

*UNIVERSIDAD "DR. JOSÉ MATÍAS DELGADO"
FACULTAD DE AGRICULTURA E INVESTIGACIÓN
AGRÍCOLA "JULIA HILL DE O'SULLIVAN"
INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL.*



TESIS:

***“UTILIZACIÓN DE BACTERIAS ACIDÓFILOS
COMO SUSTITUTO ENZIMÁTICO PARA
ELABORAR QUESOS DE PASTA FRESCA Y
BLANDA CON CARACTERÍSTICAS
FUNCIONALES”.***

ASESOR:

ING. JORGE EDMUNDO LÓPEZ PADILLA.

PRESENTADO POR:

ALEJANDRO ANTONIO BONILLA LEMUS

***PARA OPTAR AL GRADO DE INGIENERÍA
AGROINDISTRIAL***

Antiguo Cuscatlán, 2008.

INDICE

<u>CONTENIDO</u>	<u>PÁGINA</u>
<i>Resumen</i>	<i>i</i>
<i>I. Introducción</i>	<i>ii</i>
<i>II. Generalidades de la Investigación</i>	<i>1</i>
2.1. <i>Planteamiento de la investigación</i>	<i>1</i>
2.2. <i>Delimitación de la investigación</i>	<i>2</i>
2.3. <i>Justificación e importancia</i>	<i>3</i>
2.4. <i>Objetivos de la investigación</i> .	
2.4.1. <i>Objetivo general</i>	<i>5</i>
2.4.2. <i>Objetivo específico</i>	<i>5</i>
<i>III. Revisión de Literatura</i>	<i>6</i>
3.1. <i>Antecedentes</i>	<i>6</i>
3.2. <i>Historia de la leche y sus derivados</i>	<i>9</i>
3.3. <i>Historia de los quesos</i>	<i>11</i>
3.4. <i>Definición de quesos</i>	<i>13</i>
3.5. <i>Varietades de los quesos</i>	<i>15</i>
3.5.1. <i>Clasificación de los quesos</i>	<i>16</i>
3.5.2. <i>Quesos con desarrollo bacteriano en la corteza</i>	<i>21</i>
3.6. <i>Composición del valor nutritivo de quesos</i>	<i>22</i>
3.7. <i>Enzimas coagulantes</i>	<i>24</i>
3.7.1. <i>Renina</i>	<i>25</i>
3.8. <i>Bacterias lácticas</i>	<i>26</i>
3.8.1. <i>Clasificación de bacterias lácticas</i>	<i>27</i>
3.8.2. <i>Las bacterias del ácido láctico</i>	<i>29</i>
3.8.3. <i>Importancia del ácido láctico</i>	<i>31</i>
3.9. <i>Importancia de las bifidobacterias</i>	<i>33</i>
3.9.1. <i>Acidófilos</i>	<i>34</i>
3.10. <i>Alimentos funcionales</i>	<i>35</i>

IV. Metodología de la Investigación.....	37
4.1. Metodología a desarrollar.....	37
4.2. Muestreo.....	38
4.3. Materiales y equipos.....	40
4.4. Proceso experimental.....	41
4.4.1. Técnica combinada de elaboración.....	42
4.4.2. Desarrollo de queso con propiedades funcionales...	43
4.5. Análisis estadístico.....	47
4.6. Análisis microbiológico.....	49
4.7. Análisis bromatológicos.....	52
4.8. Análisis de costo.....	53
V. Discusión de Resultados.....	54
5.1. Análisis estadístico de resultados por característica organoléptica.....	56
5.2. Resultados con SPSS.....	56
5.3. Análisis bromatológico.....	67
5.4. Análisis microbiológico.....	81
VI. Conclusiones.....	86
VII. Recomendaciones.....	89
VIII. Fuentes consultadas.....	91

Glosario

Anexo

ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1. Clasificación de los quesos según su contenido en humedad (%).....</i>	<i>18</i>
<i>Tabla 2. Clasificación de los quesos según su contenido en % de grasa sobre extracto seco (FAO).....</i>	<i>20</i>
<i>Tabla 3. Composición química de los diferentes quesos, expresados por cada 100 gramos.....</i>	<i>23</i>
<i>Tabla 4. Origen de coagulante de uso quesero.....</i>	<i>24</i>
<i>Tabla 5. Resultados físico-químicos de leche entera sin pasteurizar y leche pasteurizada comercialmente.....</i>	<i>39</i>
<i>Tabla 6. Fórmulas para la producción de queso.....</i>	<i>43</i>
<i>Tabla 7. Evaluación de costos de elaboración de queso fresco y pasta blanda.....</i>	<i>53</i>
<i>Tabla 8. Medias para queso con ácido láctico.....</i>	<i>55</i>
<i>Tabla 9. Medias para queso con ácido cítrico.....</i>	<i>55</i>
<i>Tabla 10. Valor –P de comparación de resultados.....</i>	<i>62</i>
<i>Tabla 11. Tabulación de resultados de la prueba de triángulo.</i>	<i>63</i>
<i>Tabla 12. Análisis bacteriológico de quesos con bacterias y sin bacterias.....</i>	<i>82</i>
<i>Tabla 13. Identificación de bacterias acidófilas en queso fresco y yogurt natural.....</i>	<i>84</i>

ÍNDICE DE GRÁFICOS

<i>Grafica N° 1. Prueba de Triangulo.....</i>	<i>66</i>
<i>Grafico N° 2. Gráfica de Proteína.....</i>	<i>67</i>
<i>Grafico N° 3. Gráfico de Grasa.....</i>	<i>68</i>
<i>Grafico N° 4. Gráfico de humedad.....</i>	<i>69</i>
<i>Grafico N° 5. Gráfico de pH.....</i>	<i>71</i>
<i>Grafico N° 6. Gráfico de Acidez Titulable.....</i>	<i>72</i>
<i>Grafico N° 7. Gráfico de Sólidos Totales.....</i>	<i>74</i>
<i>Grafico N° 8. Gráfico de Calcio.....</i>	<i>76</i>
<i>Grafico N° 9. Gráfico de Fósforo.....</i>	<i>78</i>
<i>Grafico N° 10. Gráfico de Ceniza.....</i>	<i>79</i>
<i>Grafico N° 11. Recuento de Coliformes totales en quesos con y sin bacterias.....</i>	<i>83</i>

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N° 1. Flujograma de proceso.

Anexo N° 2. Cartilla de evaluación sensorial.

Anexo N° 3. Tabla de distribución “t” de Student.

Anexo N° 4. Tabla prueba triángulo para significancia.

Anexo N° 5. Análisis bromatológicos.

Anexo N° 6. Norma salvadoreña NSO 67.01.04:05.

Anexo N° 7. Análisis microbiológico.

Anexo N° 8. Análisis de identificación de bacterias acidófilos.

AGRADECIMIENTOS

Quiero hacer constar mis más sinceros agradecimientos a las autoridades docentes y personas de la Facultad de Agricultura e Investigación Agrícola de la Universidad Dr. José Matías Delgado, por enseñarme y transmitir sus conocimientos y por el apoyo brindado para la realización de nuestros estudios.

A mis padres, por su apoyo incondicional desde el inicio de mi carrera hasta el final. Agradezco todo su apoyo moral, sincero, espiritual y sobre todo económico para el bien de mi futuro.

A mis abuelos Paternos Adán Bonilla y Lucila Henríquez por apoyarme en todo momento para seguir con mis estudios.

A mis abuelos Maternos Cupertino Lemus y Hortensia Martines por apoyarme en todo momento para seguir con mis estudios.

A mis padrinos por brindarme su apoyo incondicional para seguir adelante con mis estudios y a motivarme cuando lo necesitaba.

A mi hermana Verónica Bonilla, por animarme en todo momento para seguir estudiando, en los momentos en que necesitaba motivación para seguir con mis estudios.

A mi tía Margo Martines por su apoyo incondicional durante toda mi carrera.

A mi tío Edgardo Bonilla y familia por su apoyo incondicional durante toda mi carrera.

A mi compañero Vladimir Ramírez, Don Jaime Ramírez y familia por brindarme su apoyo durante mi carrera.

A Melida y Alexis, por su apoyo y comprensión durante la fase de trabajo de tesis.

A mis profesores mi Padre Lic. Guillermo Antonio Bonilla por haber compartido sus conocimientos conmigo, y sus colegas Ing. Edgardo Díaz Peñate, Ing. Walter Otto, Licda. Cristabel Cruz Muños.

A las secretarias de la Facultad por brindarnos los servicios y la atención prestada en el periodo mi de la carrera.

A mis compañeros: por todo el tiempo que compartimos juntos en las aulas de clases, biblioteca, estudiando, haciendo trabajos de investigaciones, compartiendo ideas en las salidas de campo, organizando tareas y todas las actividades necesarias para cumplir nuestras obligaciones como estudiantes.

A mis amigos de infancia y de juventud que de una u otra forma expresaron su apoyo para que lograra mi meta.

Y sobre todo a Dios todo poderoso, por el don dela vida y por darme la oportunidad de completar la carrera profesional que me había propuesto.

Alejandro Antonio Bonilla Lemus.

DEDICATORIA

Dedico mi esfuerzo académico a Dios Todopoderoso por darme la fuerza y sabiduría por guiarme en cada tramo de mi camino para lograr mis ideales y ser una persona de bien para la sociedad.

A mis padres por su apoyo económico y moral, y por confiar en mi y acompañarme durante todo el camino de mi carrera.

A mi hermana y abuelos por su motivación, apoyo y optimismo.

A mis familiares y amigos, quienes de una u otra forma me apoyaron y contribuyeron para que lograra alcanzar mi meta universitaria.

Alejandro Antonio Bonilla Lemus.

Agradecimiento

A Dios todo poderoso por estar conmigo siempre.

Mis padres: Maria Magdalena de Bonilla y Lic. Guillermo Antonio Bonilla

La Lic. Maria Georgia Gómez de Reyes. Decana de la Facultad de Agricultura.

El Ing. Jorge Edmundo López. Asesor de mi Tesis.

La Inga. Fahara Alabi Hernández. Jurado de tesis

El Dor. Rodrigo Antonio Reyes. Jurado de tesis

El Ing. Juan Manuel Pérez. Jurado de tesis.

Alejandro Antonio Bonilla Lemus.

UNIVERSIDAD “DR. JOSE MATIAS DELGADO”

*DR. DAVID ESCOBAR GALINDO
RECTOR*

*DR. CARLOS QUINTANILLA SCHMIDT
VICERRECTOR*

*DR. FERNANDO BASILIO CASTELLANOS
VICE RECTOR ACADÉMICO*

*LIC. MARIA GEORGIA GÓMEZ DE REYES
DECANA*

*FACULTAD DE AGRICULTURA E INVESTIGACIÓN AGRÍCOLA
“JULIA HILL DE O`SULIVAN”*

Asesor de mi Tesis.

Ing. Jorge Edmundo López.

Jurados.

Inga. Fahara Alabi Hernández.

Dr. Rodrigo Antonio Reyes.

Ing. Juan Manuel Pérez.

RESUMEN

*Esta investigación tuvo como objetivo estudiar la interacción mediante la utilización de bacterias acidófilas como sustituto enzimático, para elaborar quesos de pasta fresca y blanda con características funcionales, para ello fue necesario utilizar leches frescas pasteurizadas ya que estos son medios estériles que propician interacciones bacterianas que son capaces de inhibir la acción de otras no benéficas. El cultivo probiótico utilizado fue con bacterias propias de un yogurt natural, como son *Lactobacillus bulgaris* y *Streptococcus thermophilus*. Se utilizó ácido láctico a una cantidad no mayor de 12 g. para 3750 ml., a una concentración de 85% y a un pH=5.00. Del proceso térmico el que mejor se adapta al proceso es a 80 a 60°C., ya que la velocidad de calentamiento afecta a la velocidad de síntesis de la sinéresis del suero y al crecimiento de los microorganismos de arranque. Con respecto al análisis estadístico se acepta la Hipótesis nula (H_0) de Igualdad de medias en los atributos de textura, olor, color, apariencia y aceptación, esto indica que hay evidencias estadísticas de que ambas muestras A y B son de igual calidad organoléptica en términos promedios generales, aunque la muestra A es ligeramente más aceptada por tener un mayor valor promedio; es decir, las diferencias entre ambas son mínimas. En cuanto a los análisis bromatológicos de los quesos elaborados con bacterias y sin bacterias en períodos de 0 a 15 días, con muestreos cada 5 días para analizar la evolución de los estados de éstos, se estableció que el queso con bacterias mejora la calidad nutricional en todos los factores medidos (% proteína, grasa, humedad, ceniza, acidez y sólidos totales; así como calcio y fósforo) por lo que el queso con bacterias supera todas las exigencias de la Norma Salvadoreña NSO 67.01.04:05. Por consiguiente el tipo de ácido láctico producido en la fermentación durante la elaboración del queso con estas bacterias tienen y mantienen latentes las bacterias *Streptococcus thermophilus* de importancia funcional, ya que esta especie es capaz de sintetizar el isómero L(+) en un 100% y que este se le atribuyen las propiedades de disminuir el crecimiento de tumores malignos. Por tal beneficio el queso elaborado en esta investigación ofrece un alimento nutritivo y funcional.*

INTRODUCCIÓN

La obtención de alimentos a partir de plantas, animales o microorganismos se ha llevado a cabo de manera espontánea mediante procesos que podrían denominarse de biotecnología tradicional; que se puede definir como una técnica que utiliza células vivas, cultivo de tejidos o moléculas derivadas de un organismo como las enzimas para obtener y modificar un producto, mejorar una planta, animal o desarrollar un microorganismo para utilizarlo con un propósito específico. En los últimos años ha surgido un notable mercado aunque segmentado, de alimentos que se consumen con fines específicos como: productos saludables, nutracéuticos o funcionales que cumplen necesidades nutricionales muy particulares. Por otra parte, existe el problema de la alimentación y desnutrición. Una de las causas principales de la mal nutrición en nuestro país es la baja producción y la disponibilidad de alimentos proteico, sumados al hecho que la dieta del sector popular se basa principalmente en ser calórico-energético y deficiente en proteína. Dada que la desnutrición calórico-proteica es frecuente en nuestra población, siendo muy marcada en la edad escolar y pre-escolar, con el reemplazo de la leche materna por féculas o cualquier otro alimento rico en carbohidratos: resulta muy necesario ofrecer alimentos balanceado calórico-proteico, de buena digestibilidad y que a su vez esté al alcance de las grandes mayorías.

Es posible desarrollar nuevos alimentos que eliminen problemas de intolerancia causados por algunos alimentos tradicionales. Esto se puede realizar bloqueando los compuestos que causa la intolerancia,

eliminándolos o sustituyéndolos por otros. Por ejemplo, mediante el uso de microorganismos y enzimas específicas que puedan hidrolizar compuestos en los alimentos como es el caso de la lactosa de la leche. Por lo que recientemente se han empezado a comercializar leches y productos derivados de la leche que les incorporan nutrientes específicos (enriquecidos) de potencial interés para la salud. En este sentido, esta investigación propone evaluar la utilización de bacterias bífidas y acidófilas como sustituto enzimático para elaborar quesos de pasta fresca y blanda con características específicas (funcionales) y que a su vez tenga la capacidad de coagular las proteínas (caseína) de la leche, mediante su desnaturalización hasta producir el paracaseinato de calcio, sin necesidad de utilizar cuajos enzimáticos tradicionales y que a su vez destaque sus propiedades nutritivas, proporcionando ciertos elementos, cuyo consumo dentro de una dieta contribuya a mantener o mejorar el estado de salud y bienestar en los consumidores. Se tomó en cuenta el queso fresco como un alimento que gusta mucho en la población salvadoreña y que se consume habitualmente por ser un producto accesible, el cual queda en duda la calidad nutritiva y su inocuidad por la forma en que éste se elabora en el ámbito nacional (artesanalmente) sin haber ninguna inspección. Para la elaboración de este tipo de queso fue necesario realizar una evaluación de las materias primas que sirvieron para dicho fin.

La leche que se utilizó fue leche pasteurizada comerciales. Además se realizaron análisis microbiológicos, bromatológicos y físico-químicos y la comprobación de la interacción de bacterias lácteas del producto terminado. El análisis sensorialmente sirvió para determinar preferencias

por los consumidores, el microbiológico para evaluar la inocuidad y el bromatológico el valor nutricional de los quesos evaluados tanto para el queso con bacterias y el queso sin bacterias.

II.- GENERALIDADES DE LA INVESTIGACIÓN.

2.1. Planteamiento del problema.

El queso es un alimento derivado de la leche de alto consumo, que se produce en casi todas las regiones del globo, a partir de diversas especies de mamíferos. Además, los quesos se encuentran entre los mejores alimentos del hombre.

Las formas de preparación diversifican los quesos por la influencia que tienen sobre su estructura. Las características de cada tipo de queso no se determinan por un pequeño número de factores, por el contrario, son el resultado de numerosos factores interdependientes como: la leche, factores microbiológicos, bioquímicos, fisicoquímicos y mecánicos.

Por todo ello, esta investigación desarrolla una nueva tecnología de fabricación de quesos de pasta fresca y blanda, con la diferencia que éste queso no fue sometido a un proceso de cuajado por enzimas, como tradicionalmente se realiza en algunas regiones. La investigación fue orientada al uso de bacterias acidófilas como un sustituto de enzimas para coagular las proteínas de la leche (caseína) mediante un proceso de coagulación de dichas bacterias formadoras de ácido láctico (acidificación de la lactosa de leche). Se sabe que en la industria quesera la lactosa al fermentar produce energía y que ésta es aprovechada por bacterias desarrollando así: ácido láctico que ayudan a precipitar la caseína de la leche al cambiar su acidez. Se plantea; que al coagular la leche (obtención de cuajada) resulte una precipitación de las proteínas, mediante un descenso del pH debido a la presencia de ácido láctico.

Se evaluó si el queso de pasta fresca y blanda tuviese características funcionales con la presencia de bacterias bífidas o acidófilos, ofreciendo al consumidor una alternativa de alimento probiótico. Debido a que tanto los lactóbacilos y las bacterias acidófilos mantienen un balance sano de la flora intestinal al producir compuestos orgánicos (ácido láctico, agua oxigenada y ácido acético); que aumentan la acidez intestinal e inhiben el desarrollo de muchas bacterias nocivas, es así que tenemos estos alimentos probióticos o funcionales para su consumo que producen en el organismo sustancias llamadas bacteriocinas; que funcionan como antibióticos naturales, matando a los microorganismos no deseados.

Por lo que se planteó la siguiente incógnita:

¿Será posible que mediante el uso de bacterias bífidas o acidófilos se puedan sustituir los cuajos enzimáticos tradicionales. Y que éstas bacterias efectúen un proceso lácteo correcto después de la coagulación de las proteínas de la leche y de ésta forma mejorar quesos de pasta fresca y blanda que ofrezcan al consumidor un alimento con características funcionales?

2.2. Delimitación de la investigación.

Esta investigación se delimitó en el uso de bacterias del tipo bífidas y acidófilos, capaces de coagular las proteínas de la leche, sustituyendo las enzimas (cuajo) naturales que se utilizan para este fin. Estas bacterias

son de cultivos iniciadores encontrados en el yogurt natural de venta en los supermercados.

Para dicha investigación fue necesario utilizar leches pasteurizadas; por lo que se efectuó una selección de leche fresca que cumpliera con la inocuidad. Las pruebas de elaboración se efectuaron en el Laboratorio de fisicoquímica de la Facultad de Agricultura e Investigación Agrícola, de la Universidad “Dr. José Matías Delgado”, ubicado en Antiguo Cuscatlán. Del producto elaborado, se efectuaron evaluaciones sensoriales, con 15 panelistas no entrenados de las carreras de Ingeniería Agroindustrial e Ingeniería en Alimentos. Posteriormente, se efectuaron análisis Bromatológicos en: % de proteína, % de grasa, sólidos totales, cenizas, calcio, fósforo, % de humedad, % de acidez y pH. Éstos se efectuaron en el Laboratorio de Química de la Facultad de Agronomía de la Universidad de El Salvador (UES). También se efectuaron análisis microbiológico como: Staphylococcus aureus, Coliformes Totales, Escherichia coli y Salmonella spp. Éstas se realizaron en el Laboratorio de Microbiología Cruz Muñoz, ubicado en Colonia Médica, Diagonal Dr. Víctor Manuel Posada, N° 1317.

2.3. Justificación e importancia.

La dieta alimenticia en nuestras vidas deja mucho que desear ya que por un lado la industrialización y el proceso a que son sometidos los alimentos, traen al mercado productos altamente refinados, con la consecuencia de la pérdida de su poder nutritivo. Por lo que el mercado

está inundado de alimentos sintéticos, cuyo sabor y apariencia son muy atractivos y su costo está al alcance de muchos, pero su valor nutritivo es nulo. De esta forma el hábito alimenticio de las poblaciones infantiles, juveniles y en mayor grado en las zonas marginales dejan mucho que desear. En las primeras dos poblaciones ha tomado importancia el consumo de golosinas, snack y gaseosas, que se convirtieron en una alternativa de lo que debe ser su verdadera dieta y en la tercera población su situación es más agravante. Dietas que deberían ser ricas en alimentos esenciales y necesarios para un adecuado desarrollo físico y mental. Las consecuencias de este desequilibrio nutricional son catastróficas por lo que la mayoría de las enfermedades en los adultos se debe a los malos hábitos alimenticios adquiridos desde la infancia y llevados así durante décadas. Entre éstos se observa un déficit crónico de componentes fundamentales en la dieta alimenticia, como son las proteínas, vitaminas y minerales entre otros. Así, tenemos que en los últimos años se ha observado en los países industrializados un fenómeno de concientización sobre éstos problemas, cada vez se oye con más fuerza a volver la vista a los productos naturales, tales como cereales enteros, frutas y verduras, leches con cultivos y sus derivados.

En el campo de los derivados lácteos, después de varios años de investigación, han salido al mercado los que se llaman los “Cultivos Biológicos”, los cuales se diferencian de los tradicionales en que sobreviven al paso del estómago al intestino y una vez allí son asimilados por el organismo; que además de su alto valor nutritivo poseen un importante carácter terapéutico. Estos cultivos pueden estar compuestos

por bacterias, Acidófilos y Bifidobacterias. Queda demostrado que la ingesta de estas bacterias ayudan a: suprimir las bacterias patógenas que se encuentran en el intestino, producen vitaminas, estimulan la digestión, absorción y aumentando las defensas del cuerpo.

En esta investigación se estudió la importancia del tipo de bacterias lácticas que son utilizadas para transformar la leche y elaborar productos derivados de ésta como es: el queso de pasta fresca y blanda, convirtiéndolo así en una alternativa a los consumidores al adquirir alimentos nutritivos con propiedades beneficiosas, así como también a las industrias del país para que sean ellas las que promuevan y desarrollen este tipo de tecnologías y a la vez se impulse en el campo de la biotecnología en bienestar de la salud de los consumidores.

2.4. Objetivos de la investigación.

2.4.1. Objetivo General:

Se evaluó la acción de bacterias anaeróbicas llamadas acidófilos o Bifidobacterium que contribuyan a mejorar las características de coagulación y nutritivas de un queso fresco de pasta blanda con características funcionales.

2.4.2. Objetivos Específicos:

Utilización de cultivos (inóculos) de bacterias Lactobacillus bulgaricus y Streptococos thermophillus, en la producción de queso fresco de pasta blanda.

- *Evaluación del queso elaborado mediante Análisis Sensoriales, Bromatológicos y Microbiológicos.*
- *Determinación de la presencia de Streptococos thermophilus en el queso elaborado como productor de ácido láctico L(+).*

III. REVISIÓN DE LITERATURA.

3.1. Antecedentes.

Las características nutricionales de la leche son un alimento completo para la dieta de los seres humanos, también hacen un medio de cultivo ideal para el crecimiento de una gran variedad de microorganismos y se aprovecha la actividad de las bacterias para la elaboración de productos lácteos y para la conservación de la leche, dando como resultado el metabolismo fermentativo de la lactosa y la consecuente producción de ácido láctico. Una gran variedad de ellos han sido elaborados bajo la actividad en diversas especies bacterianas y fúngicas.

En general, se puede resumir la importancia del estudio microbiológico de la leche basado en estos tres aspectos:

- *Los microorganismos producen cambios deseables en las características fisicoquímicas de la leche durante la elaboración de diversos productos lácteos.*
- *Los productos lácteos y la leche pueden contaminarse con microorganismos patógenos (toxinas) provocando enfermedades en el consumidor.*

- *Los microorganismos pueden causar alteraciones en la leche y en productos lácteos, haciéndolos inadecuados para el consumo.*

En la leche cruda pueden encontrarse microorganismos de los diferentes grupos: bacterias, hongos (mohos y levaduras) y virus. (Doschivos).

Blanco (2006), menciona que en la última década del siglo XX comenzaron a desarrollarse nuevos conceptos en la nutrición a raíz de la atención que se ha dado a la calidad de los alimentos y para los nuevos estilos de vida. La interrelación de disciplinas, ha motivado a las industrias alimentarias al desarrollo de estudios e investigaciones que han conducido a la fabricación de nuevos productos con funciones adicionales a las del alimento original. Como producto de esos estudios han surgido los denominados prebióticos y probiótico; la combinación de ambos como simbióticos, como aportes para la mejora de la salud del colon y el organismo. (Blanco, 2006)

La FAO (Organización de las Naciones Unidas de la Alimentación para la Agricultura) los definió recientemente en octubre del 2001: “Microorganismos vivos, que al ser administrados en dosis adecuadas, confieren un beneficio de salud al receptor”. Y en tales casos la ingesta de los llamados productos probióticos una vez que colonizan el intestino, estimulan la acción bacteriana o simbiótico que asocian a ambas, para mejorar sensiblemente el funcionamiento intestinal y por extensión optimizar nuestra salud. (Barrera 2005).

Según Medina (2006), del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaría (INA), la flora intestinal de los bebés

alimentados con leche es muy rica en bífidobacterias además menciona que no es muy habitual que las bacterias que sirvan como fermento láctico produzca a la vez bacteriocinas; si lo hacen, pues mucho mejor, porque tienes un elemento extra de seguridad. Por ejemplo, su participación en el desarrollo de las propiedades organolépticas del queso, ahora gana especial interés en este tipo de colecciones porque la leche refrigerada tiene cada vez menos bacterias y es posible que en un futuro necesitemos una fuente de fermentos nuevos para innovar productos. Debido a que la leche tiene un pH de 6.5-6.7, las bífidobacterias se desarrollan en un pH de 4.5-4.9. Está demostrado que alivian los síntomas de la intolerancia a la lactosa, que ayudan en la mayoría de las diarreas y reducen el riesgo de alergias en niños. Hay datos que apuntan a su efecto en la prevención de ciertos tipos de cáncer y en la reducción de los niveles de colesterol.

Para Hernández (2005), las bacteriocinas son péptido microbianos de reducido tamaño con una actividad antimicrobiana muy potente frente a bacterias zoonóticas y productoras de toxiinfecciones alimentarias en el hombre. La utilización directa de las bacteriocinas purificadas a homogeneidad puede permitir la utilización de unos o más péptidos antimicrobianos como conservadores naturales de muchos alimentos, las bacteriocinas purificadas podrían utilizarse en la elaboración de alimentos nutraceuticos o funcionales. La utilización de las bacterias como conservadores de los alimentos, permitiría la sustitución de aditivos químicos de síntesis por otros naturales, elaborados por microorganismos considerados como seguros en los alimentos, como las bacteriocinas son resistentes al calor, acidez, baja actividad del agua (Aw) y otros.

Además Hernández (2005), ha trabajado en la caracterización bioquímica, inmunológica y genética de las bacteriocinas producidas por bacterias lácticas de orígenes cárnicos. Rodríguez (2005), menciona que las bacterias lácticas o bífidobacterias se seleccionan al azar a partir de alimentos fermentados o del intestino humano, posteriormente, se realiza una segunda selección sobre la base de su ausencia de toxicidad en células de mamíferos y en la inhibición de la proliferación de células tumorales. Di Marcchio (2006), menciona que el uso de antibióticos puede alterar el balance bacteriano en nuestro cuerpo, al destruir las bacterias saludables y permitir que las que no los son se multipliquen. Ese es el motivo, por el cual hay personas que reaccionan con diarrea luego de comenzar a tomar antibiótico y es cuando entra en escena los acidófilos (también llamados probióticos), son organismos que ayudan a la salud, se les conoce con muchos nombres: Bacilos Bífidos. *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, Flora intestinal, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces boulardii*. Están situadas en el intestino, los ácidofilos sirven para prevenir justamente las infecciones de ese órgano desalojando con fuerza a las bacterias más dañinas.

3.2. Historia de la leche y sus derivados.

En el año 6000 A.C., el consumo regular de leche animal por parte del hombre se remonta al momento en que nuestros antepasados dejaron de ser nómadas y comenzaron a cultivar la tierra, para alimentar a los animales capturados que se mantenían junto al hombre. En las

proximidades de Ur (antigua Caldea), se ha descubierto bajo relieves realizados entre el año 3500 y 3100 A.C., en los que se muestra el ordeño de vacas y la fabricación de manteca. Caldea entre 4000 y 5000 años A.C. se supone que las prácticas lecheras de este pueblo se remontan aun más atrás en el tiempo. En el año 400 A.C. los griegos empleaban más la leche para sus usos medicinales y cosméticos que como alimento.

Hipócrates en el año (460 - 470 A.C.), considerado el padre de la medicina, recetaba leche fresca de vaca como antídoto eficaz para casos de envenenamiento. En el año 1 en el Imperio Romano se conoció hasta el siglo 2 A.C., que la cocina romana se constituía de alimentos básicos en los que se encontraba el queso de leche de oveja, pieza fundamental en su dieta. Sin embargo consumían poca leche; aunque los romanos consideraban que la leche poseía propiedades rejuvenecedoras.

En la Edad Media (en Europa), el consumo de la leche se concentraba en el mundo rural y era un alimento poco apreciado e incluso generaba desconfianza en los médicos de la época. El consumo de leche se reservaba para los sirvientes y artesanos, para conservar las propiedades nutricionales el alimento se transformaba en crema y queso.

En el siglo XV y XVI en El Renacimiento, se caracterizó por el amplio uso de algunos derivados de la leche. La mantequilla era muy apreciada igual que la nata y la crema. Se consumían distintos tipos de quesos.

En el siglo XIX durante la Revolución Industrial, fue un período que gracias a los progresos de la Ciencia y de la Tecnología, el consumo de la leche dejó de ser un alimento de tan solo el medio rural para ser

consumido también en la ciudad. Problema que fue resuelto con la llegada del ferrocarril.

En el siglo XX se introduce progresivamente la cadena de frío, durante este siglo, son mejoradas las Técnicas de Conservación que han permitido que la leche se convierta en materia prima importante y sus derivados están al alcance de todos los consumidores de forma cómoda, segura y económica. (Consumaseguridad. 2006)

3.3. Historia de los quesos.

La primera cuna de la civilización (6000-7000 A.C.), referente a los alimentos básicos más comunes, en particular el pan y los quesos, parece haber sido la humedad fértil y rica llanura agrícola-ganadera comprendida entre el Tigris y Éufrates, llamada también Mesopotamia, (actual Irak). Arqueólogos en la zona próxima a Ur, Sir Leona Wodlley, concluyó en 1934, el primer queso que se había hecho a partir de la leche fue tanto de vaca como de cabra. Cerca de los años 3000 A.C. en la tumba de Hories-Aha al hacer examinadas se encontró queso.

En una escena representada en las paredes de las tumbas de Ramisid (año 100 A.C.), aparecen pintadas cabras conducidas al pasto así como también bolsas de cuero animal suspendidas de varas. La fermentación del azúcar de la leche en éstos climas cálidos, haría que las leches cuagulasen en las bolsas y el movimiento de balanceo determinarían que las cuajadas ácidas se desintegraran en grumo y suero.

El suero constituía una bebida refrescante, las cuajas ácidas de la fermentación y un puñado de sal proporcionaban un alimento rico en proteína que suplementaria la escasez de carne. Tal panorama ha hecho suponer que el queso surgió de las leches fermentadas.

*Varro en los años 116-127 A.C., se refirió a la variabilidad del queso, evidencia tan precoz de la calidad variable y no es sorprendente que Varro hizo comentario sobre las cualidades laxantes del queso. Notó en particular, que el queso de la leche de vaca era el más nutritivo; pero atraviesa el organismo con más dificultad, mientras que el queso de leche de cabra era menos nutritivo y más laxante. Colmuella, hacia el año 50 A.C, quien en su *De Re Rustica* se concentra en el queso y su manufactura. Destacó particularmente la necesidad de la higiene en la producción de la leche y en la elaboración del queso.*

En aquel entonces; la coagulación de la leche se conseguía de muchas maneras, figurando entre los primeros coagulantes de la leche los cuajos de liebre y de cabra, mejores que el de cordero, así como la sabia de una rama de higuera y el vinagre. También se usaron como coagulantes la flor del cardo, la semilla del azafrán silvestre, el tomillo triturado y el extracto de piñas verdes. A finales del siglo XVIII, los grandes propietarios terratenientes y sobre todo los monasterios europeos, mantuvieron vivos los métodos y recetas del arte de la quesería.

Aunque muchos quesos particulares fueron indudablemente de excelente calidad, el proceso quesero no empezó a estudiarse científicamente, hasta finales de siglo XIX, las fábricas de queso se

establecieron en América desde el año 1851, seguido por otras de Europa, principalmente por cooperativas de ganaderos (Scott 2002).

3.4. Definición de quesos.

Según la Norma General del Codex para el Queso, CODEXSTAN A-6-1978, define: se entiende por queso el producto fresco o maduro, sólido o semisólido, obtenido de: a) coagulando leche, leche desnatada, leche parcialmente desnatada, nata (crema), nata crema (de suero), suero de mantequilla o una combinación cualquiera de estas materias por la acción de cuajo u otros coagulantes apropiados y escurriendo parcialmente el suero que se produce como consecuencia de tal coagulación, luego se menciona que; b) mediante técnicas de elaboración que comprende la coagulación de la leche y/o las materias obtenidas de la leche y que dan un producto final que posee las mismas características esenciales físicas, químicas y organolépticas que el producto definido en (a).

Según Alais (2003), define: que los quesos son una forma de conservación de los dos componentes insolubles de la leche, la caseína y la materia grasa; los cuales se obtienen por coagulación de la leche seguido del desuerado en el curso del cual el lacto suero se separa de la cuajada. El lacto suero contiene la mayor parte del agua y de los componentes solubles de la leche, quedando una pequeña parte aprisionada en la cuajada.

La definición legal del queso precisa que: “el producto puede estar o no fermentado”, de hecho experimenta una fermentación láctica. El queso desnatado se obtiene a partir de la leche desnatada.

Scott (2002), menciona que en la actualidad la palabra cheese deriva de la palabra inglés antiguo cese y chiese y del latín caseus y las palabras equivalentes en español, castellano, portugués, alemán, francés, italiano son: queijo, Kâise, fromage y formaggio, respectivamente. Además menciona que la proliferación numérica de los diferentes tipos de queso, dificulta la simple definición de queso y una descripción tal como: la cuajada de la leche producida por actividad enzimático y la separación del suero del coagulo, para dar una cuajada más sólida que es el queso, no incluye el requesón, queso láctico, queso crema y algunos otros de los quesos producidos por nuevas técnicas.

Para Potter (1985), el queso es un producto elaborado a partir de cuajada de la leche de vaca y otros animales; la cuajada se obtiene de la coagulación de la caseína de la leche por una enzima (generalmente renina), un ácido (generalmente ácido láctico), y con o sin tratamiento adicional durante el proceso como: calor, presión, sal, maduración y almacenamiento (generalmente por microorganismo seleccionados).

Pero ni siquiera esta definición amplia y general abarca a todos los quesos, ya que algunos se hacen a base de sólidos de suero de la leche que queda después de que se ha sacado la caseína coagulada. La elaboración de quesos, es un proceso antiguo que todavía retiene algunos de los aspectos de un arte, aun cuando se hace en las fábricas más modernas. Esto se debe en parte a la variabilidad natural de la leche, y a la imposibilidad de controlar perfectamente las poblaciones bacterianas adecuadas.

Algunos cambios y la falta de conocimiento exacto de la composición de los ingredientes y las reacciones fisicoquímicas de las que depende un producto final satisfactorio, convirtieron el proceso en un “Arte”, más que en una “Ciencia”, hasta mediados del siglo XIX. Las recetas comenzaron a ser una guía significativa del proceso, siendo notables algunos cambios particulares como los siguientes:

- a) El uso del calor para destruir las bacterias perjudiciales fue indicado por Pasteur en 1857, quien desarrolló un tratamiento de la leche capaz de destruir las bacterias que perjudicaban el proceso de quesería, así como los microorganismos más patógenos.*
- b) La introducción de cultivos puros de microorganismos (cultivos iniciadores o de arranque) sustituyó a la leche y suero ácidos para iniciar el proceso, como se hacía anteriormente.*
- c) El refinamiento de la extracción del cuajo en el cuarto estómago de terneras.*
- d) El desarrollo del ensayo acidimétrico por Lloyd, inmediatamente las recetas, tuviesen medidas de acidez en cada fase del proceso. (Alais2003.)*

3.5. Variedades de los quesos.

La gran variedad de los quesos se explica por dos hechos esenciales:

1. La naturaleza de la leche: *pequeñas diferencias en la composición, independientemente de las diferentes leches de especies o de razas tienen repercusiones en las propiedades de los quesos.*

2. Las formas de preparación: que presenta una diversidad cuyos límites son difíciles de fijar, pues antes se determinaban por las condiciones climatológicas, geográficas, económicas e históricas.

Las formas de preparación diversifican los quesos por la influencia que tiene sobre la estructura y la fermentación:

a) Los quesos tienen una armazón de paracaseinato de calcio; su estructura depende de la forma de la coagulación, el desarrollo de la acidez, de la cantidad de agua retenida, de la proporción de la materia grasa y el grado de proteolisis, que le hace perder su rigidez.

b) Las posibilidades de fermentación de la caseína y la materia grasa son diversas; su relación depende de un conjunto de condiciones fisicoquímicas y de las enzimas presentes.

El aspecto de los quesos y su sabor se debe principalmente a la actividad de los microorganismos y de las fermentaciones que experimentan la caseína, la materia grasa y la lactosa que queda en la cuajada (Alais2003.)

3.5.1. Clasificación de los quesos.

Para Moreno (1991), es difícil clasificar los quesos de una forma clara, además de existir una gran variedad, muchos de ellos están en las fronteras y los límites de las clases que se establezcan.

Son varios los criterios que se pueden seguir para su clasificación según:

- *La leche con los que se hayan elaborado los quesos.*
- *El método de coagulación de la leche.*

- *El contenido de humedad del queso.*
- *El contenido de grasa del queso.*
- *La textura del queso acabado.*
- *El método seguido en su maduración.*
- *El tipo de microorganismos empleados en su maduración.*
- *El país o región de origen.*

A continuación se describirá cada uno de los criterios y las clases o tipos de quesos que de ellos se derivan.

a.- Quesos elaborados con distintos tipos de leche:

Desde la antigüedad, según zonas o regiones naturales, se han utilizado distintos tipos de leche para la elaboración de quesos, universalmente los tipos de leche más empleada son:

- *Leche de vaca.*
- *Leche de oveja.*
- *Mezcla de leche de vaca y oveja.*
- *Leche de cabra.*
- *Mezcla de leche de vaca, oveja y cabra.*
- *Otros productos lácteos (nata, leche desnatada, suero).*

b.- Clasificación de quesos según el método de coagulación:

La coagulación, es el momento en que la leche se convierte en queso, de forma histórica se ha venido haciendo por la adición del cuajo a la leche. El cuajo, es un extracto obtenido del cuajar de rumiantes jóvenes; contiene una enzima coagulante llamada renina, que es una secreción de la membranas mucosas del cuarto estómago de los terneros jóvenes (primera semana de vida). La renina provoca una destrucción parcial del coloidal

protector de la caseína, que provoca la coagulación, esta también se puede conseguir por cuajos microbianos con enzimas coagulantes de la leche.

Otra forma de producir la coagulación de la leche es por acidificación, al añadir sustancias ácidas o al producirse fermentaciones con producción de ácido.

En resumen podemos distinguir varios tipos de coagulación para elaborar quesos:

- 1.- Coagulación por la acción enzimática del cuajo.*
- 2.- Coagulación por la acción enzimática de cuajos microbianos.*
- 3.- Coagulación por acidificación.*
- 4.- Coagulación combinada (cuajo y ácido).*
- 5.- Coagulación de extractos vegetales.*

c. Clasificación de quesos según su contenido en humedad:

El contenido de humedad en los quesos es uno de los criterios más importantes para su clasificación, según los métodos de elaboración, la separación de suero puede ser muy reducida o muy fuerte, con lo que resultaran quesos con menor o mayor humedad.

Tabla N° 1: Clasificación de los quesos según su contenido en humedad (%):

<i>Clases</i>	<i>Agua (en %)</i>
<i>Frescos.....</i>	<i>60-80</i>
<i>Blandos.....</i>	<i>55-57</i>
<i>Semiduros.....</i>	<i>42-55</i>
<i>Duros.....</i>	<i>20-40</i>

Fuente: Moreno, 1991.

Los quesos frescos, que se consumen en corto período de maduración tienen un alto contenido acuoso, mientras que aquellos quesos que son sometidos a varios meses de almacenamiento pierden paulatinamente gran cantidad de su humedad.

Su consistencia suele ser pastosa y su color blanco, aunque los hay de muy diversos colores al ser aromatizados con fresas, piñas y otros. Los quesos frescos deben de consumirse en pocos días y su transporte y conservación se debe hacer a temperaturas de 2/10 °C., se les suele conocer también como quesos ácidos, ya que la coagulación de la leche se lleva a cabo por acidificación de la misma; son quesos sin corteza o con corteza muy fina, que apenas se prensan, con lo que no eliminan mucho suero.

Los quesos blandos son madurados durante algún tiempo (desde algunas semanas hasta varios meses), desarrollando así aromas y sabores característicos de cada tipo. Tienen una corteza de cierta consistencia y la pasta es blanda e incluso semilíquida y la textura es cerrada, aunque en ocasiones se toleran ojos. (Moreno, 1991)

d. Clasificación de quesos según su contenido en grasa:

En base a con su contenido en grasa, expresado en porcentaje sobre el extracto seco, los quesos se clasifican en:

- *Queso doble graso, con un contenido mínimo del 60% de grasa sobre extracto seco.*
- *Queso extragrasso, que tiene un contenido mínimo del 45% de grasa sobre extracto seco.*

- *Queso graso, con un contenido mínimo del 40% de grasa sobre extracto seco.*
- *Queso semigraso, con un contenido mínimo del 20% de grasa sobre extracto seco.*
- *Queso magro, con un contenido de menos del 60% de grasa sobre extracto seco.*

Tabla N° 2 Clasificación de los quesos según su contenido en grasa sobre extracto seco (FAO).

CLASES	Grasa (% sobre extracto seco)
<i>Extragraso.....</i>	<i>Más de 60%</i>
<i>Graso.....</i>	<i>45 al 60%</i>
<i>Semigraso.....</i>	<i>25 al 45%</i>
<i>Cuartograso.....</i>	<i>10 al 25%</i>
<i>Magro.....</i>	<i>Menos del 10%</i>

Fuente: Moreno, 1991.

e. Clasificación de los quesos según su textura:

Los quesos se clasifican según su textura en tres grandes grupos:

- 1.- Quesos con ojos o agujeros redondeados (Gruyère y el Emmental)*
- 2.- Quesos de textura granular (Tilsit, Grazalema de Cádiz)*
- 3.- Quesos de textura cerrada (Cheddar)*

Los ojos o agujeros que aparecen en algunos quesos son el resultado de fermentaciones de ciertas bacterias lácticas, productoras en su metabolismo de ácido láctico y anhídrido carbónico.

f. Clasificación de los quesos según el tipo de microorganismos empleados en su elaboración tendrá la siguiente clasificación:

1.- Quesos veteados: como el Roquefort, Cabrales y otros, donde se produce el crecimiento de mohos Penicillium durante la maduración en cuevas ventiladas, dando esas vetas un color azul.

2.-Quesos de moho blanco: tales como el Camembert y Brie, en los cuales durante la maduración hay un desarrollo de mohos blancos que les dan su típico aspecto.

3.5.2. Quesos con desarrollo bacteriano en la corteza.

Tales como Saint Paulin, Port Salut, etc. en los que se unta la superficie de los quesos antes de su maduración con un cultivo de bacterias que se desarrollan dando características especiales a los quesos. El ácido producido por estos cultivos baja el pH (4 a 4.3), factor importante a la hora de conseguir una buena sinéresis (contracción del coágulo acompañada de la eliminación del suero). Son dos los tipos principales de cultivo utilizados en queserías:

- Cultivos mesófilos, con temperatura óptima para su desarrollo comprendidas entre los 20 y 40 °C.*
- Cultivo termófilos, con temperaturas óptimas para su desarrollo comprendidas entre 40 y 45 °C.*

Normalmente se utiliza una mezcla de ambos, que no solo produce ácido láctico, sino también sustancias aromáticas y anhídrido carbónico.

Hay quesos (Gouda, Edam y Tilsit) que utilizan solamente cultivos mesófilos y en Emmental y Gruyère se utilizan los termófilos. (Moreno, 1991).

3.6. Composición del valor nutritivo de quesos.

El valor nutritivo de los alimentos, es la capacidad que tienen estos para satisfacer las necesidades de mantenimiento y desarrollo del organismo.

Como resumen podemos decir que el valor nutritivo de los quesos es alto por varias circunstancias:

- 1. El queso es rico en proteínas de alto valor biológico.*
- 2. El queso proporciona energía acalórica para el desarrollo de la vida, debido a su alto contenido en grasa.*
- 3. El queso es una fuente importante de suministro de vitaminas A y D, así también de algunas sales minerales (calcio, fósforo y hierro) indispensables para la vida.*
- 4. La grasa es el componente más abundante en los quesos y durante la maduración se hidroliza en gran parte, contribuyendo al sabor y al aroma.*
- 5. Las enzimas son producidos por microorganismos vivos, que actúan como biocatalizadores, es decir, inician y activan reacciones vitales, sin ser consumidas en el proceso. (Moreno, 1991).*

Tabla No 3. Composición química de los diferentes quesos, expresados por cada 100 gramos.

	Energía		Fuente de energía			Vitaminas						Minerales			
	Kcal	Kj	Prot eína g	Grasa G	H.C g	Solubles grasa		Soluble en agua							
						A i.u.	D i.u	B1 Mg	B2 mg	Nia cin a mg	B ₆ mg	C mg	Calcio mg	Hierro g	
Quesos firmes y semifirmes:															
Queso 60% (*).....	435	1.819	19.9	37.0	1.0	1.130	16	0.042	0.270	5.1	0.05	0	790	0.13	
Queso 45% (*).....	355	1.488	25.0	26.0	1.4	755	11	0.050	0.330	6.1	0.09	0	946	0.15	
Queso 30% (*).....	277	1.161	28.9	17.0	1.4	494	8	0.055	0.325	6.8	0.06	0	990	0.19	
Quesos de moho blanco:															
Camembert Danés 45% (*).....	291	1.218	21.4	22.4	0.2	651	10	0.045	0.460	6.4	0.02	0	720	0.18	
Brie Danés 50 (*).....	334	1.396	19.8	27.8	0.2	808	11	0.050	0.340	4.9	0.23	0	600	0.21	
Quesos azules :															
Danablu 50% (*).....	354	1.480	20.1	29.5	1.0	858	12	0.040	0.500	6.2	0.23	0	620	0.14	
Danablu 60% (*).....	394	1.653	16.5	36.1	1.0	1.025	15	0.030	0.500	5.8	0.22	0	710	0.50	
Quesos en salmuera:															
Feta Danés 40% (*)....	258	1.085	19.4	19.2	1.5	530	8	0.019	0.260	4.3	0.05	0	620	0.22	
Quesos de doble crema:															
Quesos de doble crema 70% (*).....	384	1.608	9.6	36.9	2.5	1.073	14	0.035	0.200	2.3	0.05	0	230	0.30	
Quesos de doble crema 60% (*).....	338	1.413	10.2	31..5	2.5	916	13	0.040	0.200	2.4	0.05	0	200	0.30	
Quesos fundidos:															
Queso fundido 45% (*).....	323	1.353	24.2	24.5	0.6	712	10	0.090	0.430	5.8	0.03	0	630	0.34	

(*) Contenido grasa sobre extracto seco.

Fuente: Moreno, 1991

3.7. Enzimas Coagulantes.

Scott (2002), menciona que en los quesos elaborados mediante coagulación enzimática o mixta, las enzimas coagulantes constituyen un elemento esencial. Tradicionalmente se utiliza la quimosina o renina, extraída del cuarto estómago (cuajar) de los becerros lactantes. Pero debido al aumento en la demanda de cuajos se han desarrollado técnicas para la utilización de enzimas provenientes de microorganismos y vegetales.

El siguiente cuadro señala las principales enzimas coagulantes de uso en quesería:

Tabla N° 4. Origen de coagulante de uso quesero

Grupo	Fuente	Ejemplo de nombres	Componente enzimático activo
<i>Animal</i>	<i>Estómago Bovino</i>	Cuajo Bovino, cuajo de ternero, <i>cuajo en pasta</i>	Quimosina A y B, Pepsina (A) y Gastricina <i>ídem más Lipasa</i>
	Estómago Ovino	<i>Cuajo de cordero, oveja</i>	Quimosina y Pepsina
	<i>Estómago Caprino</i>	<i>Cuajo de cabrito, cabra</i>	Quimosina y Pepsina
	<i>Estómago Porcino</i>	Coagulante porcino	Pepsina A y B, Gastricina
<i>Microbiano</i>	<i>Rhizomucor miehei</i>	Hannilase	Proteasa aspártica de R. miehei
	<i>Rhizomucor pusillus</i>	Coag. Pusillus	Proteasa aspártica de R. pusillus
	<i>Cryphonectria parasitica</i>	Coagulante de parasitica	Proteasa aspártica de C. parasitica
FPC <i>(Quimosina producida por fermentación)</i>	<i>Aspergillus niger</i>	Chymax	Quimosina B
	<i>Kluyveromyces lactis</i>	-	Quimosina B
<i>Vegetal</i>	<i>Cynara cardunculus</i>	Cardoon	Cyprosina 1,2,y3 y/o Cardosina A y B

Fuente: Scott, 2002

*Los cuajos microbianos son elaborados principalmente a partir de cultivos de mohos de la especie *Rhizomucor*. Actualmente, se elabora quimosina producida por fermentación con microorganismos modificados genéticamente, con lo cual se obtiene un enzima bastante similar a la quimosina de origen animal.*

El extracto comercial, contiene quimosina al 100% a diferencia del producido por maceración del estomago el cual puede contener del 90 al 95% de quimosina y de 10 al 15% de pepsina. Los cuajos vegetales pueden ser obtenidos de la piña (bromelina), lechosa (papaina) e higo (ficina); estas enzimas tienen una capacidad proteolítica menos específica, por lo cual pueden causar sabores amargos en los quesos si no son bien utilizados. Su uso a escala comercial es limitado, generalmente se utilizan en la elaboración artesanal de determinados tipos de quesos. Los cuajos microbianos tienen también una acción más pronunciada que la quimosina, a excepción de la obtenida por fermentación la cual se comporta igual a la quimosina animal. (Scott, 2002)

3.7.1. Renina.

Según González (2006), el cuajo (Rennet) se ha utilizado durante generaciones como enzima coagulante de la leche. Ésta se extrae del cuarto estómago de los terneros de 3-4 semanas que han sido criados con leche. La quimosina en el cuajo es en realidad, una mezcla de proquimosina y quimosina. El término caseína engloba a una familia de proteínas que se encuentran en la leche, en una concentración aproximada de 25 g/l.

*Las caseínas forman complejos llamados submicelas de caseína, que en la leche estas submicelas están unidas por agregados de fosfato cálcico, formando las micelas de caseína. Los agregados de fosfato cálcico interaccionan con los residuos de fosfoserina originando las micelas de caseína. La porción hidrofóbica amino-terminal de la k-caseína se coloca dentro de la micela. La porción hidrofílica de la molécula se proyecta hacia el exterior de la superficie evitando que las micelas formen agregados. Éste es el proceso que se denomina **cuajado de la leche**, que es el primer paso en la producción de queso.*

3.8. Bacterias lácticas.

Scott (2002), menciona que en el proceso de manufactura del queso hay una actividad básica de la fermentación de los carbohidratos y la degradación microbiológica de los compuestos nitrogenados de la leche o cuajada. La presencia de una cantidad elevada de ácido láctico en los productos de la fermentación anaerobia de los azúcares, es un carácter bioquímico importante que justifica la integración dentro de un mismo grupo de bacterias que acusan grandes diferencias en sus morfologías. Las bacterias lácticas esféricas se encuentran en la familia de las Streptococaceae, y las bacterias en forma de bacilos en la de las Lactobacillaceae.

Para Furtado y Joao (2002), hablan que antiguamente y durante muchos años, los quesos eran elaborados solamente con leche cruda. Habiendo leche de buena calidad podía obtenerse también un buen queso,

esto era debido a la presencia en la leche de bacterias naturales y que mediante su maduración da al queso el sabor ideal.

Walstra (2001), asegura que cuando la leche fresca se deja acidificar se produce la segregación de la caseína. Si la acidificación tiene lugar a una temperatura no demasiado baja y con la leche en reposo se forma un gel, que normalmente en esa leche coagulada o gelificada se separa una cierta cantidad de suero, es decir, sinéresis. La sinéresis se favorece con el calentamiento y la agitación, separándose por una parte la cuajada y por otra el lacto suero. Cuando se elimina de la cuajada la mayor parte del suero, por ejemplo, escurriéndola en un paño, se obtiene un queso fresco (queso blanco o simplemente cuajada). Es posible que este proceso sea el origen de la elaboración del queso.

3.8.1. Clasificación de bacterias lácticas.

Según Walstra (2001), los especialistas en bacterias lácticas emplean siempre Streptococos y los Leuconostoc, o Betacocos, que forman una de las tres familias de los cocos gram+ con tres géneros secundarios. Los lactóbacilos, son los únicos representantes de los bacilos asporógenos gram+, de los cuales es necesario tener en cuenta que en el momento actual no existe una clasificación plenamente satisfactoria de estos microorganismos.

A continuación se hace una clasificación de las bacterias lácticas:

A) Grupo homofermentadores:

Son bacterias que sólo forman indicios de productos junto con ácido láctico, que representa del 90 al 97% de la lactosa fermentada.

I. *Thermobacterium (Lactobacillus):*

- *Bastoncitos alargados, aislados o en cadenas cortas.*
- *Termófilos (temperatura óptima entre 40 y 50 °C).*
- *Acidificantes muy energéticos, hasta el 2,7% de ácido inactivo o levógiro.*
- *Actividad caseolítica notable.*

II. *Streptobacterium (Lactobacillus):*

- *Bastoncitos cortos, en cadenas.*
- *Temperatura optima hacia 30 °C.*
- *Acidificación muy lenta, pero acuosa, ácido inactivo o dextrógiro.*
- *Actividad caseolítica.*

III. *Streptococcus (genero conservado):*

- *Formas esféricas, cadenitas de longitudes diversas, que pueden ser muy cortas en los medios sólidos; ácidos dextrógiro.*

B) Grupo Heterofermentativo:

La producción de ácido es más débil; además del ácido láctico se forman otros ácidos, sustancias diversas y gas.

IV. *Bifidobacterium*:

- *Bastoncitos que se ahorquillan en los cultivos viejos.*
- *Producen ácido acético en proporción elevada y ácido láctico dextrógiro.*
- *Anaerobios abundantes en las heces de los lactantes.*

V. *Betabacterium (Lactobacillus)*:

- *Formas en bastoncitos, producción de gas, de ácido succínico y otros.*
- *No actúan sobre la caseína. Ácido láctico inactivo.*

VI. *Betacocus (Leuconostoc)*:

- *Formas esféricas, semejantes a los estreptococos, pero el ácido láctico producido es levógiro.*
- *Proceden de los vegetales en descomposición, remolacha y otros.*
- *Fermentan las pentosas y descomponen las pectinas.*
- *Fermentación viscosa con la sacarosa y producción de mucílago.*

3.8.2. *Las bacterias del ácido láctico.*

Según González (2006), la fermentación ha sido, durante varios miles de años, una importante forma de conservación de los alimentos. El crecimiento microbiano, tanto de poblaciones naturales como de poblaciones inoculadas causa cambios químicos de textura en los alimentos, de tal manera que el producto final puede almacenarse durante un período de tiempo prolongado.

El proceso de la fermentación también se emplea para crear nuevos olores y sabores agradables para los alimentos. Todas las bacterias del ácido láctico fermentan diversos azúcares produciendo ácido láctico en cantidades suficientemente elevadas como para inhibir o matar a la mayoría de los otros microorganismos. Pero con unas pocas excepciones que incluyen algunos estreptococos, las bacterias del ácido láctico son inocuas para la especie humana. Además, sus productos metabólicos tienen un sabor agradable, estas propiedades nos permiten utilizar las bacterias del ácido láctico para preparar y conservar alimentos. Los alimentos deben contener suficiente cantidad de azúcares para que las bacterias del ácido láctico produzcan cantidades inhibitorias de dicho ácido (la mayoría de los materiales vegetales y productos lácteos las tienen).

Debe excluirse el aire para que los microorganismos aerobios, que se metabolizan más rápidamente, no puedan utilizar el azúcar antes que las bacterias del ácido láctico y tengan la posibilidad de desarrollarse. Generalmente, no es necesario añadir bacterias del ácido láctico a los alimentos ya que la mayoría de los productos vegetales y lácteos contienen una población natural adecuada, salvo que hayan sido sometidos al proceso de pasteurización.

Sorgensen (1999), menciona que la flora ácido - láctica ha sido tema de muchos estudios por analistas de la leche a escala mundial. El ácido láctico de fermentación se ha convertido en un importante producto químico en estado puro o en forma de sales que reciben diversas aplicaciones en la industria alimenticia, farmacéutica, industria textil, industria de materias plásticas etc.

Cuando decimos flora ácido - lácticas, nos referimos a la gran diversidad de microorganismos presentes en la lactosa, que son capaces de producir ácidos, ya sean perjudiciales para el producto o beneficioso para el mismo. El ácido láctico existe como indicio en la leche fresca, con un porcentaje medio de 30 mg/lts. Es ante todo el resultado de la fermentación láctica, que dentro de la industria láctea puede presentar un carácter beneficioso o perjudicial.

3.8.3. Importancia del ácido láctico.

En los últimos años se ha suscitado grandes discusiones acerca de los isómeros del ácido láctico presente en los productos fermentados, el ácido láctico juega un papel preponderante en el metabolismo humano. Es la principal fuente de energía del músculo cardíaco, al tiempo que interviene en la respiración celular del hígado, riñones, cerebro y músculos estriados. Se puede identificar bajo tres formas: D (-), L (+) y DL, que es la forma óptimamente inactiva. (Jñapika E, Pablo Gómez,2004).

El cuerpo humano metaboliza únicamente el isómero que el mismo puede sintetizar, o sea, el ácido láctico L (+), razón por la cual se le denomina "ácido láctico fisiológico". La gran capacidad de asimilación de este isómero hace que se pueda ingerir en los alimentos sin ningún tipo de restricciones.

En cuanto al isómero D (-) hay opiniones encontradas acerca de su degradación, pues se dice que el cuerpo humano lo puede reabsorber,

pero es eliminado en su gran mayoría sin ninguna modificación, por lo que parece ser que el hombre no posee ninguna enzima para metabolizarlo; lo poco que se metaboliza, es degradado muy lentamente, representándole al organismo un gran esfuerzo. Es por esto, que en Alemania Federal, las entidades oficiales pertinentes recomiendan a la ausencia de este isómero en los alimentos infantiles y para el adulto no debe excederse de 100 mg/kg. de peso corporal diario.

El tipo de ácido láctico producido en la fermentación de los derivados lácticos depende en primera instancia de las bacterias utilizadas y en segunda instancia de factores externos. La producción ideal del isómero DL es: 30 % D (-) y 70 % L (+).

*Entre los productores de ácido láctico D (-) están *Lactobacilos bulgaricus* (100%), *Lactó baciloslactis* (100%) y las especies de *Leuconostoc*. Los que sintetizan el isómero L (+) son *Streptococcus thermophilus* (100%), *Bifidobacterium bifidus* (95%) y *Streptococcus lactis* (97%). Por último, *Lactobacilus acidophilus*, *helveticus* y *jughurti* sintetizan el isómero DL. La preponderancia de uno u otro isómero depende de la especie y de la edad de cultivo. Entre los factores externos tenemos el tiempo y temperatura de incubación y la edad del producto, algunos investigadores atribuyen al ácido láctico L (+) la propiedad de disminuir el crecimiento de tumores malignos.*

Se sabe que los carcinomas interfieren con los procesos respiratorios celulares, y se pudo demostrar que las células tumorales

logran volver a utilizar en gran parte el oxígeno transportado a través de los eritrocitos, si se les suministra el ácido láctico L (+). Desde el punto de vista industrial, se concluye la importancia del empleo de los cultivos biológicos, los cuales producen casi exclusivamente ácido láctico L (+). En algunos seguimientos realizados a productos con este tipo de cultivo se observó que al final de la vida útil no sólo se presentaba un descenso, sino al contrario mostraba un ligero aumento del isómero L (+). En el caso del yogurt normal se llegó a un porcentaje entre 50-60% del isómero L (+), aunque variando algo el proceso industrial puede alcanzarse el 70 %. (Jñapika E, Pablo Gómez, 2004).

3.9. Importancia de las bífidobacterias.

El Bifidobacterium fue descubierto en 1899 - 1900 por el doctor Tissier, del Instituto Pasteur de Francia. Son los microorganismos dominantes en la materia fecal de bebés alimentados con leche materna. Alexander (1948) y Robinsón (1951) realizaron estudios clínicos de bebés alimentados con leche materna y con leche en polvo, concluyendo que las Bífidobacterias, predominantes únicamente en los bebés del primer grupo, se encargaban de suprimir los microorganismos patógenos del intestino a través de un sistema de autolimpieza.

Esta bacteria se consideró como una especie de Lactobacillus por producir ácido acético y ácido láctico a partir del metabolismo de los azúcares (Weiss y Rettger, 1934 y 1938). A medida que se fue profundizando en la investigación, se descubrieron varias propiedades de este microbio, probándose que era incapaz de reproducirse en presencia

de oxígeno. Por esta razón se clasificó en un género anaeróbico obligado llamado Bifidobacterium, el cual comprende once especies. (Jñapika E, Pablo Gómez, 2004).

Para Vernam (2003), la bífidobacterias son bacterias irregulares, Grampositivas, no esporuladas, con forma de bastoncito y que metabolizan los carbohidratos a través únicamente de la ruta fructosa-6-fosfato fosfocetolasa. Las bífidobacterias necesitan como factores de crecimiento específicos (factores bifidogenos) los carbohidratos N-acetilglucosamina, que se encuentra en la leche humana y lactosa, que aparece en la leche calentada. Hay una gran variación en la respuesta del crecimiento según la atmósfera, ya que algunas cepas son anaerobias estrictas mientras que otras, que parecen poseer una débil actividad catalasa, toleran el oxígeno en presencia de dióxido de carbono. Actualmente, hay más de 18 especies reconocidas de Bifidobacterium, de las cuales las que más se utilizan en los cultivos iniciadores son B. breve y B. longum.

3.9.1. Acidófilos.

Conocida también como bífidobacterias. Las Lactobacillus acidophilus son una cadena "amigable" de bacterias utilizadas para hacer yogurt y queso. A pesar de que nacemos sin ellos, los acidophilus pronto se establecen por sí mismos en nuestros intestinos y ayudan a prevenir las infecciones intestinales. Los acidophilus también florecen en la vagina en donde protegen a las mujeres contra la infección por candida.

Los acidophilus son uno de los varios microbios conocidos colectivamente como prebióticos (literalmente, "pro-vida," indicando que son bacterias y hongos que ayudan en lugar de hacer daño). Los acidófilos y los probióticos relacionados no sólo ayudan a la función del tracto digestivo, también reducen la presencia de organismos no tan sanos compitiendo con ellos por el limitado espacio disponible. Por esta razón, el uso de probióticos puede ayudar a prevenir la diarrea infecciosa.

Los antibióticos pueden desequilibrar el balance de su "bosque tropical interior" matando la bacteria amigable, cuando esto sucede, bacterias y hongos dañinos pueden mudarse y florecer. Esto puede causar infecciones vaginales por candidas.

Por lo contrario, parece que el uso regular de probióticos puede ayudar a prevenir las infecciones vaginales y en general, mejorar la salud del sistema gastrointestinal. Siempre que tome antibióticos, probablemente debe tomar probióticos también y así continuar tomándolos un tiempo después de que termine con su tratamiento. (Healthlibrary).

3.10. Alimentos funcionales.

En más de una ocasión, seguro que se ha encontrado en la tienda donde suele hacer la compra con alimentos tales como: enriquecido con Omega-3, rico en calcio o en fibra, con fitoesteroles, etc. Pero, ¿qué hace funcional a un alimento? Responder esta pregunta proporciona la clave para poder comprender este nuevo y creciente segmento de la industria alimentaría.

Los conceptos básicos de la nutrición están experimentando un cambio significativo. En la actualidad, el concepto clásico de "nutrición adecuada", es decir, aquella que aporta a través de los alimentos los nutrientes (hidratos de carbono, proteínas, grasas, vitaminas y minerales) suficientes para satisfacer las necesidades orgánicas particulares, tiende a ser sustituido por el de "nutrición óptima", que incluye además de la definición anterior, la potencialidad de los alimentos para promocionar la salud, mejorar el bienestar y reducir el riesgo de desarrollar enfermedades. En este ámbito aparecen los alimentos funcionales. (Healthlibrary).

IV. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.

4.1. Metodología a desarrollar.

Para la realización de ésta investigación se efectuó en etapas; primeramente a partir de la búsqueda de información bibliográfica en libros, revistas, folletos, mediante entrevistas, navegación en Internet y otros.

Luego de recopilar la información bibliográfica de los diferentes recursos antes mencionados se llevó a cabo la segunda etapa, la cual consistió en estructurar la investigación que fue prácticamente la fase experimental o de campo.

La tercera etapa, luego de revisado y estudiado la fase teórica se desarrolló la técnica industrial que llevó a elaborar el queso propuesto. En ésta etapa se realizó una selección de todas las materias primas que se utilizaron en la producción incluyendo la selección de bacterias acidófilos o bífidobacterias.

En la cuarta etapa, se efectuó la caracterización de las formulas del producto tanto para quesos con bífidobacterias como para queso sin bifidobacteras, por otra parte se evaluaron dos diferentes medios de acidez o medios ácidos como ácido láctico(A) y ácido cítrico(B). Dando paso posteriormente a las diferentes evaluaciones y análisis de los quesos elaborados.

En la quinta etapa, se realizó las evaluaciones comparativas sensoriales (organolépticas) como son: Olor, Color, Sabor, Textura,

Apariencia y Aceptación. En el bromatológicas: % proteínas, % grasa, % humedad, pH, % de acidez titulable, sólidos totales, % ceniza, calcio y fósforo. En el microbiológico: Staphylococcus aureus, Coliformes totales, Escherichia coli, Salmonella sp. e identificación de bacterias acidófilos (Streptococcus thermophilus). Tomando como base las normas de la AOAC (Métodos Oficiales de Análisis Químico).

4.2. Muestreo.

Antes de comenzar la parte experimental se efectuó un sondeo de la calidad de la leche que sería utilizada para la elaboración de los quesos, así:

- *Se evaluaron leches fresca enteras sin pasteurizar en una cantidad de aproximadamente de 5 galones (25 botellas) por ensayo (10) del rancho Mi Reina, en el kilómetro 38 ½ carretera a Sonsonate.*
- *Se evaluaron leches pasteurizadas en una cantidad de aproximadamente de 5 galones (25 botellas) por ensayo (10) de marcas comerciales (Salud y Foremost) que se consumen en el ámbito de supermercado.*

En el muestreo de las distintas leches se determinaron la calidad de las materias primas antes de elaborar el queso de pasta fresca y blanda, de éstas dependió la calidad obtenida en los diferentes ensayos experimentales de producción.

Las leches se manejaron a temperaturas de 3 a 5 °C. manteniéndose en depósitos térmicos (hieleras), hasta su proceso, para evitar que se desarrollaran otro tipo de bacterias que no fuesen nativas de

la misma leche, evitando cualquier interferencia (competencia) con las bacterias acidófilas que pudieran provocar una alteración microbiológica en el momento de elaborar el queso.

La leche fue transportada al Laboratorio de Química de la Facultad de Agricultura e Investigación Agrícola, donde se efectuaron los análisis (Tabla N°5) para comprobar la frescura antes de su procesamiento. Para evitar el desarrollo de bacterias perjudiciales, la leche entera sin pasteurizar, se calentó en una olla de acero inoxidable de capacidad de 12 litros a una temperatura de 90 °C por 20 minutos.

Los análisis que se realizaron al momento de utilizar la leche, son: su porcentaje de acidez o acidez real, pH o acidez aparente, densidad y otros.

Tabla N° 5. Resultados físico-químicos de leche entera sin pasteurizar y leche pasteurizada comercialmente.

Características físico-químicos	Leche fresca entera	Leche fresca pasteurizada
<i>Olor</i>	<i>Olor a pasto</i>	<i>Sin olor particular</i>
<i>Sabor</i>	<i>Dulce</i>	<i>Ligeramente azucarada</i>
<i>Color</i>	<i>Ligeramente amarillo</i>	<i>Blanco mate</i>
<i>pH</i>	<i>6.3</i>	<i>7</i>
<i>Acidez titulables</i>	<i>0.18</i>	<i>0.20</i>
<i>Densidad o peso especif.</i>	<i>1.030</i>	<i>1.028</i>

4.3. Materiales y equipos.

Para la elaboración de queso de pasta fresca y blanda se tomaron en cuenta los siguientes materiales y equipo:

a) *Materias primas:*

- *Leche fresca de vaca de primera calidad.*
- *Sal refinada.*
- *Medio de bacterias acidófilos.*
- *Azúcar.*
- *Saborizantes: loroco, ajo, cebolla y chile picante.*



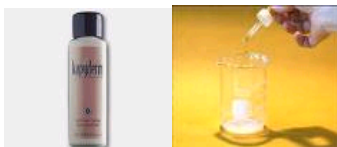
b) *Equipos:*

- *Instrumentos analíticos: bureta, pipetas, Beacker, pH-metro (medidor de pH), titulador, termómetro y otros.*
- *Ollas.*
- *Cucharones y cucharas.*
- *Paletas de madera*
- *Mantas de colar.*
- *Coladores.*
- *Báscula granataría (Terrallon)*



Ácido láctico.**Fenolftaleína.****NaOH 0.1N****c) Reactivos:**

- *Ácido láctico.*
- *Fenolftaleína.*
- *Hidróxido de sodio 0.1N.*

**4.4. Proceso experimental.**

Para poder desarrollar un queso con propiedades funcionales se establecieron modificaciones tecnológicas para mejorar la fabricación del queso y de esta manera ofrecer alternativas innovadoras que beneficien a productores artesanales e industriales mediante la sustitución de enzimas por bacterias acidófilas.

Fue necesario mediante ensayos previos a la elaboración seleccionar primeramente la técnica tradicional de elaborar quesos frescos y combinarla con la elaboración del yogurt, partiendo del principio que las bacterias se desarrollan por si solas en el yogurt mediante el agregado de medios de cultivos desarrollados con bacterias acidófilas. La combinación de éstas técnicas dio paso a un queso con características aceptable organolépticamente únicas, de ahí se procedió a desarrollar otras características especiales agregando especias aromáticas que fueran populares entre los consumidores cómo; loroco, ajo, cebolla y chile picante.

4.4.1. Técnica combinada de elaboración (Anexo 1)

*Después del calentamiento de la leche fresca sin pasteurizar y leches pasteurizadas se efectuaron los controles físico-químicos anteriormente mencionados, fue necesario ajustar el pH (ácido láctico 11g y ácido cítrico 6g) para propiciar un medio ácido adecuado en el desarrollo de las bacterias acidófila, el pH alcanzado fue de 5 como el del yogurt natural. Se formuló los ingredientes basándose en un galón de leche (3750 ml) luego se multiplicó por los 5 galones (18750 ml) logrando estandarizar la producción del queso. Al momento del calentamiento de la leche cuando alcanzó la temperatura de 82°C a los 15 minutos se agregó el azúcar que favorecen al desarrollo de las bacterias acidófilas. Luego, fue inoculada en la leche pasteurizada con un cultivo natural ya formado como el del yogurt natural con bacterias *Lactobacillus acidophillus*.*

La leche inoculada se dejó reposar por 2 horas a 42°C, con el objetivo que se desarrollaran las bacterias por si solas, transcurrido el tiempo de inoculación se procedió a precipitarla con ácido láctico y cítrico a manera que alcanzara un pH de 5, con esto se aseguró el medio adecuado para las bacterias acidófilas, dejándola reposar por una hora más. Luego se calentó a 60°C., con el objetivo de formar el precipitado de la caseína, la coagulación se llevó acabo en casi 5 minutos y se completo en casi su totalidad en 6 minutos, la temperatura que mejor dió resultados para la coagulación fue 60°C., con esta se trabajó en todos los ensayos posteriores. Con una manta de colar se separó el suero del queso, fue necesario ejercer una leve presión en forma de torniquete para separar el suero de la cuajada formada, el queso obtenido se le agregó el 1% de sal y

luego fue dejado en reposo a temperatura ambiente por 20 minutos en un molde plástico tipo vasito y por último se almacenó a 2°C.

Este tipo de queso no dió las características esperadas por lo que se tubo que modificar dichas técnicas y formulas, a ésta le llamaremos ensayo N° 1. a partir de ésta se desarrolló la prueba final.

A continuación se describe en el siguiente cuadro las fórmulas con las cantidades de los ingredientes que se utilizaron para la elaboración de los quesos frescos. Estos se evaluaron organolépticamente y se seleccionó el mejor según los panelistas.

Tabla N° 6. Fórmulas para la producción de queso.

INGREDIENTES	A*	B*
<i>Leche entera</i>	<i>3750 ml</i>	<i>3750 ml</i>
<i>Carbohidratos</i>	<i>17g</i>	<i>17g</i>
<i>Cultivos naturales</i>	<i>300 ml</i>	<i>300 ml</i>
<i>Ácido láctico</i>	<i>12g</i>	
<i>Ácido cítrico</i>		<i>9g</i>
<i>Sal</i>	<i>37.5g</i>	<i>37.5g</i>

** A= ácido láctico*

**B= ácido cítrico*

4.4.2 Desarrollo de queso con propiedades funcionales.

Debido a la calidad que se ofrecen de leches frescas en el mercado nacional y a la falta de equipos adecuados de pasteurización se tuvo que trabajar con leches pasteurizadas comerciales.

A continuación, se describirán las técnicas que se desarrolló para la elaboración de queso con características funcionales. Tecnológicamente, se reducen los tiempos de proceso y de elaboración ofreciendo una alternativa muy importante a la industria procesadora láctea ya que esto se traduce en un ahorro económico muy importante en este rubro.

1) Recepción de materia prima: la leche cruda al inicio tuvo una temperatura de 4 °C, se determinó su control de calidad mediante pruebas cualitativas y cuantitativas como ya se describió anteriormente. Luego de verificar la calidad de la leche fresca, se le determinó su pH, utilizando papel indicador marca pHyrion con escala de 1 a 14. Éste se realizó, tomando 5 ml. de leche pasteurizada en un beacker de 10 ml., luego se introduce la cinta de tal manera que se empape de leche y después se realiza la lectura con respecto a una escala de colores que indican el pH presente en la solución o la concentración de iones de hidrógeno presente en la leche. Ya conocida la concentración de iones de hidrogeno, en este caso de 7 (neutro), se procedió a agregar los demás ingredientes.



2) Pesado de ingrediente.



Para el pesado de los ingrediente se utilizó una báscula granataria digital marca Terrailon con capacidad de 5lbs., entre los ingredientes utilizados tenemos: azúcar (17g) y ácido láctico (11ml), sal (37.5g) y el cultivo natural (300ml) en 3750 ml. de leche fresca pasteurizada.

3) Calentamiento y mezcla de ingredientes.



El tratamiento térmico se efectuó a una temperatura de 80°C., se mezcla el azúcar para aumentar los carbohidratos que sirven como combustible a las bacterias que puedan usarlo para su desarrollo. Luego, se baja la temperatura a 60°C. y se prepara con el ácido láctico una mezcla con el cultivo natural para precipitar (desnaturalización) la caseína ajustándose a un pH de 5, logrando el punto isoeléctrico de sus proteínas en un tiempo de 3 min., formando la cuajada de textura blanda deseada.

4) Desuerado: *En esta etapa del proceso se debe mantener a una temperatura de 60°C. hasta su enfriado. Para el proceso de desuerado se tomó en cuenta las características del coagulado de la caseína, el precipitado fue completo e instantáneo. Este no forma coágulos compactos como tradicionalmente sucede cuando se coagula con cuajos (enzimas) por lo que no se efectuó cortes con agitación ya que la naturaleza de la partícula formada no es lo suficientemente consistente para realizar esta operación de corte como tradicionalmente se efectúa.*



Los resultados fueron satisfactorios ya que se pudo separar de la parte líquida (suero), la parte sólida (cuajada) sin ningún otro tratamiento ya que fue espontáneo.

Luego se coloca y se desuera en un colador plástico cubierto con una manta de colar fina, ejerciendo una leve presión en la cuajada para ayudar a que separe más rápido el suero de la pasta de cuajada. Se deja reposar por 15 min. Luego se agrega la sal poco a poco sobre una superficie plana.

5) Saborizantes: *a partir de la pasta afinada se adicionaron diferentes saborizantes para aumentar el sabor, esto se hizo con la idea de buscar sabores que son de la preferencia de los consumidores; entre estos saborizantes podríamos mencionar: ajo en polvo (10 g) cebolla en polvo (10 g), loroco fresco (6 onz.) chile picante (2 onz.). Hay que aclarar que las especias agregadas fueron por separado es decir que cada una de ella es un queso diferente, sin mezclar las especias.*

6) Moldeado o envasado: *la cuajada se colocó en moldes de forma redonda que darán la apariencia final al queso a temperaturas de 50°C., los moldes que se utilizaron son de plásticas circulares con un diámetro aproximado de 15 cm. de circunferencia por 10 cm. de alto.*

7) Almacenamiento: *ésta operación se realizó para lograr mantener por mucho más tiempo el queso, por lo que fue necesario mantenerlos a una temperatura de 2 °C. durante todo el tiempo que este fue analizado.*

4.5. Análisis estadístico.



Las primeras pruebas de degustación que se efectuaron, fue por selección o eliminación de los dos tipos de queso que se elaboraron (A y B), es decir entre la escogitación del mejor de ellos. La evaluación de las pruebas sensoriales, se realizó en la Facultad de Agricultura e Investigación Agrícola con 15 degustadores no entrenados (estudiantes de la carrera de Ingeniería en Alimentos e Ingeniería Agroindustria) dividido en dos grupos de forma aislada. Cada uno recibió muestras de dos quesos por sesión, servida en copas plásticas identificadas por códigos (A y B), que fueron acompañadas con un vaso con agua para enjuagarse la boca después de cada degustación y una cartilla (**Anexo 2**) para la evaluación con escala hedónica verbal de 9 puntos. En el tratamiento de los datos, se utilizó el análisis estadístico de resultados de prueba de "t" "diferencias de medias (t Student), para determinar el grado de significancia estadística de sus variables del 1% y el 5% de confianza en cada tratamiento, utilizando el procedimiento estadístico de SPSS. Con el propósito de evaluar los efectos de dos quesos con ácido láctico más bacterias lácticas (A) y con ácido cítrico más bacterias lácticas (B). Tomando en cuenta los atributos de: apariencia, color, olor, sabor, textura y aceptación. El objetivo del diseño estadístico es determinar el grado de aceptación y preferencia que tendría en los consumidores, donde a través del análisis estadístico se determinara el mejor producto de los dos, basados en los resultados de la prueba del

diseño, se comparan las medias de las muestras pertenecientes al mismo grupo de degustadores para calcular las diferencias entre los valores de las dos variables y contrastar si sus medias son distintas o no, estableciendo las diferencias entre sus promedios, es decir:

$$\text{Si: } \mu_a = \mu_b \Rightarrow \mu_a - \mu_b = 0 \Rightarrow \mu_a \neq 0$$



En la segunda prueba de degustación fue necesario efectuar evaluaciones de preferencia personal midiendo el grado de aceptación del queso que fue seleccionado en la primera prueba por los panelistas, el que fue elegido es queso (A). Utilizando el método de Chi-cuadrado, este análisis se utilizó para probar, de acuerdo con las hipótesis, el grado de distribución de frecuencias observadas comparadas con la distribución teórica, para ello fue necesario aplicar la prueba de triángulo en un queso testigo (T) sin bacterias acidófilas y el queso patrón (P) con bacterias acidófilas. Con 25 estudiantes de Ingeniería en Alimentos e Ingeniería Agroindustrial. En el diseño de Chi-cuadrado se utiliza la siguiente ecuación:

$$X^2 = \frac{(\sum X_i - np)^2}{np(1-p)}$$

Donde:

X = número de opiniones acertadas.

n = número total de ensayos practicados o número de jueces por repeticiones efectuadas

p = probabilidad del éxito en un ensayo único (para una prueba triangular es 1/3).

$q = (1-p)$ = probabilidad de la falla en un ensayo único.

0.5 = factor de corrección por continuidad para Chi- cuadrada ajustada.

El factor de corrección se aplica sólo para un grado de libertad en el cual los resultados se consignan como “acierto” y “falla”.



4.6. Análisis microbiológico.

Los análisis microbiológicos se efectuaron en el Laboratorio Clínico Cruz Muñoz, (Colonia Médica, Diagonal Víctor Manuel Posada, N° 1317). Primeramente fue para determinar el grado de higiene e inocuidad durante la elaboración de muestras en queso con bacterias y sin bacterias, y el segundo análisis microbiológico fue para encontrar si existe la presencia de bacterias acidófilas o lácticas (*Streptococcus thermophilus*), es el que tiene mayor importancia en la salud y la que puede determinarse su efecto funcional al consumirla. Para ello se tomó como análisis el yogurt que se utilizó como cultivo puro y el queso con bacterias.

Los quesos elaborados se analizaron en periodos de 0 a 5, 5 a 10 y 15 día, basada en los Métodos Oficiales de Análisis Químicos (AOAC), específicamente en los Métodos Oficiales del Análisis Bacteriológico, Cap. 3, 8ª Edición, en los dos tipos de análisis. Las técnicas utilizadas sirvieron para determinar: Unidades Formadoras de Colonias (UFC), Número más Probable (NMP), en el recuento de bacterias *Staphylococcus aureus*

UFC/gramos, Coliformes totales UFC/gramos, Escherichia coli UFC/gramos y Salmonella spp en 25 gramos, hongos y levaduras. A continuación, se describirán los pasos de los análisis microbiológicos utilizados:

Materiales: cajas petry, tubos de ensayo, ansas, mechero, guantes, jeringas de 5 y 10 ml.



*Preparación de los tubos: se preparan 12 tubos por cada muestra en el que se identifican por su patrón N° 1 y (1:10), patrón (1:100), patrón (1:1000) y para cada muestra con las diluciones mencionadas de queso a analizar. Agar Vogel Jhonson (color rosado); sirve para determinar *Sthaphylococcus aureus* (el patógeno y no patógeno). Laurylsulfat-bouillon (color amarillo paja): para el número más probable (NMP). SS-Agar (color rosado oscuro): para determinar *Salmonella*. Agar Dextrosa Potato (color amarillo): para determinar levaduras y hongos y Chromocult (color amarillo): para determinar *Coliformes* y *Escherichia coli*. Estos agares tienen un tiempo promedio de calentamiento de 5 minutos,*

con sus respectivos pesos para cada muestra realizada. Se pone el medio en las cajas petry (5ml), se deja enfriar el medio y se inoculan con las muestras de los quesos elaborados, de 0 a 5 días, de 5 a 10 días y de 10 a 15 días, las placas cerca del mechero.

Descripción del análisis del proceso de cantidad de bacterias presentes en el queso, prueba de la Oxidasa y Catalasa:

- **Materiales:** cajas petry, agar nutritivo, muestra de sangre, asas, mecheros, guantes, jeringas de 5 y 10 ml.
- **Objetivo de la prueba:** Identificar distintas especies pertenecientes de la familia Enterobacteriaceae, diferenciar especies de Pseudomonas y Estafilococos y Estreptococos.

a) Prueba de la Oxidasa: Esta prueba sirve para determinar la presencia de enzimas citocromo oxidasa en preparaciones de microorganismos. Permite diferenciar enterobacterias, distintas especies de Streptococcus, Staphylococcus y Micrococcus (-) de Pseudomonas y Aeromonas (+). Se debe partir de cultivos puros de bacterias crecidos en Agar Nutritivo 18-24 horas.

Metodología:

A) Tomar con el ansa una colonia de cultivo puro.

B) Aplicar la colonia sobre el disco embebido en el reactivo de Kovacs para Oxidasa (naftol+dimetilparafenilendiamina) extendiendo bien el material)

C) Esperar de 5-10 seg. y observar la coloración.

- **Prueba positiva:** la tira vira a color azul por oxidación del compuesto a azul de indofenol.
- **Prueba negativa:** no hay modificación.

b) Prueba de la Catalasa: Esta prueba es para detectar presencia de la enzima catalasa en preparaciones de microorganismos. Diferencia *Streptococcus* (-), *Clostridium* (-), de *Sthaphylococcus* (+), *Bacillus* (+), y *Micrococcus* (+).

Metodología:

A) Colocar una gota de agua en un portaobjeto limpio.

B) Colocar una ansada de colonia a probar sobre la gota y mezclar (no dejar secar).

C) Agregar 2 gotas de agua oxigenada.

Resultado positivo: formación de burbujas debido a la producción de O_2 a partir de H_2O_2 por acción de la enzima.

4.7. Análisis bromatológicos.

Los análisis bromatológicos fueron realizados en la Universidad de El Salvador, en la Facultad de Ciencias Agronómicas, Departamento de Química Agrícola. Se efectuaron análisis a seis muestras de queso fresco con bacterias y sin bacterias lácticas, al igual que las muestras microbiológicas, en la muestra bromatológica se analizaron en períodos de 0 a 5, 5 a 10 y 10 a 15. Con el objetivo de medir la calidad nutritiva de este tipo de queso, y verificar que influencia tiene (bacterias) en el aumento o disminución de proteínas en función de tiempo. Para ello fue necesario efectuar análisis de: % de proteína, % grasa, % humedad, pH, % Acidez titulable, Sólidos Totales (ppm), % Ceniza, Calcio (mg/100g) y Fósforo (mg/100g). Dichos análisis fueron realizados bajo los Métodos Oficiales de AOAC 990.19, 16° Edición.

4.8. Análisis de costo.

El análisis de costo se efectuó con el objetivo de valorar que tan viable es producir este tipo de queso fresco de pasta blanda con bacterias lácticas. Este se calculo de la siguiente manera:

Tabla N° 7. Evaluación de costos de elaboración de queso fresco y pasta blanda.

INGREDIENTES	Peso (ml/g)	Costo \$	Total costo
<i>Leche entera</i>	<i>3750 ml.</i>	<i>3.19</i>	<i>3.19</i>
<i>Carbohidratos</i>	<i>17g</i>	<i>0.33 (1 lb.)</i>	<i>0.013</i>
<i>Cultivos naturales</i>	<i>300ml</i>	<i>0.45</i>	<i>0.90</i>
<i>Ácido láctico</i>	<i>12ml</i>	<i>1.80</i>	<i>0.22</i>
<i>Sal</i>	<i>37.5 g</i>	<i>0.05</i>	<i>0.004</i>
TOTAL			4.33

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

Basándose en la información obtenida en el proceso de los análisis de degustación, los resultados se sometieron a evaluaciones estadísticas mediante la prueba de “t” con diferencias de medias. Evaluando los quesos prototipos con ácido láctico más bacterias (A) y queso con ácido cítrico más bacterias (B). Para ello, fue necesario medir los atributos de cada queso específicamente: la apariencia, olor, color, sabor, textura, aceptación personal. El análisis sensorial, se realizó con 15 panelistas no entrenados (focus grup) en una escala hedónica del 1 al 9 de calificación.

Luego para evaluar al queso que fue el preferido por los panelistas se realizó una prueba estadística de triángulo con el objetivo de identificar si los panelistas encontraban diferencias significativas entre un queso con bacterias y otro sin bacterias, en este caso el queso con preferencias fue el queso con ácido láctico más bacterias (A).

A continuación, se describirán en la siguiente tabla los resultados de prueba de “t” con diferencias de medias para queso con ácido láctico y ácido cítrico, tomando en cuenta las tablas de distribución de “t” student.

(Anexo 3)

Tabla N° 8. Medias para queso con ácido láctico

	Textura	Olor	Sabor	Color	Apariencia	Aceptación
1	6	5	4	5	6	6
2	8	7	9	9	8	8
3	8	7	8	5	4	6
4	8	9	9	9	9	8
5	6	6	6	5	4	6
6	7	7	8	8	7	7
7	8	7	8	8	8	8
8	5	5	7	5	5	7
9	8	7	7	8	7	7
10	9	9	8	9	7	8
11	4	6	6	7	7	5
12	4	6	7	7	7	8
13	7	6	7	8	5	8
14	8	7	8	8	8	8
15	7	8	8	8	8	8
Total	103	102	110	109	100	108
Medias	6.9	6.8	7.3	7.3	6.7	7.2
X_i²	741	714	830	825	700	792

Tabla N° 9. Medias para queso con ácido cítrico

	Textura	Olor	Sabor	Color	Apariencia	Aceptación
1	6	6	8	5	7	7
2	7	8	7	8	6	8
3	9	8	9	8	9	9
4	7	7	8	7	8	7
5	7	8	7	8	7	8
6	2	6	2	7	6	2
7	7	6	5	6	7	6
8	5	5	6	7	7	6
9	8	7	8	8	7	8
10	9	7	9	8	8	9
11	8	7	8	8	7	9
12	4	5	3	7	6	4
13	7	5	7	8	7	8
14	8	8	7	8	8	7
15	5	7	5	5	6	7
Total	99	100	99	108	106	105
Medias	6.6	6.7	6.6	7.2	7.1	7.0
X_i²	705	684	713	794	760	787

5.1. Análisis estadístico de resultados por característica organoléptica

Los resultados que presenta el Software estadístico SPSS en Análisis de Medias para muestras Independientes, aparece la significancia o valor $-P$ de la prueba.

Entonces la decisión, utilizando el valor $-P$ de la prueba se basa en el siguiente criterio:

- a) Aceptar H_0 , si el valor $-P > \alpha$
- b) Rechazar H_0 , si el valor $-P \leq \alpha$

Las decisiones basada en el estadístico crítico o valor $-P$ de la prueba, son esencialmente las mismas.

5.2. Resultados con spss.

1.- Característica: Textura

Estadísticos de grupo

	ORIGEN	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
TEXTURA	láctico	15	6.87	1.552	.401
	cítrico	15	6.60	1.920	.496

Prueba de muestras independientes

		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
									Inferior	Superior
TEXTURA	Se han asumido varianzas iguales	.348	.560	.418	28	.679	.27	.637	-1.039	1.572
	No se han asumido varianzas iguales			.418	26.824	.679	.27	.637	-1.042	1.575

i) Decisión Estadística:

Como el valor $-P$ de la prueba (sig. bilateral) de $0.679 > \alpha = 0.418$, Siendo $\alpha = 0.05$, por lo tanto como $0.679 > 0.05$, se acepta H_0 : La calidad del queso Tipo A y Tipo B son iguales en cuanto a Textura. (Decisión basada en la comparación del Valor p de la prueba (sig. bilateral) y el nivel de significancia. Podemos concluir que ambos productos evaluados tienen diferencias mínimas en cuanto a textura, por lo que se dice que no existe diferencia estadísticamente hablando.

2.- Característica: Olor

Estadísticos de grupo

ORIGEN	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
OLOR láctico	15	6.80	1.207	.312
cítrico	15	6.67	1.113	.287

Prueba de muestras independientes

		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
									Inferior	Superior
OLOR	Se han asumido varianzas iguales	.012	.913	.315	28	.755	.13	.424	-735	1.002
	No se han asumido varianzas iguales			.315	27.816	.755	.13	.424	-735	1.002

ii) Decisión Estadística:

Como el valor $-P$ de la prueba (sig. bilateral) de $0.755 > \alpha = 0.315$, Siendo $\alpha = 0.05$, por lo tanto como $0.755 > 0.05$, se acepta H_0 : La calidad del queso Tipo A y Tipo B son iguales en cuanto a olor.

Podemos concluir que ambos productos evaluados tienen diferencias mínimas en cuanto a olor, por lo que se dice que no existe diferencia estadísticamente hablando.

3.- Característica: Sabor

iii) Decisión Estadística:

Estadísticos de grupo

ORIGEN	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
SABOR láctico	15	7.33	1.291	.333
cítrico	15	6.60	2.063	.533

Prueba de muestras independientes

	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas	Prueba T para la igualdad de medias								
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
									Inferior	Superior
SABOR	Se han asumido varianzas iguales	2.693	.112	1.167	28	.253	.73	.628	-.554	2.021
	No se han asumido varianzas iguales			1.167	23.505	.255	.73	.628	-.565	2.032

Como el valor $-P$ de la prueba (sig. bilateral) de $0.253 < \alpha = 1.167$, Siendo $\alpha = 0.05$, por lo tanto como $0.253 > 0.05$, se rechaza H_0 : La calidad del queso Tipo A y Tipo B en cuanto a sabor hay evidencia estadística a favor de H_i (la calidad es diferente en cuanto al sabor). Podemos concluir que el producto de mejor calidad en cuanto al sabor es el queso tipo A (ácido láctico).

4.- Característica: Color

Estadísticos de grupo

	ORIGEN	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
COLOR	láctico	15	7.27	1.534	.396
	cítrico	15	7.20	1.082	.279

Prueba de muestras independientes

		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
									Inferior	Superior
COLOR	Se han asumido varianzas iguales	2.763	.108	.138	28	.892	.07	.485	- .926	1.060
	No se han asumido varianzas iguales			.138	25.173	.892	.07	.485	- .931	1.065

iv) Decisión Estadística:

Como el valor $-P$ de la prueba (sig. bilateral) de $0.892 > \alpha = 0.138$, Siendo $\alpha = 0.05$, por lo tanto como $0.892 > 0.05$, se acepta H_0 : La calidad del queso Tipo A y Tipo B son iguales en cuanto a color.

Podemos concluir que ambos productos evaluados tienen diferencias mínimas en cuanto a color, por lo que se dice que no existe diferencia estadísticamente hablando.

5.- Característica: Apariencia

Estadísticos de grupo

	ORIGEN	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
APARIENC	láctico	15	6.67	1.543	.398
	cítrico	15	7.07	.884	.228

v) Decisión Estadística:

Prueba de muestras independientes

		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
									Inferior	Superior
APARIENC	Se han asumido varianzas iguales	5.245	.030	-.871	28	.391	-.40	.459	-1.340	.540
	No se han asumido varianzas iguales			-.871	22.292	.393	-.40	.459	-1.351	.551

Como el valor $-P$ de la prueba (sig. bilateral) de $0.391 < \alpha = 0.871$, Siendo $\alpha = 0.05$, por lo tanto como $0.391 > 0.05$, se rechaza H_0 : La calidad del queso Tipo A y Tipo B en cuanto apariencia hay evidencia estadística a favor de H_i (la calidad es diferente en cuanto al apariencia).

Podemos concluir que el producto de mejor calidad en cuanto a apariencias es el queso tipo B (ácido cítrico).

6.- Característica: Aceptación

Estadísticos de grupo

	ORIGEN	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
ACEPTAC	láctico	15	7.20	1.014	.262
	cítrico	15	7.00	1.927	.498

Prueba de muestras independientes

		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
									Inferior	Superior
ACEPTAC	Se han asumido varianzas iguales	1.679	.206	.356	28	.725	.20	.562	-.952	1.352
	No se han asumido varianzas iguales			.356	21.202	.726	.20	.562	-.969	1.369

vi) Decisión Estadística:

Como el valor $-P$ de la prueba (sig. bilateral) de $0.725 > \alpha = 0.356$, Siendo $\alpha = 0.05$, por lo tanto como $0.725 > 0.05$, se acepta H_0 : La calidad del queso Tipo A y Tipo B son iguales en cuanto a la aceptación.

Podemos concluir que ambos productos evaluados tienen diferencias mínimas en cuanto a aceptación, por lo que se dice que no existe diferencia estadísticamente hablando.

7.- Característica: Promedios**Estadísticos de grupo**

TIPOS	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
PROMEDIO láctico	6	7.0333	.26583	.10853
cítrico	6	6.8667	.26583	.10853

Prueba de muestras independientes

	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas	Prueba T para la igualdad de medias								
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
									Inferior	Superior
PROMEDIO	Se han asumido varianzas iguales	.000	1.000	1.086	10	.303	.1667	.15348	-.17530	.50864
	No se han asumido varianzas iguales			1.086	10.000	.303	.1667	.15348	-.17530	.50864

vii) Decisión Estadística:

Como el valor $-P$ de la prueba (sig. bilateral) de $0.303 > \alpha = 1.086$, Siendo $\alpha = 0.05$, por lo tanto como $0.303 > 0.05$, se rechaza H_0 : La calidad del queso Tipo A y Tipo B en cuanto a promedios hay evidencia estadística a favor de H_i (la calidad de los promedios es diferente).

Podemos concluir que el producto de mejor calidad en cuanto a promedios obtenidos es el queso Tipo A, estadísticamente hablando.

Tabla No. 10 Valor P de comparación de resultados:

<i>Atributos</i>	<i>Valor –P</i>	<i>Diferencia Significativa</i>
<i>Textura</i>	<i>0.679 (A) y (B)</i>	<i>No</i>
<i>Olor</i>	<i>0.755 (A) y (B)</i>	<i>No</i>
<i>Sabor</i>	<i>0.253 (A) y (B) 0.255</i>	<i>No</i>
<i>Color</i>	<i>0.892 (A) y (B)</i>	<i>No</i>
<i>Apariencia</i>	<i>0.391 (A) y (B) 0.393</i>	<i>No</i>
<i>Aceptación</i>	<i>0.725 (A) y (B) 0.726</i>	<i>No</i>
<i>Promedios</i>	<i>0.303 (A) y (B)</i>	<i>No</i>

Se puede resumir que a nivel de significancia en el cuadro anterior que no hay diferencia significativa entre ambas, por lo tanto se dice que la muestras A y muestra B son iguales.

*Luego de haber efectuado los análisis de atributos de aceptación personal entre medias, se efectuó el análisis sensorial de prueba de triángulo con el objetivo de determinar si existía diferencia perceptible entre dos muestras que fueron identificadas como queso con bacterias y otro sin bacterias. Para ello, se compararon tres muestras a la vez, de las cuales dos, son iguales entre sí y la otra es diferente. Se presentaron a los panelistas no entrenados tres muestras codificadas y una hoja de evaluación (**Anexo 4**) en las siguientes combinaciones: AAB; ABA; ABB; BBA; BAB y BAA. En donde la misma letra indica muestras iguales y la letra diferente la posición de la muestra desigual. Para esta prueba se*

requiere que los panelistas presten atención a una sola causa de variable, en la observación perceptible.

A continuación, se describe en la siguiente tabla el número de aciertos y no aciertos que hay en la prueba, cuyos resultados se sometieron a la evaluación estadística de Chi-cuadrada, con el objetivo de hacer la comparación de la hipótesis planteada.

Tabla N° 11. Tabulación de resultados de la prueba de triángulo.

Prueba	Acertado	No Acertado
1	1	0
2	1	0
3	1	0
4	1	0
5	1	0
6	1	0
7	1	0
8	0	1
9	0	1
10	1	0
11	1	0
12	0	1
13	1	0
14	0	1
15	1	0
16	1	0
17	0	1
18	1	0
19	1	0
20	1	0
21	0	1
22	1	0
23	1	0
24	1	0
Sumatoria 24	Sumatoria 18	Sumatoria 6

Este análisis utiliza para probar, de acuerdo con las hipótesis, el grado de una distribución de frecuencia observada comparada con la distribución teórica. La formula de Chi- cuadrada adecuada es llamada Chi-cuadrada ajustada:

$$X^2 = \frac{(\sum(X_i - np) - 0.5)^2}{np(1-p)}$$

Donde:

X= número de opiniones acertadas.

n= número total de ensayos practicados o número de jueces por repeticiones efectuadas

p= probabilidad del éxito en un ensayo único (para una prueba triangular es 1/3).

q= (1-p) = probabilidad de la falla en un ensayo único.

0.5 = factor de corrección por continuidad para Chi- cuadrada ajustada. El factor de corrección se aplica sólo para un grado de libertad en el cual los resultados se consignan como “acierto” y “falla”.

viii) Se formularon dos hipótesis:

- *Hipótesis nula (Ho): no hay diferencia entre el queso sin bacterias acidófilas y el queso con bacterias acidófilas. Ho: $X_1 = X_2$.*
- *Hipótesis Alternativa (Ha): existe una diferencia significativa entre el queso sin bacterias acidófilas y el queso con bacterias acidófilas. Ha $X_1 > X_2$.*

Según los datos obtenidos en el muestreo, aplicando la fórmula:

$$X^2 = \frac{(24 - 24 \times 0.67 - 0.5)^2}{24 \times 0.33 \times 0.67} = 10.4$$

Nivel de Significancia	
Estadístico	5%
X una cola	13

Comparando los resultados del cálculo de Chi- cuadrada ajustada con la “Tabla de x^2 calculada” es menor el valor de la probabilidad del 5%, por lo cual se puede decir que los jueces no detectaron de manera significativa la diferencia existente entre las muestras. La hipótesis Nula (H_0) se acepta y se rechaza la Hipótesis Alternativa (H_a).

La siguiente formula permite calcular la probabilidad exacta en la curva estadística:

$$Z = \frac{(X_1 - 0.5) np}{(np(1-p))^{1/2}}$$

$$Z = \frac{(24-0.5) (24 \times .033)}{(24 \times 0.33 \times 0.67)^{1/2}}$$

$$(23.5) (7.92)$$

$$Z = \frac{\quad}{\sqrt{5.3064}}$$

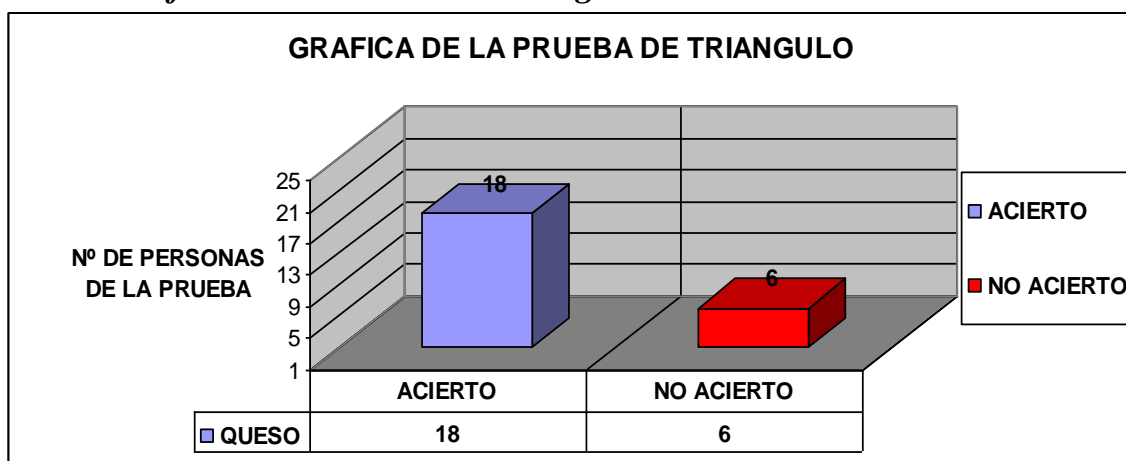
$$Z = \frac{186.12}{2.303} = \boxed{Z = 80.82}$$

El resultado indica que la probabilidad tiende a ser 0% (viendo las tablas estadísticas) de que los jueces no logran detectar la diferencia entre los dos tipos de muestras de quesos.

No se aplicó ningún análisis de varianza por los resultados obtenidos en el análisis de Chi- cuadrado y el cálculo de la probabilidad es exacta, puesto que no hay razón de obtener un resultado invariante.

Con todo ello, la diferencia sensorial entre queso sin bacterias acidófilas y el queso con bacterias acidófilas es evidente.

Gráfico N° 2. Prueba de Triángulo.

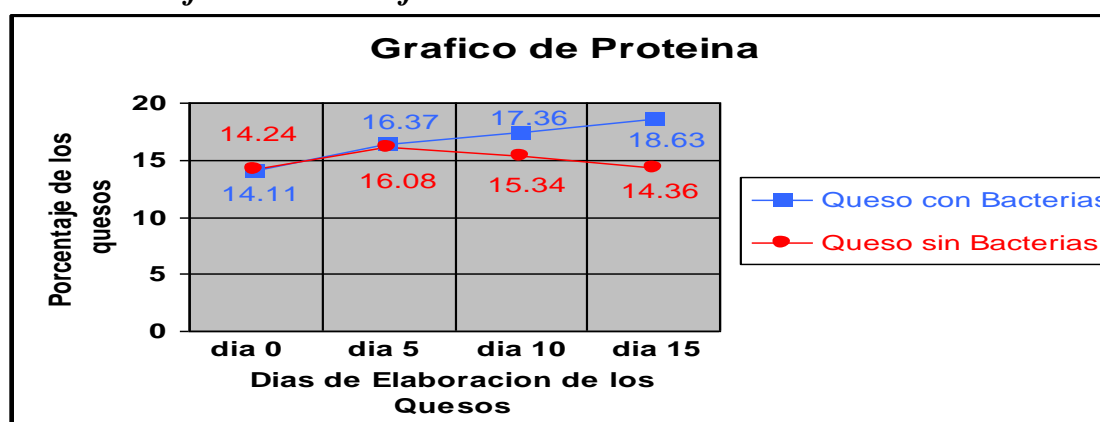


En la gráfica anterior se puede determinar la cantidad de aciertos presentes en la prueba de triángulo, que está representada por la cantidad de acierto que fue de 18 y de no-acierto que fue de 6, por lo que se estima que en esta prueba, el número de aciertos es mayor al rango establecido que pide este tipo de análisis mayor de “13” por lo tanto el panelista no encontró diferencias algunas en los dos quesos degustados.

5.3. Análisis Bromatológico (Anexo 5).

El análisis bromatológico realizado al queso que fue mejor evaluado por parte de los panelistas, en este caso es el queso con ácido láctico con bacterias, comparado con un queso sin bacterias en períodos de 0 a 15 días de elaborado. A continuación, se presentan las gráficas de los distintos análisis que fueron efectuados a los quesos.

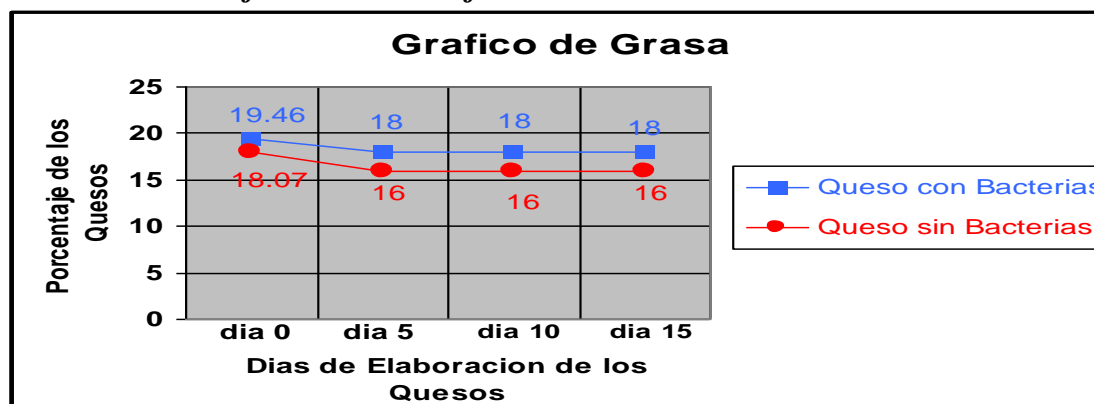
Gráfico N° 3: Gráfico de Proteína.



Como se puede ver en el gráfico del análisis de proteínas de los quesos, a partir del 0 día se observa que inicialmente contienen 14.11 por ciento en el queso con bacterias y 14.21 por ciento en el queso sin bacterias. Éstos incrementan a partir del 5° día, los valores del queso con bacterias presentó un porcentaje mayor de 16.37 por ciento, comparado con el queso sin bacterias que tiene un porcentaje de 16.08 por ciento, obsérvese que el queso sin bacterias contenía mayor porcentaje al principio y al pasar los días éste se disminuye. A partir del 10° día, el queso con bacterias tiene un aumento considerable del 17.36 por ciento, comparado con el queso sin bacterias que disminuye en un 15.34 por ciento, este crecimiento se hace más notable a partir del 15° día, donde el queso con

bacterias alcanza un mayor incremento de 18.63 por ciento, comparado con el queso sin bacterias que disminuye su proteína en 14.36 por ciento. Este incremento pudo ser causado por el agrado de cultivos lácteos que mejoran la disponibilidad de proteínas producidas por las bacterias lácticas, que la hidrolizan formando álbúmina y una metaproteína (la paracaseína) que es menos soluble que la caseína y que a su vez se combina con el calcio para formar un coágulo constituido en su mayor por paracaseinato de calcio, el cual es la principal proteína de los quesos frescos, convirtiendo estas proteínas en una mayor disponibilidad biológica (más digeribles y nutritivas) y no así en el queso sin bacterias que fue reducida ocasionando una drástica baja de proteínas, durante el transcurrir del tiempo, nótese que su porcentaje es similar al inicial 14.24 por ciento, el cual pudiera ser un índice de descomposición por la degradación de proteínas causadas por bacterias, ya que presentaba olores y sabores no propios del queso fresco y una coloración más amarillenta comparada con la del queso con bacterias.

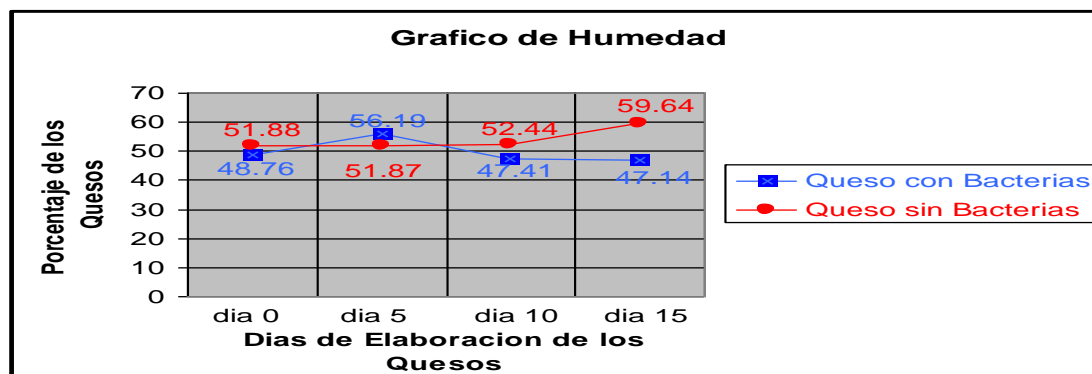
Gráfico N° 4. Gráfico de Grasa.



Del gráfico anterior del análisis de grasa, puede observarse que los porcentajes de los quesos solo existieron diferencias al cero día de análisis.

Nótese en el queso con bacterias tiene un porcentaje inicial de 19.46 por ciento, comparado con el queso sin bacterias con 18.07 por ciento, siendo de menor porcentaje. Obsérvese el comportamiento del 5° al 15° en el queso con bacterias no hubo ningún cambio significativo en su porcentaje manteniéndose en un 18 por ciento, esto pudo deberse a que las grasas durante la maduración se hidrolizan en gran parte, de igual manera sucedió con el queso sin bacterias que mantuvo un 16 por ciento, del 5° al 15° día. Debido a la cantidad de grasa presente el queso elaborado, concuerda con lo recomendado por la Norma Salvadoreña NSO 67.01.04:05 (**Anexo 6**) descrita en la Tabla N°1. (Características físico-químicas) la cual menciona que un queso fresco debe contener de 20 a 30% de grasa en masa de base húmeda. Por otra parte, Moreno (1991) en su obra: “Leches y sus Derivados”, hacen mención que el queso según su contenido en grasa se puede clasificar como cuarto graso aquellos que contienen de 10 a 25%, por lo que podemos considerar el queso elaborado con bacterias como un queso bajo en grasa, semiligth.

Gráfico N° 5. Gráfico de humedad.

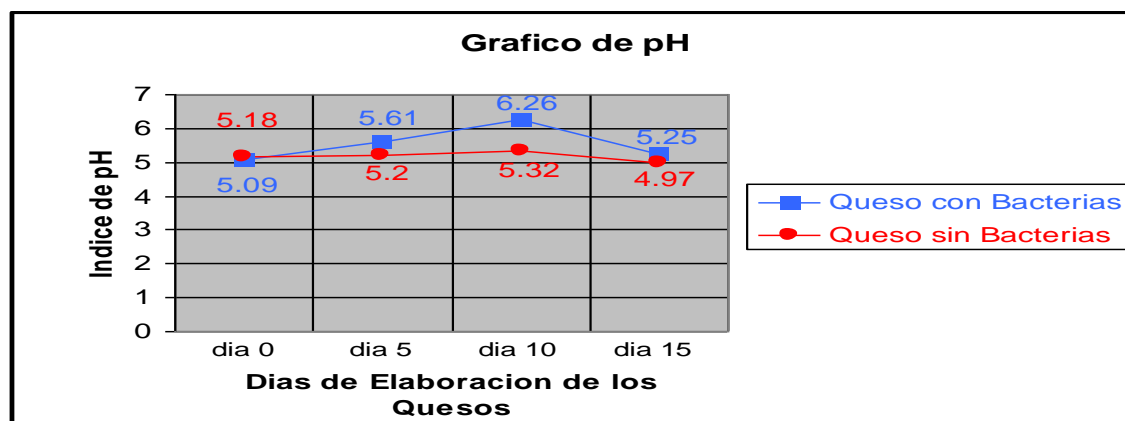


Del gráfico anterior se puede observar que el porcentaje de la humedad en día cero, el queso con bacterias presentó una humedad menor con 48.76 por ciento y que comparado con el queso sin bacterias es mayor con 51.88 por ciento. A partir del 5° día, el queso con bacterias incrementó en su porcentaje a 56.1 por ciento, no así el queso sin bacterias que se mantuvo sin alterar su humedad con 51.7 por ciento. Del 10 a 15° día, el queso con bacterias se mantuvo constante en 47.41 y 47.14 por ciento, manteniendo una frescura y calidad durante esos días; en el queso sin bacterias se observa que si existió diferencias a partir del 10° y 15° día de elaborado incrementando drásticamente entre 52.44 a 59.64 por ciento. Esto pudo deberse al ataque microbiológico posiblemente al destruir la red proteica del queso fresco.

Moreno (1991), menciona que la humedad en quesos es uno de los criterios más importantes para su clasificación en la elaboración de queso fresco y debido ha estas características se pueden clasificar en dos grupos como: quesos frescos y quesos maduros. Y que éstos dependen del método de elaboración y la separación del suero con lo que resultan con mayor o menor humedad. A partir de esta observación, éste clasifica a los quesos frescos como aquellos que contienen un 42 a 55% de humedad considerados como semiduro; coincidiendo con los queso elaborados con y sin bacterias en esta investigación. Por otra parte, la Norma Salvadoreña en la Tabla N°1, presenta los porcentajes de humedad en masa máxima como queso fresco aquellos que poseen el 45% de humedad. Por lo que podemos decir que el queso con bacterias nuevamente se encuentra entre

los rangos aceptables con lo descrito por la Norma Salvadoreña NSO 67.01.04:05.

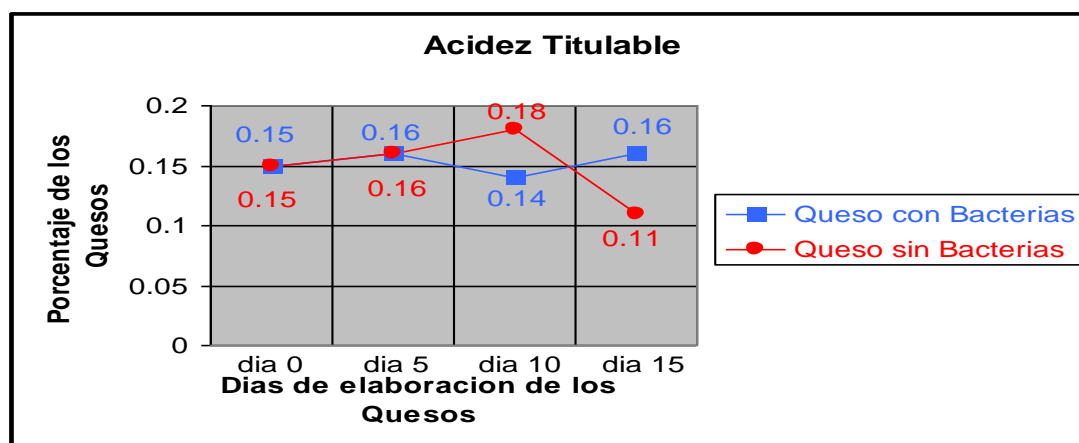
Gráfico N° 6. Gráfico de pH.



De la gráfica anterior se puede observar que el pH del queso con bacterias presenta a los 0 días inicio con 5.09 por ciento y el queso sin bacterias comenzó con 5.18 por ciento. Se puede observar que a partir del 5° día el queso con bacterias tiende a incrementar a 5.61 por ciento y que el queso sin bacterias casi se mantiene en los días 5° al 10° en 5.20 y 5.32 por ciento respectivamente. El queso con bacterias a los 15° días tuvo un incremento de 6.25 por ciento considerándose esto tal vez como una mayor actividad microbiológica produciéndose una disminución de acidez por dicha actividad; aunque si se observa que vuelve a disminuir a los 15° días y regulando dicha acidez hasta 5.25 por ciento, mientras que el queso sin bacterias a partir del 10° al 15° manifestó una variante bien marcada ya que luego de haber mantenido su acidez en cinco y fracción disminuye hasta 4.97 por ciento.

Varnan y Cols (1995), mencionan que la acidez es un factor muy importante a la hora de coagular y mantener el queso. Por otra parte, el pH y la acidez total son responsables del desarrollo de bacterias lácticas cuyo papel principal es la producción de ácido láctico promotor del sabor y aromas en los quesos. Esto fue bien determinante en el queso con bacterias debido a que presentó mejores características organolépticas comparadas con el queso sin bacterias que incluso fue de menor aceptación cuando se evaluaron ambos.

Gráfico N° 7. Gráfico de Acidez Titulable.



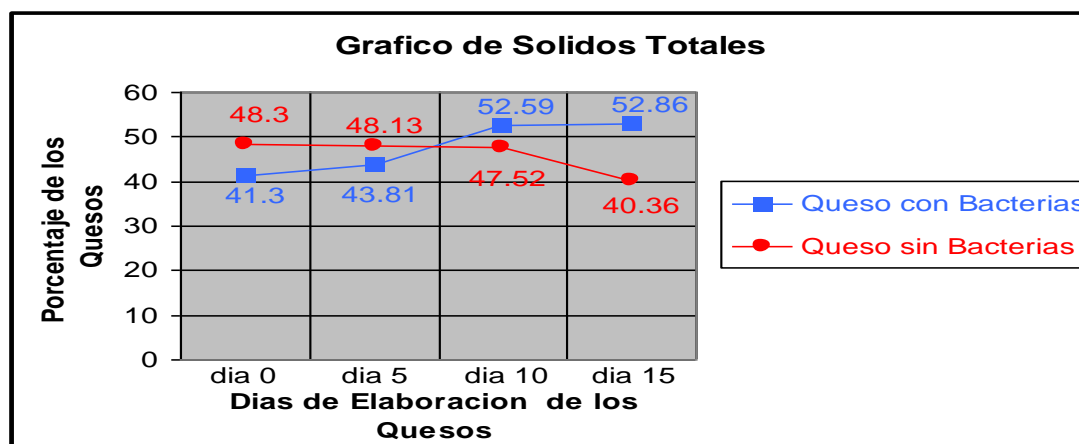
Obsérvese que en el gráfico de la acidez titulable el queso con bacterias presenta a los 0 días una acidez de 0.15 por ciento al igual que el queso sin bacterias que presentó el mismo porcentaje. Al 5° día ambos queso se comportaron de igual manera aunque incrementaron un grado más presentando valores de 0.16 por ciento. Pero al 10° día el queso con bacterias tuvieron un descenso de dos grados de 0.14 por ciento y el queso sin bacterias al contrario, aumentó dos grados con 0.18 por ciento. Para el 15° día existió en el queso con bacterias un aumento a dos grados con 0.16 por ciento y en el queso sin bacterias este tuvo un cambio drástico

comparado con el queso anterior disminuyendo de 0.18 a 0.11 por ciento. Esta reducción de la acidez expone al queso al desarrollo de microorganismos de la putrefacción ya que la acidez es un factor que controla la descomposición y aumenta el tiempo de almacenamiento. A consecuencia de este descenso el queso sin bacterias presenta un olor y sabor a ácido, color ligeramente amarillento y de poca consistencia. Caso contrario, sucedió con el queso con bacterias que fue de mejor sabor, olor, color y textura adecuada durante las evaluaciones, esto pudo deberse al agregado de bacterias lácticas con el que fue inoculado el queso, el cual su desarrollo fue paulatinamente beneficioso para esos caracteres de queso fresco y de pasta blanda que desarrollaron las bacterias como cultivos naturales iniciadores y que mantuvieron una acidez normal y adecuada para estas.

González (2006), en su libro “Producción Industrial de Productos Lácteos” habla que el crecimiento microbiano, tanto de poblaciones naturales como de poblaciones inoculadas, causan cambios químicos y de textura o ambos en los alimentos, de tal manera que el producto final puede almacenarse por más tiempo y que todas las bacterias lácticas fermentan diversos azúcares produciendo ácido láctico en cantidades suficientes elevadas como para inhibir o matar a la mayoría de los otros microorganismos. Estos conceptos concuerdan con el queso elaborado en la investigación, ya que éste tuvo una durabilidad de 22 días en refrigeración(a 4°C) más de lo que un queso fresco normal puede durar en anaquel y en las mismas condiciones de refrigeración. Por lo que se considera que las bacterias acidófilas presentaron resistencia al

crecimiento de otras no beneficiosas, haciendo que el producto tuviera mejor durabilidad, por lo que se concuerda con lo descrito por González.

Gráfico N° 8. Gráfico de Sólidos Totales.



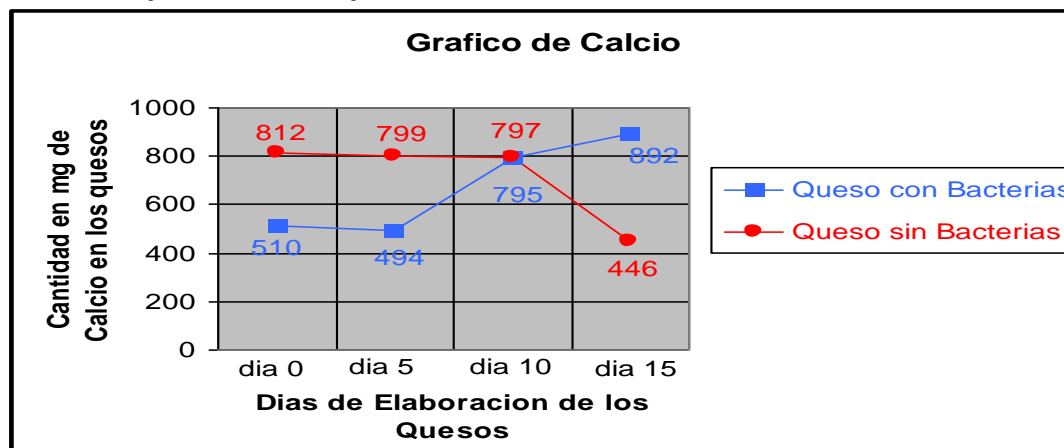
El concepto de sólidos totales en leche, se refiere a la suma de los sólidos no grasos y grasos que contiene ésta, en quesos muchas veces se le conoce como extracto seco total que viene siendo lo mismo, con la diferencia que en estos quesos, este estado físico se mide sobre la base de la suspensión micelar o caseína ligada a las sales minerales y emulsión de la materia grasa. Por lo que estos porcentajes serán en mayor cantidad en el queso comparado con los de la leche.

Así, tenemos en el gráfico que el queso con bacterias a partir de 0 días presenta el 41.30 por ciento, siendo menor que al queso sin bacterias que presenta una mayor cantidad de sólidos totales con 48.30 por ciento, este se mantuvo similar al 5° día con una cantidad de 48.13 por ciento, aún que con una ligera disminución decimal. Mientras que el queso con bacterias tiende ha aumentar sus sólidos totales en una proporción mayor con 43.81 por ciento, comparado con el 0 día al 5° día. Caso contrario, ocurre a partir del 10° en el queso sin bacterias que presenta una

disminución de 47.52 por ciento y que comparado con el queso con bacterias su comportamiento es muy diferente ya que este al 10° día tiene un aumento de 52.59 por ciento, casi de 10 puntos más comparado con el del 5° día de elaborado y manteniéndose este porcentaje hasta el 15° día de su evaluación con 52.86 por ciento. En el queso sin bacterias sucedió lo contrario, ya que disminuyó drásticamente 47.52 a 40.36 por ciento, lo cual indica nuevamente el efecto de deterioro del queso donde fueron degradados sus componentes nutricionales a causa de la presencia de microorganismos de la descomposición.

Varela. G. y Cols. (1999), en su investigación “Los Nuevos Quesos y la Salud”, mencionan que en los quesos frescos tradicionales españoles, la cantidad de sólidos totales en estos es de 50 por ciento y comparándolo con el queso de la investigación al término de su evaluación (15 días) fue de 52.86 por ciento, siendo mayor el porcentaje de éste que el reportado por Valera y Cols. Nuevamente se dice que el agregado de las bacterias acidófilas modifican y mejoran los componentes nutritivos ya que producen en menor tiempo fenómenos que equivalen a una predigestión proporcionando un alimento biológicamente nutricional, tomando en cuenta que estos fenómenos ocurren exclusivamente cuando los quesos son sometidos a un período de maduración.

Gráfico N° 9 Gráfico de Calcio



Se considera que de todos los minerales presentes en la leche el calcio es el más significativo desde el punto vista nutricional, está presente en forma abundante y fácilmente asimilable por el organismo. En las evaluaciones de los quesos, podemos observar en el gráfico que el queso con bacterias al 0 día presenta 510 mg. siendo menor que el encontrado en el queso sin bacterias que contiene 812 mg. al mismo día de evaluado. Al 5° día éste disminuyó a 494 mg. en el queso con bacterias y que comparado con el queso sin bacterias presentó similar situación ya que este al mismo día de evaluación disminuye a 799 mg. y se mantuvo al 10° a 797 mg.; pero en el queso con bacterias sucedió lo contrario, ya que al 10° día aumentó considerablemente a 795 mg. Obsérvese, que el queso sin bacterias al 15° día fue tan bajo comparado con el calcio al inicio de las evaluaciones, reduciéndose a la mitad con 446 mg. y no así en el caso del queso con bacterias que aumentó más al 15° días de su elaboración casi duplicando su valor comparado con el inicial con 892 mg.

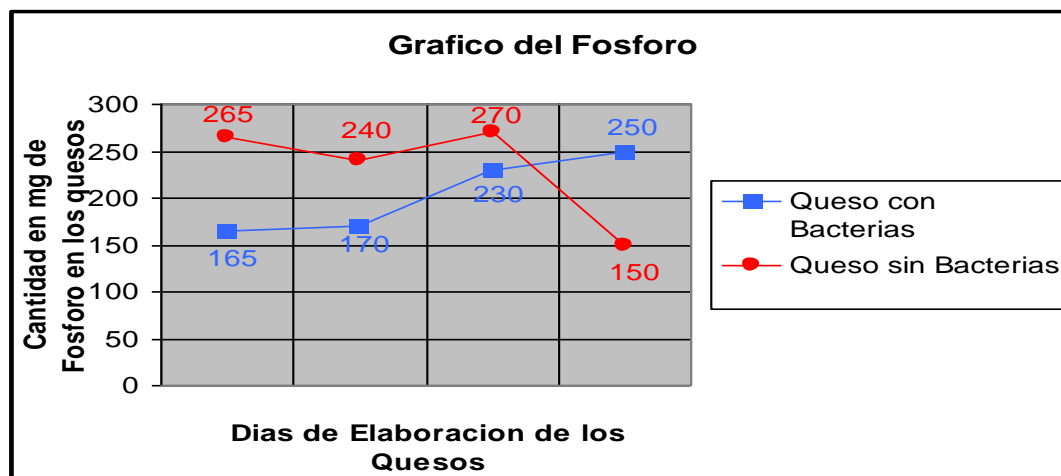
Como podemos ver que el incremento del calcio fue sustancioso, ya que las bacterias tuvieron un papel importante en el proceso de sintetizar y de ionizar este mineral en el proceso de predigestión.

Galantier M., y B. Bernard (2005), hace una distinción del valor nutritivo de diferentes productos lácteos, mencionando que los quesos frescos de leche contienen 111 mg. / 100 g. cuya cantidad es muy inferior comparada con la obtenida con el queso elaborado en la investigación, ya que presentó al cabo de 15° días de evaluación 892 mg / 100 g.

Wattiaux M. (2000), del Instituto Babcock para la Investigación y Desarrollo Internacional de la Industria Lechera, menciona que el calcio en la leche fresca es de 125 mg./100 ml., el cual es similar al dato que reportan Galantier y Bernard, en quesos frescos; pero si comparamos con el queso de la investigación vemos que estas cantidades son bastantes inferiores por lo que éste supera las perspectivas de un alimento rico en calcio siendo una fuente importante de suministro de este mineral indispensable para la vida.

Zavala J. (2005), dice que aproximadamente dos tercios del contenido total de calcio en la leche adoptan una configuración coloidal dispersa y sólo un décimo de él se haya ionizado. El estado de equilibrio entre el calcio iónico y las formas ligadas desempeñan un papel importante en la estabilidad física de los productos lácteos elaborados.

Gráfico N° 10. Gráfico de Fósforo



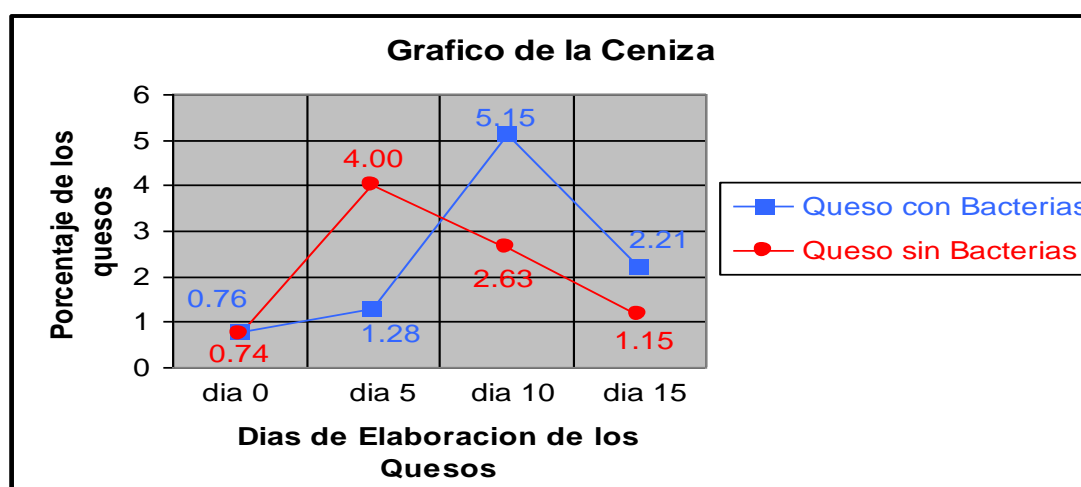
El porcentaje de fósforo también es considerable en la leche, aunque de menor importancia nutritiva que el calcio ya que puede ser proveído por otras fuentes alimenticias.

Así podemos observar que en el gráfico el queso con bacterias al 0 día presenta 165 mg., muy bajo si lo comparamos con el queso que fue elaborado sin bacterias que presentó 265 mg. al mismo tiempo de evaluación. El queso con bacterias tiende a un aumento a partir del 5° día de evaluación con 170 mg. y lo mismo sucede con el queso sin bacterias que aumenta al 5° a 240 mg., mayor que al del queso con bacterias. En el queso con bacterias al 10° y 15° día de elaborado mantiene las mismas tendencias al incremento; pero en mayor proporción comparada al del 0 día de su evolución aunque en el queso sin bacterias se mantiene constante sin aumentar considerablemente comparándolo con el queso con bacterias. En el 15° día, el queso con bacterias sigue nuevamente aumentando su valor hasta 250 mg. y no así, el queso sin bacterias que tuvo una disminución drástica pues se redujo casi a la mitad de fósforo desde el

comienzo al 15º día de su elaboración con 150 mg. el cual puede deberse al desequilibrio causado por microorganismos de la descomposición ya que las sales de fósforo preceden de la proteína y se encuentran en forma soluble y no en forma de complejo coloidal que estaría más ligada a la caseína. Esto da lugar a una más rápida desionización de la sal en la proteína ocasionando la pérdida de ésta en la red proteica del queso fresco.

Zavala J. (2005), menciona que por diálisis, se disocia el complejo calcio-fósforo y libera las unidades micelares y que a elevadas temperaturas se forman complejos con los que se disminuye la concentración de las especies iónicas y aumenta la estabilidad del sistema caseína. Esto pudo estar influenciado, por el rendimiento que se tuvo en el queso elaborado con bacterias, ya que el rendimiento obtenido es mayor que el que se tuvo normalmente cuando se elaboró el queso sin bacterias.

Gráfico N° 11. Gráfico de Ceniza



La ceniza y las sales no son términos sinónimos. Las primeras son el residuo blanco que permanece después de la incineración del queso y están compuestas por dióxido de sodio, potasio, calcio, hierro, fósforo y azufre, más algo de cloruro. Se considera que el azufre y las fracciones de fósforo y hierro preceden de la proteína.

Como se puede observar en la gráfica anterior el queso con bacterias al 0 día contiene casi el mismo porcentaje que el queso sin bacterias con 0.76 y 0.74 por ciento respectivamente. Pero al 5° día el queso con bacterias tiende a incrementar a 1.28 por ciento y el queso sin bacterias de igual manera incrementa mucho más que el queso con bacterias en un porcentaje de 4.0 por ciento. A partir del 10° día, el queso con bacterias aumenta en una forma desproporcionada comparado con el 0 día, ya que incrementa a 5.15 por ciento, comparado con el queso sin bacterias que tiende a disminuir su porcentaje a 2.63 por ciento. Ya en el 15° día de evaluación, el queso con bacterias tiende a disminuir bastante, comparado con el 10° día de elaboración con 2.21 por ciento; pero comparado con el queso sin bacterias que tiende a hacer menor ya que este presenta un 1.15 por ciento. Por lo que nuevamente el queso con bacterias es mejor, en cuanto a la calidad que el queso sin bacterias; ya que éste presenta mejor cantidad de elementos minerales (ceniza) que anteriormente se definieron y que son necesarios para la salud.

5.4 Análisis microbiológico (Anexo 7).

*Para el presente estudio se analizaron la interacción entre las bacterias ácido lácticas y un cultivo natural de bacterias prebióticas (bifidobacterias) que sirvieron para elaborar un queso de pasta fresca con características funcionales, con bacterias y sin bacterias. Los quesos analizados se elaboraron con las mismas técnicas y fórmulas para evaluar su comportamiento. Además estos fueron comparados con un cultivo natural comercial con bacterias acidófilas específicamente con *Lactobacillus bulgaris* y *Streptococcus thermophilus*, para tener un punto de parámetro, ya que no existe en el mercado un queso con las características del queso elaborado en esta investigación. Los análisis bacteriológicos fueron divididos en fases, una para evaluar la inocuidad y el otro para identificar la bifidobacteria. De los análisis efectuados a los quesos elaborados son los que a continuación se presentan en el siguiente cuadro:*

Tabla N°12. Análisis bacteriológico de quesos con bacterias y sin bacterias.

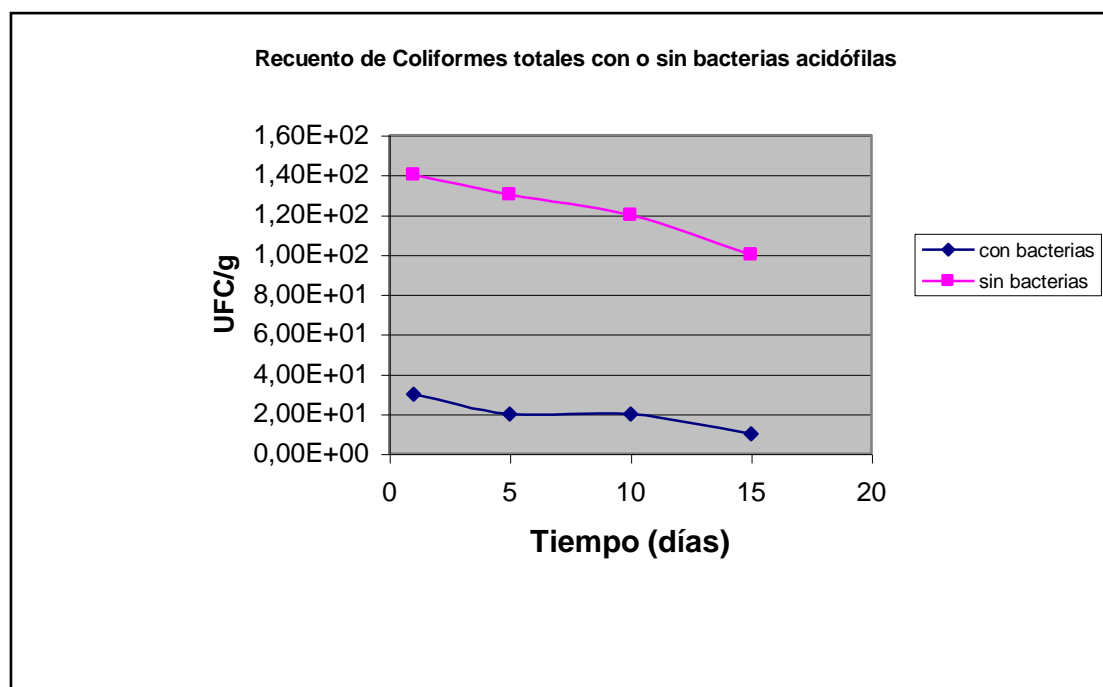
MUESTRAS	Tiempo	Staphylococcus aureus UFC/gramos	Coliformes Totales. UFC/gramos	Escherichia coli UFC/gramos	Salmonella sp. 25 gramos	Observaciones
- Con bacteria - Sin bacteria	0 día	(-) (-)	0.3×10^2 1.4×10^2	(-) (-)	(-) (-)	CUMPLE CON NORMA
- Con bacteria - Sin bacterias	5 días	(-) (-)	0.2×10^2 1.3×10^2	(-) (-)	(-) (-)	CUMPLE CON NORMA
- Con bacterias - Sin bacterias	10 días	(-) (-)	0.2×10^2 1.2×10^2	(-) (-)	(-) (-)	CUMPLE CON NORMA
- Con bacterias - Sin bacterias	15 días	(-) (-)	0.1×10^2 1.0×10^2	(-) (-)	(-) (-)	CUMPLE CON NORMA
- Yogurt Natural	1 a 15 días	(-)	(-)	(-)	(-)	CUMPLE CON NORMA

Del cuadro anterior se puede observar que de los diferentes análisis efectuados al queso con bacterias y sin bacterias todas las muestras fueron evaluadas en un período de días que van de 0 a 15 días de su elaboración. Estos fueron comparados con las Normas Salvadoreñas NSO: 67.01.04:05, específicamente para quesos no madurados. Los métodos utilizados para estos análisis son los recomendados por la AOAC. El reporte general menciona que las características organolépticas detectadas en el queso con bacterias y sin bacterias antes de los análisis bacteriológicos fueron: el sabor y olor son normal, color blanquecino, textura propia del queso de pasta blanda y la apariencia propia. De

acuerdo a los resultados de los análisis se puede observar que las muestras cumplen con las especificaciones de la Norma Salvadoreña en ambos quesos y el yogurt, ya que las cantidades de microorganismo están dentro de los límites permitidos. Una observación se hace cuando los quesos son analizados desde el 0 día es la cantidad de Coniformes Totales tienen una carga inicial mayor que el resto de los días de los análisis, esto no se considera nocivo para la salud ya que la norma dice que puede permitirse hasta 500 UFC/gramos.

A continuación se puede observar más claro de forma graficada la tendencia de disminución mediante los días pasan.

Gráfico N° 12. Recuento de Coliformes totales en quesos con y sin bacterias.



En el gráfico podemos ver que el análisis en el recuento Total de Coliformes comparando quesos con bacteria y sin bacteria, se observa que

a partir del 0 al 15° día el queso con bacterias tiende a descender desde $1,40E+02$ a $1,00E+02$ aunque no se considera un número que pueda afectar al producto, este pudo ser causada por la interacción y el descenso de pH, que incremento la formación de ácido láctico logrando mantener condiciones inhibiendo el efecto en la velocidad de crecimiento bacteriano y actividad metabólica de éstas en el queso fresco, a tal punto de mantener alto el ácido láctico. En el queso sin bacterias éstas se encontraron en mayor cantidad, aunque siempre no es una cantidad que afecte la condición de inocuidad en el queso, si se manifestó un descenso más prolongado con poca producción de ácido láctico más lento que el queso con bacterias en el mismo tiempo de evaluación y que a pesar de que se reconoce una interacción protooperativa se encontró: que estas fueron afectadas en la velocidad de producción de ácido láctico por la interacción de bacterias no benéficas.

Tabla N° 13. Identificación de bacterias acidófilas en queso fresco y yogurt natural. (Anexo 8)

MUESTRAS	TIEMPO	CATALASA	OXIDASA	MICROORGANISMO AISLADO	UFC x gramo
<i>Con bacterias</i>	<i>1 a 5 días.</i>	<i>NEGATIVAS</i>	<i>NEGATIVAS</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>1.0×10^2</i>
<i>Con bacterias</i>	<i>5 a 10 días</i>	<i>NEGATIVAS</i>	<i>NEGATIVAS</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>5.2×10^2</i>
<i>Con bacterias</i>	<i>10 a 15 días</i>	<i>NEGATIVAS</i>	<i>NEGATIVAS</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>10.5×10^2</i>
<i>Yogurt</i>	<i>1 a 15 días</i>	<i>NEGATIVAS</i>	<i>NEGATIVAS</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>15.7×10^2</i>

Del análisis al queso con bacterias se evaluó específicamente el *Streptococcus thermophilus* presente en este y en el yogurt natural a partir del 1° al 15° día de su elaboración, se puede observar que tiene un efecto progresivo mientras trascurren los días, el de mayor desarrollo bacteriano es el yogurt con 15.7×10^2 UFC/g. al término del 15° día y que comparado

con el queso con bacterias con 10.5×10^2 UFC/g en el mismo tiempo es menor. Algunos autores (Jñapika E., Pablo Gómez, 2004) mencionan que el ácido láctico juega un papel importante en el metabolismo humano, siendo la principal fuente de energía muscular y otras actividades beneficiosas y que el cuerpo metaboliza únicamente el isómero que el mismo puede sintetizar, o sea el ácido láctico L(+) al que se le denomina “ácido láctico fisiológico”. La gran capacidad de asimilación de este isómero hace que se pueda ingerir en los alimentos sin ningún tipo de restricciones.

*Por consiguiente, el tipo de ácido láctico producido en la fermentación de los derivados lácteos depende de las bacterias utilizadas, si tomamos en cuenta que en esta investigación se utilizaron bacterias naturales del yogurt y se encuentra que el aumento en el queso inoculado con estas bacterias tienen y mantienen latentes las bacterias *Streptococcus thermophilus* que tienen importancia funcional ya que esta especie se dice que son las únicas que son capaces de sintetizar el isómero L(+) en un 100% y que se le atribuyen las propiedades de disminuir el crecimiento de tumores malignos (Jñapika E., Pablo Gómez, 2004).*

Por tal beneficio que aportan dichas bacterias encontradas en el queso elaborado en esta investigación se cumple con los objetivos propuesto al ofrecer un alimento nutritivo y funcional.

VI. CONCLUSIONES DE LA INVESTIGACIÓN.

De los resultados de los ensayos realizados en esta investigación se comprobó que no se pueden utilizar leches sin pasteurizar, ya que pueden afectar el desarrollo de bacterias bífidas al ser contaminadas por bacterias no beneficiosas y de esta manera alterar sus características organolépticas, nutritivas y de anaquel.

Es necesario que las leches pasteurizadas se mantengan a temperaturas bajas (3 a 5°C), hasta el momento de su utilización para mantener la carga microbiológica controlada y evitar el desarrollo de otras bacterias que puedan competir por nutrientes con las bífidobacterias alterando sus procesos bioquímicos.

Del proceso térmico, el que mejor se adapta al proceso desarrollado en esta investigación fue a 55°C., ya que la velocidad de calentamiento afecta a la velocidad de síntesis de la sinéresis del suero y la velocidad de crecimiento de los microorganismos de arranque.

El proceso de desuerado es un punto clave, ya que éste difiere del proceso tradicional de un queso fresco de pasta blanda. Debido a su forma de elaboración y consistencia que se forma con el agrado de bacterias, hay que dejar reposar la cuajada en mantas de colar sin ningún proceso de presión alguna, cuyo tiempo oscila entre 15 a 20 minutos de reposo.

Del queso elaborado se calcula un tiempo de producción de aproximadamente 20 a 25 minutos y que comparado con el proceso de un queso fresco de pasta blanda tradicional que tarda aproximadamente de 2 a 3 horas en su elaboración. Este aspecto industrial daría un gran aporte económico para este tipo de industria al reducir el tiempo de producción.

De los quesos elaborados y evaluados organolépticamente el que mejor aceptación tuvo por parte de los panelistas fue el queso con ácido láctico (A), el cual presenta mejores características por atributos que fueron del agrado de los panelistas aunque sus evaluaciones con el queso tipo B fueron casi similares. Este quedó demostrado con el análisis estadístico que se aplicó a las muestras de quesos con bacterias y sin bacterias.

Con respecto al análisis estadístico se acepta la Hipótesis nula (H_0) de Igualdad de medias en los atributos de textura, olor, color, apariencia y aceptación, esto indica que hay evidencias estadísticas de que ambas muestras A y B, son de igual calidad organoléptica en términos promedios generales, aunque se observa que la muestra A es ligeramente más aceptada por tener un mayor valor promedio; es decir, las diferencias entre ambas son mínimas, por lo tanto no son significativas estadísticamente hablando. (Decisión basada en la comparación de t_0 y t_c).

La calidad del queso Tipo A y Tipo B son iguales en cuanto a sabor y hay evidencia estadística a favor de H_i (la calidad es diferente ligeramente en cuanto al sabor) por lo que podemos concluir que el producto de mejor calidad en cuanto al sabor es el queso tipo A (ácido láctico).

Comparando los resultados del cálculo de Chi-cuadrada ajustada con la “Tabla de x^2 calculada” es menor el valor de la probabilidad del 5%, y se puede decir que los jueces no detectaron de manera significativa la diferencia existente entre las muestras. La hipótesis Nula (H_0) se acepta y se rechaza la Hipótesis Alternativa (H_i).

En cuanto a los análisis bromatológicos de los quesos elaborados con bacterias y sin bacterias en períodos de 0 a 15 días, con muestreos cada 5 días para analizar la evolución de los estados de éstos, se estableció que el queso con bacterias mejora la calidad nutricional en todos los factores medidos (% proteína, grasa, humedad, ceniza, acidez y sólidos totales; así como calcio y fósforo) por lo que el queso con bacterias supera todas las exigencias de la Norma Salvadoreña NSO 67.01.04:05. Por otra parte, el queso con bacterias presenta una mayor estabilidad durante el período de evaluación de 15 días al no ser afectado en sus características nutritivas y organolépticas, se puede mencionar que este tiempo fue superado a 20 días de almacenamiento a 3°C. sin modificar esas características. Con esto se comprueba que el efecto de conservación de las bacterias ácido lácticas (bifidobacterias) tuvo un efecto positivo en el queso fresco de pasta blanda.

*Del análisis microbiológico se puede mencionar que el queso con bacterias cumple con la Norma Salvadoreña NSO 67.01.04:05. “Para quesos no madurados”, pues fue evaluado mediante 15 días de elaborado y comparado con un testigo en este caso un queso sin bacterias con la misma fórmula que se elaboró el queso con bacterias, evaluando su estado de inocuidad durante ese lapso. Así tenemos, que los análisis realizados fueron en *Staphylococcus aureus*, *Coliformes Totales*, *E. coli* y *Salmonella sp.*, en 25 gramos.*

Comparado con la Norma este se encuentra entre los parámetros permitidos por lo que el queso con bacterias se dice que es un alimento nutritivo e inocuo y funcional.

VII. RECOMENDACIONES DE LA INVESTIGACIÓN

Para la elaboración de este tipo de queso fresco de pasta suave es necesario trabajar con leches pasteurizadas para evitar que exista competencia entre bacterias y a su vez deberán estar a una temperatura de 5° C., hasta su utilización con el objetivo de mantener inactivas las cargas microbiológicas de la leche.

Es necesario calentar nuevamente la leche fría para lograr una temperatura de esterilización de 82°C por 15 minutos con el objetivo de propiciar un medio estéril al momento de la inoculación. Esta inhibición diferencial, permite que muchas de las enzimas de las bífidobacterias que permanezcan en la cuajada, puedan evitar la excesiva producción de ácido láctico, por lo que se recomienda mantener un pH =5.0, para lograr un efecto de precipitación de aproximadamente 1 a 2 minutos, tiempo necesario para formar la cuajada deseada.

Es recomendable, que en el proceso de desuerado no se compacte la cuajada como tradicionalmente se hace, hay que dejar que ésta se haga en forma natural permitiendo que se produzca la coalescencia de las partículas de la cuajada por sí sola, para que forme el queso.

El salado de la cuajada debe ser en seco y con sal refinada en una proporción del 1%, con esto se logra hacer lento el proceso de velocidad de formación de ácido, manteniendo inhibida el desarrollo de bacterias y además de impartir flavor esencial para el producto final.

Para lograr un queso de características de pasta blanda se debe utilizar ácido láctico a una cantidad no mayor de 12 g. para 3750 ml. a una

concentración de 85% y a un pH=5.00, para no alterar sus características organolépticas.

Hacer uso de la fórmula recomienda en esta investigación ya que el queso producto de la elaboración con la nueva técnica fue del agrado de los panelistas de degustación.

Es necesario comparar los resultados bromatológicos como microbiológicos se con respaldados por Normas Nacionales e internacionales, para tener una seguridad de la calidad e inocuidad del alimento que serán consumidos por la población.

Es necesario manejar las materias primas con todas las buenas prácticas de manufacturas para elaborar quesos de buena calidad, tal como se ha descrito.

Para lograr una diversificación del queso fresco de pasta blanda, se puede utilizar diferentes tipos de especies que se adaptan al sabor popular. Estos pueden ser chile picante, loroco, ajo y cebolla.

Aplicar para las características organolépticas la pruebas estadísticas entremedias de “t” Student, así como en la comparación por aceptabilidad utilizar pruebas de triangulo, tal como se describió en la investigación.

VIII. FUENTES CONSULTADAS.

- *Alais, Ch;* (2003), **“Ciencia de la Leche”**, Editorial REVERTE, S.A. Barcelona, España. Pág. 617-763.
- *Blanco,O,;* (2006), **“Los Prebióticos y Probióticos en Mejora del Organismo”**, Colegio Don Bosco Altamira; Caracas, Venezuela, Pág. 7.
- *Barrera,P,;* **“Invasión de los Probióticos”**, disponible [online] <http://www.pedriatra/dia.cl/sep2005/invasiónProbiòticos.ht>.
- *Di Marcechio,;* (2006), **“El Poder de los Acidófilos Para Sentirse Bien”**,disponible[online]<http://www.enplenitud.com/nota.asp?articuloid=5699>.
- *Dilajan S, Ch,;* (1984), **“Fundamentos de la Elaboración del Queso”**, Editorial Acribia Zaragoza, Pág. 477.
- *FAO-WHO. Codex Alimentarius,* **“Norma General del Codex para el Queso”**, Codex Stan – A-2005.
- *Gonzáles, Pedro;* **“Producción Industrial de Productos Lácteos”**, disponible[oline]<http://nostoc.usa/es/sefin>.
- *Jñapika E, Pablo Gomez. (2004)* **“Importancia Terapeutica de las Bifidobacterias”**. S/D.
- *Hernández Pablo;* (2005) **“Conservadores Naturales de los Alimentos”**, Oficina de Transferencia y Resultados de Investigación; Universidad Complutense de Madrid.

- -----; (2005), **“Bacterias Lácticas Productoras de Bacteriocinas”**, Oficina de Transferencia y Resultados de Investigación, Universidad Complutense de Madrid.
- **Magalhães, M.;** (1999), **“Guía Práctica de Quesos”**, Ha-lado Brasil, CHR. Hansen ind. ECOM. LTDA; Pág. 16.
- **Potter. N.;** (1985), **“Ciencia de los Alimentos”**, 2ª. Edición, EDUTEX, S.A. México D.F.
- **Rodríguez J.;** (2005), **“Selección de Bacterias Lácticas y Bífidobacterias con Propiedades Prebióticas”**, Oficina de Transferencia y Resultados de Investigación, Universidad Complutense de Madrid.
- **Salome, M.;** **“La Flora Intestinal de los Bebés Alimentados con Leche Materna es muy Rica en Bífidobacterias”**, disponible [online]<http://www.consumaseguridad.com/web/.es/investigacion/2006>.
- **Santos M.;** (1991), **“Leche y sus Derivados”**. 1ª Edición, Editorial Trillas, México; Pág. 9-31.
- **Scott. R.;** (2002), **“Fabricación de Quesos”**. 2ª Edición, Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España. Pág. 477.
- **Sorgunsen. A.;** (1999), **“Microbiología de la Fermentación Industrial”**, 7º edición, Editorial Acribia, Zaragoza.
- **Varnan Alan. H., Sutherlan J.;** (1995), **“Leche y Productos Lácteos, Tecnología, Química, y Microbiología”**, Editorial Acribia, S. A. Zaragoza, España. Pág. 291-350.
- **Varela. G. y Cols. (1999)** **“Los nuevos quesos y la salud”** Departamento De Nutrición de la Universidad Complutense de Madrid. Madrid, España.

- **Walstra. P.; y Cols.;** (2001), **“Ciencia de la Leche y Tecnología de los Productos Lácteos”**, Editorial Acribia, S.A. Zaragoza España, Pág. 39-125-301.

Consultas en Internet

- <http://www.doschivos.com/trabajos/biología/145.htm>.
- <http://healthilbary.epnet.com/GetvContente.aspx?token=8482e079-8512-47c2-960c-a403c77=124755>.
- <http://www.angelfire.com/ab7/acuarienguru6/bifidobacterias.htm>.
- <http://100cia.com/monografias/biología/lactobacilos.html/>.
- <http://nostoc.usa.es/sefin/M1/tema21M1.htm/>.
- <http://consumer.eseroski/saborysalud/sabory48.htm>.
- <http://www.consumaseguridad.com/web/es/investigacion/2006/php>.

GLOSARIO

Acidófilos: es una cadena "amigable" de bacteria utilizada para hacer yogur y queso. A pesar de que nacemos sin ellos, los acidophilus pronto se establecen por sí mismos en nuestros intestinos y ayudan a prevenir las infecciones intestinales. Los acidophilus también florecen en la vagina en donde protegen a las mujeres contra la infección por cándida.

Acidez Titulable: es una medida de la acidez determinada por el equilibrio entre los componentes ácidos de la leche (fosfatos, citratos, carbonatos, hidroxilos y proteínas) y los componentes básicos (sodio, potasio, calcio, magnesio e hidrógeno).

Bacterias Coliformes: grupo de enterobacterias formado por los géneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Citrobacter*, utilizadas como indicadores de higiene y contaminación fecal.

Bacterias Mesófilas: grupo de bacterias que se desarrollan a temperaturas entre 30-40 °C.

Bacterias Psicrófilas: grupo de bacterias que tienen la capacidad de desarrollarse a bajas temperaturas, entre 5 a 20 °C. Siendo su temperatura óptima entre los 12 a 15 °C.

Bacterias Psicrotrofas: bacterias mesófilas que además tienen la capacidad de crecer a temperaturas de refrigeración.

Bacterias Termodúricas: son generalmente bacterias mesófilas que además tienen la capacidad de resistir temperaturas de pasteurización.

Bacterias Termófilas: grupo de bacterias que tienen la capacidad de desarrollarse a altas temperaturas, entre 45 a 55 °C.

Bacteriocinas: sustancias de origen proteico producidas por ciertas especies bacterianas que presentan efecto inhibitor, especialmente ante bacterias de grupos cercanamente relacionados.

Bactofugación: proceso utilizado principalmente en quesería en el cual la leche se someta a una centrifugación a temperaturas entre 60-65 °C con el cual se consigue la eliminación de las esporas por separación, gracias a la fuerza centrífuga. Se realiza combinado con la pasteurización.

BAL: Bacterias Ácido Lácticas. Grupo de bacterias de diversos géneros, ampliamente distribuidas en la naturaleza. Se encuentran en el suelo y en cualquier lugar donde existan altas concentraciones de carbohidratos, proteínas desdobladas, vitaminas y poco oxígeno. Son Gram positivas y su forma puede ser bacilar, cocoide u ovoide. Algunas tienen forma bifida (*Bifidobacterium*). Soportan pH 4 en leche. Son anaeróbicas facultativas, mesófilas y termófilas y de crecimiento exigente.

Caseína: principal proteína de la leche (78% del total). La caseína es una proteína propia de la leche y es sintetizada en la glándula mamaria. Existen cuatro tipos: la alfa caseína la cual a la vez tiene dos variantes genéticas (alfa s_1 y alfa s_2), beta caseína, kapa caseína y gamma caseína, esta última se deriva de fracciones de la beta caseína.

Coloración de Gram: la coloración de Gram es una técnica de tinción de frotis que permite agrupar las bacterias en dos grandes grupos: los Gram positivos (azul o violeta) y los Gram negativos (rojo). Siendo este el primer paso a efectuar cuando se busca la identificación de las especies bacterianas.

El bífido: bacteria funciona disminuyendo el pH del intestino delgado, esta condición de mayor acidez impide el crecimiento de bacterias perjudiciales. También, a través de la producción de ácido láctico, facilita la digestión de los alimentos.

Emulsión: mezcla formada por dos líquidos inmiscibles, uno en gotas dispersas en el otro. Las gotas dispersas tienen un tamaño entre 0.1 - 10 μ m. En la leche presenta una emulsión tipo aceite-en-agua, donde el aceite o la grasa es la fase dispersa en forma de glóbulos y el agua es la fase continua, mientras que la manteca constituye una emulsión tipo agua-en-aceite.

Estandarización: proceso rutinario en las industrias lácteas cuyo fin es el de obtener un producto con los valores deseados de grasa, proteínas, sólidos totales o no grasos, etc. Se realiza adicionando o extrayendo componentes, o mezclando diversos productos hasta obtener el valor estándar. Por ejemplo: leche entera y leche descremada para bajar el contenido de grasa de la primera.

Funcionales: son aquéllos que pueden proporcionar un beneficio para la salud además de nutrición básica. Usted puede tener un mayor control de su salud a través de la selección de sus alimentos, si sabe que algunos proporcionan beneficios específicos para la salud.

HTST: High Temperature, Short Time. Proceso de pasteurización mayormente utilizado en la industria láctea, en el cual el producto es tratado a temperatura mínima de 72 °C por 15 segundos.

In vivo: Que está situado u ocurre en el cuerpo vivo.

In vitro: permiten obviar los inconvenientes derivados de condiciones geográficas, climáticas y de tiempo de producción.

Las bacteriocinas: son péptidos o complejos peptídicos sintetizados ribosomalmente, con actividad bactericida o bacteriostática en contra de especies bacterianas generalmente estrechamente relacionadas con la cepa productora, la cual siempre presenta inmunidad frente a su propia bacteriocina.

Los probióticos: son microorganismos vivos que al ser ingeridos en cantidades adecuadas ejercen una influencia positiva en la salud o en la fisiología del hospedero. La forma mas frecuente de consumir probióticos es a través de alimentos lácteos que contienen especies intestinales de lactobacilos y bifidobacterias; por los efectos benéficos adicionales a los nutritivos, estos alimentos se consideran en el grupo de los alimentos funcionales.

La nisina: es un antibiótico originado por estirpes de la bacteria que normalmente corta la leche, el streptococcus lactis. Se presenta en la leche ácida y en el queso de granja por lo que es muy posible que desde que se

domesticaron las vacas se hayan ingerido pequeñas cantidades de este antibiótico.

Lactosa: *disacárido formado por una molécula de glucosa y una de galactosa, constituye el principal carbohidrato de la leche. Su valor es poco variable y oscila entre los 4,5 a 4,8 %.*

Nisina: *bacteriocina producida por cepas de Lactococcus lactis subsp. lactis.*

Nutracéutico: *se deriva de las palabras nutrición y farmacéutico y se refiere a todos aquellos alimentos que se proclaman como poseedores de un efecto beneficioso sobre la salud humana.*

Pasteurización: *proceso mediante el cual los alimentos son sometidos a un tratamiento térmico por determinado tiempo, con lo que se asegura la destrucción de todos los microorganismos patógenos y casi en su totalidad la flora banal. La leche pasteurizada debe ser negativa a la Prueba de Sharer (fosfatasa)*

pH: *el pH es una medida de la actividad del ion de hidrógeno que, según la expresión de Debye-Huckel, es una función de la concentración del hidrógeno, el diámetro eficaz del ion hidratado y la fuerza iónica (μm) del solvente.*

Probióticos: *microorganismos, que consumidos vivos en el alimento tienen la capacidad de ejercer beneficios a la salud que van más allá de la nutrición básica inherente.*

Proteínas Séricas: *constituida principalmente por la α -lactoalbúmina y la β -lactoglobulina, representan aproximadamente del 20% de las proteínas de la leche y se encuentran en solución.*

Terminación: *proceso mediante el cual la leche es sometida a un calentamiento de 57 a 68 °C por un tiempo de 15 segundos, de manera que después del tratamiento la leche de positivo a la prueba de fosfatasa. Se realiza cuando se requiere almacenar leche cruda por un periodo de tiempo mayor a 24 horas.*

TRAM: siglas de la prueba de Tiempo de Reducción del Azul de Metileno. Análisis realizado en la leche cruda para determinar de manera indirecta su calidad sanitaria. Se fundamenta en el potencial de oxido-reducción de la leche.

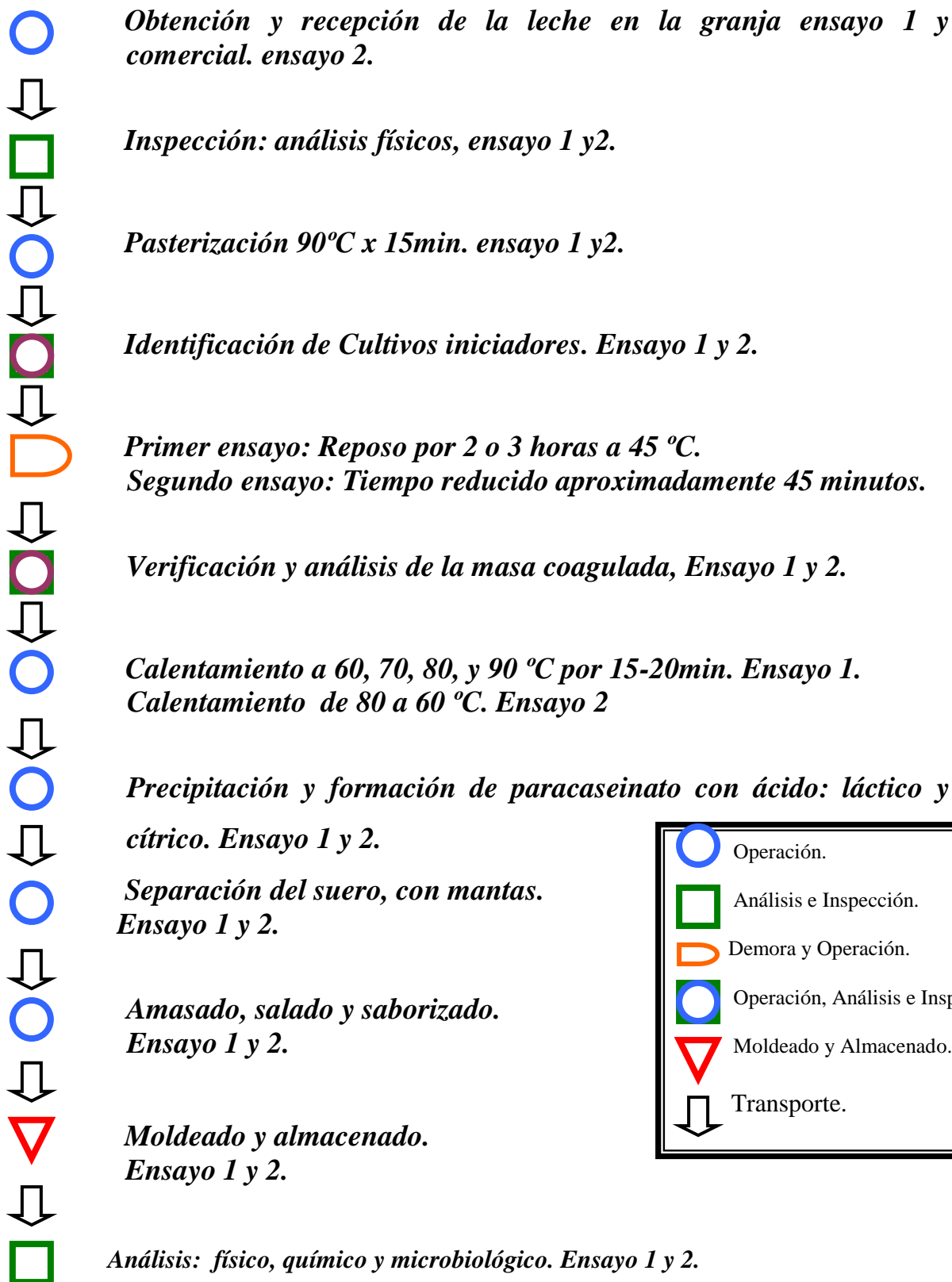
ufc: unidad formadora de colonia.

UHT: Ultra High Temperature. Proceso de esterilización comercial de la leche, en la cual se someta a temperaturas de 135 a 140 °C por 3 a 4 segundos.

Uperización: consiste esencialmente en la inyección del vapor a alta temperatura en una corriente de leche precalentada. Esta inyección tiene lugar de tal forma que se suma un efecto ultrasónico al de la temperatura. Se consigue así esterilizar la leche en condiciones más favorables que cuando solo interviene el calentamiento.

ANEXO N°1

Diagrama operativo de la elaboración de queso de pasta fresca y blanda.



Anexo N° 2

PRUEBAS SENSORIALES

Prueba Hedónica para evaluar la aceptabilidad.

Nombre: _____

Fecha: _____

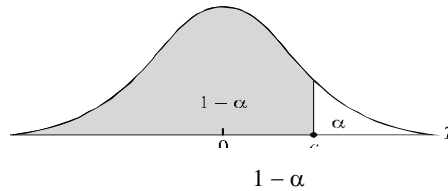
Instrucciones:

- *Observe y pruebe cada muestra. Indique el grado en que le gusta o le desagrada cada muestra, haga una marca circular en un número correspondiente a la descripción que usted considere apropiada de acuerdo su criterio de aceptación. Anote también el código de la muestra. Recuerde que tiene que ser 100% imparcial en sus apreciaciones. **RECUERDE AGUA ENTRE MUESTRAS.***

Apariencia	Olor	Color	Sabor	Textura	Aceptación
Código	Código	Código	Código	Código	Código.
<i>ESCALA</i>	<i>ESCALA</i>	<i>ESCALA</i>	<i>ESCALA</i>	<i>ESCALA</i>	<i>ESCALA</i>
1. Me Disgusta Muchísimo. 2.Me disgusta mucho. 3.Me disgusta moderadamente. 4. Me disgusta poco. 5.No me gusta ni disgusta. 6.Me gusta poco 7.Me gusta moderadamente 8.Me gusta mucho. 9.Me gusta muchísimo	1. Me Disgusta Muchísimo. 2.Me disgusta mucho. 3.Me disgusta moderadamente. 4. Me disgusta poco. 5.No me gusta ni disgusta. 6.Me gusta poco 7.Me gusta moderadamente 8.Me gusta mucho. 9.Me gusta muchísimo	1. Me Disgusta Muchísimo. 2.Me disgusta mucho. 3.Me disgusta moderadamente. 4. Me disgusta poco. 5.No me gusta ni disgusta. 6.Me gusta poco 7.Me gusta moderadamente 8.Me gusta mucho. 9.Me gusta muchísimo	1. Me Disgusta Muchísimo. 2.Me disgusta mucho. 3.Me disgusta moderadamente. 4. Me disgusta poco. 5.No me gusta ni disgusta. 6.Me gusta poco 7.Me gusta moderadamente 8.Me gusta mucho. 9.Me gusta muchísimo	1. Me Disgusta Muchísimo. 2.Me disgusta mucho. 3.Me disgusta moderadamente. 4. Me disgusta poco. 5.No me gusta ni disgusta. 6.Me gusta poco 7.Me gusta moderadamente 8.Me gusta mucho. 9.Me gusta muchísimo	1. Me Disgusta Muchísimo. 2.Me disgusta mucho. 3.Me disgusta moderadamente. 4. Me disgusta poco. 5.No me gusta ni disgusta. 6.Me gusta poco 7.Me gusta moderadamente 8.Me gusta mucho. 9.Me gusta muchísimo
Coméntanos:	Coméntanos:	Coméntanos:	Coméntanos:	Coméntanos:	Coméntanos:

Anexo N° 3. TABLA DE LA DISTRIBUCION t-Student.

La tabla da áreas $1 - \alpha$ y valores $c = t_{1-\alpha, r}$, donde, $P[T \leq c] = 1 - \alpha$, y donde T tiene distribución t- Student con r grados de libertad..



<i>r</i>	0.75	0.80	0.85	0.90	0.95	0.975	0.99	0.995
1	1.000	1.376	1.963	3.078	6.314	12.706	31.821	63.657
2	0.816	1.061	1.386	1.886	2.920	4.303	6.965	9.925
3	0.765	0.978	1.250	1.638	2.353	3.182	4.541	5.841
4	0.741	0.941	1.190	1.533	2.132	2.776	3.747	4.604
5	0.727	0.920	1.156	1.476	2.015	2.571	3.365	4.032
6	0.718	0.906	1.134	1.440	1.943	2.447	3.143	3.707
7	0.711	0.896	1.119	1.415	1.895	2.365	2.998	3.499
8	0.706	0.889	1.108	1.397	1.860	2.306	2.896	3.355
9	0.703	0.883	1.100	1.383	1.833	2.262	2.821	3.250
10	0.700	0.879	1.093	1.372	1.812	2.228	2.764	3.169
11	0.697	0.876	1.088	1.363	1.796	2.201	2.718	3.106
12	0.695	0.873	1.083	1.356	1.782	2.179	2.681	3.055
13	0.694	0.870	1.079	1.350	1.771	2.160	2.650	3.012
14	0.692	0.868	1.076	1.345	1.761	2.145	2.624	2.977
15	0.691	0.866	1.074	1.341	1.753	2.131	2.602	2.947
16	0.690	0.865	1.071	1.337	1.746	2.120	2.583	2.921
17	0.689	0.863	1.069	1.333	1.740	2.110	2.567	2.898
18	0.688	0.862	1.067	1.330	1.734	2.101	2.552	2.878
19	0.688	0.861	1.066	1.328	1.729	2.093	2.539	2.861
20	0.687	0.860	1.064	1.325	1.725	2.086	2.528	2.845
21	0.686	0.859	1.063	1.323	1.721	2.080	2.518	2.831
22	0.686	0.858	1.061	1.321	1.717	2.074	2.508	2.819
23	0.685	0.858	1.060	1.319	1.714	2.069	2.500	2.807
24	0.685	0.857	1.059	1.318	1.711	2.064	2.492	2.797
25	0.684	0.856	1.058	1.316	1.708	2.060	2.485	2.787
26	0.684	0.856	1.058	1.315	1.706	2.056	2.479	2.779
27	0.684	0.855	1.057	1.314	1.703	2.052	2.473	2.771
28	0.683	0.855	1.056	1.313	1.701	2.048	2.467	2.763
29	0.683	0.854	1.055	1.311	1.699	2.045	2.462	2.756
30	0.683	0.854	1.055	1.310	1.697	2.042	2.457	2.750
40	0.681	0.851	1.050	1.303	1.684	2.021	2.423	2.704
60	0.679	0.848	1.046	1.296	1.671	2.000	2.390	2.660
120	0.677	0.845	1.041	1.289	1.658	1.980	2.358	2.617
∞	0.674	0.842	1.036	1.282	1.645	1.960	2.326	2.576

Anexo N° 4

Tabla 1. Números mínimos de respuestas correctas para establecer una diferencia en varios niveles significativos para la prueba triangular.

Número de respuestas	Mínimo número de respuestas correctas para un nivel de significancia			Número de respuestas	Mínimo número de respuestas correctas para un nivel de significancia			Número de respuestas	Mínimo número de respuestas correctas para un nivel de significancia		
	5%	1%	0.1%		5%	1%	0.1%		5%	1%	0.1%
5	4	5	-	37	18	20	22	69	31	33	36
6	5	6	-	38	19	21	23	70	31	34	37
7	5	6	7	39	19	21	23	71	31	34	37
8	6	7	8	40	19	21	24	72	32	34	38
9	6	7	8	41	20	22	24	73	32	35	39
10	7	8	9	42	20	22	25	74	32	35	39
11	7	8	10	43	20	23	25	75	33	36	39
12	8	9	10	44	21	23	26	76	33	36	39
13	8	9	11	45	21	24	26	77	34	36	40
14	9	10	11	46	22	24	27	78	34	37	40
15	9	10	12	47	22	24	27	79	34	37	41
16	9	11	12	48	22	25	27	80	35	38	41
17	10	11	13	49	23	25	28	81	35	38	40
18	10	12	13	50	23	26	28	82	35	38	42
19	11	12	14	51	24	26	29	83	36	39	42
20	11	13	14	52	24	26	29	84	36	39	43
21	12	13	15	53	24	27	30	85	37	40	43
22	12	14	15	54	25	27	30	86	37	40	44
23	12	14	16	55	25	28	30	87	37	40	44
24	13	15	16	56	26	28	31	88	38	41	44
25	13	15	17	57	26	28	31	89	38	41	45
26	14	15	17	58	26	29	32	90	38	42	45
27	14	16	18	59	27	29	32	91	39	42	46
28	15	16	18	60	27	30	33	92	39	42	46
29	15	17	19	61	27	30	33	93	40	43	46
30	15	17	19	62	28	30	33	94	40	43	47
31	16	18	20	63	28	31	34	95	40	44	47
32	16	18	20	64	29	31	34	96	41	44	48
33	17	18	21	65	29	32	35	97	41	44	48
34	17	19	21	66	29	32	35	98	41	45	48
35	17	19	22	67	30	33	36	99	42	45	49
36	18	20	22	68	30	33	36	100	42	46	49

Anexo N° 5

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA AGRÍCOLA

Teléfonos: 2225-1500 – 2225-6903 Extensión 4619

Apartados Postales 773 y 747

San Salvador, El Salvador, C. A.



Ciudad Universitaria, 25 de octubre de 2007

Bachiller:

Alejandro Antonio Bonilla

Presente

Por este medio le estoy reportando los resultados de 6 análisis de Muestra de Queso Fresco con bacterias y sin bacterias acidófilas.

Muestra N°.	Presencia de Bacteria y días	Proteína (%)	Grasa (9/%)	Humedad (%)	pH	Acidez Titulable (%)	Sólidos Totales (ppm)	Ceniza (%)	Calcio (mg/100g)	Fósforo (g/100 g)
94	Queso Fresco + 0 días	14.11	19.46	48.76	5.09	0.15	41.30	0.76	510	165
95	Queso Fresco + 5 días	16.37	18.00	56.19	5.61	0.16	43.81	1.28	494	170
96	Queso Fresco+ 10 días	17.36	18.00	47.41	6.26	0.14	52.59	5.15	795	230
97	Queso Fresco+ 15 días	18.63	18.00	47.14	5.25	0.16	52.86	2.21	892	250
98	Queso Fresco – 0 días	14.24	18.07	51.88	5.18	0.15	48.30	0.74	812	265
99	Queso Fresco - 5 días	16.08	16.00	51.87	5.20	0.16	48.13	4.00	799	240
100	Queso Fresco -10 días	15.34	16.00	52.44	5.32	0.18	47.52	2.63	797	270
101	Queso Fresco -15 días	14.36	16.00	59.64	4.97	0.11	40.36	1.15	446	150

Sin más por el momento, me suscribo de Usted,

Atentamente,

“HACIA LA LIBERTAD POR LA CULTURA”

ING. AGR. OSCAR MAURICIO CARRILLO TURCIOS
JEFE DEL DEPARTAMENTO



Realizados por:
Lic. Fredy Carranza
Ing. Oscar Mauricio Carrillo
Lic. Yanira de Lizares

*ddea.

c.c.: Archivo.

Anexo N° 7

REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLOGÍA.

MUESTRAS: Queso de fechas establecidas:
Días: 1 a 5 días.
5 a 10 días.
10 a 15 días.

FECHA DE RECIBIDO:.....26 de Octubre 2007.
FECHA DE ANÁLISIS: 26 de Octubre 2007.
FECHA DE RESULTADOS:.....01 de Octubre 2007
SOLICITANTE:BR ALEJANDRO ANTONIO BONILLA LEMUS.
PUNTO DE TESIS:....."Utilización de bacterias Acidófilas para elaborar quesos de pastas frescas y blandas con características funcionales"
FACULTAD:.....ING. AGROINDUSTRIAL.
UNIVERSIDAD:....." Dr. José Matías Delgado. "

CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS.

SABOR: Normal. OLOR: Normal. COLOR: Normal (Blanquecino).
TEXTURA: Propia. APARIENCIA: Propia.

ESTUDIO BACTERIOLÓGICO:

MUESTRAS	Tiempo	Staphylococcus aureus UFC/gramos	Coliformes Totales. UFC/gramos	Escherichia coli UFC/gramos	Salmonella sp. 25 gramos	Observaciones
Muestra de queso - Con bacteria - Sin bacteria Acidófila	1 día	(-) (-)	0.3x10 ² 1.4x10 ²	(-) (-)	(-) (-)	CUMPLE CON NORMA
Muestra de queso - Con bacteria - Sin bacterias Acidófila	5 días	(-) (-)	0.2x10 ² 1.3x10 ²	(-) (-)	(-) (-)	CUMPLE CON NORMA
Muestra de queso - Con bacterias - Sin bacterias Acidófila	10 días	(-) (-)	0.2x10 ² 1.2x10 ²	(-) (-)	(-) (-)	CUMPLE CON NORMA
Muestra de queso - Con bacterias - Sin bacterias Acidófila	15 días	(-) (-)	0.1x10 ² 1.0x10 ²	(-) (-)	(-) (-)	CUMPLE CON NORMA
Muestra de Yogurt Con bacterias	1 a 15 días	(-)	(-)	(-)	(-)	CUMPLE CON NORMA

F: 
Lic. Cristabel Cruz Muñoz
LABORATORIO CLINICO
Cruz Muñoz
No. 1317
Prop. Lic. CRISTABEL CRUZ MUÑOZ

LABORATORIO CLINICO
CRUZ MUÑOZ
No. 1317
Prop. Lic. CRISTABEL CRUZ MUÑOZ

Anexo N° 8

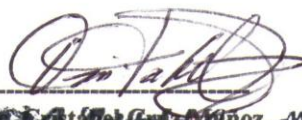
Características Microbiológicas

Conforme a la NORMA Salvadoreña (NOS): 67-01-04:05

Microorganismos	n(1) número de maestras que deben analizarse	c(2) número de muestra que se permiten en recuento mayor que m, pero no mayor que M.	m(3) recuento máximo recomendado.	M(4) recuento máximo permitido.
Staphylococcus aureus UFC/gramos.	5	5	10 ²	10 ³
Coliformes Totales UFC/gramos	5	2	200	500
Escherichia coli UFC/gramo	5	0	0	0
Salmonella sp. en 25 gramos	5	0	0	0

IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS ACIDÓFILAS.

MUESTRAS	TIEMPO	CATALASA	OXIDASA	MICROORGANISMO AISLADO	UFC x gramo
Con bacterias	1 a 5 días.	NEGATIVAS		<i>Streptococos thermophilus</i>	1.0 X 10 ²
Con bacterias	5 a 10 días	NEGATIVAS		<i>Streptococos thermophilus</i>	5.2 X 10 ²
Con bacterias	10 a 15 días	NEGATIVAS		<i>Streptococos thermophilus</i>	10.5X10 ²
Yogurt	1 a 15 días	NEGATIVAS		<i>Streptococos thermophilus</i>	15.7X10 ²

F: 
LABORATORIO CLINICO
CRUZ MUÑOZ
INGENIERA EN LABORATORIO CLINICO
INSTRUMENTAL NO. 188

LABORATORIO CLINICO
CRUZ MUÑOZ
No. Ins. 222
Prop. Lic. CRISTABEL CRUZ
San Salvador