

Área del Conocimiento de Agricultura

Formulación de un queso vegano fermentado utilizando leche de almendra como base

Trabajo Monográfico para optar al título de
Ingeniero Químico

Elaborado por:

Br. KHANDIJA
DAYANE RUIZ
NAVAS
(2020-0797U)

Br. KATHERYN
ANDREA VALLE
GUTIERREZ
(2020-0983U)

Tutor:

MPA. Ing. Javier Antonio
Pavón Gaitán

5 de agosto de 2026
Managua, Nicaragua

DEDICATORIA

Dedico este trabajo primeramente a Dios y a la virgencita por escucharme en silencio, brindarme la sabiduría, constancia, fortaleza y las herramientas necesarias para lograr finalizar esta etapa tan importante de mi vida.

A mis padres, Daniela y Gregorio, por brindarme durante todos estos años su apoyo y su amor condicional, por siempre guiarme, animarme y alentarme a seguir adelante y no rendirme ante las adversidades que se nos presenta en la vida.

A mi hermano, por su paciencia, acompañamiento y momentos compartidos durante mi estadía durante estos 5 años académicos.

De igual manera, dedico este trabajo a todas las personas que inocentemente aportaron un granito de confianza en mí y formaron parte

Finalmente, este logro lo dedico a mí misma, porque aun en días difíciles logré levantarme y seguir adelante para cumplir y culminar este propósito tan esperado en mi vida.

Khandija Dayane Ruiz Navas

DEDICATORIA

Dedico este logro, en primer lugar, a Dios, por brindarme la fortaleza, la sabiduría y la perseverancia necesarias para culminar esta etapa tan importante de mi vida.

A mi mamá, por su amor incondicional, sus sacrificios, sus consejos y por ser mi mayor inspiración. Gracias por creer en mí incluso en los momentos más difíciles y por acompañarme siempre con tu apoyo y cariño.

A mi papá, por el apoyo que me brindó durante mi carrera y por contribuir, desde sus posibilidades, a que pudiera seguir adelante con mis estudios. Gracias por ser parte de este logro y por ayudarme a alcanzar una de las metas más importantes de mi vida.

A mi hermana, por estar a mi lado, por sus palabras de aliento, su comprensión y por compartir conmigo cada paso de este camino.

A mi querido perrito An, por su compañía fiel y por brindarme alegría, tranquilidad y amor durante las largas jornadas de estudio y trabajo. Su presencia hizo más llevadero cada desafío.

A mis amistades de la universidad, quienes hicieron de esta experiencia una etapa inolvidable. Gracias por su apoyo, compañerismo, motivación y por compartir conocimientos, risas y momentos que guardaré siempre en mi corazón.

Finalmente, me dedico este logro a mí misma, por no rendirme, por superar los obstáculos y por mantener viva la determinación de alcanzar esta meta. Este trabajo es el reflejo del esfuerzo, la dedicación y la pasión invertidos a lo largo de este camino.

Con cariño y gratitud, dedico esta tesis a todas las personas que formaron parte de este sueño y contribuyeron a hacerlo realidad.

Katheryn Andrea Valle Gutiérrez

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por brindarme la vida, mentalidad y fortaleza para culminar este logro anhelado desde el día uno. Por cuidarme, guiarme y acompañarme fielmente durante este camino, sin su protección espiritual no hubiese sido posible finalizar esta etapa en mi vida.

A mí mamá Daniela Navas, porque a pesar de la distancia, su apoyo y su amor incondicional siempre estuvo presente durante todo el proceso de mi formación personal y profesional, agradezco de sus consejos y de sus enseñanzas brindadas. A mi papá Gregorio Ruiz por siempre buscar las posibilidades de tener una mejor calidad de vida y nunca abandonarme en este camino, por su amor reflejado en cada una de sus acciones y palabras de aliento para nunca rendirme. Gracias a ustedes estoy culminando esta historia académica. Son mi mayor inspiración a seguir creciendo, aprendiendo y fortaleciendo cada uno de mis conocimientos para ser una mejor persona. No me caben las palabras para agradecerles todo el esfuerzo que han hecho por mí, los amo y adoro, siempre están presente en mi mente y mi corazón.

A mi compañera de tesis Andrea, por ser mi acompañante en la culminación de esta etapa de nuestras vidas, por su paciencia, apoyo, momentos y conocimientos compartidos.

A mi tutor, Javier Pavón Gaitán por su confianza, paciencia, comprensión, apoyo y tiempo brindado. Gracias por su guía en la finalización de nuestros estudios.

A la Universidad Nacional de Ingeniería y docentes de la carrera por los conocimientos y herramientas brindadas durante estos cinco años de formación académica.

Finalmente agradezco a mi fiel amiga Blanca Pravia, por adoptarme y hacerme sentir cómoda junto con su familia, sos de las mejores personas que la etapa universitaria me pudo dejar, sin tu amistad, apoyo incondicional, momento compartidos y consejos no hubiese sido lo mismo finalizar este camino, gracias por creer siempre en mí incluso en los días grises que pude haber tenido. Te quiero demasiado.

Khandija Dayane Ruiz Navas

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por brindarme la fortaleza, la salud y la sabiduría necesarias para culminar esta importante etapa de mi vida.

A mi familia, por su amor, apoyo y confianza a lo largo de mi formación académica. Gracias por motivarme a seguir adelante y por acompañarme durante este proceso.

A mis amistades de la universidad, por el compañerismo, el apoyo y los momentos compartidos que hicieron de esta experiencia una etapa enriquecedora e inolvidable.

A mi asesor de tesis, por su orientación, paciencia y valiosos conocimientos, los cuales fueron fundamentales para el desarrollo y culminación de esta investigación.

Finalmente, agradezco a todas las personas que, de una u otra manera, contribuyeron a mi formación profesional y al logro de esta meta.

Katheryn Andrea Valle Gutiérrez

RESUMEN

El presente trabajo investigativo optimizó la formulación de un queso vegano a partir de leche de almendra (*Prunus dulcis*). La leche extraída (1:3p/v) fue pasteurizada a 75°C por 15s para desnaturalizar la amandina. Mediante un diseño ortogonal Taguchi $L_9(3^3)$, se evaluó el efecto de la temperatura (30,35,40°C), tiempo (12,18,24 h) y relación leche/inóculo (20: 1,40: 1,60: 1). El análisis de varianza (ANOVA) identificó a la relación de inóculo (71.36%) y la temperatura (19.20%) como las variables más significativas. La condición óptima (35 – 40°C, 18 h, 40: 1) estabilizó la muestra proteico-lipídica en un pH de 4.50 y una acidez de 0.80%. El producto final presentó 63.00% de humedad, 18.5% de materia grasa, 6.2% de proteína y 219.1 kcal/100 g. La evaluación sensorial evidenció un incremento en la aceptabilidad general de 2.5 a 4.3/5.0, aumentando el rendimiento másico del 24.5% al 28.5%

INDICE DE CONTENIDO

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	OBJETIVOS.....	3
2.1.	Objetivo general	3
2.2.	Objetivos específicos	3
III.	MARCO TEÓRICO	4
3.1.	Contextualización de productos de origen vegetal.....	4
3.2.	Fundamentos de la fermentación en la producción de análogos de queso ..	4
3.3.	La Leche de Almendra	4
3.3.1.	La Amandina en la almendra.	6
3.4.	Propiedades fisicoquímicas y sensoriales del queso vegano fermentado	7
3.4.1.	Cinética.....	8
3.4.2.	Acidificantes.....	9
3.5.	Método Taguchi (Arreglo Ortogonal L9) y Razón Señal/Ruido (S/N)	9
3.6.	Evaluación Fisicoquímica y Sensorial Estructurada.....	11
3.6.1.	Métodos de Análisis Fisicoquímico	11
3.6.2.	Evaluación Sensorial Hedónica	16
3.7.	Proceso y obtención de queso vegano.	18
IV.	METODOLOGÍA.....	21
4.1.	Tipo de estudio.....	21
4.2.	Obtención de queso vegano mediante arreglo ortogonal.....	21
4.2.1.	Materiales	21
4.2.2.	Preparación de la Leche de Almendra	22
4.2.3.	Condiciones de Fermentación	22
4.2.4.	Diseño Experimental.....	22
4.3.	Caracterización del producto	24
4.3.1.	Análisis fisicoquímicos	24
4.3.2.	Análisis Sensorial.....	26
4.4.	Rendimiento del proceso	26

V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	27
5.1.	Obtención de la leche de almendra.....	27
5.2.	Cinética de la Fermentación	28
5.3.	Optimización por la Metodología Taguchi	30
5.4.	Fermentación con parámetros optimizados	33
5.5.	Análisis Sensorial.....	33
5.6.	Caracterización Fisicoquímica del Producto Final	36
5.6.1.	Determinación de la Acidez.....	36
5.6.2.	Determinación de Humedad	36
5.6.3.	Determinación de Lípidos y Proteínas.	36
5.6.4.	Otros análisis.	37
5.7.	Cálculo del Rendimiento del Proceso	39
VI.	CONCLUSIONES.....	41
VII.	RECOMENDACIONES.....	42
VIII.	BIBLIOGRAFÍA.....	43
IX.	ANEXOS.....	46
9.1.	Cinética de fermentación extendida a intervalos de 30 minutos.	46
9.2.	Evaluación de la Señal/Ruido (S/N)	48
9.3.	Ficha de Evaluación Sensorial para Queso Vegano	49
9.4.	Valoración del panel de análisis sensorial antes y después de optimización Taguchi.....	51
9.5.	Valoración de los atributos sensoriales del producto final	52
9.6.	Resumen experimental óptimo de la Temperatura, Tiempo y Relación Leche/Inóculo.....	54
9.7.	Fotografías de la obtención de queso vegano.	55

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Propiedades de la leche de almendra de (<i>Prunus dulcis</i>) según referencias.	5
Tabla 2. Arreglo Ortogonal Taguchi L9	10
Tabla 3. Ejemplo de escala hedónica típica de 5 puntos para un panel de evaluación.	17
Tabla 4. Arreglo ortogonal Taguchi L9 para la obtención de un queso vegano	23
Tabla 5. Extracción de extracto (leche) de almendra.	28
Tabla 6. Respuesta de Efectos Principales (<i>S/N</i>).....	31
Tabla 7. Análisis de Varianza.	32
Tabla 8. Fermentación empleando los parámetros optimizados mediante Taguchi. .	33
Tabla 9. Caracterización fisicoquímica del queso vegano fermentado.....	37

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Cuerpos lipídicos de almendra (<i>Prunus dulcis</i>).	5
Figura 2. Flujograma del procesamiento de queso vegano.	20
Figura 3. Variación del pH durante el tiempo de fermentación.	29
Figura 4 Variación del porcentaje de acidez durante el tiempo de fermentación.	30
Figura 5. Efectos principales S/N en el arreglo ortogonal.	31
Figura 6. Percepción de la Apariencia del queso.	34
Figura 7. Percepción del Aroma del queso.	34
Figura 8. Percepción de la Textura del queso.	35
Figura 9. Percepción del Sabor del queso.	35

I. INTRODUCCIÓN

La industria alimentaria actual atraviesa una transición fundamental hacia el consumo de productos de origen vegetal, impulsada por la intolerancia a la lactosa, alergias a la proteína láctea y una creciente conciencia ética sobre los procesos agropecuarios. Esta transformación ha generado una demanda sostenida de queso análogos que logren replicar las propiedades fisicoquímicas, nutricionales y el perfil sensorial de los productos lácteos tradicionales. No obstante, la oferta comercial predominante se basa en mezclas de almidones modificados y grasas vegetales refinadas, resultando en matrices con una calidad nutricional deficiente y una complejidad textural insuficiente. Ante este escenario, se proponen la transformación controlada de emulsiones de frutos secos —específicamente leche de almendra— como alternativa técnica. Estudios como los de Jandke et al. (2023) demuestran que la aplicación de bacterias ácido-lácticas (BAL) son determinantes para modificar los perfiles aromáticos, permitiendo la degradación de aldehídos volátiles indeseables, como el hexanal, y favoreciendo la síntesis de metabolitos secundarios que aportan notas sensoriales lácticas. En el ámbito físico, Jaramillo-Sánchez et al. (2021) identificaron que la interacción entre la acidez titulable y la capacidad de retención de agua es fundamental para definir la microestructura. Asimismo, Gleeson et al. (2021) subrayan que, para superar las deficiencias de viscosidad de los extractos vegetales, es imperativo implementar tratamientos térmicos estandarizados previos a la inoculación. Esta necesidad de control térmico se vincula directamente con la termodinámica de las proteínas; Devnani et al. (2020) han precisado que la *amandina*, proteína mayoritaria de la almendra, requiere un choque térmico para desnaturalizar su estructura terciaria, exponer sus regiones hidrofóbicas y permitir, tras la posterior acidificación, la formación de una red tridimensional viscoelástica capaz de retener agua y glóbulos grasos (Valle, 2022).

A pesar de los avances teóricos, la formulación experimental de estos productos presenta vacíos metodológicos que comprometen la validez de los resultados. La práctica común de utilizar agentes químicos, como el jugo de limón, para la acidificación directa incurre en una variación que no se puede omitir, ya que involucra la acidificación química simple con la fermentación biológica (Valle, 2022); existiendo, además, una falta de trazabilidad en los métodos analíticos reportados en la literatura. Por tanto, es necesario estandarizar la metodología utilizando los Métodos Oficiales (AOAC) para la estimación de pH, acidez titulable, contenido de lípidos, proteínas, cenizas; garantizando no solo la precisión, sino la calidad técnica del producto final. Se propone la optimización del proceso mediante un diseño experimental ortogonal Taguchi L9, que permita evaluar la interacción de la temperatura de incubación, el tiempo de proceso y la concentración del inóculo sobre la eficiencia de la fermentación y la aceptabilidad sensorial (Venturella, M., Saccani, M., y Manetti, G., 2021).

El presente trabajo se alinea directamente con los objetivos estratégicos del Plan Nacional de Lucha contra la Pobreza y para el Desarrollo Humano (PNLCP-DH) 2022-2026, específicamente en lo relativo a la soberanía alimentaria y la promoción de la innovación agroindustrial. La adopción de procesos tecnológicos y la reproducibilidad de los mismos contribuye a la transformación del modelo productivo hacia uno más sostenible, capaz de agregar valor a la producción primaria y diversificar la oferta de alimentos con estándares de calidad (Martínez-Ferreira, A., y Pimentel-Morales, J. J., 2022). Esta investigación busca establecer un marco tecnológico para la obtención de quesos veganos fermentados, en búsqueda de su escalabilidad agroindustrial y garantizando la obtención de un alimento con características fisicoquímicas adecuadas que responden a las necesidades de seguridad alimentaria y desarrollo económico del país en el marco del PNLCP-DH 2022-2026.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

- ✓ Formular un queso vegano fermentado a base de leche de almendra mediante un arreglo ortogonal, con propiedades fisicoquímicas y sensoriales definidas, determinando su rendimiento a escala laboratorio.

2.2. Objetivos específicos

- ✓ Realizar un arreglo experimental para la obtención de un queso vegano fermentado mediante un arreglo ortogonal tomando en cuenta la temperatura, la relación volumen-volumen y el tiempo de fermentación como variables.
- ✓ Caracterizar el producto final mediante análisis fisicoquímicos y evaluación sensorial.
- ✓ Evaluar el rendimiento del proceso y su potencial de escalado del queso vegano fermentado a nivel de planta piloto.

III. MARCO TEÓRICO

3.1. Contextualización de productos de origen vegetal

El auge de la industria alimentaria de base vegetal responde a una creciente demanda global impulsada por preocupaciones éticas, ambientales y de salud. Tradicionalmente, la producción de quesos se ha centrado en la leche de origen animal, pero la búsqueda de alternativas ha llevado al desarrollo de análogos de queso a partir de diversas fuentes, como frutos secos, legumbres y cereales.

Estos productos buscan replicar las propiedades organolépticas, nutricionales y funcionales de los quesos lácteos, lo que representa un desafío tecnológico significativo. La leche de almendra, por su perfil de sabor neutro y su composición lipídica, se ha posicionado como una materia prima prometedora para este fin, sirviendo como sustrato para la obtención de quesos veganos mediante procesos biotecnológicos.

3.2. Fundamentos de la fermentación en la producción de análogos de queso

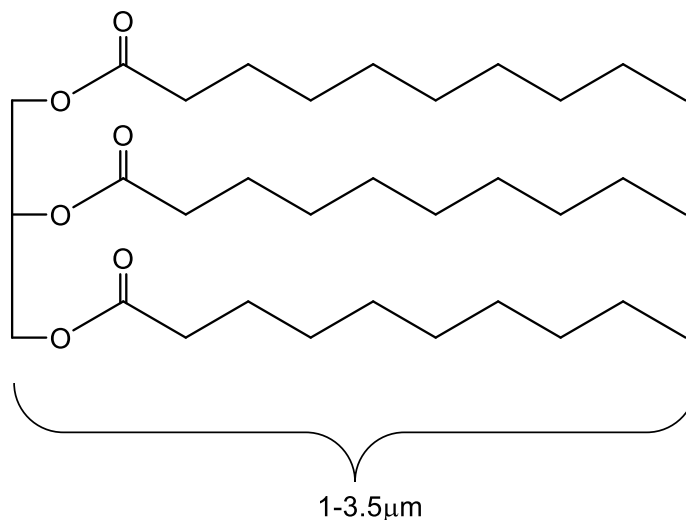
La fermentación es una herramienta biotecnológica clave para la transformación de sustratos vegetales en productos con características sensoriales complejas. Este proceso no solo genera la acidez necesaria para la coagulación y la conservación del producto, sino que también contribuye significativamente al desarrollo de perfiles de sabor y aroma característicos. La selección y optimización de las cepas microbianas y las condiciones de proceso son cruciales para el éxito del diseño, ya que influyen directamente en la cinética de la fermentación y en la calidad del producto final (Jandke et al., 2023).

3.3. La Leche de Almendra

La leche de almendra (*Prunus dulcis*) es una dispersión coloidal tipo emulsión aceite en agua constituida por glóbulos de lípidos neutros (triacylglicerol) protegidos por una monocapa lipídica y estabilizados por proteínas solubles e insolubles disueltas en una fase continua acuosa¹. Los cuerpos lipídicos (oleosomas) presentan un diámetro

promedio que varía entre 1–3.5µm (Figura 1), encontrándose recubiertos por oleosinas que evitan la coalescencia hídrica en condiciones nativas (Duarte et al., 2022).

Figura 1. Cuerpos lipídicos de almendra (*Prunus dulcis*).



Nota: Elaboración propia.

A diferencia de la leche bovina, el extracto de almendra posee concentraciones sumamente bajas de carbohidratos fermentables libres (Tabla 1), lo que limita el crecimiento natural de las bacterias ácido-lácticas si no se suplementa la matriz o si no se seleccionan cepas con capacidad metabólica para utilizar sacarosa (Tangyu et al., 2019).

Tabla 1. Propiedades de la leche de almendra de (*Prunus dulcis*) según referencias.

Propiedad Fisicoquímica	Rango Común en Leche de Almendra	Referencia
Proteína Cruda Total	1.0 – 3.5%	Devnani et al. (2020); Aguilo et al. (2025).
Lípidos Totales	2.5 – 4.5%	Jaramillo-Sánchez et al. (2021)
Humedad	88.0 – 93.0%	Gleeson et al. (2021)

Carbohidratos Fermentables	0.5 – 1.5%	Tangyu et al. (2019); Lu et al. (2023)
Sólidos Solubles Totales	4.5 – 5.5°Brix	Valle (2022)
Cenizas / Minerales	0.3 – 0.8%	Duarte et al. (2022)

Nota: Elaboración propia.

3.3.1. La Amandina en la almendra.

La fracción proteica del grano de almendra está constituida predominantemente por la amandina, una globulina de reserva tipo legumina que representa entre el 65% y el 70% del nitrógeno proteico soluble total (Wolf & Sathe, 2021). La amandina presenta un peso molecular nativo de aproximadamente 360 a 370 kDa¹ y posee una estructura cuaternaria hexamérica (Sathe et al., 2022). Cada una de sus seis subunidades está integrada por un polipéptido ácido α (~ 40-42 kDa) y un polipéptido básico β (~ 20kDa), interconectados de forma covalente mediante puentes disulfuro.

La amandina presenta un rango de punto isoeléctrico (pI) comprendido entre 4.5 <pH<5. El mecanismo de formación de la red del gel vegetal durante la preparación del queso comprende tres fases fisicoquímicas consecutivas:

- a. **Desnaturalización y Desplegamiento Térmico:** Al someter la leche de almendra a un tratamiento térmico superior a 75°C (idealmente 85°C-95°C por 5 minutos), la estructura hexamérica de la amandina sufre un desplegamiento conformacional. Este fenómeno expone los grupos sulfhidrilo ($-\text{SH}$) y los residuos aminoacídicos hidrofóbicos internos hacia el exterior hídrico, incrementando la reactividad intermolecular (Gleeson et al., 2021).
- b. **Reducción del Potencial Electrocinético Zeta (ζ):** A medida que se acumula ácido láctico o cítrico en el medio, la concentración de protones (H^+) se

¹ kD=kilodalton

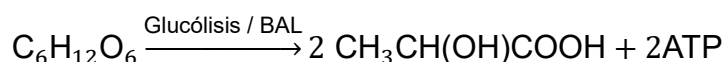
incrementa. La desprotonación de las cadenas laterales de carboxilatos disminuye, haciendo que la carga neta de la molécula proteica converja a cero al acercarse al punto isoeléctrico (pI 4.5-5.5).

- c. **Agregación e Inmovilización del Suero:** Al neutralizarse las repulsiones electrostáticas, las fuerzas de atracción hidrofóbicas y los puentes de hidrógeno inducen la formación de un entramado proteico denso que ocluye la fase lipídica de la emulsión y retiene la fase acuosa dentro de los poros de la red, constituyendo la cuajada o queso (Hallstrom, 2024).

3.4. Propiedades fisicoquímicas y sensoriales del queso vegano fermentado

La caracterización de los análogos de queso es fundamental para asegurar su calidad y aceptabilidad por parte del consumidor. La evaluación fisicoquímica incluye la medición de parámetros como el pH, la acidez titulable y el contenido de humedad. El pH y la acidez son indicadores de la correcta fermentación y afectan la textura y la vida útil del producto (Jaramillo-Sánchez et al., 2021).

La fermentación láctica de la leche vegetal también puede ser impulsada por la transformación de hexosas y disacáridos por parte de bacterias ácido-lácticas (BAL) homo y heterofermentativas. Durante la ruta homo-fermentativa Embden-Meyerhof-Parnas, la glucosa es catabolizada rindiendo dos moles de ácido láctico por cada mol de monosacárido (Tangyu et al., 2019):



La síntesis in situ de ácido láctico causa la acidificación progresiva del medio, reduciendo el pH desde su valor nativo (~ 6.45) hasta el intervalo de coagulación (pH 4.2-4.5). Esta bajada del pH no solo estabiliza estructuralmente la matriz proteica, sino que además ejerce una acción bioconservadora al inhibir el desarrollo de enterobacterias, bacterias esporuladas y microorganismos de deterioro. Adicionalmente, las actividades peptidásicas secundarias de las BAL hidrolizan parcialmente las cadenas de amandina liberando péptidos de bajo peso molecular que mejoran la digestibilidad y modifican el perfil de sabor.

3.4.1. Cinética

La velocidad de fermentación y la trayectoria del pH en el tiempo (t) se describen a través de ecuaciones cinéticas no lineales.

a. Modelo de Gompertz Modificado

El descenso del pH durante la fermentación láctica sigue una curva sigmoideal invertida descrita matemáticamente mediante el modelo de Gompertz reconfigurado por Zwietering et al. (1990):

$$\text{pH}(t) = \text{pH}_0 - \Delta\text{pH}_{\max} \cdot \exp \left\{ - \exp \left[\frac{\mu_{\max} \cdot e}{\Delta\text{pH}_{\max}} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde:

- $\text{pH}(t)$: Valor de pH registrado en el tiempo de proceso t (h).
- pH_0 : pH inicial de la emulsión de almendra en $t=0$.
- $\Delta\text{pH}_{\max}$: Descenso total de pH alcanzado en la fase estacionaria ($\text{pH}_0 - \text{pH}_{\infty}$).
- $\mu_{\max}$: Vel. máxima de acidificación en la fase exponencial (unidades p).
- λ : Tiempo de latencia o fase de adaptación fisiológica del inóculo (h).
- e : Constante de Euler (≈ 2.71828).

b. Modelo Cinético de Baranyi-Roberts

Para abordar condiciones donde la fase de latencia muestra una marcada variabilidad debido al estado fisiológico inicial del inóculo (q_0), el modelo de Baranyi y Roberts (1994) ofrece la siguiente aproximación estructural:

$$\alpha(t) = \frac{q_0}{q_0 + e^{-vt}} \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde $A(t) = \int_0^t \alpha(s) ds$ es la función de ajuste del estado celular y m es el factor de curvatura de la transición entre fases cinéticas.

3.4.2. Acidificantes.

i. Acidificación con Ácido Cítrico/Jugo de Limón)

Corresponde a una reacción de transferencia de protones (H^+) de cinética casi instantánea o de pseudo-primer orden. Los protones aportados por la disociación del ácido cítrico ($pK_{a1} = 3.13, pK_{a2} = 4.76, pK_{a3} = 6.40$) neutralizan de forma directa las cargas negativas de los grupos carboxilato ($-COO^-$) en las cadenas de amandina.

Esto provoca la desestabilización de la repulsión electrostática e induce la agregación proteica. No obstante, no existe consumo metabólico de carbohidratos ni síntesis de compuestos aromáticos volátiles (como diacetilo o acetato).

ii. Fermentación por Bacterias Ácido-Lácticas (BAL)

Corresponde a un bioproceso metabólico de cinética sigmoideal (modelado por Gompertz). Pasa por una fase de latencia, una fase exponencial con tasa máxima de acidificación y una fase estacionaria. Las BAL (ej. *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*) catabolizan hexosas mediante la vía Embden-Meyerhof-Parnas, produciendo ácido láctico *in situ* (2mol de ácido láctico/mol de glucosa).

3.5. Método Taguchi (Arreglo Ortogonal L9) y Razón Señal/Ruido (S/N)

El diseño Taguchi es una herramienta de optimización estadística paramétrica que evalúa múltiples factores de proceso operando a tres niveles mediante el uso de matrices ortogonales reducidas. El arreglo $L_9(3^3)$ (Tabla 2) permite analizar tres factores operacionales con sólo 9 combinaciones experimentales en lugar de las 27 requeridas por un diseño factorial completo.

Tabla 2. Arreglo Ortogonal Taguchi L9

Factor Experimental	Variable de Proceso	Nivel 1 (Bajo)	Nivel 2 (Medio)	Nivel 3 (Alto)
X ₁	Temperatura de Incubación (°C)	30°C	35°C	40°C
X ₂	Tiempo de Fermentación (h)	12 h	18 h	24 h
X ₃	Relación Leche-Inóculo (v/v)	20: 1	40: 1	60: 1

Nota: Elaboración propia.

Las respuestas analíticas se transforman estadísticamente a la métrica de relación Señal/Ruido (S/N) para identificar las condiciones que minimizan la variabilidad provocada por factores no controlados.

a. Razón S/N "Nominal es el Mejor" (*para el pH Objetivo = 4.5*)

Se aplica para centrar la respuesta en un valor objetivo que asegure la gelificación sin generar acidez excesiva:

$$\eta_{NTB} = 10 \log_{10} \left(\frac{\bar{y}^2}{s^2} \right) \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde $\bar{y}$ representa la media de las réplicas del tratamiento y s^2 la varianza muestral.

b. Razón S/N "Mayor es Mejor" (*para Puntuación Sensorial y Rendimiento*)

Se aplica sobre variables que se busca maximizar en el producto terminado:

$$\eta_{LTB} = -10 \log_{10} \left(\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{1}{y_i^2} \right) \quad \text{Ecuación 4}$$

Donde y_i es el valor observado en la repetición i , y n el número total de unidades experimentales.

c. Razón S/N "Menor es Mejor" (*para Porcentaje de Sinéresis*)

Se utiliza para minimizar respuestas físicas indeseables:

$$\eta_{STB} = -10 \log_{10} \left(\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n y_i^2 \right) \quad \text{Ecuación 5}$$

La evaluación del porcentaje de contribución de cada factor ($P_k\%$) sobre la respuesta global se deduce mediante el Análisis de Varianza (ANOVA) de las razones S/N :

$$SS_T = \sum_{i=1}^9 (\eta_i - \bar{\eta})^2 \quad ; \quad P_k = \frac{SS_k}{SS_T} \times 100 \quad \text{Ecuación 6}$$

3.6. Evaluación Fisicoquímica y Sensorial Estructurada

La caracterización completa del queso vegano fermentado integra determinaciones estandarizadas y análisis sensorial detallados a continuación.

3.6.1. Métodos de Análisis Fisicoquímico

a. Acidez Titulable Total:

Este procedimiento se utiliza para cuantificar el porcentaje de ácido láctico producido durante la fermentación, un indicador clave de la calidad y conservación del producto. Se pesará una muestra de 10 gramos de queso, la cual se homogeneiza en 90ml de agua destilada y se titula volumétricamente con hidróxido de sodio (NaOH 0.1N) neutralizando los ácidos carboxílicos hasta el viraje de la fenolftaleína (pH 8.2). Se expresa como porcentaje de ácido láctico:

$$\% \text{ Acidez Total (Ácido Láctico)} = \frac{V_{\text{NaOH}} \cdot N_{\text{NaOH}} \cdot meq_{\text{ác. láctico}}}{W_{\text{muestra}}} \times 100 \quad \text{Ecuación 7}$$

Donde:

V_{NaOH} : Volumen consumido de agente titulante (mL).

N_{NaOH} : Normalidad estandarizada de la solución de NaOH (0.1000N).

$meq_{\text{ác. láctico}}$: Miliequivalente químico del ácido láctico (0.09008g/meq).

W_{muestra} : Masa alícuota de la muestra de queso vegano (10.00g).

b. Humedad Gravimétrica (AOAC 925.09):

Se basa en la remoción del agua libre y ligada débilmente en la muestra mediante calentamiento. Al someterse la muestra a una temperatura superior al punto de ebullición del agua a presión atmosférica, esta se evapora, dejando una masa residual constante compuesta únicamente por los sólidos totales. Se pesan con precisión de 2g a 5g de muestra homogeneizada en una cápsula de aluminio/porcelana previamente tarada y desecada. La muestra se introduce en un horno

a 105°C hasta obtener un peso constante:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{m_{\text{inicial}} - m_{\text{seca}}}{m_{\text{inicial}}} \times 100 \quad \text{Ecuación 8}$$

Donde:

m_{inicial} : es la masa inicial de la muestra antes del secado.

m_{seca} : es la masa de la muestra posterior al secado

El contenido de humedad incide directamente en la consistencia y la firmeza del producto final.

c. Extracto etéreo/ Materia Grasa por método Soxhlet (Método AOAC 963.15):

Es una extracción continuo-discontinua sólido-líquido donde la muestra previamente seca es percolada reiteradamente con un solvente orgánico (éter de petróleo o éter etílico) a su temperatura de ebullición. El solvente disuelve de forma selectiva los lípidos neutros, ácidos grasos libres, pigmentos liposolubles y esteroides. Una vez finalizada la extracción, el solvente se evapora y el residuo graso se cuantifica gravimétricamente.

Se pesa 2 a 3 g de muestra seca (libre de humedad) en un cartucho de celulosa porosa. El cartucho se coloca en la cámara de extracción del Soxhlet acoplado a un matraz con perlas de vidrio, previamente tarado con éter de petróleo. Se calienta en manta durante 6 a 8 horas, asegurando una frecuencia de sifonado de al menos 10 a 12 ciclos por hora. Finalizado el período, se recupera el solvente mediante evaporación en rotavapor o estufa, y el matraz con la grasa extraída se seca a 100°C se enfría en desecador y se pesa.

El porcentaje de grasa se calcula gravimétricamente mediante la fórmula:

$$\text{Extracto etéreo} = \frac{m_{\text{grasa}}}{m_{\text{muestra}}} \times 100 \quad \text{Ecuación 9}$$

Donde:

m_{grasa} : Masa del residuo lipídico obtenido tras la evaporación del solvente (g)

m_{muestra} : Masa inicial de la muestra seca utilizada en la extracción (g).

d. Proteínas Totales por Método Kjeldahl (Método AOAC 991.20):

Evalúa el contenido de nitrógeno orgánico total presente en la muestra. Tras la digestión ácida, la materia orgánica se destruye y el nitrógeno se transforma cuantitativamente en sulfato de amonio. Mediante destilación alcalina, el amonio se libera en forma de amoníaco gaseoso, el cual se arrastra y captura en un ácido receptor para su posterior valoración volumétrica. La cantidad de nitrógeno hallada se multiplica por un factor de conversión específico según el perfil de aminoácidos del insumo (para la almendra, $F = 5.18$).

Comprende 3 etapas:

—*Digestión*: Se atacan 0.5g a 1.0g de muestra desecada con ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4 98%) y una mezcla catalizadora (CuSO_4 , K_2SO_4) en un tubo Kjeldahl a 380–400°C hasta obtener una solución verde translúcida.

—*Destilación*: Se neutraliza con hidróxido de sodio (NaOH 40%) para generar amoníaco (NH_3), el cual se destila sobre un matraz receptor con una solución de ácido bórico (H_3BO_3 , 4%) conteniendo un indicador mixto (rojo de metilo y verde de bromocresol).

—*Titulación*: El amonio atrapado se titula con una solución estandarizada de ácido clorhídrico (HCl 0.1N) hasta el viraje de color.

El contenido de proteína cruda se estima aplicando el factor de conversión específico para proteínas de almendra ($N \times 5.18$):

$$\% \text{ Nitrógeno (N)} = \frac{(V_{\text{HCl}} - V_{\text{blanco}}) \times N_{\text{HCl}} \times 1.4007}{W_{\text{muestra}}} \quad \text{Ecuación 10}$$

Donde:

V_{HCl} : volumen del HCl 0.1N gastado en la titulación de la muestra (mL)

V_{blanco} : volumen del HCl gastado en el blanco (mL)

N_{HCl} : Normalidad de la solución de HCl (eq/L)

1.4007: Miliequivalente del nitrógeno (14.007g/mol * 0.1)

W_{muestra} : peso final de la muestra

Por lo que

$$\% \text{ Proteína Cruda} = \% \text{ Nitrógeno} \times 5.18 \quad \text{Ecuación 11}$$

e. Cenizas Totales (AOAC 923.03)

Es una determinación cuantitativa de los minerales y compuestos inorgánicos totales en la matriz alimentaria. Se logra mediante la oxidación e incineración completa de la materia orgánica a alta temperatura en presencia de oxígeno atmosférico. El residuo no volátil subsistente está compuesto por óxidos, carbonatos, sulfatos y fosfatos metálicos.

Se pesan 2 a 3 g de muestra homogeneizada en un crisol de porcelana previamente calcinado y tarado. Inicialmente, se precarboniza la muestra sobre una placa calefactora dentro de una campana de extracción hasta que cese la emisión de humos. A continuación, el crisol se traslada a un horno a una temperatura de $550 \pm 10^\circ\text{C}$ durante un lapso de 4 a 6 horas, hasta la obtención de cenizas de color blanco o gris claro, completamente libres de partículas de carbón. El crisol se deja enfriar en el desecador y se pesa con precisión analítica.

$$\% \text{ Cenizas Totales} = \left(\frac{m_{\text{cenizas}}}{m_{\text{muestra}}} \right) \times 100 \quad \text{Ecuación 12}$$

Donde:

m_{cenizas} : Masa del residuo inorgánico blanco/grisáceo final (g).

m_{muestra} : Masa de la muestra inicial sin incinerar (g).

f. Fibra Total por Método Enzimático-Gravimétrico (AOAC 991.43)

Se simula el proceso digestivo humano sobre la muestra desengrasada, empleando enzimas purificadas para hidrolizar secuencialmente el almidón y las proteínas presentes. La fracción de fibra insoluble se separa por filtración, mientras que la fibra soluble precipita al añadir etanol al 95%. La suma de ambas fracciones, corregida por su contenido proteico residual y cenizas (indeseables precipitados), constituye la fibra dietética total.

Se toma una muestra de 1g de muestra desengrasada y seca se somete a digestión enzimática secuencial con:

1. *α-amilasa termotable* (pH 6.0, 95 – 100°C, 15 min) para gelatinizar e hidrolizar el almidón.
2. *Proteasa* (pH 7.5, 60°C 30 min) para depolimerizar la matriz proteica.
3. *Amiloglucosidasa* (pH 4.5, 60°C, 30 min) para degradar los oligosacáridos residuales a glucosa.

Posteriormente, se adicionan 4 volúmenes de etanol caliente al 95% para precipitar las fibras solubles. La suspensión se filtra a través de un crisol filtrante de vidrio poroso impregnado. El residuo filtrado se lava con etanol y acetona, se deseca a 105°C y se pesa. Se determina el nitrógeno residual (Kjeldahl) y las cenizas (mufa) de un duplicado del residuo seco, para corregir el valor bruto.

$$\% \text{Fibra Dietética Total (FDT)} = \left(\frac{\frac{m_{r1} + m_{r2}}{2} - P - C - B}{m_{\text{muestra}}} \right) \times 100 \quad \text{Ecuación 13}$$

Donde:

m_{r1}, m_{r2} : Masas del residuo de fibra en los tubos duplicados (g).

P: Masa de proteína retenida en el residuo de fibra (g).

C: Masa de cenizas retenidas en el residuo de fibra (g).

B: Masa del residuo del ensayo en blanco (procesado en paralelo sin muestra) (g).

m_{muestra} : Masa inicial de muestra seca y desengrasada (g).

g. Carbohidratos Totales

Es una estimación indirecta ampliamente utilizada en los análisis proximales de alimentos (FAO/AOAC). Corresponde a la suma de la fracción glucídica digerible (azúcares simples, oligosacáridos y almidón) y la no digerible (fibra), calculada por sustracción matemática del resto de los componentes mayoritarios que integran el 100% de la masa de la muestra analizada.

No requiere de un procedimiento analítico en laboratorio de forma directa; se obtiene deduciendo de la masa total de la muestra el porcentaje ponderal previamente cuantificado de humedad, proteína bruta, extracto etéreo y cenizas totales.

$$\% \text{ Carbohidratos Totales} = 100 - (\text{Humedad} + \% \text{ Proteína Bruta} + \% \text{ Extracto Etéreo} + \% \text{ Cenizas Totales})$$

Ecuación 14

3.6.2. Evaluación Sensorial Hedónica

La evaluación sensorial es un pilar de la caracterización, ya que permite determinar la aceptación del producto a través de la percepción de atributos como el sabor, el aroma, la textura y la apariencia. Dicha evaluación se realiza mediante paneles de cata que aplican escalas hedónicas o pruebas discriminatorias para validar las características deseadas. El perfil organoléptico del queso vegano se cuantifica mediante la aplicación de fichas de escala hedónica estructurada de 5 puntos por un panel de evaluación, tal como lo muestra la Tabla 3:

Tabla 3. Ejemplo de escala hedónica típica de 5 puntos para un panel de evaluación.

Puntuación	Apariencia y Color	Aroma / Olor	Textura en Boca	Sabor Láctico / Ácido
5 = Excelente	Blanco/crema uniforme, superficie lisa	Ácido/láctico fresco, característico	Cremoso, firme, corte limpio sin granos	Ácido limpio, salinidad equilibrada
4 = Bueno	Homogéneo, mínima sinéresis	Láctico moderado, nota sutil a fruto seco	Untuoso, consistente, suave al paladar	Ácido moderado agradable
3 = Aceptable	Ligeramente heterogéneo	Aroma neutro o vegetal tenue	Firmeza media, ligera separación fases	Acidez baja o sabor a almendra
2 = Regular	Sinéresis notable, masa despareja	Nota a rancio o verdura cruda alta	Granuloso, pasta blanda/dispersa	Astringente o muy ácido
1=Inaceptable	Separación total de fases, manchado	Olor pútrido, mohoso o rancio alto	Pasta fluida, sin estructura de gel	Sabor amargo o agrio extremo

Nota: Elaboración propia.

3.7. Proceso y obtención de queso vegano.

El diseño de un proceso de producción no solo considera la calidad del producto final, sino también la eficiencia y la factibilidad técnica y económica a una escala mayor. La evaluación del rendimiento del proceso se calcula a partir de la relación entre la cantidad de producto obtenido y la materia prima utilizada. Un alto rendimiento es indicativo de un proceso optimizado y económicamente viable (Venturella et al., 2021).

Existen variantes en el procesamiento para la obtención del queso vegano a partir de semillas, no obstante, se puede generalizar para las almendras (*Prunus dulcis*) las siguientes operaciones:

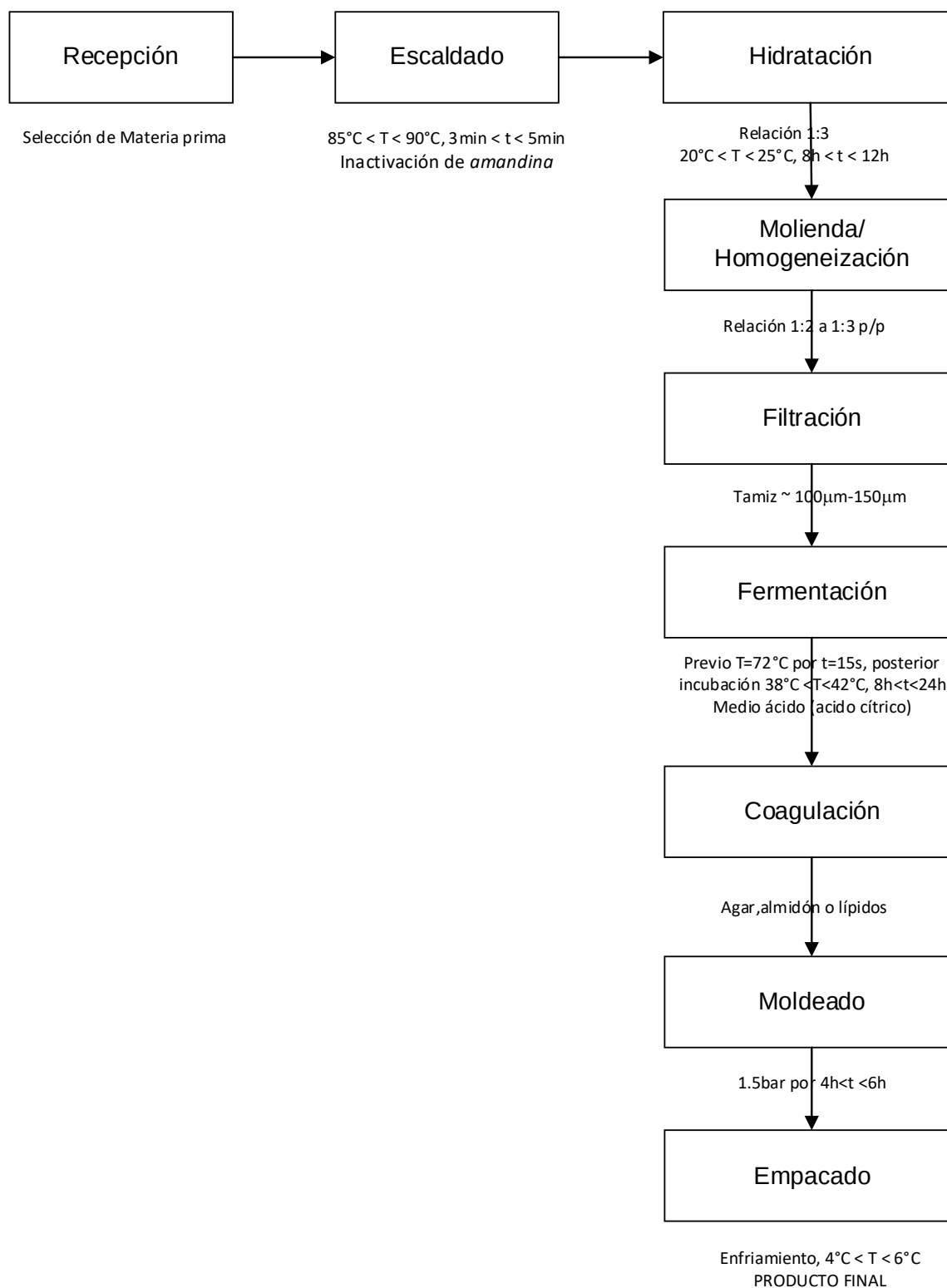
1. *Selección de Materia Prima*: Clasificación del grano para eliminar impurezas y almendras defectuosas.
2. *Escaldado*: Tratamiento térmico en agua a 85–90 °C durante 3 a 5 minutos para ablandar el epicarpio (piel) y facilitar su remoción mecánica, reduciendo la transferencia de taninos y pigmentos al producto final.
3. *Hidratación*: Inmersión en agua potable (relación 1:3 p/v) a temperatura ambiente (20–25 °C) durante 8 a 12 horas. Esta etapa promueve la imbibición de agua, incrementando la humedad del grano y facilitando la posterior extracción proteica y lipídica.
4. *Molienda y Homogeneización*: Desintegración mecánica de las almendras hidratadas con agua purificada en una relación másica controlada (usualmente 1:2 a 1:3 p/p). Se obtiene una suspensión coloidal gruesa (*Extracción de Base Láctea Vegetal*)
5. *Filtración (Separación de Fase Sólida)*: Separación mediante tamizado mecánico (malla ~100–150 µm) o centrifugación para separar el extracto líquido soluble de la fibra insoluble residual.
6. *Fermentación*: Adición de cultivos iniciadores microorganismos lácticos (*Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* u opcionalmente cepas probióticas) al extracto pasteurizado (72 °C por 15 s) y enfriado a 40–42 °C.

Incubación entre 38–42°C durante 8 a 24 horas para la generación de metabolitos secundarios de sabor y textura.

7. *Coagulación y Estructuración*: Incorporación de agentes gelificantes/coagulantes (como agar-agar, o almidones modificados) o lípidos estructurantes (aceite de coco refinado) bajo calentamiento suave (80–85 °C por 5 min) para promover la gelificación térmica del sistema.
8. *Moldeo, Prensado y Desuerado*: Vertido de la masa en moldes perforados, sometidos a una presión neumática de 1.5–2.5 bar durante 4 a 6 horas para drenar el líquido remanente y consolidar la matriz sólida.
9. *Empacado y Enfriamiento*: Envasado al vacío en empaques (termoplásticos) de baja permeabilidad al oxígeno y almacenamiento a temperatura de refrigeración (4–6 °C) para estabilización reológica.

La Figura 2 muestra el proceso descrito.

Figura 2. Flujograma del procesamiento de queso vegano.



Nota: Elaboración propia.

IV. METODOLOGÍA

4.1. Tipo de estudio

Enfoque experimental: Se realizó la manipulación controlada de las corridas experimentales con el fin de obtener un queso vegano mínimamente satisfactorio.

Enfoque descriptivo: Se llevó a cabo la caracterización sistemática de las propiedades fisicoquímicas y sensoriales de cada formulación obtenida.

Enfoque comparativo: Se contrastaron los resultados de las distintas formulaciones con el propósito de determinar cuál presenta mejores condiciones antes y después de la optimización Taguchi.

4.2. Obtención de queso vegano mediante arreglo ortogonal.

Con el fin de garantizar la confiabilidad y la reproducibilidad de los resultados, se utilizó un enfoque experimental (DOE) para identificar las variables y su interacción.

4.2.1. Materiales

Se emplearon los siguientes materiales:

- Almendras crudas,
- Agua destilada,
- Limón criollo,
- pH-metro,
- Balanza analítica,
- Refractómetro,
- Baño María,
- Horno de secado,
- Licuadora/Procesador de alimentos,
- Muselina,
- Termómetro,
- Beaker 1000mL

El jugo de limón como medio de cultivo propicia un ambiente más favorable para las bacterias ácido lácticas, lo que puede acelerar la fermentación.

Posteriormente, las muestras obtenidas se sometieron a una evaluación sensorial.

4.2.2. Preparación de la Leche de Almendra

Las almendras crudas se dejaron en hidratación (remojo) por un período de 12 horas. Posteriormente, se trituraron en una licuadora con agua destilada en una proporción controlada de 1:3, separando la fase sólida residual mediante filtración con tela de quesos (muselina). La emulsión obtenida se sometió a un tratamiento térmico de pasteurización a 75°C durante 15 segundos² para asegurar la inactivación de la carga microbiana e inactivación de enzimas (principalmente la amandina). Antes de la inoculación, se deben estimar los parámetros fisicoquímicos iniciales mediante un refractómetro y un pH-metro, registrándose de forma constante un contenido de sólidos solubles totales (5.2° Brix deseable), el pH y estimar la acidez titulable inicial expresada en equivalente de ácido láctico.

4.2.3. Condiciones de Fermentación

Para la fermentación se inocularon las muestras utilizando jugo de limón como medio para promover el desarrollo y actividad metabólica de las bacterias ácido-lácticas (sin adición microorganismo). Procediéndose al monitoreo del pH y la acidez total cada 30 minutos continuos a lo largo de un periodo de 24 horas, evaluando de forma paralela tres niveles térmicos en baño María (30°C, 35°C y 40°C).

4.2.4. Diseño Experimental

Se aplicó un Diseño Taguchi para optimizar las variables:

- Temperatura de fermentación (X1)
- Tiempo de fermentación (X2)
- Relación Leche/inoculo (X3).

² Con agitación contante se ubicaba en Baño María, y desde que la solución alcanzaba los 75°C se mantenía 15 - 20 segundos y luego se enfriaba.

Utilizándose un arreglo ortogonal L9, que permitió evaluar los efectos principales de los tres factores con tres niveles en solo nueve corridas experimentales. Este arreglo minimizó el número de pruebas necesarias sin sacrificar la capacidad de obtener información estadística importante. Las variables de respuesta a medir en cada experimento fueron la acidez titulable, el pH final, la puntuación sensorial (mediante un panel de análisis sensorial) y el rendimiento del proceso. En la Tabla 4 se muestra el arreglo experimental.

Tabla 4. Arreglo ortogonal Taguchi L9 para la obtención de un queso vegano

No.	Temperatura	Tiempo	Relación Vol/Vol
1	Nivel 1 (30°C)	Nivel 1 (12 h)	Nivel 1 (20:1)
2		Nivel 2 (18 h)	Nivel 2 (40:1)
3		Nivel 3 (24 h)	Nivel 3 (60:1)
4	Nivel 2 (35°C)	Nivel 1 (12 h)	Nivel 2 (40:1)
5		Nivel 2 (18 h)	Nivel 3 (60:1)
6		Nivel 3 (24 h)	Nivel 1 (20:1)
7	Nivel 3 (40°C)	Nivel 1 (12 h)	Nivel 3 (60:1)
8		Nivel 2 (18 h)	Nivel 1 (20:1)
9		Nivel 3 (24 h)	Nivel 2 (40:1)

Nota: Elaboración propia.

La Relación Vol/Vol en 200mL fue:

- ✓ Nivel 1 (20:1): 190.5 mL de leche / 9.5 mL de jugo de limón.
- ✓ Nivel 2 (40:1): 195.1 mL de leche / 4.9 mL de jugo de limón.
- ✓ Nivel 3 (60:1): 196.7 mL de leche / 3.3 mL de jugo de limón.

El análisis de los datos de las variables de respuesta se transformó a métricas mediante las fórmulas de relación Señal/Ruido (S/N):

- Para la acidez final y la puntuación de la evaluación sensorial, se aplicó la condición matemática de "más grande es mejor", con el propósito de potenciar las propiedades organolépticas deseadas y el desarrollo de ácido láctico.
- Para el pH final, se determinó el uso de "nominal es mejor", fijando como rango objetivo valores de $4.2 < \text{pH} < 4.5$. Este intervalo garantizó la correcta coagulación proteica sin incurrir en una acidez excesiva que afectara el producto.

A través del Análisis de Varianza (ANOVA) realizado sobre los valores calculados de S/N, se identificó que la temperatura (X1) y el tiempo de fermentación (X2) representaron los factores con mayor significancia estadística sobre la consistencia de la muestra.

4.3. Caracterización del producto

4.3.1. Análisis fisicoquímicos

a. Determinación de la Acidez por Titulación

Se empleó el método descrito en la sección 3.6.1.a para la determinación de acidez titulable. A esta parte se le restó la acidez basal ($t = 0$) para eliminar el sesgo estequiométrico.

b. Determinación de la Humedad

Se empleó el método AOAC 925. descrito en la sección 3.6.1.b para la determinación de la humedad mediante gravimetría.

c. Determinación de Materia Grasa

Se empleó el método AOAC 963.15 descrito en la sección 3.6.1.c para la determinación de extracto etéreo/materia grasa por extracción Soxhlet.

d. Determinación de proteínas.

Se empleó el método AOAC 991.20 descrito en la sección 3.6.1.d para la determinación de proteínas totales por Kjeldahl.

e. Determinación de Cenizas Totales.

Se empleó el método AOAC 923.03 descrito en la sección 3.6.1.e para la determinación de cenizas totales.

f. Determinación de Fibra Total.

Se empleó el método AOAC 991.43 descrito en la sección 3.6.1.f para la determinación de fibra dietética total.

g. Determinación de Carbohidratos Totales.

Se empleó la ecuación descrita en la sección 3.6.1.g para la determinación de carbohidratos totales.

El valor energético total del queso vegano (E , expresado en kcal/100g) se determina mediante la aplicación de los Factores de Atwater Modificados para matrices alimentarias vegetales:

- Proteína Bruta (P): 4.0 kcal/g
- Extracto Etéreo / Grasa (G): 9.0 kcal/g
- Carbohidratos Disponibles / Digeribles (CD): 4.0 kcal/g

La fracción de Carbohidratos Totales por Diferencia ($\%CT$) y Carbohidratos Disponibles ($\%CD$) se calcula conforme a las directrices FAO/AOAC, mediante la combinación de la ecuación 13 y la 14:

$$\%CT = 100 - (\%Humedad + \%Proteína + \%Grasa + \%Cenizas)$$

$$\%CD = \%CT - \%Fibra Dietética Total (FDT)$$

La densidad calórica final se obtuvo mediante el modelo estequiométrico:

$$E = (P \times 4.0) + (G \times 9.0) + (CD \times 4.0)$$

4.3.2. Análisis Sensorial

A través de la aplicación de la Ficha de Evaluación Sensorial (Anexo 9.3), se procesaron los datos recolectados a un panel de jueces no entrenados (10 jueces), empleando la estructura de escala hedónica de 1 a 5 puntos 1 = Me disgusta mucho, 5= Me gusta mucho. Los promedios estadísticos calculados para cada atributo analizado según lo establecido en la Tabla 3 de la sección 3.6.2.

4.4. Rendimiento del proceso

La evaluación del rendimiento del proceso, establecido en la Figura 2, se estimó a partir de la relación entre la cantidad de producto obtenido y la materia prima utilizada, siguiendo la fórmula

$$Rendimiento (\%) = \left(\frac{Masa_{\{queso\}}}{Masa_{\{leche\}}} \right) * 100. \quad \text{Ecuación 15}$$

Posteriormente se realizó una breve propuesta para un potencial escalado a escala laboratorio, según datos obtenidos.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

5.1. Obtención de la leche de almendra

Se inició el proceso experimental con la recepción de la materia prima, empleándose almendras crudas comercializadas en los supermercados locales para asegurar un estándar de homogeneidad en la muestra. De acuerdo con el Flujograma de proceso (Figura 2), los frutos secos se sometieron a una etapa de activación, consistente en un remojo en agua destilada durante un período de 12 horas a temperatura ambiente. Este paso fue fundamental para ablandar la matriz vegetal e hidratar los componentes celulares.

Se llevó a cabo la extracción de la leche vegetal (Ver Anexo 9.7) mediante homogeneización en un procesador de alimentos junto con agua destilada nueva en una proporción de 1:3 ($\frac{\text{Almendra}}{\text{Agua destilada}}$). La mezcla resultante se sometió a una separación sólido-líquido mediante filtración manual utilizando una tela de quesos (muselina), obteniéndose por un lado la fracción líquida (leche de almendra) y por otro la torta residual o fibra (Tabla 5).

Para garantizar la viabilidad del proceso y la inocuidad antes de la fermentación, el extracto líquido, leche resultante, se pasteurizó a 75°C durante 15 segundos utilizando un baño María, seguido de un choque térmico de enfriamiento rápido con el propósito de preparar la matriz para la inoculación. La pasteurización ($> 75^{\circ}\text{C}$) aportó la entalpía ($\Delta H \approx 87.4 \text{ kcal/mol}$) para desnaturalizar térmicamente la amandina antes de la fermentación. La temperatura rompe los enlaces no covalentes de la estructura terciaria y cuaternaria, exponiendo hacia la fase acuosa los residuos aminoácidos hidrofóbicos (leucina, isoleucina, valina) y los grupos sulfhidrilo ($-\text{SH}$) anteriormente sepultados en el núcleo de la molécula.

En esta etapa se utilizaron balanzas analíticas para el pesaje de la materia prima y termómetros para el control de la pasteurización. Esta prueba se realizó por duplicado.

Tabla 5. Extracción de extracto (leche) de almendra.

Prueba	Materia Prima (g)	Agua (mL)	Leche Obtenida (mL)
Corrida 1	500	1500	1420
Corrida 2	500	1500	1415

Nota: Elaboración propia.

5.2. Cinética de la Fermentación

Se realizó el monitoreo de la cinética fermentativa, previo uso de jugo de limón como inóculo para propiciar un ambiente favorable para las bacterias ácido-lácticas, ya que el jugo de limón actúa como acidificante químico directo (ácido cítrico). Las mediciones se efectuaron en intervalos de tiempo controlados a una temperatura constante. Véase las Figuras 3 y 4 para observar el comportamiento del pH y la acidez durante la fermentación. El Anexo 9.1 muestra los datos completos obtenidos durante la corrida experimental.

Al progresar la fermentación, la acumulación de ácido láctico protona los carboxilatos laterales ($-\text{COO}^- + \text{H}^+ \rightarrow -\text{COOH}$), reduciendo el potencial de la dispersión hasta valores cercanos a cero en el punto isoelectrico (pI 4.5-5.5). Al anularse la repulsión electrostática, las fuerzas atractivas hidrofóbicas y el entrecruzamiento por puentes disulfuro unen las cadenas desplegadas de amandina en una red tridimensional viscoelástica capaz de entrapar agua y oleosomas.

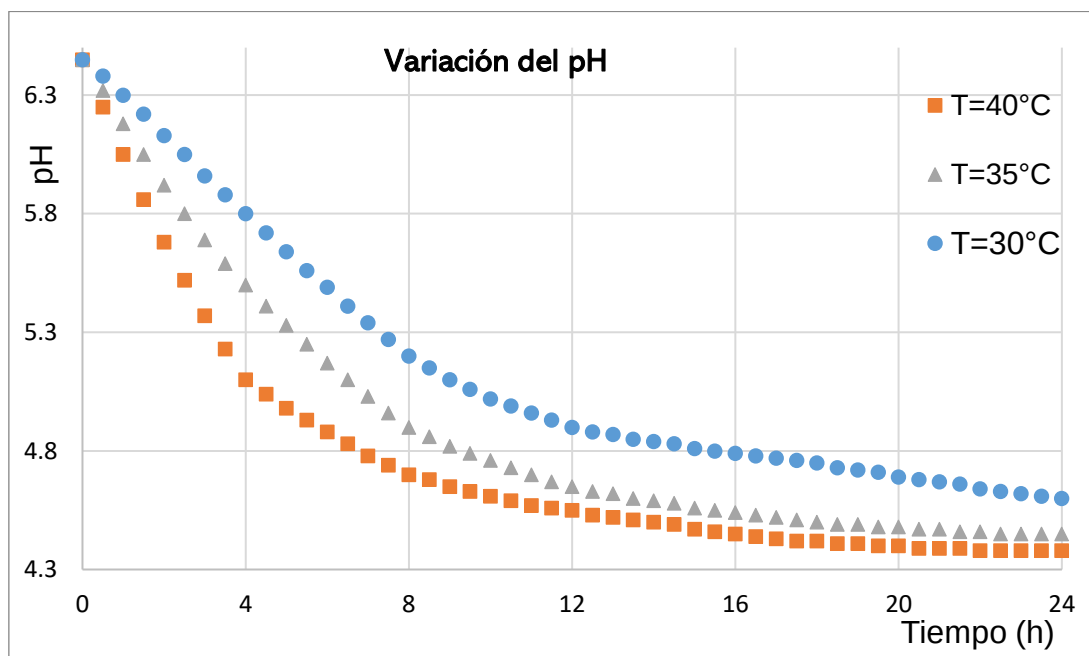
Si el proceso se prolongaba a 24h y 40°C, se sobrepasaría el punto isoelectrico. Las proteínas adquirirían carga neta positiva ($-\text{NH}_3^+$), reapareciendo fuerzas repulsivas electrostáticas que colapsarían la red tridimensional. Esto causó la expulsión de la fase acuosa (sinéresis macroscópica) y una textura granulosa, explicando la disminución en la puntuación sensorial de esa muestra (2.4/5.0).

Los perfiles cinéticos obtenidos describieron los siguientes comportamientos:

- A una temperatura de 30°C, se cuantificó un descenso ralentizado del pH, exhibiendo una fase de adaptación microbiana (lag) que se extendió hasta las 4 horas de proceso, logrando estabilizar el pH en un valor de 4.5 e incrementando la acidez de forma tardía al cabo de las 24 horas.
- A una temperatura de 35°C, se registró la curva de acidificación más eficiente, caracterizada por una disminución acelerada y lineal del pH durante las primeras 12 horas, alcanzando la fase estacionaria de producción de ácido entre las 18 y 24 horas con un pH final de 4.3 y un perfil estructural homogéneo.
- A una temperatura de 40°C, se observó una caída del pH en las primeras 6 horas de fermentación; no obstante, la velocidad de reacción decreció de forma prematura en los intervalos posteriores, induciendo fenómenos físicos de sinéresis macroscópica debido a la desestabilización térmica de la matriz coloidal.

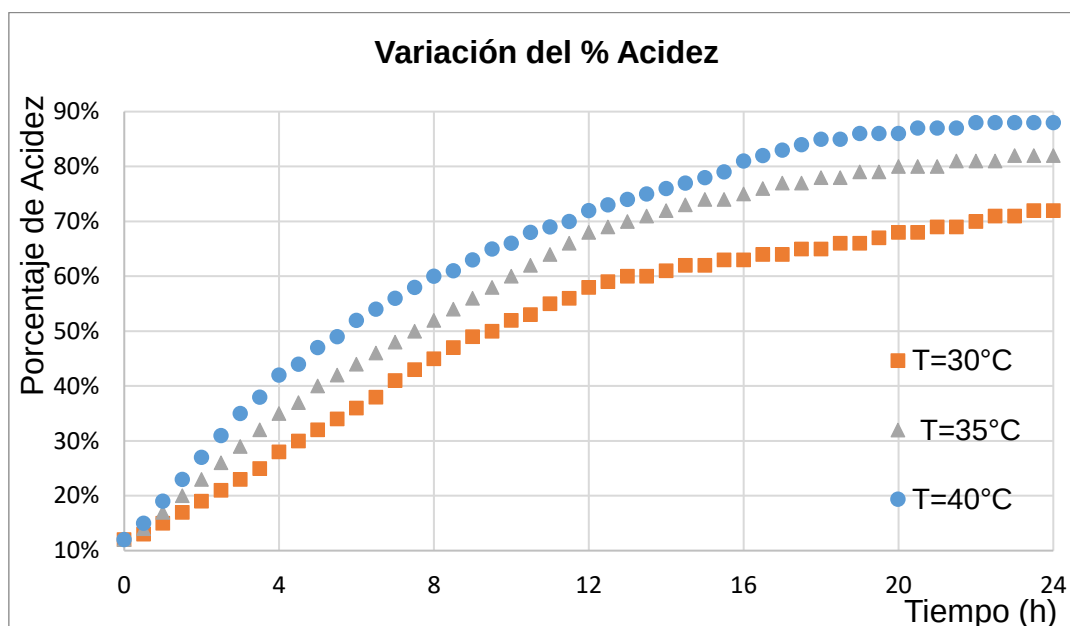
Cabe recalcar que, para tener un molde, se empleó una tela para “exprimir” el extracto fermentado por 4 horas, ya que se carecía de equipo neumático adecuado.

Figura 3. Variación del pH durante el tiempo de fermentación.



Nota: Elaboración propia.

Figura 4 Variación del porcentaje de acidez durante el tiempo de fermentación.



Nota: Elaboración propia.

5.3. Optimización por la Metodología Taguchi

Para la optimización, se empleó un diseño estadístico para procesar las variables de respuesta mediante la relación Señal/Ruido (S/N), Tabla 6. Obtenidos los datos del arreglo ortogonal L9 (Tabla 2, sección 3.5) se identificaron los niveles óptimos de los factores críticos: Temperatura (X_1), Tiempo (X_2) y Relación Leche/Inóculo (X_3); buscándose maximizar la puntuación sensorial y estabilizar el pH en valores nominales.

Por las relaciones Evaluación de Puntuación Sensorial (Función "Mayor es Mejor") y Evaluación del pH Objetivo (Función "Nominal es Mejor"), Anexo 9.2, se obtuvieron las respuestas de los Efectos principales, promediando los valores S/N para cada nivel de los factores X_1 (Temperatura), X_2 (Tiempo) y X_3 (Relación Leche/Inóculo).

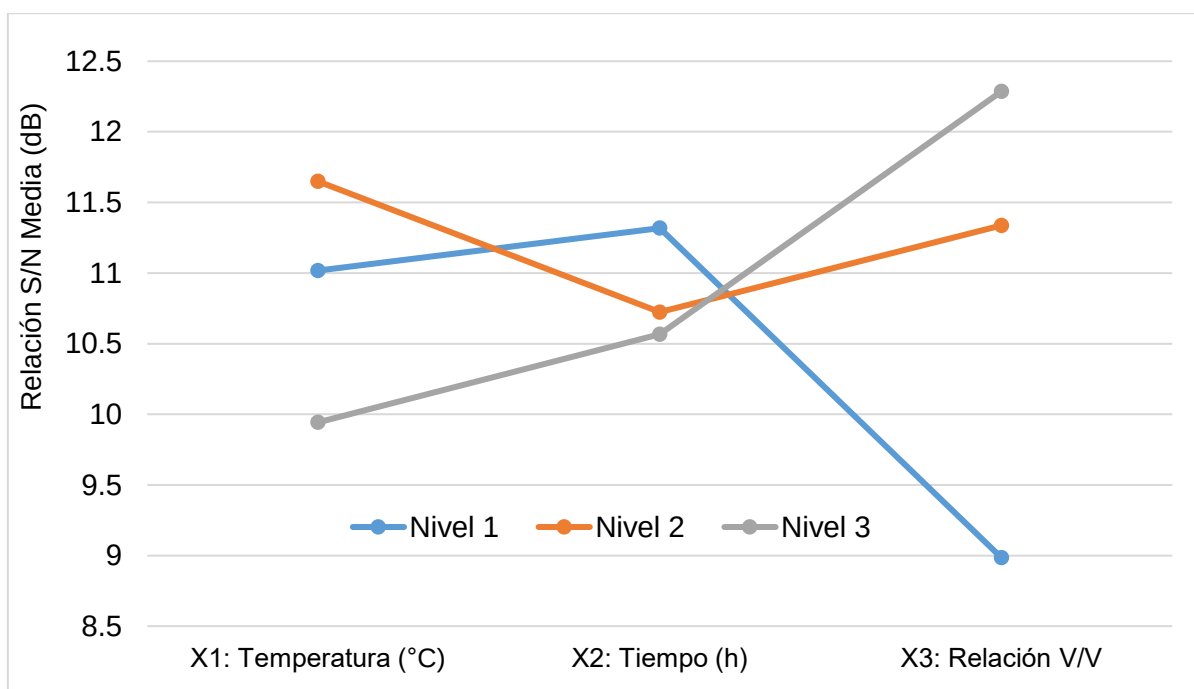
Tabla 6. Respuesta de Efectos Principales (S/N)

Factor Experimental	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	Delta ($\Delta=\text{max}-\text{min}$)	Rango (Importancia)	Nivel Óptimo
X_1 : Temperatura	11.017 dB	11.649 dB	9.943 dB	1.706 dB	1	Nivel 2 (35°C)
X_2 : Tiempo	11.318 dB	10.724 dB	10.566 dB	0.752 dB	3	Nivel 1-2 (12-18h)
X_3 : Relación Vol/Vol	8.985 dB	11.337 dB	12.286 dB	3.301 dB	1 (Foco en textura)	Nivel 2 (40:1)

Nota: Elaboración propia.

La Figura 5 muestra que el pico máximo de señal/ruido se alcanza individualmente en $X_1 = 35^\circ\text{C}$ (Nivel 2, 11.649dB), $X_2 = 12\text{h}$ (Nivel 1, 11.318dB) y $X_3 = 60:1$ (Nivel 3, 12.286dB).

Figura 5. Efectos principales S/N en el arreglo ortogonal.



El análisis estadístico (Tabla 7) revela que la relación de inóculo (X_3 , $P\% = 71.36\%$) y la temperatura (X_1 , $P\% = 19.20\%$) son más significativos en el proceso.

Tabla 7. *Análisis de Varianza.*

Fuente de Variación	Grados de Libertad (DF)	Suma de Cuadrados (SS)	Cuadrado Medio (MS)	Valor F	Valor p	Contribución (P%)
X_1 (Temperatura)	2	4.581	2.291	20.45	0.0468	19.20%
X_2 (Tiempo)	2	1.027	0.514	4.59	0.1789	4.31%
X_3 (Relación V/V)	2	17.022	8.511	75.99	0.0130	71.36%
Error Residual	2	0.224	0.112	—	—	5.13%
Total	8	23.854	—	—	—	100.00%

Nota: Elaboración propia.

Hay un efecto indeseado si se selecciona la combinación 12h y 60:1, la mezcla no alcanza el descenso de pH suficiente para completar la desnaturalización e inmovilización del queso (textura). Ver Figura 3.

Para lograr el potencial deseado ($\text{pH}=4.50$, textura adecuada y máxima cremosidad), la combinación óptima deducida del método Taguchi es:

- Temperatura (X_1): Nivel 2 (35°C) o Nivel 3 moderado (40°C).
- Tiempo (X_2): Nivel 2 (18 horas).
- Relación Leche/Inóculo (X_3): Nivel 2 (40: 1).

En el corrida experimental de confirmación con estos parámetros (35-40°C, 18 h, 40:1), la muestra alcanzó un pH de 4.50 ± 0.02 , acidez de $0.80 \pm 0.05\%$ y una puntuación de aceptabilidad general de 4.7/5.0, validando significativamente la muestra.

En el Anexo 9.6 se muestra un resumen experimental de la Temperatura, Tiempo y Relación Leche/Inóculo con sus valores de pH, acidez final y puntuación del análisis sensorial una vez aplicado el arreglo Taguchi.

5.4. Fermentación con parámetros optimizados

Se repitió, el proceso de fermentación aplicando los niveles identificados como óptimos en la prueba de Taguchi, Tabla 8. Se observó una mayor estabilidad en el coágulo y un perfil aromático más equilibrado.

Tabla 8. Fermentación empleando los parámetros optimizados mediante Taguchi.

Variable	Corrida 1	Corrida 2	Promedio
pH final	4.48	4.51	4.50
Acidez Titulable (%)	0,79	0,81	0,80
Separación del suero	Baja	Baja	-

Fuente: Elaboración propia.

5.5. Análisis Sensorial

Se conformó un panel de 10 jueces que evaluaron los atributos clave mediante una escala hedónica de 5 puntos, donde 5 representan "Me gusta mucho".

Figura 6. Percepción de la Apariencia del queso

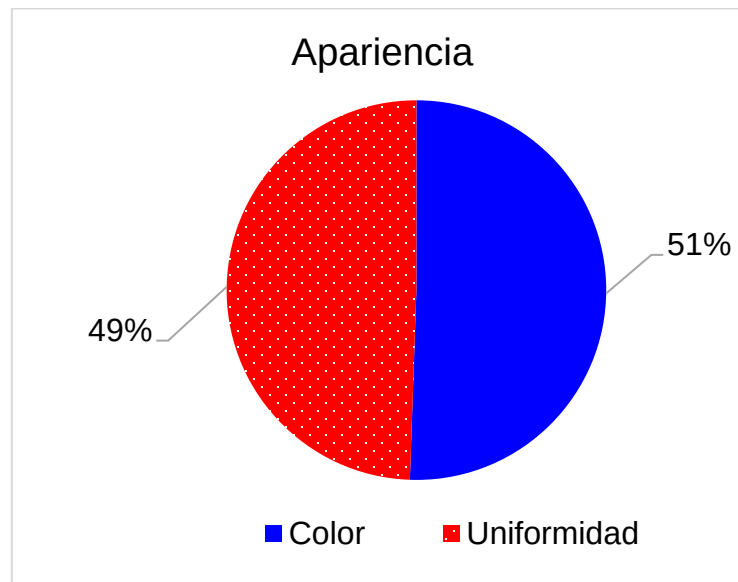


Figura 7. Percepción del Aroma del queso.

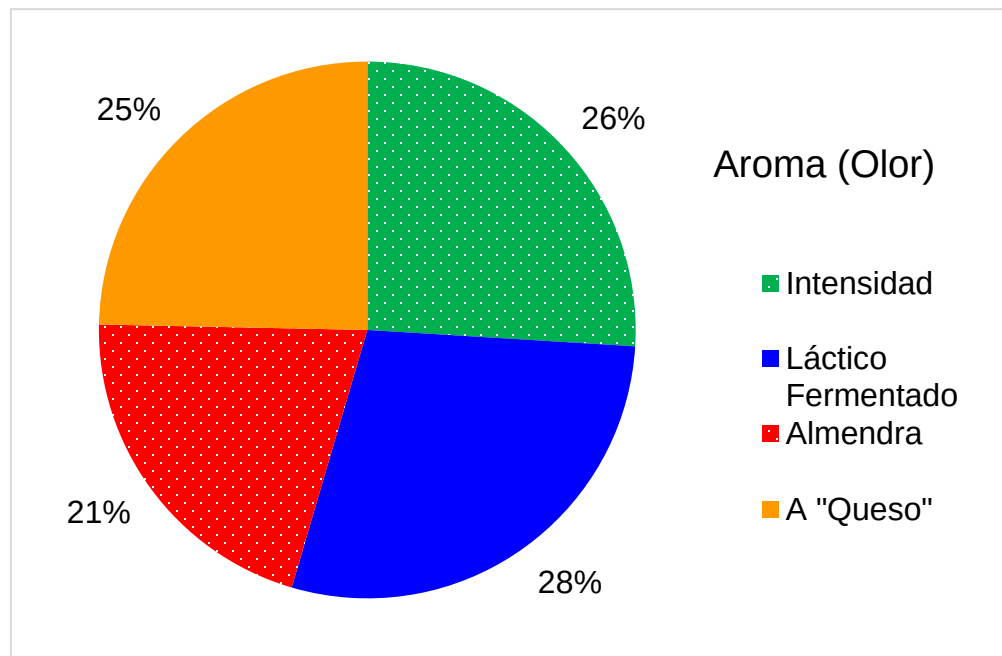


Figura 8. Percepción de la Textura del queso.

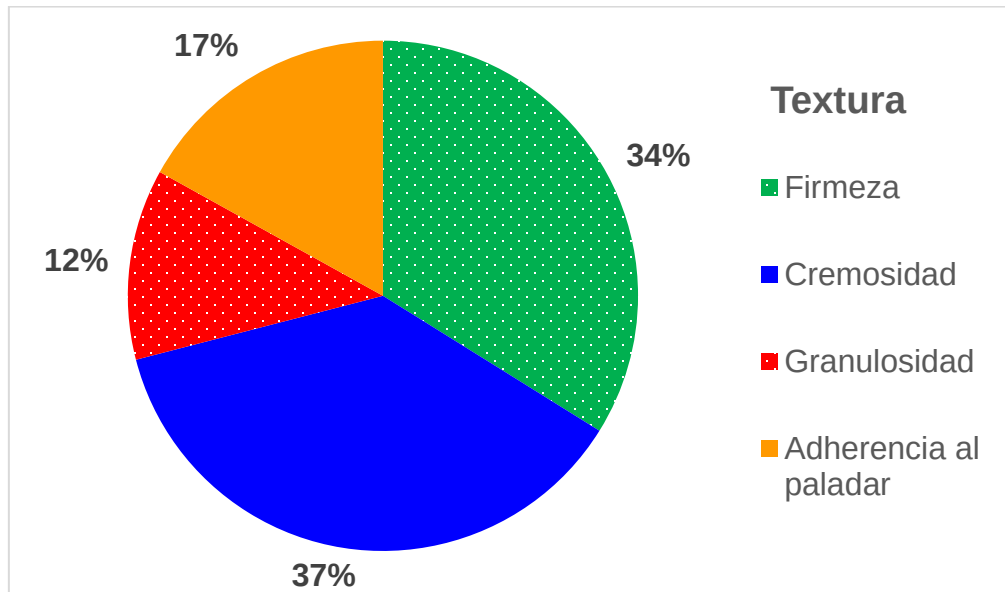
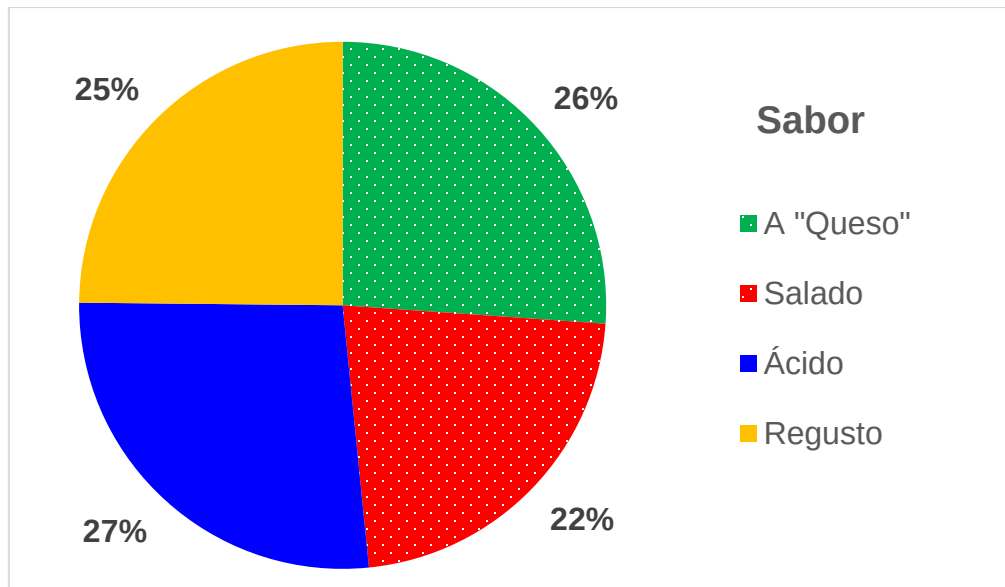


Figura 9. Percepción del Sabor del queso.



La intención de compra quedó indecisa como “quizás”, ya que fue ampliamente aceptada (escala 4.7/5).

En el anexo 9.4 se pueden observar el resumen de los parámetros más importantes evaluados sensorialmente antes y después de optimizar. Asimismo, en el anexo 9.5 la valoración del producto final.

5.6. Caracterización Fisicoquímica del Producto Final

5.6.1. Determinación de la Acidez

Se pesó una muestra de 10g de queso vegano, la cual se homogeneizó mecánicamente en un volumen de 90mL de agua destilada. La solución resultante se tituló volumétricamente empleando una solución estandarizada de hidróxido de sodio NaOH 0.1N hasta alcanzar el punto de viraje de la fenolftaleína y una lectura estable de 8.2 en el pH-metro. Se registró un volumen de consumo promedio de 9.8 mL de agente titulante. El cálculo analítico de la acidez expresada como porcentaje en peso de ácido láctico se efectuó mediante la ecuación matemática correspondiente:

5.6.2. Determinación de Humedad

Se pesó con precisión analítica una porción de 5.00 gramos de muestra homogeneizada dentro de una cápsula de porcelana previamente tarada y llevada a masa constante. La muestra se introdujo en una estufa de secado por convección térmica a una temperatura regulada de 105°C, manteniéndose hasta constatar la ausencia de variación en pesadas sucesivas.

Este porcentaje del 0.882% indicó un adecuado desarrollo de la fermentación biológica y garantizó las condiciones de conservación del producto.

-Masa inicial de la muestra húmeda: 5.0020g

-Masa final de la muestra seca: 1.8507g

-Pérdida de masa neta (agua evaporada): 3.1513g

La cuantificación del porcentaje de humedad se dedujo a partir de la relación de pérdida gravimétrica de peso:

Este valor del 63% ratificó la estandarización requerida para proveer la estabilidad estructural, la textura y el rendimiento previsto para el producto terminado.

5.6.3. Determinación de Lípidos y Proteínas.

Para la cuantificación semicuantitativa de las proteínas solubles, se disolvió una cantidad controlada de queso en una solución amortiguadora de pH (buffer) con el

propósito de neutralizar la acidez residual del ácido cítrico e incrementar la solubilidad de las fracciones proteicas.

5.6.4. Otros análisis.

Del mismo modo se realizaron las pruebas fisicoquímicas³ adicionales a humedad, lípidos (Soxhlet) y proteínas (Kjeldahl) para definir el perfil nutricional del queso vegano fermentado (Ver sección 3.6.1). La Tabla 9 muestra el resumen de la caracterización fisicoquímica.

Tabla 9. Caracterización fisicoquímica del queso vegano fermentado.

Parámetro	Muestra (base 100 g)	Unidad
pH	4.50	
Acidez	0.80	%
Humedad	63.00	%
Materia Seca	37.00	%
Proteína Total (N x 5.18)	6.20	%
Extracto Etéreo (Grasa)	18.50	%
Cenizas Totales	2.15	%
Fibra Dietética Total	3.20	%
Carbohidratos Totales (dif.)	10.15	%
Valor Energético Estimado	219.10	kcal/100g

Nota: El %CD (carbohidrato soluble)=10.15%-3.20%=6.95%. Elaboración propia.

³ Por duplicado

El análisis estadístico y experimental arroja datos significativos entre la temperatura del proceso, la relación leche/inóculo y la dinámica del pH, las cuales incidieron directamente en la aceptación general del producto.

A 30°C, la actividad metabólica de las bacterias ácido lácticas fue insuficiente para descender el pH a los niveles de coagulación óptimos en las primeras 12 horas, lo que generó un defecto en la textura (baja firmeza) y un sabor láctico poco desarrollado (promedio 2.5 en la muestra sin optimizar). Por el contrario, la temperatura de 40°C aceleró la formación de ácido láctico, permitiendo alcanzar un pH de 4.5 (disminuyendo el tiempo necesario para alcanzar el punto isoeléctrico de las proteínas, facilitando la coagulación), parámetro que actúa como indicador de una correcta fermentación y afecta directamente la textura del producto. No obstante, la optimización mediante Taguchi permitió determinar que el tiempo ideal es de 18 horas; exceder este tiempo provoca un incremento en la acidez titulable que afecta la calidad sensorial, resultando en un regusto amargo no deseado por el panel. Este comportamiento es consistente con lo expuesto por Jandke et al. (2023), quien subraya que la optimización de las condiciones de fermentación influye directamente en la capacidad de retención de agua de la matriz proteica vegetal.

La proporción Volumen/Volumen de leche/inóculo, definió la carga ácida inicial y la disponibilidad de sustrato. El Nivel 1 (20:1, equivalente a 190,5 ml de leche por 9,5 ml de jugo de limón) generó una saturación ácida que impactó negativamente la percepción del panel, obteniendo calificación de "Me disgusta" (2.1) debido a la astringencia y sinéresis excesiva de la cuajada. El Nivel 3 (60:1), si bien no generó rechazo por acidez, retrasó la coagulación y redujo el rendimiento del proceso. La proporción 40:1 (Nivel 2) demuestra ser el equilibrio exacto para que el medio propiciara el ambiente favorable para los m.o. sin impartir un sabor residual a limón.

El pH final obtenido (4.50) se sitúa dentro de los rangos técnicos análogos al queso, lo que garantiza no solo el perfil sensorial ácido deseado, sino también la estabilidad microbiológica del producto. Las muestras que descendieron a un pH inferior a 4.38 desarrollaron granulosidad y pérdida de cremosidad (cayendo a valores de 2.3 en la escala hedónica). Al estabilizar el proceso a 40°C por 18h con relación 40:1, se logró

detener la curva de descenso del pH en 4.50 ± 0.02 , lo que garantizó una estructuración proteica-lipídica adecuada. Esto se tradujo directamente en la aceptación del producto por parte de los jueces, quienes otorgaron una calificación hedónica de 4.5 a la "Cremosidad" y 4.3 al "Sabor Láctico".

Al comparar con los resultados de Jaramillo-Sánchez et al. (2021), la leche de almendra demostró ser un sustrato altamente viable, aunque con una cinética de acidificación ligeramente más lenta en comparación con sustratos de mayor contenido graso como el anacardo. Finalmente, la aceptabilidad sensorial superior al 4.3/5.0 valida técnicamente la formulación propuesta bajo las condiciones locales de Nicaragua.

5.7. Cálculo del Rendimiento del Proceso

El rendimiento se calculó siguiendo la fórmula

$$\text{Rendimiento (\%)} = \left(\frac{\text{Masa}_{\{\text{queso}\}}}{\text{Masa}_{\{\text{leche}\}}} \right) * 100.$$

- Rendimiento antes de la optimización (30°C, 24h): Se obtuvo una masa de cuajada de 245g a partir de 1000mL ($\approx 1000\text{g}$) de leche. Rendimiento = 24,5%.
- Rendimiento después de la optimización (40°C, 18h): Se obtuvo una masa de cuajada de 285g de 1000mL ($\approx 1000\text{g}$) de leche, debido a una mejor red de coagulación y retención de humedad. Rendimiento = 28,5%

Para escalar el proceso desde laboratorio (1L) a nivel de planta piloto (100L), se proponen la siguiente secuencia de operaciones unitarias y parámetros de control:

1. Acondicionamiento e Hidratación: Macerado de 35kg de almendras seleccionadas en 105L de agua purificada (1:3p/v) durante 12h a 20°C en un tanque de acero inoxidable (AISI 316L) con agitación lenta.
2. Desintegración y Extracción Coloidal: Molienda en un molino coloidal de platos de corte ajustados a 100 μm . La separación de la fase sólida se realiza de forma continua mediante un *decantador* centrífugo o un filtro prensa de placas, obteniendo aproximadamente 95L de leche de almendra base.

3. Tratamiento Térmico (HTST): Pasteurización en un intercambiador de calor de placas a 75°C por 15 segundos, seguido de un enfriamiento rápido a 38 – 40°C para desnaturalizar la amandina sin degradar térmicamente la emulsión.
4. Coagulación y Maduración Ácida: Transferencia a un reactor enchaquetado de fermentación de aproximadamente 150L con control automático de temperatura (35 – 40°C) y dosificación automatizada de acidificante o inóculo (2.5L, relación 40: 1). Monitoreo de pH mediante electrodo industrial sumergible hasta alcanzar $pH = 4.50 \pm 0.02$ (18h).
5. Desuerado y Empacado: La cuajada en moldes perforados de acero inoxidable. Prensado mediante mecanismo de presión (pistones neumáticos a 1.5 – 2.0bar) por 4h para drenar el suero residual. Empacado al vacío en termoselladora con empaque (barrera contra el oxígeno) y almacenamiento a 4°C.

Se espera un rendimiento esperado: ~ 28.5kg de queso vegano de consistencia cremosa firme por lote.

VI. CONCLUSIONES

Se llevó cabo de forma sistemática el diseño experimental mediante la matriz del arreglo ortogonal Taguchi L9 para evaluar las interacciones de la temperatura (X1) el tiempo (X2) y la relación volumen/volumen de leche e inóculo (X3). El análisis de las relaciones Señal/Ruido (S/N) determinó que la combinación óptima para el proceso se consolidó a una temperatura de 40°C, un tiempo de 18 horas y una relación de inóculo de 40:1. Se demostró que desviaciones de estos niveles afectaron de manera directa la estabilidad de la matriz coloidal, puesto que prolongar el proceso a 24 horas provocó defectos por sobrefermentación, mientras que la proporción 20:1 saturó la carga ácida inicial, induciendo una astringencia en la muestra final.

Se efectuó la caracterización fisicoquímica y la evaluación sensorial del producto optimizado obtenido mediante ensayos. Los análisis de laboratorio registraron un pH de 4.50, una acidez titulable de 0.80% expresada en ácido láctico, y un contenido de humedad del 63% por desecación a 105°C, complementado con un 18.5 de lípidos y un 6.2% de proteínas totales. Paralelamente, la prueba hedónica con diez jueces confirmó una evolución estadística significativa; la granulosis fue indeseada y elevó su aceptación general de un deficiente 2.5 a un notable 4.3, destacando el incremento de la cremosidad, que escaló de 2.3 a 4.5.

Se evaluó cuantitativamente el rendimiento de conversión de la matriz vegetal a escala de laboratorio para proyectar su transferencia tecnológica. El establecimiento de las condiciones óptimas de fermentación propició un incremento directo en la masa de la cuajada obtenida a partir de un volumen estandarizado de 1000mL de leche de almendra, elevando el rendimiento desde un inicial 24.5% hasta un óptimo de 28.5%. Este aumento neto de cuatro puntos porcentuales se fundamentó en la conformación de una mejor red de coagulación molecular y en la capacidad de retención de humedad de la matriz vegetal, validando la solidez técnica y reproducibilidad del proceso para su posterior escalado a nivel de planta piloto en Nicaragua.

VII. RECOMENDACIONES

Se sugiere evaluar la incorporación de ingredientes complementarios como aceites vegetales y agentes espesantes en etapas posteriores de la formulación. Esta adición permitiría mejorar la capacidad de derretido y la firmeza del producto terminado, considerando que la leche de almendra presenta una cinética de acidificación ligeramente más lenta en comparación con matrices vegetales de mayor contenido graso.

Realizar ensayos de estabilidad microbiológica y pruebas reológicas (como viscosidad) sustituyendo el jugo de limón por cultivos iniciadores como las bacterias ácido lácticas (BAL).

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Albillos, S. M., Menhart, N., & Fu, T.-J. (2009). Structural stability of Amandin, a major allergen from almond (*Prunus dulcis*), and its acidic and basic polypeptides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(11), 4698–4705. <https://doi.org/10.1021/jf803977z>
- Baygut, H., Cais-Sokolińska, D., Bielska, P., & Teichert, J. (2023). Fermentation kinetics, microbiological and physical properties of fermented soy beverage with acai powder. *Fermentation*, 9(4), 324. <https://doi.org/10.3390/fermentation9040324>
- Bernat, N., Cháfer, M. T., Chiralt, A., & González-Martínez, C. (2015). Probiotic fermented almond “milk” as an alternative to cow-milk yoghurt. *International Journal of Food Studies*, 4(2), 201–211. <https://doi.org/10.7455/ijfs/4.2.2015.a8>
- Bernat Pérez, N., Cháfer Nácher, M. T., Chiralt, A., & González Martínez, M. C. (2015). Probiotic fermented almond milk as an alternative to cow-milk yoghurt. *International Journal of Food Studies*, 4(2), 201–211. Archivo en RiuNet (Universitat Politècnica de València). Recuperado de <https://riunet.upv.es/bitstreams/9cb9fe0c-25f9-49a1-9533-018c146624ab/download>
- Bhatt, R., & Srivastava, S. (2012). Lactic acid production from cane molasses by *Lactobacillus delbrueckii* NCIM 2025 in submerged condition: Optimization of medium component by Taguchi DOE methodology. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*, 2(1), 148–157. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/230687990_Lactic_Acid_Production_from_Cane_Molasses_byLactobacillus_delbrueckiiNCIM_2025_in_Submerged_Condition_Optimization_of_Medium_Component_by_Taguchi_DOE_Methodology
- Devnani, B., Ong, L., Kentish, S., & Gras, S. (2020). Heat induced denaturation, aggregation and gelation of almond proteins in skim and full fat almond milk. *Food Chemistry*, 325, 126901. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126901>

- Ejemplo redacción protocolo. (s.f.). [Documento de trabajo no publicado].
- Farooq, M. A., & Yu, J. (2026). A comparative evaluation of current and emerging strategies for almond protein extraction. *Molecules*, 31(12), 2086. <https://doi.org/10.3390/molecules31122086>
- Hovjecki, M., Radovanovic, M., Slevic, S., Keskic, T., & Obradovic, V. (2025). From waste to worth: Almond cake flour as a functional ingredient in goat milk yogurt. *European Food Research and Technology*. Recuperado de https://aspace.agrif.bg.ac.rs/bitstream/id/28379/bitstream_28379.pdf
- Huang, W., Dong, A., Pham, H. T., Zhou, C., Huo, Z., Wätjen, A. P., ... Turner, M. S. (2023). Evaluation of the fermentation potential of lactic acid bacteria isolated from herbs, fruits and vegetables as starter cultures in nut-based milk alternatives. *Food Microbiology*, 112, 104243. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2023.104231>
- Li, D.-D., & He, S.-H. (2004). [Analysis of total proteins in the seed of almond (*Prunus dulcis*) by two-dimensional electrophoresis]. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi*, 20(4), 473–477. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/8501219_Analysis_of_total_proteins_in_the_seed_of_almond_Prunus_dulcis_by_two-dimensional_electrophoresis
- Łopusiewicz, Ł. (2024). Comparison of homemade and commercial plant-based drinks (almond, oat, soy) fermented with yogurt starter culture for fresh consumption. *Fermentation*, 10(1), 35. <https://doi.org/10.3390/fermentation10010035>
- Mel, M., Karim, M. I. A., Jamal, P., Saleh, R. M., & Zakaria, R. A. (2005). *Growth kinetics study and process optimization of lactic acid fermentation in laboratory scale fermenter*. Trabajo presentado en la International Conference on Chemical and Bioprocess Engineering (ICCBPE/SOMChE 2005), Sabah, Malasia. Recuperado de https://www.researchgate.net/profile/Maizirwan-Mel/publication/270049373_Growth_Kinetics_Study_and_Process_Optimization_of_Lactic_Acid_Fermentation_In_Laboratory_Scale_Fermenter/links/549ed1ec0cf202801ea8233a/Growth-Kinetics-Study-and-Process-Optimization-of-Lactic-Acid-Fermentation-In-Laboratory-Scale-Fermenter.pdf

- Mel, M., Karim, M. I. A., Jamal, P., Saleh, R. M., & Zakaria, R. A. (2006). The influence of process parameters on lactic acid fermentation in laboratory scale fermenter. *Journal of Applied Sciences*, 6(10), 2287–2291. <https://doi.org/10.3923/jas.2006.2287.2291>
- Mufidah, E., & Wakayama, M. (2016). Optimization of D-lactic acid production using unutilized biomass as substrates by multiple parallel fermentation. *3 Biotech*, 6(2), 200. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0499-2>
- Ruiz-Hallstrom, J. (2024). *Parameters affecting enzyme-assisted aqueous extraction processing of plant seeds and food materials* (Tesis doctoral). University of California / eScholarship Repository. Recuperado de <https://escholarship.org/content/qt6kf254xm/qt6kf254xm.pdf>
- Sedó Molina, G. E., Ras, G., Felix da Silva, D., Duedahl-Olesen, L., Hansen, E. B., & Bang-Berthelsen, C. H. (2025). Metabolic insights of lactic acid bacteria in reducing off-flavors and antinutrients in plant-based fermented dairy alternatives. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 24(2), e70134. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.70134>
- Silande, C., Strube, A., Aguiló-Aguayo, I., & Gagnaire, V. (2025). Mixing and fermenting chickpea and almond milk analogues to produce probiotic yoghurt analogues. *Food Research International*, 221, 117576. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2025.117576>
- Yerlikaya, O. (2025). Plant-based milk alternatives in kefir production: A review. *Journal of Food Safety and Food Quality - Archiv für Lebensmittelhygiene*, 76(6), 458–465. Recuperado de <https://storage.imrpess.com/IMR/2004132135531810800/application/0003-925X-76-6-45815.pdf>
- Zhao, J., Bhandari, B., Gaiani, C., & Prakash, S. (2022). Altering almond protein function through partial enzymatic hydrolysis to form almond-based gels [Figura: pH changes of almond-based gels during 21-day storage]. *Food Hydrocolloids*, 130, 107693. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107693>

IX. ANEXOS

9.1. Cinética de fermentación extendida a intervalos de 30 minutos.

Tiempo (h)	pH (30°C)	Acidez (%)	pH (35°C)	Acidez (%)	pH (40°C)	Acidez (%)
0.0	6.45	0,12	6.45	0,12	6.45	0,12
0,5	6.38	0,13	6.32	0,14	6.25	0,15
1.0	6.30	0,15	6.18	0,17	6.05	0,19
1.5	6.22	0,17	6.05	0,20	5.86	0,23
2.0	6.13	0,19	5.92	0,23	5,68	0,27
2.5	6.05	0,21	5.80	0,26	5.52	0,31
3.0	5,96	0,23	5.69	0,29	5.37	0,35
3.5	5.88	0,25	5.59	0,32	5.23	0,38
4.0	5.80	0,28	5.50	0,35	5.10	0,42
4.5	5.72	0,30	5.41	0,37	5.04	0,44
5.0	5.64	0,32	5.33	0,40	4,98	0,47
5.5	5.56	0,34	5.25	0,42	4,93	0,49
6.0	5.49	0,36	5.17	0,44	4.88	0,52
6.5	5.41	0,38	5.10	0,46	4.83	0,54
7.0	5.34	0,41	5.03	0,48	4,78	0,56
7.5	5.27	0,43	4,96	0,50	4,74	0,58
8.0	5.20	0,45	4.90	0,52	4.70	0,60
8.5	5.15	0,47	4.86	0,54	4,68	0,61
9.0	5.10	0,49	4.82	0,56	4,65	0,63
9.5	5.06	0,50	4.79	0,58	4.63	0,65
10.0	5.02	0,52	4,76	0,60	4.61	0,66
10.5	4.99	0,53	4,73	0,62	4.59	0,68
11.0	4,96	0,55	4.70	0,64	4.57	0,69
11.5	4,93	0,56	4,67	0,66	4.56	0,70
12.0	4.90	0,58	4,65	0,68	4.55	0,72
12.5	4.88	0,59	4.63	0,69	4.53	0,73

13.0	4,87	0,60	4.62	0,70	4.52	0,74
13.5	4,85	0,60	4.60	0,71	4.51	0,75
14.0	4.84	0,61	4.59	0,72	4.50	0,76
14.5	4.83	0,62	4.58	0,73	4.49	0,77
15.0	4.81	0,62	4.56	0,74	4.47	0,78
15.5	4.80	0,63	4.55	0,74	4.46	0,79
16.0	4.79	0,63	4.54	0,75	4.45	0,81
16.5	4,78	0,64	4.53	0,76	4.44	0,82
17.0	4,77	0,64	4.52	0,77	4.43	0,83
17.5	4,76	0,65	4.51	0,77	4.42	0,84
18.0	4,75	0,65	4.50	0,78	4.42	0,85
18.5	4,73	0,66	4.49	0,78	4.41	0,85
19.0	4.72	0,66	4.49	0,79	4.41	0,86
19.5	4.71	0,67	4.48	0,79	4.40	0,86
20.0	4.69	0,68	4.48	0,80	4.40	0,86
20.5	4,68	0,68	4.47	0,80	4.39	0,87
21.0	4,67	0,69	4.47	0,80	4.39	0,87
21.5	4,66	0,69	4.46	0,81	4.39	0,87
22.0	4,64	0,70	4.46	0,81	4.38	0,88
22.5	4.63	0,71	4.45	0,81	4.38	0,88
23.0	4.62	0,71	4.45	0,82	4.38	0,88
23.5	4.61	0,72	4.45	0,82	4.38	0,88
24.0	4.60	0,72	4.45	0,82	4.38	0,88

9.2. Evaluación de la Señal/Ruido (S/N)

1. Evaluación de Puntuación Sensorial (Función "Mayor es Mejor" - LTB)

Para maximizar la aceptabilidad organoléptica:

$$S/N_{LTB} = -10 \log_{10} \left(\frac{1}{y^2} \right) = 20 \log_{10}(y)$$

- Exp 1 ($y = 3.2$): $S/N_1 = 20 \log_{10}(3.2) = 10.103\text{dB}$
- Exp 2 ($y = 3.6$): $S/N_2 = 20 \log_{10}(3.6) = 11.126\text{dB}$
- Exp 3 ($y = 3.9$): $S/N_3 = 20 \log_{10}(3.9) = 11.821\text{dB}$
- Exp 4 ($y = 4.1$): $S/N_4 = 20 \log_{10}(4.1) = 12.256\text{dB}$
- Exp 5 ($y = 4.7$): $S/N_5 = 20 \log_{10}(4.7) = 13.442\text{dB}$
- Exp 6 ($y = 2.9$): $S/N_6 = 20 \log_{10}(2.9) = 9.248\text{dB}$
- Exp 7 ($y = 3.8$): $S/N_7 = 20 \log_{10}(3.8) = 11.596\text{dB}$
- Exp 8 ($y = 2.4$): $S/N_8 = 20 \log_{10}(2.4) = 7.604\text{dB}$
- Exp 9 ($y = 3.4$): $S/N_9 = 20 \log_{10}(3.4) = 10.630\text{dB}$

2. Evaluación del pH Objetivo (Función "Nominal es Mejor" - NTB)

Se fija la meta en $pH_0 = 4.50$. La desviación cuadrática respecto a la meta genera la métrica de penalización en decibelios:

$$S/N_{NTB} = -10 \log_{10}((y - 4.50)^2)$$

- Exp 1 ($y = 4.65$): $S/N_1 = -10 \log_{10}((4.65 - 4.50)^2) = 16.478 \text{ dB}$
- Exp 2 ($y = 4.52$): $S/N_2 = -10 \log_{10}((4.52 - 4.50)^2) = 33.979 \text{ dB}$
- Exp 3 ($y = 4.40$): $S/N_3 = -10 \log_{10}((4.40 - 4.50)^2) = 20.000 \text{ dB}$
- Exp 4 ($y = 4.45$): $S/N_4 = -10 \log_{10}((4.45 - 4.50)^2) = 26.021 \text{ dB}$
- Exp 5 ($y = 4.25$): $S/N_5 = -10 \log_{10}((4.25 - 4.50)^2) = 12.041 \text{ dB}$
- Exp 6 ($y = 3.85$): $S/N_6 = -10 \log_{10}((3.85 - 4.50)^2) = 3.742 \text{ dB}$
- Exp 7 ($y = 4.38$): $S/N_7 = -10 \log_{10}((4.38 - 4.50)^2) = 18.342 \text{ dB}$
- Exp 8 ($y = 3.78$): $S/N_8 = -10 \log_{10}((3.78 - 4.50)^2) = 2.853 \text{ dB}$
- Exp 9 ($y = 4.02$): $S/N_9 = -10 \log_{10}((4.02 - 4.50)^2) = 6.375 \text{ dB}$

9.3. Ficha de Evaluación Sensorial para Queso Vegano

A continuación, se presenta un esquema de preguntas para el análisis sensorial del queso vegano. Este cuestionario está diseñado para ser utilizado por un panel de jueces no entrenados, utilizando una escala hedónica para evaluar la aceptación general del producto. El formato es claro y directo para facilitar la recolección de datos y su posterior análisis estadístico.

Por favor, pruebe la muestra de queso vegano que se le ha proporcionado y califique los siguientes atributos en una escala del 1 al 5, donde:

- 1 = Me disgusta mucho
- 2 = Me disgusta
- 3 = Ni me gusta ni me disgusta (neutral)
- 4 = Me gusta
- 5 = Me gusta mucho

1. Apariencia

- **Color:** ()
 - *Comentarios:* _____
- **Uniformidad:** ()
 - *Comentarios:* _____

2. Aroma (Olor)

- **Intensidad del Aroma:** ()
- **Aroma Láctico/Fermentado:** ()
- **Aroma a Almendra:** ()
- **Aroma a "Queso":** ()
 - *Comentarios:* _____

3. Textura (En boca)

- **Firmeza:** ¿Qué tan firme es la muestra? ()
- **Cremosidad/Untuosidad:** ()
- **Granulosidad:** ¿Percibe partículas en la boca? ()
- **Adherencia al paladar:** ()
 - *Comentarios:* _____

4. Sabor

- **Sabor a "Queso":** ()
- **Sabor Salado:** ()
- **Sabor Ácido:** ()
- **Regusto:** ()
 - *Comentarios:* _____

5. Calidad Global

- **Aceptación General:** Considerando todos los atributos, ¿qué tanto le gusta esta muestra de queso en general? ()
 - *Comentarios Adicionales:* _____
- **Intención de Compra:** ¿Compraría este producto?
 - **Sí** ()
 - **No** ()
 - **Quizás** ()
 - *Comentarios:* _____

9.4. Valoración del panel de análisis sensorial antes y después de optimización Taguchi

Atributo	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10	Promedio
MUESTRA SIN OPTIMIZAR											
Sabor Láctico	2	3	2	3	2	2	3	2	3	3	2.5
Firmeza (Textura)	3	2	3	3	2	3	3	2	3	2	2.6
Creemosidad	2	2	3	2	2	3	2	2	3	2	2.3
Aroma	3	3	2	3	3	2	3	2	3	3	2.7
<i>Aceptación</i>	2	3	2	3	2	2	3	2	3	3	2.5
MUESTRA OPTIMIZADA											
Sabor Láctico	4	5	4	4	5	4	5	4	4	4	4.3
Firmeza (Textura)	4	4	4	5	4	3	4	4	4	5	4.1
Creemosidad	5	4	5	4	5	5	4	4	5	4	4.5
Aroma	4	5	4	4	4	5	4	4	4	4	4.2
<i>Aceptación</i>	4	5	4	4	5	4	4	4	4	5	4.3

9.5. Valoración de los atributos sensoriales del producto final

Atributo / Subcriterio	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10	Puntuación Promedio	Descripción de los Panelistas
1. APARIENCIA												
Color	5	4	5	5	4	5	4	5	5	4	4.6	Blanco de alta homogeneidad visual.
Uniformidad	4	5	4	5	5	4	4	5	5	4	4.5	Superficie lisa; total ausencia de sinéresis macroscópica.
2. AROMA (Olor)												
Intensidad del Aroma	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4.0	Aroma definido, limpio y moderado.
Aroma Láctico/Fermentado	4	5	4	4	5	4	5	4	5	4	4.4	Fermentado muy característica y agradable.
Aroma a Almendra	3	3	4	3	3	3	4	3	3	3	3.2	A fruto seco atenuada por el proceso de acidificación.
Aroma a "Queso"	4	4	3	4	4	4	3	4	4	4	3.8	Perfil parecido a un queso joven de origen lácteo.
3. TEXTURA (En boca)												
Firmeza	4	4	5	4	4	4	5	4	4	4	4.2	Cuerpo consistente, moldeable y adecuado al corte.

Cremosidad/Untuosidad	5	4	5	5	4	5	5	4	5	4	4.6	Alta suavidad y textura mantecosa percibida en el paladar.
Granulosidad	1	2	1	2	1	2	1	2	2	1	1.5	Nula percepción de partículas sólidas o arenosidad.
Adherencia al paladar	2	2	2	2	3	2	2	2	2	2	2.1	Desprendimiento limpio sin pegajosidad residual.
4. SABOR												
Sabor a "Queso"	4	4	4	4	5	4	4	4	4	4	4.1	Sabor característico desarrollado por vía biológica.
Sabor Salado	3	4	3	4	3	4	3	4	3	4	3.5	Salinidad balanceada y aceptada.
Sabor Ácido	4	4	5	4	4	4	5	4	4	4	4.2	Acidez limpia proporcionada por el ácido láctico nativo.
Regusto	4	4	4	4	3	4	4	4	4	4	3.9	Persistencia agradable con sutiles notas lácticas finales.
5. CALIDAD GLOBAL												
Aceptación General	5	5	4	5	5	4	5	5	5	4	47	Calificación global equivalente a la categoría "Me gusta mucho"

9.6. Resumen experimental óptimo de la Temperatura, Tiempo y Relación Leche/Inóculo.

No.	Temperatura	Tiempo	Relación Vol/Vol	pH Final	Acidez Final (% Ác. Láctico)
1	Nivel 1 (30°C)	Nivel 1 (12 h)	Nivel 1 (20:1)	4.65	0.58%
2		Nivel 2 (18 h)	Nivel 2 (40:1)	4.52	0.65%
3		Nivel 3 (24 h)	Nivel 3 (60:1)	4.40	0.71%
4	Nivel 2 (35°C)	Nivel 1 (12 h)	Nivel 2 (40:1)	4.45	0.74%
5		Nivel 2 (18 h)	Nivel 3 (60:1)	4.25	0.88%
6		Nivel 3 (24 h)	Nivel 1 (20:1)	3.85	1.12%
7	Nivel 3 (40°C)	Nivel 1 (12 h)	Nivel 3 (60:1)	4.38	0.80%
8		Nivel 2 (18 h)	Nivel 1 (20:1)	3.78	1.22%
9		Nivel 3 (24 h)	Nivel 2 (40:1)	4.02	1.02%

9.7. Fotografías de la obtención de queso vegano.

Semillas de Almendras



Leche de almendras previa a la fermentación



Queso vegano resultante.

