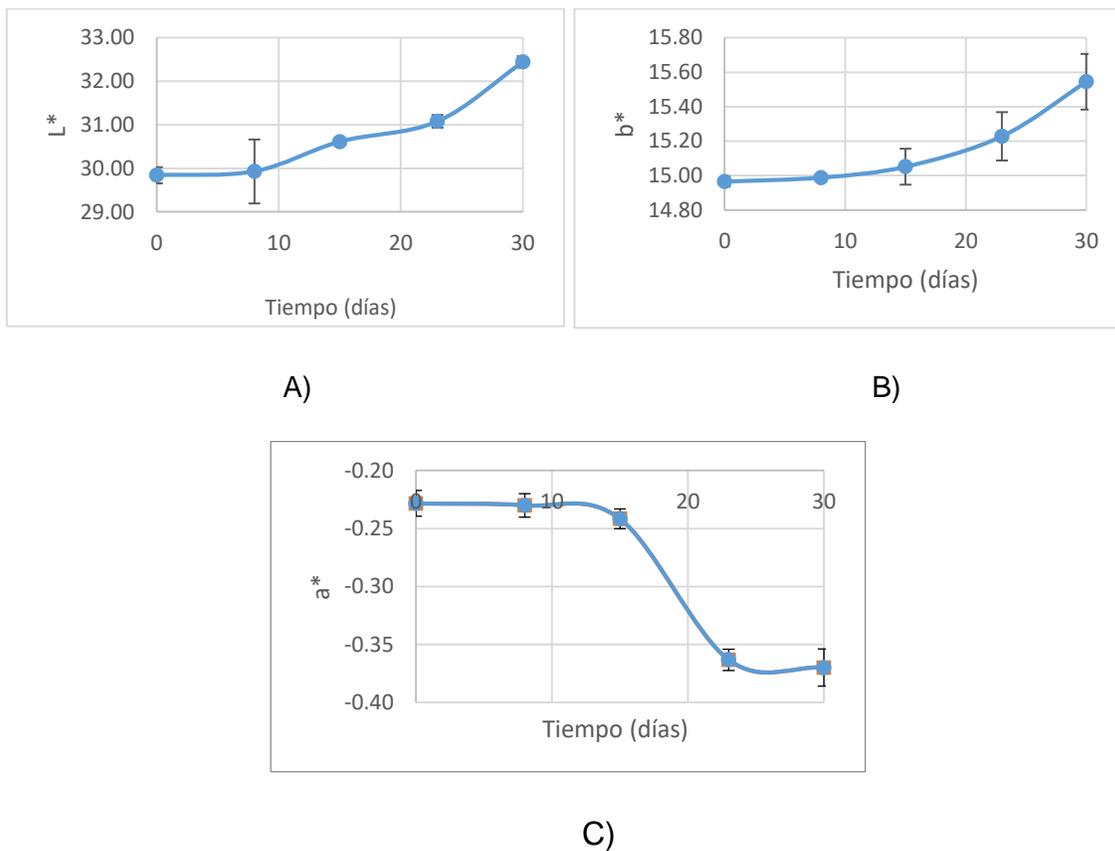


Figura 4. Coordenadas colorimétricas CIE-Lab en la bebida, durante la estabilidad: (A) Coordenada Luminosidad, L^* ; (B) Coordenada amarillo/azul, b^* ; (C) Coordenada rojo/verde, a^* .

Como se observa en la Figura 4, el valor de L^* , inicialmente fue de 29,84 y para el día 30, fue de 32,45, mostrando un aumento de luminosidad (aumento de la tonalidad blanca). Las coordenadas a^* y b^* , también, presentaron cambios, pasando de un valor inicial de -0,23 y 14,97, a un valor final de -0,37 y 15,55, respectivamente; valores que indican una bebida con una coloración más amarilla. Los cambios vistos en los parámetros colorimétricos pueden ser dados por la degradación enzimática y por la oxidación de los pigmentos de la uchuva, como las clorofilas. Este tipo de comportamiento es similar a lo observado por Park et al., (2020), quienes observaron cambios significativos en el color de su jugo carbonatado, después de dos semanas de almacenamiento, encontrando que por la influencia del CO_2 , hubo una reducción de la actividad enzimática encargada de la reacción de pardeamiento (tonalidad tendiente a la oscura), además, las bebidas almacenadas a bajas temperaturas, mostraron un menor cambio en los parámetros de color.

Tabla 8. Recuento microbiológico en la bebida seleccionada durante la estabilidad.

Parámetro	Tiempo (días)				
	0	8	15	23	30
Recuento de <i>Escherichia coli</i> /g	<10 UFC	<10 UFC	<10 UFC	<10 UFC	<10 UFC
Recuento de Mohos y Levaduras/g	<10 UFC	<10 UFC	<10 UFC	<10 UFC	<10 UFC

La calidad microbiológica de un producto, refleja un adecuado proceso de producción, en el que se debe dar una alta prioridad a las condiciones higiénicas y sanitarias, para garantizar un producto con condiciones adecuadas. Los resultados presentados en la Tabla 8, reflejan que el producto cumple con la seguridad higiénica requerida. Además de la función antibacteriana que cumple el CO_2 , mostrando así que la bebida cumple con las condiciones legales exigidas por la normatividad colombiana, estipuladas en la NTC 2740-2020. Liang et al., (2018),

observaron que las bebidas carbonatadas, realizadas bajo estrictos parámetros higiénicos, presentaban un nulo desarrollo microbiológico, durante su período de evaluación, por lo que el CO₂ sirve como barrera de protección, ya que afecta, directamente, al citoplasma celular y a la permeabilidad de la membrana, interfiriendo así, con el metabolismo de la célula. También, se observaron similitudes con lo encontrado por Silva, Spadoti, Zacarchenco & Trento (2018), donde la bebida adquiere un mecanismo de protección, sin la necesidad de utilizar aditivos químicos.

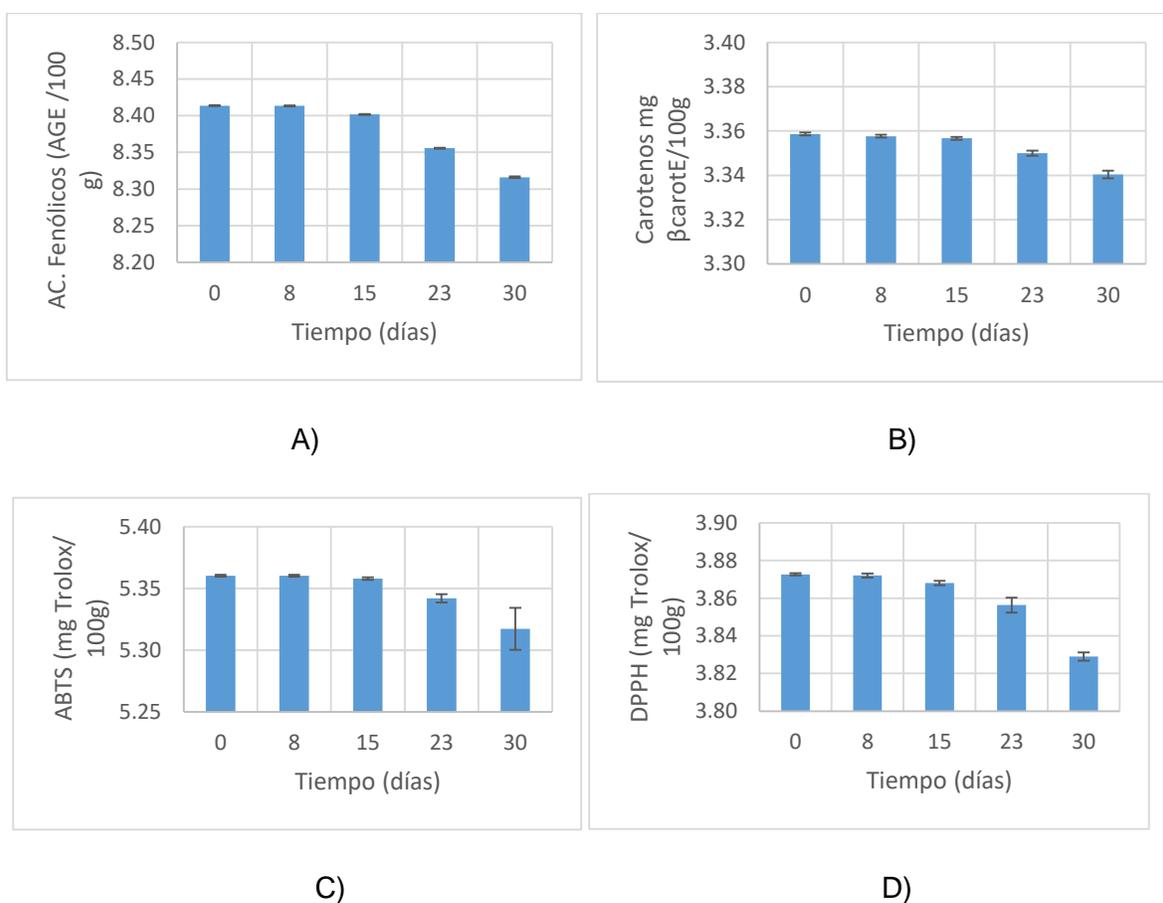


Figura 5. Análisis de metabolitos y capacidad antioxidante para la bebida carbonatada bajo estabilidad: (A) Ácidos Fenólicos (AGE /100 g); (B) Carotenoides

totales mg/100 g; (C) Capacidad Antioxidante por ABTS (mg Trolox/ 100g); (D) Capacidad Antioxidante por DPPH (mg Trolox/ 100g).

Durante la evaluación de la estabilidad de la bebida, se evidenció una reducción gradual del contenido de compuestos fenólicos, de 8,414 a 8,316 AGE / 100 g, siendo estadísticamente significativa ($p < 0,05$), como se puede observar en la figura 5. Este tipo de comportamiento es igual al encontrado por Hemalatha et al., (2018), quienes evaluaron el cambio en estos compuestos de la uchuva, en un período de 90 días, argumentando que la disminución en el contenido de los mismos, puede deberse a su oxidación polimérica, hacia la formación de pigmentos marrones. Qu, Breksa, Pan, Ma & Mchugh (2012), investigaron la estabilidad al almacenamiento, de compuestos fenólicos de extractos líquidos esterilizados de piel de granada a 4°C, en condiciones de luz y oscuridad. Los autores informaron que la mayor degradación y oscurecimiento del ácido ascórbico y de los polifenoles, tuvo lugar, incluso en bajas temperaturas, debido a reacciones de oxidación y polimerización inducidas con la exposición a la luz.

La uchuva tiene una variedad de carotenoides, como son all-trans-lutein, beta-Kryptoxantin, alfa-Caroteno, entre otros, siendo algunos de éstos, los responsables de su color amarillo. En la bebida desarrollada en este estudio, se pudo observar un contenido inicial de 3,36 mg/100 g, el cual presentó una disminución en el tiempo, hasta tener un valor de 3,34 mg/100 g, en el día 30. Este resultado es similar a lo encontrado por Hemalatha et al., (2018), en bebidas de uchuva, almacenadas por 90 días, a una temperatura de 4°C, donde observaron una disminución en el contenido total de carotenoides, lo cual podría deberse a reacciones oxidativas, a conversión isomérica, o a cambios en los pigmentos, debido a la destrucción enzimática. Acevedo, Martelo & Durán (2018) indican que, durante el almacenamiento, los mecanismos predominantes de los carotenoides totales frente a la degradación, se deben a la isomerización y oxidación; los carotenoides, generalmente, contienen 40 carbonos y múltiples

dobles enlaces conjugados, que son altamente susceptibles a la degradación, debido al oxígeno y a las altas temperaturas. Jiangfeng, Xiaoping, Dajing & Chunquan (2017), indican que, debido a la estructura altamente insaturada de los carotenoides, éstos son propensos a degradación, durante el procesamiento y almacenamiento, como resultado de la exposición a altas temperaturas y a moléculas ligeras o pro-oxidantes.

La actividad antioxidante determinada con los métodos ABTS y DPPH fue superior a la encontrada por Olszanska, Stepien, Biesiada, Ostek & Oziembłowski (2017). Los autores comentan que, debido a las reacciones de oxidación en el almacenamiento, para los compuestos fenólicos, así como por la conversión isomérica en carotenoides, se ve directamente reflejado un cambio, en los valores de la capacidad antioxidante, es decir, que esta es dependiente de los compuestos bioactivos presentes en la bebida. Kim et al., (2018), encontraron una degradación del contenido fenólico total y de la actividad antioxidante (DPPH) en kiwi (*Actinidia arguta*), almacenado a diversas temperaturas entre 5° y 45°C, durante 72 h, seguida de un modelo cinético, mostrando una fuerte dependencia de la temperatura, con el contenido de fenoles y con la antioxidante actividad, a mayor tiempo, mayor la degradación. De acuerdo con los resultados de DPPH, la influencia de la temperatura fue más significativa que la de la luz. Ameena et al., (2018), encontraron que la temperatura imponía una profunda alteración en el contenido de fenoles totales (TPC), en un el período de almacenamiento de 180 días, en extractos de Betel (*Piper betle*). El TPC, en el producto almacenado a 5 °C, con y sin exposición a la luz, mostró que, en la muestra expuesta a luz, hubo mayor reducción, con retención aproximada de 97% (oscuro) y 93% (claro), respectivamente. De igual manera, para los compuestos antioxidantes medidos por DPPH, la mejor estabilidad se observó a 5 °C, en condiciones de oscuridad, donde se retuvo el 99,98% del valor de DPPH.

3.5 Conclusiones

Para el análisis sensorial de Friedman, se presentaron cuatro formulaciones de bebidas carbonatadas, con un contenido de uchuva entre el 5% y el 8%. Los resultados no presentaron diferencias significativas entre las bebidas, obteniendo una adecuada aceptación, por su sabor a fruta fresca. Por suma de rangos, se destacó la formulación de la bebida 2, con un 6% de participación de jugo de fruta, por lo tanto, esta bebida, se seleccionó para dar lugar al análisis de estabilidad. Adicionalmente, ésta se sometió a un perfil sensorial, por aproximación multidimensional (intensidad de los atributos sensoriales de olor y sabor), éste indicó una calidad general de 9,6, en una escala máxima de 10, definiendo la bebida, como una de excelente aceptación.

Se observaron cambios significativos, en los valores de las coordenadas colorimétricas; esto puede ser dado por la degradación enzimática y por la oxidación de los pigmentos de la uchuva, como las clorofilas. Adicionalmente, la solubilidad del CO₂, así, como las condiciones microbiológicas de la bebida, se mantuvieron estables, durante el período de almacenamiento, lo que concuerda con los parámetros establecidos por la NTC 2740-2020. Durante el período de evaluación de la estabilidad de la bebida, los carotenos y compuestos fenólicos presentaron una ligera variación, siendo ésta, menor del 0,59% y de 1,16%, respectivamente, siendo no significativos. La actividad antioxidante varió, presentándose cambios de 0,74% y de 1,03%, para la medición por ABTS y DPPH, respectivamente, no siendo representativos. De acuerdo con lo encontrado en la bebida, durante el período de estabilidad evaluado, se puede concluir que la bebida carbonata desarrollada, cumple con las características sensoriales, nutricionales y tecnofuncionales, requeridas para su posible producción, con fines de comercialización.

BIBLIOGRAFÍA

Acevedo Correa, D., Martelo, R.J. & Durán, M. 2018. Degradation of Carotenoids from *Dunaliella salina* During Storage. *Contemporary Engineering Sciences*, Vol. 11, p. 601 – 609.

Ameena, A., Chien Hwa, C., Siau Hu, M., Luqman Chuah, A., Yaw Choong, T. S. & Bee Lin, C. 2018. Impact of Storage Conditions on the Stability of Predominant Phenolic Constituents and Antioxidant Activity of Dried Piper betle Extracts. *Mdpi-Molecules*, vol. 23, p. 84-99.

Araneda Flores, J., Lobos Fernández, L., Olivares Cortés, S., Moresco, P. O., Quezada Figueroa, G., & Sandoval, P. 2017. Bebidas azucaradas: Representaciones de escolares con sobrepeso y obesidad. *Revista Chilena de Nutrición*, vol. 44(3), p. 276-282.

Araujo, A. V., Monsalve, L. M., Quintero, A. L. 2013. Aprovechamiento del lacto lactosuero como fuente de energía nutricional para minimizar el problema de contaminación ambiental. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, vol. 4, p. 55-66.

Areiza, N., Maldonado, M.E., Rojano, B. 2013. Extracto acuoso de uchuva (*Physalis peruviana*): actividades antiproliferativa, apoptótica y antioxidante. *Perspectivas en nutrición humana*, vol. 15(1), p. 41-55.

AOAC, (Association of Official Analytical Chemists). 2012. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. Vol. II, 19th edition. Sec.942.15 Association of Official Analytical Chemists International, Arlington, VA.

AOAC, (Association of Official Analytical Chemists). 1997. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. Sec.981.12 Association of Official Analytical Chemists International, Arlington, VA.

AOAC, (Association of Official Analytical Chemists). 1997. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. Sec.981.12 Association of Official Analytical Chemists International, Arlington, VA.

Asas, C., Llanos, C., Matavaca, J. & Verdezoto, D. 2021. Whey: environmental impact, uses and applications via biotechnology mechanisms. *Agroindustrial Science*. vol. 11(1), p. 105 – 116.

Atallah A. & Gemiel, D. 2020. Preparation of New Carbonated Beverages Based on Hydrolyzed Whey by Fruit and Some Herbs. *American Journal of Food Science and Technology*, vol. 8(2), p. 49-55.

Beltran, L.J. & Acosta, A. 2012. Empleo de una β -galactosidasa comercial de *Kluyveromyces lactis* en la hidrolisis de lacto lactosuero. *Hechos Microbiol*, vol. 3(2), p. 25-35.

Benavides, O.A. & Muvdi, C.J. 2014. Evaluation of reverse osmosis and climbing film evaporation as concentration techniques from starch hydrolysates of yucca. *Ion*. 27, p. 59-70.

Berk, Z. 2018. Membrane processes. *Food Process Engineering and Technology*, p. 261-287

Bravo, K., Sepulveda, S., Lara, O., Navas, A. & Osorio, E. 2014. Influence of cultivar and ripening time on bioactive compounds and antioxidant properties in Cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.). *Journal Science Food Agricultural*, vol. 95(7), p. 1562-1569

Cárcamo Medina, L., Elezar Turcios, M., & Ordóñez Santos, L.E. 2019. Changes in the bioactive compounds of pasteurized gooseberry (*Physalis peruviana* L.) juice. *Tecnológicas*, 22, 145-153.

Chacón Gurrola, L. R., Martínez, A. C., Rentería Monterrubio, A. L. & Rodríguez Figueroa, J. C. 2017. Proteínas del lacto lactosuero: usos, relación con la salud y bioactividades. *Interciencia*, vol. 45, p. 712-718.

Colmenares, A. 2014. El mercado de las bebidas gaseosas: reto por capturar el gusto de los consumidores. *Hojas y Hablas*, vol. 11, p. 88-99.

Dhinesh kumar, V., Ramasamy, D. & Jerish Joyner J. 2016. Study on effect of carbonation on storage and stability of pomegranate fruit juice. *Journal of Nutritional Health & Food Engineering*, vol. 5(4), p. 679–683.

Dinikaa, I., Verma, D. K., Balia, R., Utama, G., & Patel, A. 2020. Potential of cheese whey bioactive proteins and peptides in the development of antimicrobial edible film composite: A review of recent trends. *Trends in Food Science & Technology*, vol. 103, p. 57-67.

Ferreira, I., Aires, E., Barreira, J. & Estevinho, L. 2009. Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic extract. *Food Chemistry*, vol. 114(4), p. 1438-1443.

Fischer, G., Almanza Merchán, P. J. & Miranda, D. 2014. Importancia y cultivo de la uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, Vol 36, p.1-15.

Fondo Nacional del Ganado FNG, Federación Colombiana de Ganaderos FEDEGAN. Balance y Perspectivas del sector ganadero colombiano (2019-2020). Oficina de Planeación y Estudios Económicos 2020.

Freire, L., Gonçalves, C. M., Lumi, P., Suguimoto, H. H. 2017. Deproteinization: an integrated-solution approach to increase efficiency in β -galactosidase production using cheese whey powder (CWP) solution. *Ambiente & Água*, vol. 12, p. 643-651.

ICONTEC. Guía Técnica Colombiana GTC 280, Pub. L. No. 280 (2017). Bogotá, Colombia.

Gómez Soto, J. A. & Sánchez Toro, O. J. 2019. Production of galactooligosaccharides: alternative for the use of whey. *Ingeniería y Desarrollo*, vol. 37,p. 129- 158.

Hemalatha, R., Kumar, A., Prakash, O., Supriya, A., Chauhan, A., & Kudachikar, V. 2018. Development and Quality Evaluation of Ready to Serve (RTS) Beverage from Cape Gooseberry (*Physalis peruviana* L.). *Beverages*, vol. 4(2), p. 42.

Herrera Ramírez, E.V. 2018. Estudio de la aplicación de tecnología de membranas en lacto lactosuero descremado [Tesis de pregrado]. Universidad UTE.

ICONTEC. Norma Técnica Colombiana NTC 2740, Pub. L. No. 2740 (2020). Bogotá, Colombia.

ICONTEC. Norma Técnica Colombiana NTC 3651, Pub. L. No. 3651 (2012). Bogotá, Colombia.

ICONTEC. Norma Técnica Colombiana NTC 4580, Pub. L. No. 4580 (1999). Bogotá, Colombia.

ICONTEC. Norma Técnica Colombiana NTC 4623, Pub. L. No. 4623 (1999). Bogotá, Colombia.

ICONTEC. Norma Técnica Colombiana NTC 3930, Pub. L. No. 3930 (2015). Bogotá, Colombia.

ICONTEC. Norma Técnica Colombiana NTC 3932, Pub. L. No. 3932 (1996). Bogotá, Colombia.

ICONTEC. Norma Técnica Colombiana NTC 5328, Pub. L. No. 5328 (2004). Bogotá, Colombia.

Jiangfeng, S., Xiaoping, W., Dajing, L. & Chunquan, L. 2017. Degradation kinetics of carotenoids and visual colour in pumpkin (*Cucurbita maxima* L.) slices during microwave-vacuum drying. *International Journal of Food Properties*, vol. 20, p. S632-S643.

Jurado, B., Aparcana, I.M., Villarreal, L.S., Ramos, E., Calixto, M.R., Hurtado, P.E. & Acosta K. 2016. Evaluación del contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos de los frutos de aguaymanto (*physalis peruviana* L.) de diferentes lugares del Perú. *Rev Soc Quím*, vol. 82(3), p. 272-279.

Kim, A.N., Kim, H.J., Chun, J., Heo, H.J., Kerr, W.L. & Choi, SG. 2018. Degradation kinetics of phenolic content and antioxidant activity of hardy kiwifruit (*Actinidia arguta*) puree at different storage temperatures. *Food Science and Technology*, vol. 89, p. 535-541.

Liang, Z., Xiao, Q., Wenlai, H., Xiaomeng, W., Yongtao, W., Xiaosong, H., Jiangang, L. & Xiaojun, L. 2018. Novel application of CO₂-assisted high pressure processing in cucumber juice and apple juice. *LWT - Food Science and Technology*, vol. 96, p. 491-498.

Londoño Aristizábal, T. & Giraldo Arango T. 2018. Un modelo casi ideal de demanda para las bebidas carbonatadas en Colombia [Tesis de pregrado]. UNIVERSIDAD EAFIT.

López, R. E., Becerra, M. L., & Borrás, L. M. 2018. Caracterización físico-química y microbiológica del lacto lactosuero del queso Paipa. *Ciencia y Agricultura*, vol. 15(2), p. 99-106.

Marciniak, A., Suwal, S., Touhami, S., Chamberl, J., Pouliot, Y., & Doyen, A. 2020. Production of highly purified fractions of α -lactalbumin and β -lactoglobulin from cheese whey using high hydrostatic pressure. vol. 103, 7939-7950.

Mier HJ, Cáez G. 2011. Contenido de polifenoles, carotenos y capacidad antioxidante en frutos de uchuva (*Physalis peruviana* L.) en relación a su estado de maduración. *ReCiTeIA*, vol 11, 104-115.

Murtaza, A., Iqbal, A., Linhu, Z., Liu, Y., Xu, X., Pan, S., & Hu, W. 2019. Effect of high-pressure carbon dioxide on the aggregation and conformational changes of polyphenol oxidase from apple (*Malus domestica*) juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, vol. 54, p. 43-50.

Narváez-Cuenca, C. E., Mateus-Gómez, Á., & Restrepo-Sánchez, L. P. 2014. Capacidad antioxidante y contenido total de fenoles de uchuva (*Physalis peruviana* L.) secada al aire en diferentes estados de maduración. *Agronomía Colombiana*, vol. 32(2), p. 232-237.

Newbold, D., & Koppel, K. 2018. Carbonated Dairy Beverages: Challenges and Opportunities. *Beverages*, vol. 4(3), p. 66.

Olszanska, A. N., Stepien, B., Biesiada, A., Ostek J. K., Oziembłowski, M. 2017. Rheological, Chemical and Physical Characteristics of Golden Berry (*Physalis*

peruviana L.) after Convective and Microwave Drying. MDPI, Foods, vol. 6, p. 60-71.

Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura & Federación Panamericana de Lechería. 2015. OCDE-FAO Perspectivas Agrícolas 2015-2024.

Osorio, C., Schreckinger, M., Bhargava, P., Bang, W., Jacobo-Velázquez, D., & Cisneros-Zevallos, L. 2016. Golden Berry and Selected Tropical (Açaí, Acerola, and Maqui) Juices. Handbook of Functional Beverages and Human Health, (March), p. 251-269.

Park, S. J., Nurika, I., Suhartini, S., Cho, W.H., Moon, K.D., & Jung, Y.H. 2020. Carbonation of not from concentrate apple juice positively impacts shelf-life. LWT - Food Science and Technology, vol.134.

Patel, R. 2017. Technology for Carbonated Lemon Whey Beverage. Journal of Food and Dairy Technology, vol.5(2), p. 30-37.

Patil, S.R., Kurhekar, S. P., & Patil, R.R. 2011. Study on development of custard apple carbonated beverage. International journal of processing and post-harvest technology, vol. 2, p. 56-58.

Pérez Escobar, L.V. 2018. Obtención de un concentrado hidrolizado de lactosa por nanofiltración [Tesis de maestría]. Universidad Nacional de Colombia, Medellín.

Qu, W., Breksa, A.P., Pan, Z., Ma, H. & Mchugh, T.H. 2012. Storage stability of sterilized liquid extracts from pomegranate peel. Journal of Food Science, vol. 77, p. 765–772.

Ramírez, J. S., Solís, C. A. & Vélez, C. A. 2018. Tecnología de membranas: Obtención de proteínas de lacto lactosuero. Entre Ciencia e Ingeniería, vol.12, p. 52-59.

Ramírez, I. (2017). Efecto del ultrasonido aplicado al lactosuero de leche previo al calentamiento en la elaboración de requesón. Interciencia, vol. 42(12), p. 828-833.

Ruiz Gaitan, M., Castellanos González, L., & Jair Villamizar, C. 2018. El cultivo de la uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Revista Científica Agroecosistemas*, vol. 6(1), p. 46-53.

Salazar, A., Oblitas, J., Rojas, E. 2016. Reuse of acid and sweet cheese whey produced in cajamarca for making a drink flavored with poro-poro (*Passiflora Mollisima*) and sauco (*Sambucus Peruviana*). *Agroindustrial Science*, vol.2, p. 147-154.

Shah, N., & Prajapati, J.B. 2014. Effect of carbon dioxide on sensory attributes, physico-chemical parameters and viability of Probiotic *L. helveticus* MTCC 5463 in fermented milk. *J Food Sci Technol*, vol.51(12), p. 3886-3893.

Shams Z.A. & Wadhawan N. 2019. Development and shelf life assessment of a carbonated rts beverage from ber fruit. *International Journal of Science, Environment and Technology*, vol.8(1), p. 193-200.

Silva e Alves, A. T., Spadoti, L. M., Zacarchenco, P. B., Trento, F. K. 2018. Probiotic Functional Carbonated Whey Beverages: Development and Quality Evaluation. *Beverages*, vol.4, p. 49.

Solanke, N. D., Sontakke, S., & Verma, S. 2017. Study on Effect of Carbonation on the Properties of Fruit Juices. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(4), p. 2426-2432.

Solís, C.A., Vélez C.A. & Ramírez, J.S. 2017. Membrane technology: Ultrafiltration. *Entre Ciencia e Ingeniería*, vol.22, p. 26-36.

Walsh, H., Cheng, J., & Guo, M. 2014. Effects of Carbonation on Probiotic Survivability, Physicochemical, and Sensory Properties of Milk-Based Symbiotic Beverages. *Food science*, vol.79, p. 604-613.