# UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRIGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS



# FACULTAD DE INGENIERÍA

# ESCUELA ACADEMICO PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

Influencia de la humedad, aceite esencial de hierba luisa (Cymbopogon citratus, (DC) Stapf) y aislado proteico del lactosuero, sobre la vida útil del queso fresco

# **TESIS**

# PARA OBTENER EL TITULO PROFESIONAL DE INGENIERO AGROINDUSTRIAL

# **AUTORES:**

Br. EISTEIN JOSÉ OXOLON GONZALES

Br. SUSY ROSSIO OXOLÓN GONZALES

# **ASESOR:**

Ms.C. MIGUEL ANGEL BARRENA GURBILLON

CHACHAPOYAS - PERÚ

2010

# **DEDICATORIA**

A mis padres, mis hijos y mis hermanos por su apoyo y motivación incondicional para la finalización del presente trabajo.

**EISTEIN JOSE** 

A mis padres, José y Marilú, por la confianza depositada en mi, y a mis hermanos Eistein y Bradley, por permitirme contar siempre con ellos.

**SUSY ROSSIO** 

### **AGRADECIMIENTO**

A DIOS, quien cada día nos da fuerza y sabiduría para seguir adelante con nuestros sueños y nos permite llegar al término de nuestra formación profesional.

A nuestros padres, que con su ayuda y apoyo moral nos ayudaron a alcanzar nuestro sueño de ser profesionales.

Al Ingeniero Miguel Ángel Barrena Gurbillón, asesor de la presente Tesis, por su paciencia y dedicación para nuestra investigación, por ayudarnos a comprender como se mejora lo que ya está bien, colaborando de manera inestimable.

A la Asociación Agropecuaria de Molinopampa, que nos cedió los ambientes de su Planta Agroindustrial para realizar la elaboración del queso fresco.

Al Biólogo Julio Mariano Chávez Milla por su buena predisposición, colaboración y actitud hacia nosotros, para solucionar algunos inconvenientes que se presentaron en el desarrollo de la presente investigación.

A los profesores Elías Alberto Torres Armas, Erick Aldo Auquiñivin Silva, Carlos Millones Chanamé y Flor García Huamán, por su grata e incondicional colaboración.

A Aura del Rocío Tafur Jiménez, Rosario Ocmín Mori e Ives Yoplac Tafur, encargados de los Laboratorios de la Facultad de Ingeniería, quienes nos brindaron su colaboración incondicional.

Al Director del Preseminario Octavio Ortiz Arrieta, quien gentilmente nos permitió realizar la evaluación sensorial del queso fresco en sus ambientes, con la participación de los jóvenes integrantes.

# AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRIGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS

# DR. VICENTE MARINO CASTAÑEDA CHAVEZ RECTOR

# Ms.C. MIGUEL ANGEL BARRENA GURBILLON VICERECTOR ACADEMICO

# DRA. FLOR TERESA GARCIA HUAMAN VICERECTORA ADMINISTRATIVA

ING. GUILLERMO IDROGO VASQUEZ
DECANO DE LA FACULTAD DE INGENIERIA

### VISTO BUENO DEL ASESOR

El docente de la UNAT-A que suscribe, hace constar que ha asesorado el Proyecto y la realización de la Tesis titulada INFLUENCIA DE LA HUMEDAD, ACEITE ESENCIAL DE HIERBA LUISA (Cymbopogon citratus, (DC) Stapf) Y AISLADO PROTEICO DEL LACTOSUERO, SOBRE LA VIDA ÚTIL DEL QUESO FRESCO, presentada por los tesistas EISTEIN JOSÉ OXOLON GONZALES y SUSY ROSSIO OXOLON GONZALES, egresados de la Facultad de Ingeniería de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la UNAT-A, dando el Visto Bueno y comprometiéndome a orientarlos en el levantamiento de observaciones y en la sustentación de la Tesis.

Se expide la presente, a solicitud de los interesados, para los fines que estimen convenientes.

Chachapoyas, 18 de Enero de 2010

Ms.C. Miguel Angel Barrena Gurbillón

Profesor Principal de la UNAT-Amazonas

# JURADO CALIFICADOR

Ms.C. JULIO MARIANO CHAVEZ MILLA

**PRESIDENTE** 

ING. EFRAÍN MANUELITO CASTRO ALAYO

**SECRETARIO** 

Blgo. OSCAR ANDRES GAMARRA TORRES

**VOCAL** 

# TABLA DE CONTENIDOS

	1	Pág.
DE	EDICATORIA	ii
AC	GRADECIMIENTO	iii
Αl	JTORIDADES UNIVERSITARIAS	iv
VI	STO BUENO DEL ASESOR	v
JU	RADO CALIFICADOR	vi
TA	ABLA DE CONTENIDOS	vii
LIS	STADO DE TABLAS	x
LIS	STADO DE FIGURAS	xii
LIS	STADO DE FOTOGRAFIAS	xiii
RE	ESUMEN	xiv
ΑE	BSTRACT	xv
I.	INTRODUCCION	1
	1.1. Generalidades sobre la elaboración de queso fresco	3
	1.2. Vida útil del queso fresco	5
	1.3. Aceite esencial de hierba luisa (Cymbopogon citratus, (DC) Stapf)	7
	1.4. Lactosuero	9
	1.4.1. Aislado proteico de lactosuero	11
II.	MATERIAL Y MÉTODOS	14
	2.1. Materia prima	14
	2.2. Metodología experimental	15
	2.3. Obtención del aceite esencial de hierba luisa (Cymbopogon citratus, (DC) Stapf)	
	y del aislado proteico de lactosuero	16

	2.3.1. Obtención del acette esencial de nieroa luisa (Cymbopogon curatus, (DC) Stapi)	10
	2.3.2. Obtención del aislado proteico de lactosuero	18
	2.4. Elaboración del queso fresco con aceite esencial de hierba luisa (Cymbopogo	n .
	citratus, (DC) Stapf), aislado proteico de lactosuero y humedades diferentes.	19
	2.4.1. Formulación	19
	2.4.2. Elaboración del queso fresco	22
	2.5. Análisis sensorial al queso fresco.	24
	2.5.1. Pruebas analíticas	24
	a) Prueba de discriminación	24
	2.5.2. Pruebas afectivas	25
	a) Prueba para medir la aceptabilidad	25
	2.6. Análisis fisicoquímico y microbiológico	26
	2.6.1. Análisis fisicoquímico	26
	2.6.2. Análisis microbiológico	27
	2.7. Análisis de datos.	28
	2.7.1. Optimización con el diseño estadístico de Box-Behnken	28
III.	. RESULTADOS	29
	3.1. Análisis fisicoquímico de la leche	29
	3.2. Análisis del aceite esencial de hierba luisa (Cymbopogon citratus, (DC) Stapf)	29
	3.3. Análisis del aislado proteico de lactosuero	.29
	3.4. Análisis fisicoquímico del queso fresco	.29
	3.5. Optimización del diseño estadístico de Box-Behnken	.29
	3.6. Análisis microbiológico del queso fresco	.37

IV.	DISCUSION	41
V.	CONCLUSIONES	44
VI.	RECOMENDACIONES	46
VII	. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
	ANEXOS	49
	ANEXO A	50
	ANEXO B	76
	ANEXO C	82
	ANEXO D	86

# LISTADO DE TABLAS

Tabla	Pág.
Tabla 1. Composición general del lactosuero	10
Tabla 2. Composición del lactosuero en polvo	10
Tabla 3. Distribución de valores de las tres variables independientes según el método	
estadístico de Box-Behnken	20
Tabla 4. Valores de cada una de las tres variables independientes a ser evaluadas con	
el método estadístico de Box-Behnken para elaborar queso fresco	21
Tabla 5. Formulaciones para la elaboración de queso fresco	21
Tabla 6. Optimización con el diseño estadístico de Box-Behnken para el aroma del	
queso fresco	30
Tabla 7. Optimización con el diseño estadístico de Box-Behnken para el sabor del	
queso fresco	32
Tabla 8. Optimización con el diseño estadístico de Box-Behnken para la aceptabilidad	i
del queso fresco	34
Tabla 9. Carga microbiana encontrada en las muestras de queso fresco analizadas el	
primer día de su elaboración	37
Tabla 10. Carga microbiana encontrada en las muestras de queso fresco analizadas a	
los treinta días de su elaboración	38
Tabla 11. Resultados con la tinción GRAM	39
Tabla 12. Pruebas bioquímicas para determinar la posible presencia de Escherichia co	li
en los quince tratamientos	39
Tabla 13. Resultado de la prueba de coagulasa en la identificación de Staphylococcus	
aureus	40
Tabla 14. Resultados de las evaluaciones sensoriales del aroma del queso fresco realiz	adas
en tres oportunidades desde la fecha de su elaboración	50

Tabla 15.	Resultados de las evaluaciones sensoriales del sabor del queso fresco realizadas
	en tres oportunidades desde la fecha de su elaboración
Tabla 16.	Resultados de las evaluaciones sensoriales de la aceptabilidad del queso fresco
	realizadas en tres oportunidades desde la fecha de su elaboración
Tabla 17.	Representación del aroma del mejor tratamiento H1A (T11) mediante
	escala hedónica
Tabla 18.	Representación del aroma del tratamiento que menos significancia demostró,
	Z4S (T6), mediante escala hedónica
Tabla 19.	Representación del aroma del queso testigo (R7A) mediante escala hedónica55
Tabla 20.	Representación del sabor del mejor tratamiento H1A (T11) mediante escala
	hedónica56
Tabla 21.	Representación del sabor del tratamiento que menos significancia demostró,
	T5F (T9), mediante escala hedónica
Tabla 22.	Representación del sabor del queso testigo (R7A) mediante escala hedónica58
Tabla 23.	Representación de la aceptabilidad del mejor tratamiento H1A (T11) mediante
	escala hedónica59
Tabla 24.	Representación de la aceptabilidad del tratamiento que menos significancia
	demostró, F0Y (T14), mediante escala hedónica
Tabla 25.	Representación de la aceptabilidad del queso testigo (R7A) mediante
	escala hedónica61
Tabla 26.	Coliformes totales determinada por el Número Más Probable (NMP/g)73
Tabla 27.	Resultados del crecimiento de mesófilos aerobios, log (ufc/g)74
Tabla 28.	Resultados del crecimiento de Staphylococcus aureus, log (ufc/g)75
Tabla 29.	Codificación alfanumérica de tres cifras para la recolección de datos en la
	evaluación sensorial de los quesos elaborados con aceite esencial de hierba
	luisa (Cymbopogon citratus, (DC) Stapf), aislado proteico, y humedades
	diferentes 60%, 70% v 80%19

# LISTADO DE FIGURAS

Figura	Pág.
Figura 1. Metodología experimental para determinar la vida útil del queso fresco	15
Figura 2. Flujograma de la obtención del aceite esencial de hierba luisa (Cymbopogo)	n
citratus, (DC) Stapf)	16
Figura 3. Flujograma de la obtención del aislado proteico del lactosuero	18
Figura 4. Flujograma de la elaboración de queso fresco	22
Figura 5. Gráfica de superficie de respuesta estimada para el aroma, cuando X1	
(% de humedad) es igual a 60 %	32
Figura 6. Gráfica de superficie de respuesta estimada para el sabor, cuando X1	
(% de humedad) es igual a 60%	34
Figura 7. Gráfica de superficie de respuesta estimada para la aceptabilidad, cuando	
X1 (% de humedad) es igual a 60%	36
Figura 8. Gráfico de las evaluaciones sensoriales del aroma del queso fresco	50
Figura 9. Gráfico de las evaluaciones sensoriales del sabor del queso fresco	51
Figura 10. Gráfico de la aceptabilidad del queso fresco	52
Figura 11. Representación de la calificación al aroma del tratamiento H1A	53
Figura 12. Representación de la calificación al aroma del tratamiento Z4S	54
Figura 13. Representación de la calificación al aroma del queso testigo	55
Figura 14. Representación de la calificación al sabor del tratamiento H1A	56
Figura 15. Representación de la calificación al sabor del tratamiento T5F	57
Figura 16. Representación de la calificación al sabor del queso testigo	58
Figura 17. Gráfico de la aceptabilidad del tratamiento H1A	59
Figura 18. Gráfico de la aceptabilidad del tratamiento F0Y	60
Figura 19. Gráfico de la aceptabilidad del queso testigo	61
Figura 20. Gráfico del crecimiento de las coliformes totales en los días de evaluación	73
Figura 21. Gráfico del crecimiento de los mesófilos aerobios log (ufc/g)	74
Figura 22. Gráfico del crecimiento de Staphylococcus aureus log (ufc/g)	75
Figura 23. Esquema de la prueba del triángulo	85

# LISTADO DE FOTOGRAFIAS

Fotografía	Pág.
Fotografía 1. Equipo de arrastre por vapor para la extracción del aceite esencial de	
hierba luisa (Cymbopogon citratus, (DC) Stapf)	86
Fotografía 2. Decantación para la obtención del aceite esencial de hierba luisa	
(Cymbopogon citratus, (DC) Stapf)	86
Fotografía 3. Lactosuero congelado para ser liofilizado	87
Fotografía 4. Liofilización del lactosuero	87
Fotografía 5. Cuajada	88
Fotografía 6. Molienda de la cuajada	88
Fotografía 7. Quesos frescos (unidades experimentales)	89
Fotografía 8. Muestras de quesos frescos, según el tratamiento aplicado	89
Fotografía 9. Muestra de queso fresco destinada al análisis microbiológico	90
Fotografía 10. Preparación de las muestras a ser analizadas microbiológicamente	90
Fotografía 11. Tubos de prueba con muestras de queso sembradas en Caldo Lauril	
Sulfato, puestas en incubación a 37 °C	91
Fotografía 12. Colonias de bacterias mesófilas aerobias	91
Fotografía 13. Prueba bioquímica Rojo de Metilo para identificación de Escherichia con	!i92
Fotografía 14. Tinción GRAM para la identificación de Escherichia coli	92
Fotografía 15. Colonias de Staphylococcus aureus	93
Fotografía 16. Staphylococcus aureus a 100X	93
Fotografía 17. Posible presencia de Escherichia coli en el queso testigo a 100X	93
Fotografía 18. Ambas caras del queso a los 30 días de su elaboración	94
Fotografía 19. Presentación de las muestras de queso fresco para la evaluación sensorial	94
Fotografia 20. Panelista evaluando al queso fresco	95
Fotografía 21. Realización de la evaluación sensorial del queso fresco	95

#### RESUMEN

La presente investigación se realizó en las instalaciones de los Laboratorios de Procesos Agroindustriales, Tecnología, Bioquímica y Microbiología de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, y en la Planta de la Asociación Agropecuaria de Molinopampa. Como materia prima se utilizó leche de ganado vacuno, procedente de los establos del Distrito de Molinopampa, siendo la finalidad del estudio, conocer la influencia que tienen la humedad, el aceite esencial de hierba luisa (Cymbopogon citratus, (DC) Stapf) y el aislado proteico del lactosuero sobre la vida útil del queso fresco, empleando el diseño estadístico de Box-Behnken y mediante evaluaciones sensoriales; además se evaluó la calidad microbiológica del producto. La leche empleada tenía las siguientes características físico-químicas: acidez láctica, 17°D; pH 6,72 y densidad, 1,033 g/cm<sup>3</sup>. Se elaboró el queso siguiendo el diagrama de proceso usado por los productores de la Asociación Agropecuaria de Molinopampa: recepción de la materia prima, medición, adición del cuajo, corte de la cuajada, desuerado, prensado, molienda, moldeado, volteado y oreado, envasado y almacenado a 5 °C. En la etapa del moldeado, se agregó el aceite esencial de hierba luisa y el aislado proteico del lactosuero. Se evaluó la composición fisicoquímica del queso, reportando los siguientes datos: proteína 12%; acidez titulable, 0,72; pH 5,3. El análisis sensorial nos permitió conocer la influencia de las tres variables sobre la vida útil del queso fresco, indicándonos cual fue el mejor tratamiento que permitiría más tiempo de vida útil al queso fresco. Una humedad del 60%, 0,1 mL de aceite esencial de hierba luisa y 0,50 g de lactosuero, lograron un tiempo de vida máximo de 30 días; pero por tratarse de un alimento se consideró que el tiempo óptimo para el consumo es de 27 días, resultados optimizados con el diseño de Box-Behnken; siendo el mejor tratamiento el 11 (H1A). El análisis microbiológico, en la primera evaluación del mejor tratamiento H1A, reportó lo siguiente: mesófilos aerobios: 3,85 log ufc/g., coliformes totales: 3 NMP/g., Staphylococcus aureus: 3,00 log ufc/g, Escherichia coli: ausencia; y en la última evaluación (a los 30 días) reportó: mesófilos aerobios: 3,91 log ufc/g., coliformes totales: 3 NMP/g., Staphylococcus aureus: 3,30 log ufc/g, Escherichia coli: ausencia.

Palabras claves: aceite esencial, aislado proteico del lactosuero, mesófilos, coliformes totales, vida útil.

#### **ABSTRACT**

This research was conducted at the facilities of the Laboratories of Agroindustrial Process, Technology, Biochemistry and Microbiology, National University Toribio Rodriguez of Mendoza of Amazonas, and in the Plant of the Association Agricultural of Molinopampa. Was used as raw material milk from cattle, from the stables Molinopampa District, with the aim of the study, knowing the influence of moisture, lemon verbena essential oil (Cymbopogon citratus (DC) Stapf) and the whey protein isolate on the life of fresh cheese, using statistical design of Box-Behnken and by sensory evaluations, also evaluated the microbiological quality of the product. The milk used had the following physicochemical characteristics: lactic acid, 17 ° D, pH 6,72 and density 1,033 g/cm<sup>3</sup>. Cheese was prepared following the flow diagram used by the Agricultural Producers Association of Molinopampa: receipt of raw materials, measurement, addition of rennet, cutting the curd, draining, pressing, milling, molding, turned and aired, packaged and stored at 5 ° C. In the molding stage, added the essential oil of lemon verbena and whey protein isolate. We evaluated the chemical and physical composition of the cheese, reporting the following data: protein 12% acidity, 0,72 pH 5,3. The sensory analysis allowed us to know the influence of three variables on the life of fresh cheese, indicating that was the best treatment would allow longer life to the cheese. A humidity of 60%, 0,1 mL of essential oil of lemon verbena and 0,50 g of whey, reached a maximum life of 30 days; but for being a food is considered the optimum time for consumption is 27 days, with results optimized Box-Behnken design, still the best treatment 11 (H1A). Microbiological testing in the first evaluation of the best treatment H1A, reported the following: aerobic plate counts: 3,85 log ufc/g, total coliforms: 3 NMP/g, Staphylococcus aureus: 3,00 log ufc/g, Escherichia coli: absence and in the last assessment (30 days) reported: aerobic plate counts: 3,91 log ufc/g, total coliforms: 3 NMP/g, Staphylococcus aureus: 3,30 log ufc/g, Escherichia coli: absence.

Key Words: essential oil, isolated protein whey, mesophile, total coliform, useful life.

# I. INTRODUCCIÓN

El queso es uno de los derivados más importantes de la leche, y uno de los principales productos agrícolas del mundo. Según la Organización para la Alimentación y la Agricultura (FAO) de las Naciones Unidas, en el 2004 se produjeron en el mundo más de 18 millones de toneladas de queso. Cantidad que supera la producción anual de café, té, cacao y tabaco juntos. El mayor productor de queso es Estados Unidos, con un 30 por ciento de la producción mundial, seguido de Alemania y Francia (FAO, 2004).

En el Perú, la mayor producción de queso está en Arequipa y Cajamarca, donde se fabrican diferentes variedades de queso, con conservantes químicos para mantener sus características organolépticas y sea aceptado por el consumidor (Abanto, y cols. 2007). Como remanente de la producción de queso se tiene al lactosuero que es uno de los materiales más contaminantes que existen en la industria alimentaria (Becerra, M. 1999). El lactosuero es un compuesto que debido a la materia orgánica que contiene, se convierte en un gran contaminante cuando es arrojado al medioambiente sin ningún tipo de tratamiento. Más aún, no usar el lactosuero como alimento es un enorme desperdicio de nutrimentos pues, contiene más del 25 % de las proteínas de la leche, cerca del 8 % de la materia grasa y cerca del 95 % de la lactosa (Pérez, 2007).

La producción de queso en nuestra Región Amazonas se realiza a nivel industrial, semi industrial y artesanal, en donde se utilizan conservantes químicos como sorbato de potasio y los propionatos (DRA-A, 2008). Amazonas, además de contar con potencial agropecuario, es una de las regiones con mayor biodiversidad de flora en el Perú (CONAM, 2003), dentro de las cuales tenemos a las plantas aromáticas que poseen un aceite esencial determinado, es por esto su gran demanda en la industria farmacéutica y

actualmente conocido por su actividad antimicrobiana (Soto, 2002). Los compuestos antimicrobianos de las plantas se encuentran generalmente en el aceite esencial obtenido a partir de hojas, flores, bulbos, rizomas y frutos. Los aceites esenciales se pueden obtener con destilación por arrastre de vapor, entre otros métodos (Soto, 2002).

- Hoy la fabricación de quesos viene repuntando como una actividad milenar, que se adecuó a los procesos industriales de gran presencia, pero que vocacionalmente, es una actividad más artesanal, tal como se desarrolla en las cuencas lecheras de nuestra Región, donde la producción lechera viene incrementándose en los últimos años (DRA-A, 2008).
- El productor le imprime una personalidad a sus quesos, y su demanda viene hoy creciendo en el mundo, dando así, un gran espacio para las mini fábricas, con oportunidad para productores de lácteos, comerciantes, para agro-emprendedores, la posibilidad de implementar con éxito, la micro industria de quesos, con este diferencial competitivo (DRA-A, 2008).

La conservación de los alimentos pretende, mediante la aplicación de un conjunto de procedimientos y técnicas, impedir o minimizar el crecimiento y la actividad de los microorganismos para alargar la vida media y proporcionar niveles aceptables de seguridad higiénica a los alimentos (Calle y Solano, 2004).

El queso fresco plantea unas dificultades de conservación debido a sus características como son el pH próximo a la neutralidad y su alta actividad de agua; estas dos propiedades fundamentales favorecen el crecimiento de gran variedad de microorganismos patógenos y/o alterantes de las características del mismo. El contenido

de humedad es un factor de calidad en la conservación del queso fresco, ya que afecta la estabilidad del mismo (Calle y Solano, 2004).

### 1.1. Generalidades sobre la elaboración de queso fresco

### Queso

La definición internacional aceptada para el queso ha sido hecha por la FAO/OMS: «El queso es el producto fresco o madurado obtenido por la coagulación y separación de suero de la leche, nata, leche parcialmente desnatada, mazada o por una mezcla de estos productos».

El queso es el arte de transformar la leche en cuajada y suero, un proceso en el que ha intervenido la acidificación causada por la acción de las bacterias lácticas (Walstra, 2001).

INDECOPI, en la norma peruana NTP-202:044, establece: "El queso fresco es el producto blando no madurado obtenido por separación del suero después de la coagulación de la leche pasteurizada".

La coagulación se produce básicamente por la acción de la renina, bacterias lácticas (LAB) o cuajo. La renina, es una enzima que se encuentra en el cuarto estómago de los terneros, actúa sobre la caseína de la leche (proteína soluble), transformándola, en presencia de sales de calcio, en paracaseína insoluble que precipita formando el coágulo. La temperatura ideal para la coagulación de la leche es entre 28 y 37 °C (Primo, 1998).

Esta interesante etapa de la fabricación del queso trascurre óptimamente a pH 5; el proceso de obtención de queso entraña la desestabilización de la caseína micelar

para formar un cuajo caseínico, la acción primaria de la renina sobre la caseína es específica y consiste en romper el enlace peptídico entre la fenilalanina y la metionina, liberando así un glico macro péptido. La proteína restante para-k-caseína, ya no es soluble y deja de actuar como agente estabilizante de la proteína micelar. La segunda fase de la reacción comporta la formación de un gel de caseína insoluble. La tercera fase implica una acción proteolítica general de la renina sobre los componentes proteicos (Primo, 1998).

Actualmente la renina ha sido reemplazada en la industria quesera mundial por la quimosina recombinante, una enzima de origen microbiana modificada por de la ingeniería genética, con grandes ventajas en la eficiencia de producción de queso. La quimosina se obtiene a partir de los hongos *Kluyveromyces lactis* y *Aspergillus niger* transformados genéticamente con genes de vacuno (Becerra, 1999).

El componente más abundante del queso es la caseína, que es una fosfoproteína, conteniendo, en su molécula, ácido fosfórico. La caseína representa cerca del 77% al 82% de las proteínas presentes en la leche y el 2,7% en composición de la leche líquida. Al pH de la leche, alrededor de 6.6, la caseína está presente como caseinato de calcio. Cuando la acidez de la leche se incrementa, por acción de la adición de ácido o por acidificación natural, el ácido remueve el calcio y el fosfato del caseinato de calcio, transformándolo en caseína. La coagulación se reconoce por la formación de la cuajada. El proceso mediante el cual la cuajada va adquiriendo firmeza involucra la formación de entrecruzamientos entre las micelas de caseína, dando lugar a una red cada vez más reticulada y fuerte, lo que hace que el gel proteico se encoja gradualmente, expulsando lactosuero y atrapando y distorsionando los glóbulos de grasa (Miller, 2001).

## 1.2. Vida útil del queso fresco

La vida útil de un alimento representa aquel período de tiempo durante el cual el alimento se conserva apto para el consumo desde el punto de vista sanitario, manteniendo las características sensoriales, funcionales y nutricionales por encima de los límites de calidad previamente establecidos como aceptables (Hough y Fiszman, 2005).

Influyen en la vida útil de un alimento: su naturaleza, su composición, las materias primas, el proceso al que fue sometido, el envase, las condiciones de almacenamiento, la distribución y la manipulación que tendrá en manos de los usuarios (Man y Jones, 1994, citado por Hough y Fiszman, 2005).

Finaliza la vida útil del alimento, cuando su consumo implica un riesgo para la salud del consumidor, o porque las propiedades sensoriales se han deteriorado hasta hacer que el alimento sea rechazado. En este último caso la evaluación sensorial es el principal método de evaluación, ya que no existen métodos instrumentales o químicos que reemplacen adecuadamente a nuestros sentidos (Hough y Fiszman, 2005).

El queso fresco se conserva poco tiempo, por lo que es aconsejable mantenerlo a una temperatura de  $4-7^{\circ}$ C o consumirlo lo antes posible. A esta temperatura, el queso tendrá un tiempo mayor de vida útil y sus características no serán alteradas. En refrigeración se debe mantener cubierto los quesos para que no pierdan humedad; lo que ocasionaría pérdida de peso y manchas amarillas resecas, lo que no se desea en el queso. El contenido de humedad para este tipo de queso se encuentra en el rango de 60-80 % (Calle y Solano, 2004). Se conserva menos que

el curado debido a que tiene más contenido de agua, por lo que aumentan las posibilidades de crecimiento de bacterias y hongos (Veisseyrre, 1988).

Los aditivos conservantes son, junto con los antioxidantes, los que mantienen la frescura e impiden el deterioro de los alimentos. Contribuyen a que los alimentos se puedan conservar durante más tiempo, protegiéndolos contra el deterioro provocado por la oxidación o los microorganismos. Mediante el empleo de estos conservantes se trata de proteger la seguridad del consumidor, de preservar la calidad y sanidad del alimento, de manera que su consumo no presente riesgos para la salud. Entre los principales conservadores están: benzoatos, nitrato de potasio, parabenos, propionatos y sorbatos. El ácido fumárico por su acción antioxidante se usa para la prevención de rancidez en mantequilla, queso, leche en polvo, embutidos, papas fritas, para encurtidos (caviar y frutas), etc. (American Quality Lab., 2006). También utilizan al nitrato sódico y potásico, quienes inhiben el crecimiento de bacterias ácido butíricas y coliarógenes; también hacen uso del sorbato de potasio (Cenzano, 1992).

Pasadas las barreras sanitarias y nutricionales, la barrera restante depende en definitiva de las propiedades sensoriales del producto. Se puede discutir que es importante tener en cuenta los cambios físicos o químicos, pero éstos repercuten directamente sobre la calidad sensorial. Entonces se buscarán mecanismos que retarden o bloqueen estas reacciones químicas, pero en definitiva lo que se quiere evitar es que aparezca un defecto sensorial que impacte negativamente al usuario (Hough y Fiszman, 2005).

Para el productor que necesita cumplir con aspectos reglamentarios y legales de etiquetado, es de interés contar con métodos prácticos y confiables para estimar la vida útil de sus productos. De la definición de vida útil surge que lo primordial es el aspecto sanitario. Ningún fabricante puede tolerar que sus clientes se intoxiquen, ya sea por una proliferación microbiana elevada o por la presencia de un algún compuesto químico tóxico generado durante un almacenamiento demasiado prolongado (Hough y Fiszman, 2005).

# 1.3. Aceite esencial de hierba luisa (Cymbopogon citratus, (DC) Stapf)

# Hierba luisa (Cymbopogon citratus, (DC) Stapf)

Cymbopogon citratus, (DC) Stapf, especie conocida con los nombres vulgares de limoncillo, hierba luisa, caña santa, hierba de calentura, hierba limón y otros, que en forma de droga seca, extracto fluido, tintura o aceite esencial se emplea en medicamentos de diferentes categorías farmacológicas: analgésica, antiinflamatoria, antiasmático, expectorante, antiespasmódica y otras (Soto, 2002).

La hierba luisa, es una planta herbácea, perenne aromática y robusta que se propaga por esquejes. Las flores se reúnen en espiguillas de 30 – 60 cm de longitud formando racimos. Es una planta de hoja larga que en sus bordes termina en sierra minúscula (si se pasa la mano rápido puede llegar a cortar). Es muy conocida más que por su belleza por lo medicinal que es esta planta y su agradable sabor (a limón). También es peculiar el olor que desprende (muy agradable). Dentro de las muchas aplicaciones medicinales que tiene esta planta destacan: antibacteriano, antiespasmódico, anti fúngico (Soto, 2002).

# Distribución geográfica

Cymbopogon citratus, (DC) Stapf, es originario del sudeste asiático, India, Ceilán y Malasia, y distribuido en las zonas tropicales y subtropicales del mundo (Soto, 2002).

Ubicación taxonómica (Mostacero, y cols. 2002)

Nombre científico:

(Cymbopogon citratus, (DC) Stapf)

Taxonomía

Reino

Plantae

División

Magnoliophyta

Clase

Liliopsida

Orden

Poales

Familia

Poaceae (Graminae)

Género

Cymbopogon

Especie

Citratus

Actividad antimicrobiana del aceite esencial de hierba luisa (Cymbopogon citratus, (DC) Stapf)

La mayoría de los compuestos con actividad antimicrobiana encontrados en plantas, hierbas y especias, son compuestos fenólicos, terpenos, alcoholes alifáticos, aldehídos, cetonas, ácidos e isoflavonoides. Estos compuestos, son identificados como metabolitos secundarios y enzimas hidrolíticas (glucanasas, citinasas) y proteínas que actúan principalmente sobre las membranas de los microorganismos invasores (Guerra, 2004).

Existen variedades de plantas, hierbas y especias, así como sus aceites esenciales, que contienen un gran número de sustancias con propiedades que inhiben la actividad metabólica de bacterias, levaduras y mohos; como es el caso del aceite esencial de hierba luisa (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf), quien demostró su actividad antimicrobiana in vitro frente a Salmonella typhi ATCC 6539, S. typhimurium ATCC 14028, S. enteritidis INS, Vibrio cholerae ATCC E-7946 OGAWA, Pseudomonas aeruginosa GT 28, Shigella flexneri INS, Staphylococcus aureus INS, Staphylococcus aureus ATCC 6538P y Candida albicans ATCC 10231) ejerciendo un mayor efecto (88,8%) en comparación a los aceites esenciales de eucalipto, anís serrano, huamanrripa y salvia. La actividad antimicrobiana desarrollada por el aceite esencial de C. citratus es superior como antifúngica que como antibacteriana (Alzamora, y cols 2006).

La parte útil de esta planta son las hojas, que tienen un marcado olor a limón. Su principal componente, al que debe sus aplicaciones, es su aceite esencial, denominado citronela. El aceite esencial de hierba luisa es de color amarillo, con intenso olor a limón; contenido de citral (70 – 85 %), geraniol, linalol, metilheptona, citronelal, limoneno, diterpeno y otras sustancias, sensible a la exposición de la luz y aire, con el pasar del tiempo aumenta la densidad del mismo (Soto, 2002).

### 1.4. Lactosuero

Se denomina suero lácteo al líquido remanente tras la precipitación y separación de la caseína de la leche durante la elaboración del queso. Representa, aproximadamente el 85 – 90% del volumen de la leche y retiene el 55% de sus nutrientes. Además, presenta características funcionales para ser procesado como

alimento para la humanidad. Sin embargo es muy común que el suero sea utilizado en la alimentación de animales como cerdos o aves, principalmente debido a su alto contenido de vitamina B<sub>2</sub> (Madrid, 1996).

Tabla 1. Composición general del lactosuero.

	Suero		
Constituyente	Dulce	Ácido	
	(%)	(%)	
Agua	93 – 94	94 – 95	
Grasa	0,2-0,7	0,04	
Proteínas	0,8-1,0	0,8 -1,0	
Carbohidratos (lactosa)	4,5-5,0	4,5 – 5,0	
Cenizas	0,05	0,40	
Sólidos totales	5,6 – 6,8	5,7 – 6,4	

Fuente: Madrid, 1996.

Tabla 2. Composición del lactosuero en polvo

Componente	Lactosuero en polvo		
Humedad	5 %		
Proteína	13 %		
Grasa	1 %		
Carbohidratos	74 %		
Cenizas	8 %		

Fuente: Becerra, 1999.

El problema de la elaboración de quesos es la gran cantidad de lactosuero generado, siendo éste el equivalente a aproximadamente el 90% de la cantidad de leche procesada por lo que, cuando el suero es desechado al ambiente, causa gran impacto a los sistemas acuíferos cercanos, ya que la demanda biológica de oxígeno

(DBO) es de aproximadamente 40000 mg/L, mientras las aguas residuales para lácteos deben estar cercano a los 100 mg/L (Gómez, 2006).

El componente del lactosuero que presenta mayor interés son las proteínas, ya que poseen uno de los más altos índices de valor biológico en comparación con otras fuentes de proteína como huevo, carne bovina y soya. Estas proteínas pueden recuperarse por diferentes métodos; siendo la precipitación por calor la forma más sencilla y económicamente viable (Gómez, 2006).

El suero más válido para obtener sus proteínas es el procedente de la coagulación de las proteínas con enzimas del tipo renina; el llamado suero "dulce"; las obtenidas del suero "ácido" son de baja calidad (Primo, 1998).

### 1.4.1 Aislado proteico del suero lácteo

Se extrae del suero, clarificándolo, pasteurizándolo, y secándolo hasta formar un fino polvo blanco. El suero en polvo de alta calidad esta disponible tanto individualmente como combinado con otros ingredientes como creatina, aminoácidos ramificados, y glutamina. Se puede obtener también por liofilización (Giardina, 1995).

La liofilización es un proceso en el que se congela el alimento y una vez congelado se introduce en una cámara de vacío para que se separe el agua por sublimación. De esta manera se elimina el agua desde el estado sólido del alimento al gaseoso del ambiente sin pasar por el estado líquido. Para acelerar el proceso se utilizan ciclos de congelación-sublimación con los que se consigue eliminar prácticamente la totalidad del agua libre contenida en el

producto original. La liofilización no altera la estructura físico-química del material, pero permite su conservación indefinida sin cadena de frío, con menos del 15% de humedad y alta estabilidad microbiológica. Es una técnica bastante costosa y lenta si se le compara con los métodos tradicionales de secado, pero resulta en productos de una mayor calidad, ya que al no emplear calor, evita en gran medida las pérdidas nutricionales y organolépticas (Torrecilla, 1998).

#### Usos del lactosuero

El lactosuero es uno de los materiales más contaminantes que existen en la industria alimentaria. Por lo menos el 50 % en peso de los nutrimentos de la leche se quedan en el lactosuero; por consiguiente, es importante que la industria de quesería tenga un portafolio de opciones para usar el lactosuero como base de alimentos, preferentemente para el consumo humano, con el fin adicional de no contaminar el medio ambiente y de recuperar, con creces, el valor monetario del lactosuero. Sus usos comerciales son en bebidas, cremas, postres y alimentos para atletas, entre otros (Gómez y Tinedo, 2005).

El tipo de queso fabricado y más consumido es el fresco, el cual posee una vida útil corta, esto se refiere a que el producto mantiene sus características organolépticas y propiedades fisicoquímicas inalterables por pocos días bajo determinadas condiciones ambientales, periodo después del cual las propiedades sensoriales se van deteriorado hasta hacer que el queso sea rechazado. Teniendo en cuenta las bondades que brindan el aceite esencial de hierba luisa y el aislado proteico del lactosuero, así como la humedad como

factor influyente en la conservación del queso, se realizó la presente investigación para prolongar la vida útil del queso fresco; diferenciándolo de los tradicionales, con lo que se desea hacerlo más atractivo para los consumidores de productos lácteos; razón por la cual se plantearon los siguientes objetivos:

- ➤ Determinar la vida útil del queso fresco utilizando aceite esencial de hierba luisa (Cymbopogon citratus, (DC) Stapf), aislado proteico de lactosuero, además de la humedad del producto.
- Realizar la evaluación sensorial para determinar el grado de aceptabilidad del queso fresco, que nos permitirá conocer el tiempo de vida útil del mismo.
- ➤ Realizar la evaluación microbiológica del queso, para conocer el nivel sanitario del mismo.

# II. MATERIAL Y MÉTODOS

## 2.1 Materia prima

Para el desarrollo de la presente investigación se empleó como materia prima la leche proveniente del Distrito de Molinopampa, ubicado a 2407 m.s.n.m., latitud sur 6°11'45" y longitud oeste 77°38'15"; como aditivos influyentes se empleó el aceite esencial extraído de la hierba luisa (Cymbopogon citratus (DC) Stapf) proveniente del Distrito de Longar, Provincia de Rodríguez de Mendoza, ubicado a 1800 m.s.n.m., latitud sur 06°16'30" y longitud oeste 77°32'48"; el aislado proteico del lactosuero, con 12% de proteínas; también se trabajó con tres porcentajes de humedad del queso fresco (60%, 70%, 80%).

La obtención del aceite esencial de hierba luisa (Cymbopogon citratus, (DC) Stapf), se realizó en el Laboratorio de Ingeniería de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, mediante el método de arrastre a vapor. El aislado proteico del lactosuero se obtuvo mediante la técnica de la liofilización del suero lácteo proveniente de la elaboración de quesos hechos en el Laboratorio de Procesos de la misma Universidad.

La elaboración del queso fresco con aceite esencial de hierba luisa (Cymbopogon citratus, (DC) Stapf), aislado proteico del lactosuero (en polvo) con 60%, 70% y 80% de humedad se realizó en la Planta de la Asociación Agropecuaria de Molinopampa, Distrito de Molinopampa, Provincia de Chachapoyas. El análisis fisicoquímico y microbiológico del queso fresco fue realizado en el Laboratorio de Tecnología Agroindustrial y Procesos, y en el Laboratorio de Bioquímica y Microbiología de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas. La evaluación sensorial del queso fresco se llevó a cabo en el local del

Preseminario Octavio Ortiz Arrieta de Chachapoyas con el apoyo de los jóvenes pertenecientes a dicha institución.

# 2.2 Metodología experimental

La metodología experimental desarrollada en la presente investigación se muestra en la Figura 1, a través de la se explica como se han desarrollado los objetivos

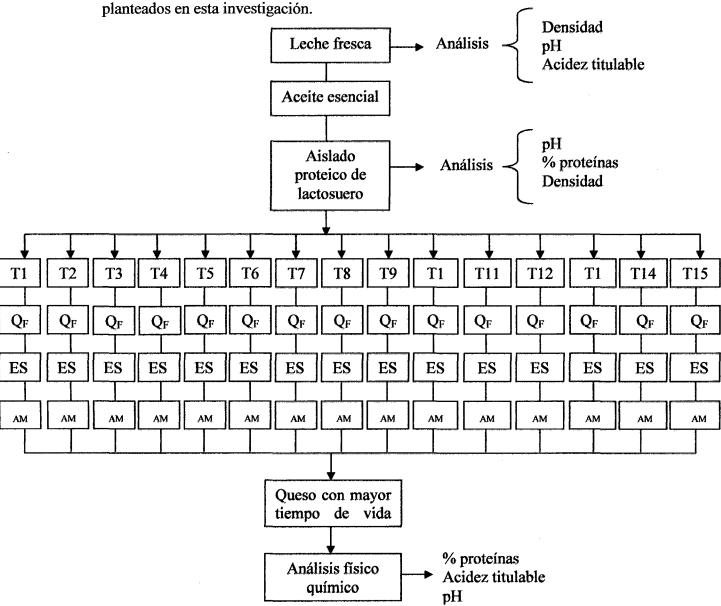


Figura 1. Metodología experimental para determinar la vida útil del queso fresco

T1: Tratamientos

Q<sub>F</sub>: Queso fresco

ES: Evaluación sensorial (aroma, sabor, aceptabilidad)

AM: Análisis microbiológico (bacterias mesófilas aerobias, coliformes totales, S. aureus, E. coli)

# 2.3 Obtención del aceite esencial de hierba luisa *(Cymbopogon citratus, (DC)*Stapf) y del aislado proteico de lactosuero

# 2.3.1 Obtención del aceite esencial de hierba luisa (Cymbopogon citratus, (DC) Stapf)

La obtención del aceite esencial de hierba luisa se realizó según la secuencia mostrada en la Figura 2.

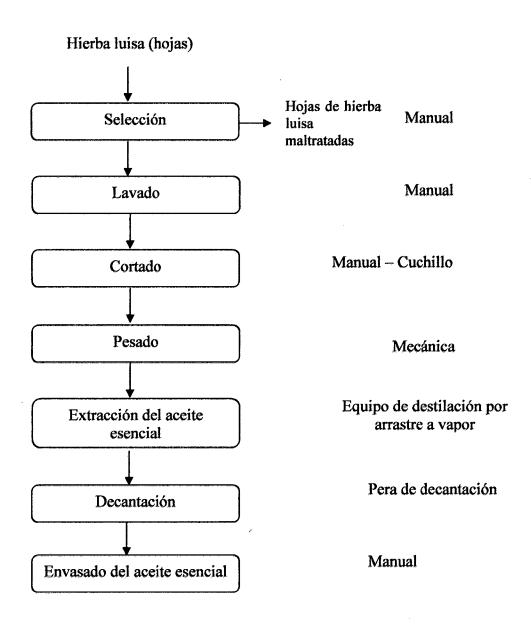


Figura 2: Flujograma de la obtención del aceite esencial de hierba luisa (Cymbopogon citratus, (DC) Stapf).

Las actividades realizadas de cada una de las etapas del proceso se detallan a continuación:

#### Selección

Se eliminó las hojas de hierba luisa (Cymbopogon citratus, (DC) Stapf) que se encontraban maltratadas, secas, con el objetivo de obtener un aceite esencial de calidad y homogéneo; esta operación se realizó manualmente.

#### Lavado

Se lavaron con agua las hojas de hierba luisa, con la finalidad de limpiar las impurezas que se encontraban en la superficie de estas hojas.

### Cortado

Las hojas de hierba luisa se cortaron con un cuchillo doméstico, con el objetivo de homogenizar y permitir el ingreso de estas hojas en el balón que forma parte del destilador por arrastre a vapor.

#### Pesado

Las hojas cortadas fueron pesadas en una balanza digital (Precision ES-200A), para determinar el rendimiento del aceite obtenido. El peso de hojas fue igual por cada batch de extracción del aceite (200 g).

#### Extracción

Las hojas cortadas y pesadas fueron colocadas en el balón que forma parte del equipo de destilación por arrastre a vapor, con el objetivo de extraer el aceite esencial que se encuentra en las hojas de hierba luisa. El destilado se recibió en un vaso de precipitados que contenía solución saturada con NaCl, la

misma que permitió una separación posterior del agua que trae consigo durante la destilación.

### Decantación

El destilado fue colocado en una pera de decantación de 250 mL, para que mediante diferencia de densidades, se logre separar el aceite esencial del agua.

Luego de pasar por la pera de decantación, el aceite fue separado con ayuda de una aguja o gotero, para así obtener un aceite libre de agua.

#### Envasado

El aceite esencial de hierba luisa (Cymbopogon citratus, (DC) Stapf) fue envasado en un frasco de color ámbar y almacenado a temperatura ambiente en un lugar seco, para evitar la radiación de la luz y la posible oxidación. El pH del aceite fue 6,5.

## 2.3.2 Obtención del aislado proteico de lactosuero

La obtención del aislado proteico del lactosuero se realizó según la secuencia mostrada en la Figura 3.

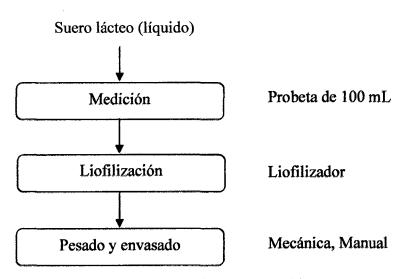


Figura 3. Flujograma de la obtención del aislado proteico del lactosuero.

Las actividades realizadas de cada una de las etapas de esta operación se detallan a continuación:

### a) Medición

Se realizaron mediciones del suero lácteo con una probeta de 100 mL, para conocer el peso final del suero lácteo en polvo, pérdida de humedad, y determinar las horas que se encontrará el producto en el liofilizador.

# b) Liofilización

# Congelación

El lactosuero fue repartido en las bandejas a 7 mm de altura de capa del liofilizador y colocados en el congelador (COLDEX) por espacio de 8 horas.

### Deshidratación

El lactosuero congelado fue colocado en la torre de deshidratación del liofilizador.

Después de 7 horas se obtuvo el suero en polvo (ver Anexo B).

# c) Pesado y envasado

El liofilizado se pesó en una balanza digital (Precision ES-200A), y se envasó en bolsas tetrapack para evitar la absorción de la humedad al producto, y fue almacenado a 12 °C.

# 2.4 Elaboración de queso fresco con aceite esencial de hierba luisa (Cymbopogon citratus, (DC) Stapf), aislado proteico del lactosuero y humedades diferentes.

### 2.4.1 Formulación

Se realizaron 15 formulaciones para la elaboración del queso fresco, en base a 200 g de cuajada, teniendo como insumos al aceite esencial de hierba luisa (Cymbopogon citratus, (DC) Stapf), aislado proteico de lactosuero y

trabajados con humedades diferentes: 60%, 70% y 80%; aplicando el método estadístico de Box-Behnken (Greasham e Inamine, 1989) (Tabla 3), donde cada columna representó una variable y cada fila un experimento.

El signo (-) representa el valor bajo, el signo (0) es el valor medio y el signo (+) representa el valor alto de cada una de las tres variables independientes (Tabla 4). La variable respuesta fue el tiempo de vida útil del queso fresco. Las 15 formulaciones experimentales para elaborar queso fresco se muestran en la Tabla 5.

Tabla 3. Distribución de valores de las tres variables independientes según el método estadístico de Box-Behnken

Número			
experimento	X1	X2	Х3
1	. +	+	+
2	+	+	0
3	+	0	+
4	0	+	+
5	+	+	-
6	+	-	+
. 7	-	+	+
8	+	0	0
9	0	0	0
10	0		-
11	-	-	0
12	+	0	-
13	-	0	+
14	0	-	+
15	-	-	-

Fuente: Greasham e Inamine, 1989

Tabla 4. Valores de cada una de las tres variables independientes a ser evaluadas con el método estadístico de Box – Behnken, para elaborar queso fresco.

Humedad (%) X1	Aceite esencial (mL) X2	Aislado proteico (g) X3
80	0,5	0,75
70	0,3	0,5
60	0,1	0,25
	<b>X1</b> 80 70	X1 X2 80 0,5 70 0,3

Fuente: Elaboración propia

Tabla 5. Formulaciones para la elaboración de queso fresco

		INSUMOS		Cuajada
Formulaciones	Humedad (%)	Aceite esencial (mL)	Aislado proteico (g)	<b>(g)</b>
1	80	0,5	0,75	200
2	80	0,5	0,50	200
3	80	0,3	0,75	200
4	70	0,5	0,75	200
5	80	0,5	0,25	200
6	80	0,1	0,75	200
7	60	0,5	0,75	200
8	80	0,3	0,50	200
9	70	0,3	0,50	200
10	70	0,1	0,25	200
11	60	0,1	0,50	200
12	80	0,3	0,25	200
13	60	0,3	0,75	200
14	70	0,1	0,75	200
15	60	0,1	0,25	200

Fuente: Elaboración propia.

# 2.4.2 Elaboración de queso fresco

La elaboración de queso fresco se realizó según la secuencia mostrada en la Figura 4.

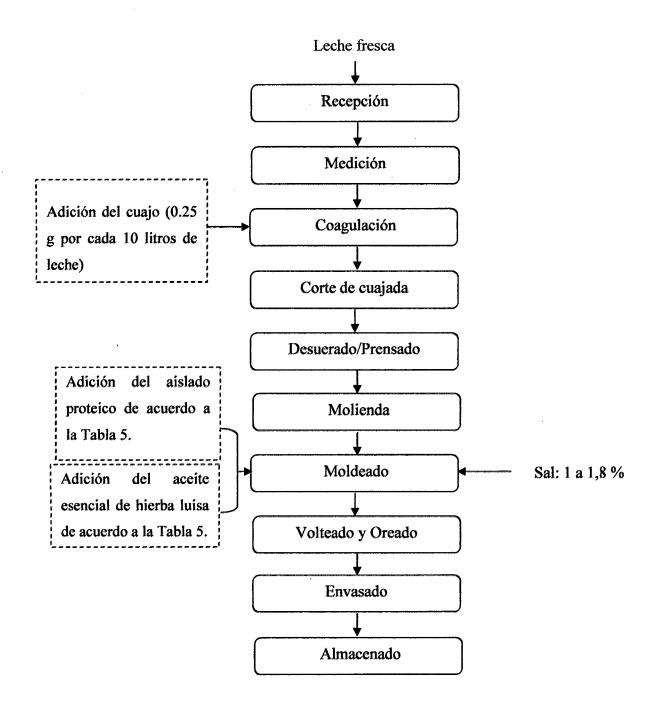


Figura 4. Flujograma de la elaboración de queso fresco

Las actividades realizadas de cada una de las etapas del proceso se detallan a continuación:

#### Recepción

En esta etapa se realizan las pruebas fisicoquímicas a la leche (densidad, acidez titulable, pH).

#### Medición

Se trabajó con 120 litros de leche repartidos en dos ollas de aluminio (capacidad 60 litros cada una), tratando de mantener la temperatura de la leche que provenía del ordeño (37 °C).

#### Coagulación

Se agregó 0,25 gramos de cuajo en polvo por cada 10 litros de leche a coagular. Se depositó los gramos de cuajo en un vaso, se agregó un poco de sal y luego se agregó agua y se agitó, esto facilitó la dilución del cuajo.

Al agregar el cuajo a la leche, se agitó por unos 4-6 minutos, para distribuir bien el cuajo. Luego se agitó por otros 5 minutos a 1 o 2 cm de la superficie.

#### Corte de cuajada

Para este efecto se utilizó liras, introduciéndolo hasta el fondo de la olla. Luego del corte, se agitó suavemente la cuajada para disminuir el suero retenido y obtener con ello un queso más compacto y con humedad uniforme. Una vez finalizada la agitación de la cuajada, se dejó reposar por unos 10-20 minutos.

#### Desuerado/prensado

Pasado el tiempo de reposo de la etapa anterior, se separó el suero. Se extrajo el 30 % aproximadamente, del volumen inicial de leche en suero. Para esto, se usó una jarra de plástico. Mediante presión manual se obtuvieron tres masas distintas de la misma cuajada

que empíricamente fueron marcadas con humedad (60%, 70% y 80%) de acuerdo a la presión aplicada a la cuajada.

#### Molienda

Con la ayuda de un molino de mano (CORONA), se molió la cuajada para obtener una masa uniforme, homogénea y con las humedades deseadas (ver Anexo B).

#### Moldeado

La cuajada molida se colocó en los moldes. En esta etapa se adicionó el aceite esencial de hierba luisa y el aislado del suero lácteo en las cantidades determinadas por cada tratamiento (Tabla 5).

#### Volteado y Oreado

Transcurrido el tiempo desde el moldeado, se realizó el volteo del queso fresco, luego se dejó en reposo por espacio de 30 minutos

#### Envasado

Los quesos fueron puestos en envolturas plásticas WRAP SQ.FT

#### Almacenado

El queso fresco fue almacenado a 5°C.

#### 2.5 Análisis sensorial al queso fresco

#### 2.5.1 Pruebas analíticas

#### a) Pruebas de discriminación

#### Prueba del triángulo

Las pruebas de discriminación fueron diseñadas para demostrar si los evaluadores pueden detectar alguna diferencia entre las muestras. Responden a la pregunta: ¿existe alguna diferencia sensorial entre las muestras?.

#### Aplicación de la prueba

- Se reclutaron 30 evaluadores. A cada evaluador se le presentó tres muestras codificadas: dos muestras eran idénticas y una era diferente. Cada evaluador probó (examen visual, tacto, olfato y gusto) las muestras de izquierda a derecha, y se le pidió que identifique la muestra diferente según el formulario de la "prueba del triángulo" (ver Anexo C).

#### 2.5.2. Pruebas afectivas

#### a) Pruebas para medir la aceptabilidad

#### Prueba hedónica

Las pruebas hedónicas fueron destinadas a medir cuanto agrada o desagrada un producto. Para estas pruebas se utilizaron escalas categorizadas, que pueden tener diferente número de categorías y que comúnmente van desde "me gusta extremadamente", pasando por "ni me gusta ni me disgusta" hasta "me disgusta extremadamente". El panel elegido para la evaluación correspondió a los consumidores potenciales o habituales del producto en estudio.

#### Aplicación de la prueba

Para determinar el grado de aceptación de los quesos frescos que aleatoriamente se destinaron para tal fin, se les sometió a una prueba de aceptabilidad (Prueba hedónica) cuya escala estructurada fue de 9 puntos tal como se muestra en la ficha de respuesta (ver anexo C). Para la prueba se contó con el apoyo de 20 jueces semientrenados para establecer cuál de los tratamientos tiene mayor aceptabilidad, conformados por los jóvenes del Preseminario Octavio Ortiz Arrieta de la ciudad de Chachapoyas.

Los jóvenes que participaron en la prueba fueron previamente evaluados por la prueba del triángulo para ver la capacidad de diferenciar sabores y aromas de los productos, y la prueba se ejecutó a las 5 de la tarde, las veces que fue realizada la evaluación.

La elaboración de los quesos frescos se realizó el 13 de Setiembre del 2009; ejecutándose posteriormente la evaluación sensorial en tres fechas, la primera evaluación el 14 de Setiembre, la segunda el 29 de Setiembre y la tercera evaluación el 13 de Octubre del 2009.

Por cada evaluación, 15 quesos frescos fueron cortados en cubitos de 2 x 2 cm, se les colocó un mondadientes y fueron colocados en platos descartables blancos previamente codificados. Cada plato contó además con un banderín que indicaba una codificación válida solamente para los evaluadores para que sean guiados. Se entregaron las fichas de respuestas a los panelistas, los cuales fueron capacitados previamente para el correcto llenado. A cada panelista le correspondió 15 muestras (cubitos de queso) más la muestra testigo (queso elaborado sin los insumos de estudio). En los entretiempos a cada panelista se le entregó un vaso de agua hervida tibia para poder diferenciar los atributos de las muestras.

#### 2.6. Análisis físico químico y microbiológico

#### 2.6.1 Análisis físico químico

#### Análisis fisicoquímico de la leche

Se realizó los análisis que se mencionan a continuación y que se describen en el Anexo B.

- Preparación de la muestra (AOAC 925.21, 1998).
- Densidad: Método del lactodensímetro (AOAC 925.23 (B), 1998).
- Determinación de la acidez titulable: (AOAC. 947.05, 1998).
- Determinación de pH: Método potenciómetro.

#### Análisis fisicoquímico del queso

De los 15 tratamientos, se eligió al mejor producto correspondiéndole este lugar al tratamiento 11 (H1A), para realizar los análisis físicos químicos que se mencionan a continuación y que se describen en el Anexo B.

- Porcentaje de proteínas: Método Biuret (Chávez, 2005)
- Determinación de la acidez titulable: (AOAC 947.05, 1998).
- Determinación de pH: Método potenciómetro.

#### 2.6.2 Análisis microbiológico

Se ejecutó en dos fechas, realizándose el primer análisis microbiológico el 14 de Setiembre del 2009, y el último análisis el 13 de Octubre del 2009; esto se realizó con la finalidad de conocer la presencia y/o comportamiento de los microorganismos. Este análisis se ejecutó a los 15 tratamientos, más el "queso testigo", tal como se mencionan a continuación, y que se describen en el Anexo B.

Preparación de la muestra: Se realizaron según la metodología de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), la Administración de Alimentos y Medicamentos

(FDA) de los Estados Unidos de América y la Comisión Internacional para las Especificaciones Microbiológicas de los Alimentos.

- Determinación de Bacterias aerobias mesófilas (Cristóbal y Maurtua, 2001).
- Determinación de Coliformes totales, Escherichia coli (Cristóbal y Maurtua, 2001).
- Determinación de Estreptococos, Staphylococcus aureus (Cristóbal y Maurtua, 2001).

#### 2.7. Análisis de datos

#### 2.7.1 Optimización con el diseño estadístico de Box-Behnken.

Para la obtención de nuestros resultados se aplicó el diseño estadístico de Box-Behnken, con el cual se optimizaron las siguientes variables: aceite esencial de hierba luisa, humedad y aislado proteico del lactosuero, para obtener nuestra variable respuesta, tiempo de vida útil (número de días), lo más cercana a nuestra hipótesis. Los datos que se tomaron en cuenta en el diseño, fueron resultados de las pruebas sensoriales aplicadas; pudiendo decir que los datos son respuestas directas de los evaluadores del producto.

Una vez que se realizó los experimentos, se procedió a calcular los coeficientes del modelo polinomial usando el software estadístico Statgraphics 6.1. Las ecuaciones calculadas se usaron para generar gráficas de contornos de respuestas en superficies versus nivel de variables, que indicaron que la respuesta óptima ha sido identificada o al menos sugirieron la región donde el óptimo está localizado.

#### III. RESULTADOS

# 3.1. Análisis fisicoquímico de la leche

En los análisis realizados, la leche reportó los siguientes resultados: densidad 1,033 g/cm<sup>3</sup>; pH 6,72 y acidez titulable 17 °D.

#### 3.2. Análisis del aceite esencial de hierba luisa (Cymbopogon citratus, (DC) Stapf)

De los 10 Kg de hojas de hierba luisa (Cymbopogon citratus, (DC) Stapf) se obtuvieron por arrastre a vapor 20 mL de aceite esencial, con un pH de 6,5.

#### 3.3. Análisis del aislado proteico de lactosuero

De los 320 mL de suero lácteo se obtuvo por liofilización 36,22 g de suero en polvo, con una humedad del 5%, proteína 11%, pH 6,2.

#### 3.4. Análisis fisicoquímico del queso fresco

Con 120 litros de leche fresca, se obtuvo 70 quesos de 200 gramos cada uno, de los cuales, 60 fueron nuestras unidades experimentales y 4 se emplearon como testigos. Los 6 quesos restantes nos sirvieron para comprobar hasta qué tiempo, pasados los treinta días de evaluación, resultaban aceptables.

En los análisis realizados, el queso fresco tuvo los siguientes resultados: acidez titulable 0.72, proteína 12 %, pH 5,3.

#### 3.5. Optimización con el diseño estadístico de Box-Behnken

El resultado (número de días de vida útil) ha sido generado utilizando una regresión lineal en base al tratamiento que ha demostrado mayor tiempo de vida útil en la evaluación sensorial (ver Anexo A).

Las características calificadas en la evaluación sensorial fueron el aroma, sabor y aceptabilidad del queso fresco; cuyos resultados sirvieron de base para realizar la optimización de las variables independientes con el diseño estadístico de Box-Behnken (Tablas 6, 7 y 8).

Tabla 6. Optimización con el diseño estadístico de Box-Behnken para el aroma del queso fresco

%)         mL)         g)         de vida 6           1         80         0,5         0,75         23           1         80         0,5         0,50         25           1         80         0,3         0,75         24           1         70         0,5         0,75         23           1         80         0,5         0,25         25           1         80         0,1         0,75         23           1         60         0,3         0,50         24           1         70         0,3         0,50         25           1         60         0,5         0,75         24           1         70         0,1         0,25         29           1         60         0,1         0,50         30           1         80         0,3         0,25         26           1         60         0,3         0,25         26           1         60         0,3         0,75         25           1         60         0,3         0,75         25           1         60         0,3         0,75         25		X1	X2	Х3	Y
1       80       0,5       0,75       23         1       80       0,5       0,50       25         1       80       0,3       0,75       24         1       70       0,5       0,75       23         1       80       0,5       0,25       25         1       80       0,1       0,75       23         1       60       0,3       0,50       24         1       70       0,3       0,50       25         1       60       0,5       0,75       24         1       70       0,1       0,25       29         1       60       0,1       0,50       30         1       80       0,3       0,25       26         1       60       0,3       0,75       25         1       60       0,3       0,75       25         1       70       0,1       0,75       25         1       70       0,1       0,75       25         1       70       0,1       0,75       25	Bloque	(humedad,	(aceite esencial,	(aislado proteico,	(número de días
1       80       0,5       0,50       25         1       80       0,3       0,75       24         1       70       0,5       0,75       23         1       80       0,5       0,25       25         1       80       0,1       0,75       23         1       60       0,3       0,50       24         1       70       0,3       0,50       25         1       60       0,5       0,75       24         1       70       0,1       0,25       29         1       60       0,1       0,50       30         1       80       0,3       0,25       26         1       60       0,3       0,75       25         1       60       0,3       0,75       25         1       70       0,1       0,75       25         1       70       0,1       0,75       24		<b>%</b> )	mL)	g)	de vida útil)
1       80       0,3       0,75       24         1       70       0,5       0,75       23         1       80       0,5       0,25       25         1       80       0,1       0,75       23         1       60       0,3       0,50       24         1       70       0,3       0,50       25         1       60       0,5       0,75       24         1       70       0,1       0,25       29         1       60       0,1       0,50       30         1       80       0,3       0,25       26         1       60       0,3       0,75       25         1       70       0,1       0,75       25         1       70       0,1       0,75       24	1	80	0,5	0,75	23
1       70       0,5       0,75       23         1       80       0,5       0,25       25         1       80       0,1       0,75       23         1       60       0,3       0,50       24         1       70       0,3       0,50       25         1       60       0,5       0,75       24         1       70       0,1       0,25       29         1       60       0,1       0,50       30         1       80       0,3       0,25       26         1       60       0,3       0,75       25         1       70       0,1       0,75       25         1       70       0,1       0,75       25	1	80	0,5	0,50	25
1       80       0,5       0,25       25         1       80       0,1       0,75       23         1       60       0,3       0,50       24         1       70       0,3       0,50       25         1       60       0,5       0,75       24         1       70       0,1       0,25       29         1       60       0,1       0,50       30         1       80       0,3       0,25       26         1       60       0,3       0,75       25         1       70       0,1       0,75       24	1	80	0,3	0,75	24
1       80       0,1       0,75       23         1       60       0,3       0,50       24         1       70       0,3       0,50       25         1       60       0,5       0,75       24         1       70       0,1       0,25       29         1       60       0,1       0,50       30         1       80       0,3       0,25       26         1       60       0,3       0,75       25         1       70       0,1       0,75       24	1	70	0,5	0,75	23
1       60       0,3       0,50       24         1       70       0,3       0,50       25         1       60       0,5       0,75       24         1       70       0,1       0,25       29         1       60       0,1       0,50       30         1       80       0,3       0,25       26         1       60       0,3       0,75       25         1       70       0,1       0,75       24	1	80	0,5	0,25	25
1       70       0,3       0,50       25         1       60       0,5       0,75       24         1       70       0,1       0,25       29         1       60       0,1       0,50       30         1       80       0,3       0,25       26         1       60       0,3       0,75       25         1       70       0,1       0,75       24	1	80	0,1	0,75	23
1       60       0,5       0,75       24         1       70       0,1       0,25       29         1       60       0,1       0,50       30         1       80       0,3       0,25       26         1       60       0,3       0,75       25         1       70       0,1       0,75       24	1	60	0,3	0,50	24
1     70     0,1     0,25     29       1     60     0,1     0,50     30       1     80     0,3     0,25     26       1     60     0,3     0,75     25       1     70     0,1     0,75     24	1	70	0,3	0,50	25
1     60     0,1     0,50     30       1     80     0,3     0,25     26       1     60     0,3     0,75     25       1     70     0,1     0,75     24	1	60	0,5	0,75	24
1     80     0,3     0,25     26       1     60     0,3     0,75     25       1     70     0,1     0,75     24	1	70	0,1	0,25	29
1 60 0,3 0,75 25 1 70 0,1 0,75 24	1	60	0,1	0,50	30
1 70 0,1 0,75 24	1	80	0,3	0,25	26
	1	60	0,3	0,75	25
	1	70	0,1	0,75	7 24
1 60 0,1 0,25 26	1	60	0,1	0,25	26

Fuente: Elaboración propia

# Coeficiente de regresión para Y

Constante	=	30,3376
A: X1	=	-0,269816
B: X2	=	-74,1194
C: X3	=	61,0308
AA	=	0,00364996
AB	=	0,548538
AC	=	-0,726693
BB	===	18,6923
BC		26,438
CC	=	-18,5998

La ecuación del modelo de la regresión que se ajusta a los datos para el aroma es:

$$Y = 30,3376 - 0,269816*X1 - 74,1194*X2 + 61,0308*X3 + 0,00364996*X1^{2} + 0,548538*X1*X2 - 0,726693*X1*X3 + 18,6923*X2^{2} + 26,438*X2*X3 - 18,5998*X3^{2}$$

Siendo los valores de las variables especificados en sus unidades originales.

# Respuesta Optimizada

Meta: maximizar Y (número de días de vida útil)

Valor Óptimo = 28,7704 días

Factor	Inferior	Mayor	Óptimo
X1	60,0	80,0	60,0
X2	0,1	0,5	0,1
X3	0,25	0,75	0,539095

# Superficie de Respuesta estimada X1=60,0

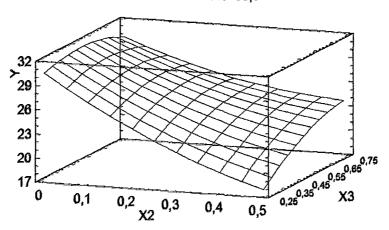


Figura 5. Gráfica de superficie de respuesta estimada para el aroma, cuando X1(% de humedad) es igual a  $60\,\%$ 

En la Figura 5 se puede observar que:

Y = 31 días de vida alcanzados como máximo, con: X2 = 0,01 mL; X3 = 0,49 g.

Y = 18 días de vida alcanzados como mínimo, con: X2 = 0.5 mL; X3 = 0.25 g.

Tabla 7. Optimización con el diseño estadístico de Box-Behnken para el sabor del queso fresco

	X1 (humedad, %)	X2	Х3	Y
Bloque		(aceite esencial,	(aislado proteico,	(número de días
	(numedad, 70)	mL)	<b>g.</b> )	de vida útil)
1	80	0,5	0,75	23
1	80	0,5	0,50	25
1	80	0,3	0,75	24
1	70	0,5	0,75	23
1	80	0,5	0,25	24
1	80	0,1	0,75	22
1	60	0,3	0,50	22
1	70	0,3	0,50	21
1	60	0,5	0,75	20
1	70	0,1	0,25	26
1 .	60	0,1	0,50	30
1	80	0,3	0,25	24
1	60	0,3	0,75	24
1	70	0,1	0,75	22
1	60	0,1	0,25	24

Fuente: Elaboración propia

# Coeficiente de regresión para Y

Constante	=	95,0435
A: X1	=	-2,12242
B: X2	=	-144,474
C: X3	=	72,6368
AA	=	0,0169305
AB	=	1,23142
AC	=	-1,00836
BB	=	44,2227
BC	=	35,365
CC	=	-7,72208

La ecuación del modelo de la regresión que se ajusta a los datos para el sabor es:

$$Y = 95,0435 - 2,12242*X1 - 144,474*X2 + 72,6368*X3 + 0,0169305*X1^2 + 1,23142*X1*X2 - 1,00836*X1*X3 + 44,2227*X2^2 + 35,365*X2*X3 - 7,72208*X3^2$$

Siendo los valores de las variables especificados en sus unidades originales.

# Respuesta Optimizada

Meta: maximizar Y (número de días de vida útil).

Valor Óptimo = 29,36 días.

Factor	Inferior	Mayor	Óptimo
X1 X2	60,0 0,1	80,0 0,5	60,0 0,102335
X3	0,25	0,75	0,75

# Superficie de Respuesta estimada X1=60,0

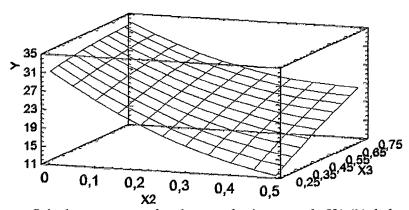


Figura 6. Gráfica de superficie de respuesta estimada para el sabor, cuando X1 (% de humedad) es igual a 60%

En la Figura 6 se puede observar que:

Y = 33 días de vida alcanzados como máximo con: X2 = 0.02 mL; X3 = 0.75 g.

Y = 12 días de vida alcanzados como mínimo con: X2 = 0.5 mL; X3 = 0.25 g.

Tabla 8. Optimización con el diseño estadístico de Box-Behnken para la aceptabilidad del queso fresco.

		WA.	¥73	<b>T</b> 7
Bloque	X1 (humedad, %)	X2 (aceite esencial, mL)	X3 (aislado proteico, g)	Y (número de días de vida útil)
1 ·	80	0,5	0,75	23
1	80	0,5	0,50	22
1	80	0,3	0,75	21
1	70	0,5	0,75	22
1	80	0,5	0,25	21
1	80	0,1	0,75	22
1	60	0,3	0,50	20
1	70	0,3	0,50	22
1	60	0,5	0,75	23
1	70	0,1	0,25	25
1	60	0,1	0,50	30
1	80	0,3	0,25	23
1	60	0,3	0,75	21
1	70	0,1	0,75	20
1	60	0,1	0,25	23

Fuente: Elaboración propia.

# Coeficiente de regresión para Y

Constante	=	47,54
A: X1	=	-0,858196
B: X2	=	-104,476
C: X3	=	72,6438
AA	=	0,00740765
AB	=	0,74192
AC	=	-0,605409
BB	=	31,9179
BC	=	39,7889
CC	=	-39,6306

La ecuación del modelo de la regresión que se ajusta a los datos para la aceptabilidad del queso fresco es:

$$Y = 47,54 - 0,858196*X1 - 104,476*X2 + 72,6438*X3 + 0,00740765*X1^{2} + 0,74192*X1*X2 - 0,605409*X1*X3 + 31,9179*X2^{2} + 39,7889*X2*X3 - 39,6306*X3^{2}$$

Siendo los valores de las variables especificados en sus unidades originales.

# Respuesta Optimizada

Meta: maximizar Y (número de días de vida útil)

Valor Óptimo = 27,2832 días

Factor	Inferior	Mayor	Óptimo
**********			
X1	60,0	80,0	60,0
X2	0,1	0,5	0,1
X3	0,25	0,75	0,508459

# Superficie de Respuesta estimada

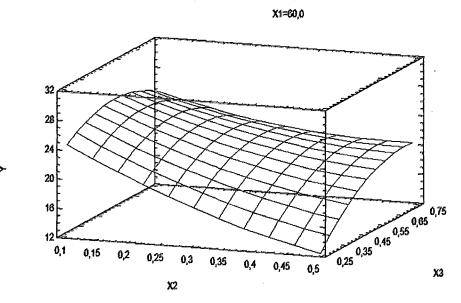


Figura 7. Gráfica de superficie de respuesta estimada para la aceptabilidad, cuando X1 (% de humedad) es igual a 60%

En la Figura 7 se puede observar que:

Y = 27 días de vida alcanzados como máximo con: X2 = 0,1 mL; X3 = 0, 48 g.

Y = 12,3 días de vida alcanzados como mínimo con: X2 = 0,5 mL; X3 = 0,25 g.

# 3.6. Análisis microbiológico del queso fresco

Tabla 9. Carga microbiana encontrada en las muestras de queso fresco analizadas el primer día de su elaboración.

Muestras	Bacterias aerobias mesófilas log(ufc/g)	Coliformes totales (NMP/g)	Escherichia coli (ufc/g)	Staphylococcus aureus log(ufc/g)
T1	4,15	3	Ausencia	3,60
T2	4,05	3	Ausencia	3,48
Т3	4,16	3	Ausencia	3,48
T4	4,26	3	Ausencia	3,60
T5	3,97	3	Ausencia	3,60
Т6	4,07	3	Ausencia	3,70
T7	3,96	3	Ausencia	3,60
Т8	4,11	4	Ausencia	3,70
Т9	3,97	3	Ausencia	3,70
T10	3,96	3	Ausencia	3,48
T11	3,85	3	Ausencia	3,00
T12	3,90	3	Ausencia	3,70
T13	4,13	3	Ausencia	3,70
T14	3,90	. 3	Ausencia	3,70
T15	4,25	4	Ausencia	3,78
Testigo	4,81	11	$1,28 \times 10^4$	4,08

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 10. Carga microbiana encontrada en las muestras de queso fresco analizadas a los treinta días de su elaboración.

Muestras	Bacterias aerobias mesófilas log(ufc/g)	Coliformes totales (NMP/g)	Escherichia coli (NMP/g)	Staphylococcus aureus log(ufc/g)
T1	4,17	4	Ausencia	3,78
T2	4,19	4	Ausencia	3,70
T3	4,20	3	Ausencia	3,70
T4	4,28	3	Ausencia	3,78
T5	3,98	3	Ausencia	3,78
T6	4,09	7	Ausencia	3,85
T <b>7</b>	4,12	3	Ausencia	3,78
T8	4,25`	7	Ausencia	3,90
T9	4,11	3	Ausencia	3,85
T10	4,05	3	Ausencia	3,60
T11	3,91	3	Ausencia	3,30
T12	3,94	3	Ausencia	3,85
T13	4,14	4	Ausencia	3,78
T14	3,94	7	Ausencia	3,85
T15	4,31	7	Ausencia	3,85
Testigo	5,22	15	$1,38 \times 10^4$	4,48

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 11. Resultados con la tinción GRAM

Microorganismo	Forma	Agrupación	GRAM
Staphylococcus	cocos	cadenas, racimos	positivo
aureus			
Enterobacterias	bacilos	racimos	negativo
(Coliformes)			

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 12. Pruebas bioquímicas para determinar la posible presencia de *Escherichia coli* en los quince tratamientos.

Microorganismo	Pruebas bioquímicas	Resultados
	Indol	Negativo
Escherichia coli	Rojo de Metilo (RM)	Negativo
		Positivo (*)

Fuente: Elaboración propia.

(\*) Queso testigo

En cuanto a la prueba de Indol realizada al queso testigo, después de haber añadido las 5 gotas de reactivo de Kovacs, se observó el desarrollo de un vivo color rojo fucsia en la interfase del reactivo y el caldo, por lo tanto resultó una prueba positiva. Esta prueba analizada en los quince tratamientos resultó negativa.

En el caso de la prueba RM, se empleó un tubo de ensayo por cada tratamiento, al que se le agregó 5 gotas de rojo metilo. El color anaranjado del tubo de ensayo no cambió a rojo, indicando esto que la prueba salió negativa, por lo tanto, ausencia de *Escherichia coli*.

Al realizar la prueba RM al queso testigo, se empleó un tubo de ensayo, al que se añadió al 5 gotas de indicador rojo de metilo, se observó una coloración rojo, esto se debe a que el microorganismo *E. coli* es un productor de ácido, y al agregarle este reactivo que no es más que una determinación de pH de caldo de cultivo de glucosa, reacciona de manera positiva, ya que la acidez acumulada es suficiente para resaltar el iniciador al rojo. El color rojo indica una reacción positiva (ácida).

Tabla 13. Resultado de la prueba de coagulasa en la identificación de *Staphylococcus* aureus

Microorganismo	Prueba bioquímica	Resultados	Características
Staphylococcus aureus	coagulasa	Positivo	Turbidez alrededor de la colonia.  Formación de coágulos organizados, y se mantiene cuando se invierte el tubo.  Colonias medianas, blancas, cremosas y brillantes

Fuente: Elaboración propia

# IV. DISCUSIÓN

Las variables de mayor influencia en la vida útil del queso fresco fueron: la humedad y el aceite esencial de hierba luisa *(Cymbopogon citratus, (DC) Stapf)*; con 60% y 0,1 mL respectivamente, se logró un tiempo de vida útil máximo de 30 días; pero por tratarse de un alimento consideramos que el tiempo óptimo para el consumo debe ser de 27 días.

Una humedad del 60 % fue suficiente para asegurar la conservación del producto, brindar una textura adecuada y lograr un aspecto de frescura a la vista del consumidor; disminuyendo así la posible contaminación bacteriana. Demasiada agua, merma la calidad intrínseca del alimento; que trae como consecuencia la baja aceptabilidad del producto, resultando un tiempo de vida útil corto.

Según los resultados de las Tablas 14, 15 y 16 (ver anexo A), se pudo observar que el tratamiento 10 (H7A) y tratamiento 11 (H1A) fueron los mejores respecto al sabor, aroma y por ende en cuanto a la aceptabilidad. Por su parte, los tratamientos Y2T, L1P, T5F tuvieron calificación menor, esto debido a que no presentaban sabor apetecible para el evaluador por contener una de las dosis más alta del aceite esencial de hierba luisa (0,5); además de una humedad de 80% que provocó una total expansión del aceite por todo el alimento y una textura poco apreciable para los evaluadores.

En la Tabla 22, Figura 16 (ver Anexo A), se puede observar que en el primer día de evaluación sensorial, en cuanto al sabor, el queso testigo obtuvo altas calificaciones, pero conforme avanzaban los días de evaluación las calificaciones bajaron significativamente, debido a que este queso presentaba un sabor que no era grato al

evaluador; sin embargo, en los resultados que se muestran en la Tabla 20, Figura 14 (ver Anexo A), el tratamiento T11 (H1A), las calificaciones realizadas por los evaluadores se mantenían casi constantes por el mismo hecho que el sabor era agradable y apetecible al paladar del evaluador; estas características son consecuencia de la dosis de los insumos empleadas en el tratamiento.

En la Tabla 25, Figura 19 (ver Anexo A,) el queso testigo tuvo calificaciones de aceptabilidad, que fueron disminuyendo conforme avanzan los días de evaluación, por no resultar agradable al evaluador. A esto se puede añadir que en el análisis microbiológico realizado; este queso mostró resultados por encima de los valores obtenidos de los quince tratamientos, y se puede decir que este producto habría estado más susceptible de contaminarse ya que no contaba con los insumos utilizados para nuestra investigación, en especial el aceite esencial, quien actuó como conservante.

Según la Tabla 23, Figura 17 (ver Anexo A), el tratamiento T11 (H1A) muestra resultados favorables de aceptabilidad, y en su análisis microbiológico (a los 30 días de elaborado), obtuvo: mesófilos aeorobios 3,91 log (ufc/g), coliformes totales 3 NMP/g y *Staphylococcus aureus* 3,30 log (ufc/g); indicando posibles viabilidades para la elaboración de queso fresco con mayor tiempo de vida útil, buenas características organolépticas y calidad sanitaria.

En las Tablas 6, 7 y 8, los tratamientos T1, T2 y T5, que contaron con la mayor cantidad de aceite esencial de hierba luisa y con la máxima humedad, muestran el menor tiempo de vida útil, indicando esto, que la mayor cantidad del aceite influye en el sabor del queso (picante, característica de los aceites esenciales), y que la humedad influye en la apariencia y/o carga microbiana.

Cardello, Bell y Kramer (1996), hicieron una correlación entre la medición de la calidad de un alimento dada por el consumidor y la aceptabilidad del mismo alimento obteniendo un coeficiente mayor a 0,92. Por lo tanto, la calidad de un alimento está definida por la percepción que de ella tenga el consumidor, y que esta percepción está muy ligada a lo que al consumidor le gusta. Entre los atributos de calidad de un alimento está la vida útil sensorial, por lo tanto el consumidor es un protagonista clave cuando se quiere definir este parámetro (Hough y Fiszman, 2005).

Gómez y Tinedo (2005), en un estudio realizado sobre la conservación de queso fresco artesanal usando agentes bioactivos recuperados del lactosuero, lograron 23 días de conservación en buenas condiciones, con características aceptables y un color apreciable por los consumidores de la zona; resultados que han sido superados por la presente investigación donde se tiene 27 días (Figura 7), con características organolépticas óptimas y con rangos microbiológicos menores a los permitidos por la norma técnica.

La elevada carga microbiana que presenta una muestra de queso, refleja deficiencias higiénicas en la manipulación del queso fresco, lo cual representa un riesgo para la salud del consumidor; caso que no se vio en las muestras del queso fresco elaborado con aceite esencial de hierba luisa, aislado proteico de lactosuero, manejando la humedad del mismo, quien demostró un periodo largo de vida útil aunado con las buenas características organolépticas, valor nutritivo y aceptable a los ojos del consumidor.

#### V. CONCLUSIONES

- La variable más influyente en la vida útil del queso es el aceite esencial de hierba luisa, mientras que la humedad, además de ser una variable influyente, se encuentra íntimamente ligado con la textura del queso fresco. El aislado proteico del lactosuero no marcó significancia directa sobre la vida útil; actuó como donante de proteínas séricas, para incrementar el valor nutritivo de los quesos y proporcionarles mayor digestibilidad.
- Una humedad del 60% y 0,1 mL de aceite esencial de hierba luisa, logran un tiempo de vida útil máximo de 30 días; pero por tratarse de un alimento consideramos que el tiempo óptimo máximo para su consumo será de 27 días.
- La textura de los quesos está íntimamente relacionada con su humedad: una humedad baja contribuye a una textura "a corcho", mientras una humedad excesiva puede ser la causa de una textura pastosa o harinosa, características a ser evaluadas por los consumidores para que decidan si es aceptado o no el producto.
- El hecho de no realizar el proceso de pasteurización, permitió mantener un mejor sabor y aroma en los quesos.
- El análisis de los resultados sensoriales, optimizados con el diseño de Box Behnken; hace ver que la cantidad de aceite esencial debe ser menor a la aplicada, con la que también se tendría resultados favorables en la conservación del queso fresco, y disminuiría el costo de producción.

- La ausencia de *Escherichia coli* en los tratamientos realizados, se debe a las buenas prácticas de manufactura que se tuvo en cuenta antes, durante y después de la elaboración del queso fresco y al poder antimicrobiano del aceite esencial de hierba luisa.
- El análisis microbiológico demuestra que el aceite esencial de hierba luisa (Cymbopogon citratus, (DC) Stapf) tiene acción bactericida e inhibidora sobre microorganismos gram positivos (Staphylococcus aureus) y gram negativos (Escherichia coli).
- El mejor tratamiento resultó ser el T11 (H1A), quien demostró un buen margen microbiológico, aceptable para fines industriales.

#### VI. RECOMENDACIONES

- Probar dosis menores a 0,1 mL de aceite esencial para comparar si se logra mayor aceptabilidad del producto, coadyuvando así a la rentabilidad de la producción.
- Cultivar de manera intensiva la hierba luisa, debido a sus propiedades anti microbianas y a otras bondades que son reconocidas en las industrias a nivel mundial.
- Después de cada elaboración de queso, realizar un tratamiento térmico al suero lácteo, a través del cual se puedan obtener las proteínas las cuales serán aprovechadas en el producto, disminuyendo así la demanda biológica de oxígeno y ayudando a conservar el medio ambiente.
- Los alimentos, además de ser sometidos a los análisis físicos, químicos y microbiológicos para garantizar su inocuidad, deben evaluarse también sus propiedades organolépticas como el sabor, el aroma y la textura.

#### VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abanto, L. Díaz, L. y Luján, R. 2007. Estudio del sector de quesos en el Perú, alternativas de producción y comercialización de queso cajamarquino. Universidad ESAN. Lima.
- Alzamora, L. Morales, L. Armas, L. y Fernández, G. 2004. Medicina tradicional en el Perú: Actividad antimicrobiana in vitro de los aceites esenciales extraídos de algunas plantas aromáticas. Universidad Nacional Mayor de San Marco – Perú.
- American Quality Lab. Aditivos conservantes en alimentos. México 2006.
   Disponible en: www.quiminet.com/American-Quality-Lab. Acceso: 18 de abril de 2009
- Artavia, W. 1999. Elaboración de queso a partir del suero lácteo. Guácimo. Costa Rica
- Becerra, M. 1999. Secreción de la β-Galactosidasa de Kluyveromyces lactis.
   Coruña, España.
- Calle, M. y Solano, A. 2004. Proyecto "Formación y fortalecimiento de una red de microproductores rurales de Tallamac Cajamarca.". PROMPYME Lima, Perú.
- > Cardello, Bell y Kramer, 1996. Introducción al análisis sensorial. Madrid. España.
- Cenzano, I, 1992. Los Quesos. Editorial Mundi-Prensa Libros, S.A. Madrid, España.
- Chávez, J. 2005. Manual de Prácticas de Bioquímica. Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas. Chachapoyas – Perú.
- Consejo Nacional del Ambiente (CONAM). Biodiversidad de flora en el Perú.2003. Disponible en: http://www.adonde.com/peru-peru/CONAM.html. Acceso: 12 de abril de 2009.
- Cristóbal, R. Maurtua, D. 2003. Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima Perú, y la supuesta acción bactericida de Lactobacillus spp. Departamento de Microbiología y Parasitología. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima Perú.
- ➤ Giardina, G. 1995. Utilización de suero para el enriquecimiento de pastas alimenticias. Facultad de Agronomía. Universidad del Centro Venezuela.
- Gómez, C. 2006. Optimización del proceso de extracción de las proteínas del lactosuero mediante precipitación por calor. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. México.

- Gómez, E. y Tinedo, V. 2005. Conservación de queso fresco artesanal usando agentes bioactivos recuperados del lactosuero. Centro de Investigaciones del Estado para la Producción Experimental Agroindustrial. CIEPE. Venezuela.
- Greasham, R. & Inamine, E. 1989. Nutritional improvement of processes. In Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology, ed. N. Solomon & A. Demain, American Society for Microbiology. Washington DC. USA.
- ➤ Guerra, M. 2004. Actividad antimicrobiana del aceite esencial y crema de Cymbopogon citratus (DC). Stapf. Cuba.
- Hough, G. y Fiszman, S. 2005. Estimación de la vida útil sensorial de alimentos. Madrid. España.
- ➤ Madrid, A. 1996. Curso de Industriales Lácteas. Editorial Mundi Prensa Madrid, España.
- Miller, D. 2001. Química de Alimentos, Manual de Laboratorio. Limusa Wiley, México.
- Mostacero, J. Mejía, F y Gamarra, O. 2002. Taxonomía de las Fanerógamas Útiles del Perú. CONCYTEC. Editora Normas Legales S.A.C. Vol I y II. Trujillo – Perú.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO).
  Producción Mundial de Queso. 2004. Disponible en:
  http://www.fao.org/produccion quesos/quesos.978.pdf.Acceso: 02 de marzo de 2009.
- ➤ Pérez, C. 2007. Beneficio de la obtención de proteínas de lactosuero y leche de soya por precipitación ácida y termocoagulación. Celaya, México.
- Perú, Dirección Regional Agraria Amazonas. Cadena Agroalimentaria de Lácteos. Chachapoyas: Dirección Regional Agraria Amazonas, 2008.
- Primo, E. 1998. Química de los Alimentos. Editorial Síntesis S.A. Madrid, España
- Soto, R. 2002. Aspectos fitotécnicos para la tecnología agrícola de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. Cuba.
- Torrecilla, V. 1998. Liofilización moderna técnica y su aplicación en productos alimenticios. Montevideo. Uruguay.
- Veisseyrre, R. 1988. Lactología Técnica: composición, recogida, tratamiento y transformación de la leche. Segunda Edición. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España.
- ➤ Walstra, Peter. Geurts, T. y Jellema, A. 2001. Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos. Editorial Acribia. Zaragoza.

# ANEXOS

#### Anexo A

# 8.1. Evaluaciones sensoriales del queso freso

Tabla 14. Resultados de las evaluaciones sensoriales del aroma del queso fresco realizadas en tres oportunidades desde la fecha de su elaboración

TDATAMIENTOS			
TRATAMIENTOS	DIA 1	DÍA 15	DÍA 30
В9Ј	6,85	6,40	5,80
C8P	7,20	6,65	6,25
E6R	7,65	6,50	6,05
M3Q	6,85	6,35	5,65
Z0M	7,15	6,75	6,20
Z4S	7,00	6,00	5,75
Y2T	6,80	6,10	5,85
L1P	7,05	6,05	5,95
T5F	7,50	7,00	6,25
H7A	7,80	7,70	7,25
H1A	8,00	7,75	7,45
N3H	7,95	7,05	6,45
P6X	7,20	6,85	6,20
F0Y	7,40	6,80	6,05
W5G	7,15	6,80	6,35
R7A	8,30	4,95	3,50

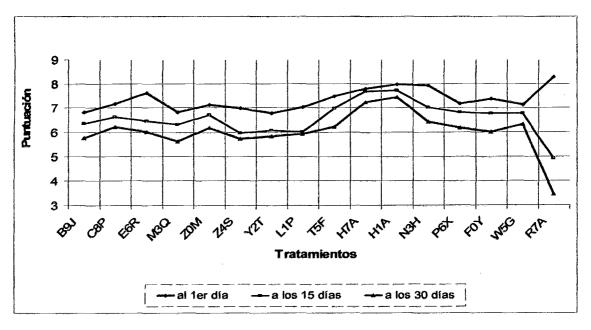


Figura 8. Gráfico de las evaluaciones sensoriales del aroma del queso fresco

Tabla 15. Resultados de las evaluaciones sensoriales del sabor del queso fresco realizadas en tres oportunidades desde la fecha de su elaboración.

		PUNTUACIÓN	V
TRATAMIENTOS	DIA 1	<b>DÍA 15</b>	<b>DÍA 30</b>
В9Ј	6,55	6,40	6,00
C8P	7,15	7,00	6,55
E6R	6,90	6,70	6,25
M3Q	6,85	6,60	6,10
Z0M	6,95	6,75	6,35
Z4S	6,60	6,40	5,95
Y2T	6,35	6,20	5,85
L1P	6,40	6,20	5,65
T5F	6,65	6,45	5,40
H7A	7,85	7,60	6,95
H1A	8,40	8,25	7,95
N3H	7,10	6,85	6,45
P6X	6,90	6,65	6,30
F0Y	6,75	6,55	5,90
W5G	6,85	6,85	6,30
R7A	8,40	4,25	2,80

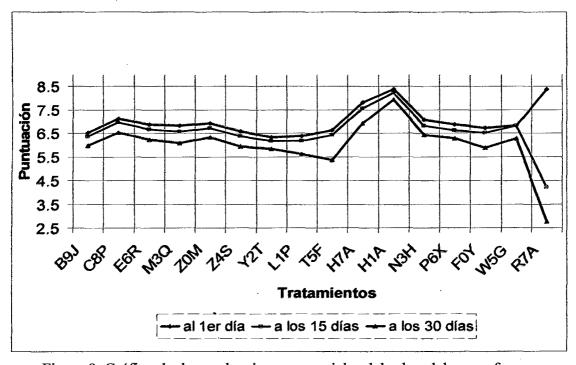


Figura 9. Gráfico de las evaluaciones sensoriales del sabor del queso fresco

Tabla 16. Resultados de la aceptabilidad del queso fresco realizadas en tres oportunidades desde la fecha de su elaboración

	]	PUNTUACIÓN	
TRATAMIENTOS	DIA 1	DÍA 15	DÍA 30
B9J	6,95	6,70	6,00
C8P	6,70	6,25	5,75
E6R	6,55	6,05	5,55
M3Q	6,80	6,35	5,75
Z0M	6,50	6,00	5,50
Z4S	6,80	6,30	5,65
Y2T	6,05	5,75	5,30
L1P	6,75	6,15	5,65
T5F	6,65	6,30	5,90
H7A	7,30	6,90	6,60
H1A	8,25	7,95	7,80
N3H	6,75	6,25	6,00
P6X	6,65	5,95	5,45
F0Y	6,60	5,90	5,25
W5G	7,20	6,60	5,85
R7A	7,30	4,95	2,90

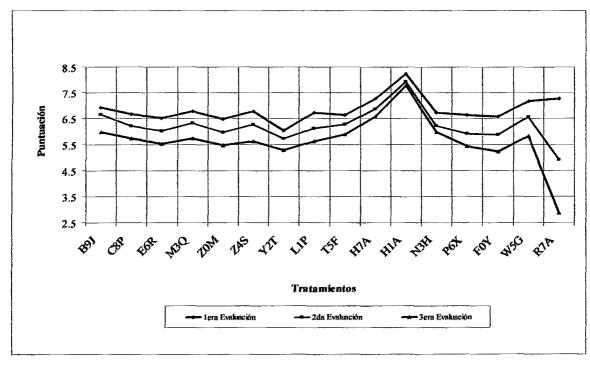


Figura 10. Gráfico de la aceptabilidad del queso fresco

Tabla 17. Representación del aroma del mejor tratamiento H1A (T11) mediante escala hedónica.

	Primera Evaluación			Segunda Evaluación		Tercera Evaluación			
PUNT.	DESCRIPCIÓN	N° Eval.	PUNT.	DESCRIPCIÓN	N° Eval.	PUNT.	DESCRIPCIÓN	N° Eval.	
9	Me gusta extremadamente	3	9	Me gusta extremadamente	2	9	Me gusta extremadamente	3	
8	Me gusta mucho	14	8	Me gusta mucho	11	8	Me gusta mucho	8	
7	Me gusta moderadamente	3	7	Me gusta moderadamente	7	7	Me gusta moderadamente	4	
6	Me gusta levemente	0	6	Me gusta levemente	0	6	Me gusta levemente	5	
5	Ni me gusta ni me disgusta	0	5	Ni me gusta ni me disgusta	0	5	Ni me gusta ni me disgusta	0	
4	Me disgusta levemente	0	4	Me disgusta levemente	0	4	Me disgusta levemente	0	
3	Me disgusta moderadamente	0	3	Me disgusta moderadamente	0	3	Me disgusta moderadamente	0	
2	Me disgusta mucho	0	2	Me disgusta mucho	0	2	Me disgusta mucho	0	
1	Me disgusta extremadamente	0	1	Me disgusta extremadamente	0	1	Me disgusta extremadamente	0	

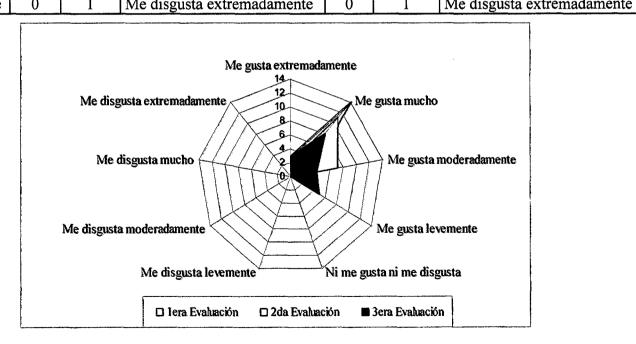


Figura 11. Representación de la calificación al aroma del tratamiento H1A

Tabla 18. Representación del aroma del tratamiento que menos significancia demostró, Z4S (T6), mediante escala hedónica.

Primera Evaluación Segunda Evaluación Tercera Evaluación

		28,0000 = 10000000000000000000000000000000						
PUNT.	DESCRIPCIÓN	N° Eval.	PUNT.	DESCRIPCIÓN	N° Eval.	PUNT.	DESCRIPCIÓN	N° Eval.
9	Me gusta extremadamente	0	9	Me gusta extremadamente	0	9	Me gusta extremadamente	0
8	Me gusta mucho	4	8	Me gusta mucho	0	8	Me gusta mucho	0
7	Me gusta moderadamente	12	7	Me gusta moderadamente	5	7	Me gusta moderadamente	2
6	Me gusta levemente	4	6	Me gusta levemente	10	6	Me gusta levemente	11
5	Ni me gusta ni me disgusta	0	5	Ni me gusta ni me disgusta	5	5	Ni me gusta ni me disgusta	7
4	Me disgusta levemente	0	4	Me disgusta levemente	0	4	Me disgusta levemente	0
3	Me disgusta moderadamente	0	3	Me disgusta moderadamente	0	3	Me disgusta moderadamente	0
2	Me disgusta mucho	0	2	Me disgusta mucho	0	2	Me disgusta mucho	0
1	Me disgusta extremadamente	0	1	Me disgusta extremadamente	0	1	Me disgusta extremadamente	0

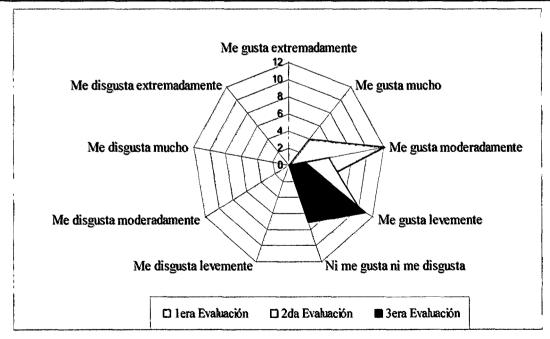


Figura 12. Representación de la calificación al aroma del tratamiento Z4S

Tabla 19. Representación del aroma del queso testigo (R7A) mediante escala hedónica.

-		
Primera	Evaluación	

Segunda Evaluación

Tercera Evaluación

	2 . 11110. 10 227 0010000007		Degunaa Dramacion			Tereera Brainacion		
PUNT.	DESCRIPCIÓN	N° Eval.	PUNT.	DESCRIPCIÓN	Nº Eval.	PUNT.	DESCRIPCIÓN	Nº Eval.
9	Me gusta extremadamente	8	9	Me gusta extremadamente	0	9	Me gusta extremadamente	0
8	Me gusta mucho	10	8	Me gusta mucho	0	8	Me gusta mucho	0
7	Me gusta moderadamente	2	7	Me gusta moderadamente	0	7	Me gusta moderadamente	0
6	Me gusta levemente	0	6	Me gusta levemente	8	6	Me gusta levemente	0
5	Ni me gusta ni me disgusta	0	5	Ni me gusta ni me disgusta	3	5	Ni me gusta ni me disgusta	0
4	Me disgusta levemente	0	4	Me disgusta levemente	9	4	Me disgusta levemente	11
3	Me disgusta moderadamente	0	3	Me disgusta moderadamente	0	3	Me disgusta moderadamente	8
2	Me disgusta mucho	0	2	Me disgusta mucho	0	2	Me disgusta mucho	1
1	Me disgusta extremadamente	0	1	Me disgusta extremadamente	0	1	Me disgusta extremadamente	0

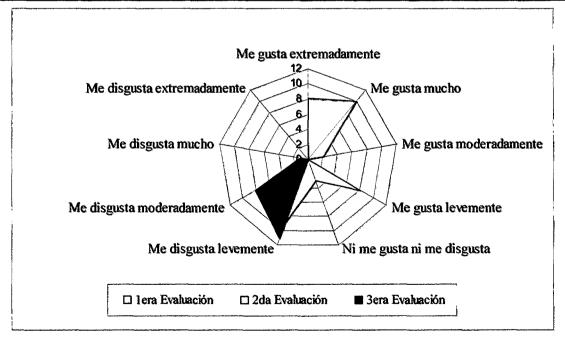


Figura 13. Representación de la calificación al aroma del queso testigo

Tabla 20. Representación del sabor del mejor tratamiento H1A (T11) mediante escala hedónica.

0

0

0

Primara Fualuación

Me disgusta levemente

Me disgusta mucho

Me disgusta moderadamente

Me disgusta extremadamente

	Frimera Evaluation			Segunau Evatuacion			Tercera Evaluacion		
PUNT.	DESCRIPCIÓN	N° Eval.	PUNT.	DESCRIPCIÓN	N° Eval.	PUNT.	DESCRIPCIÓN	N° Eval.	
9	Me gusta extremadamente	9	9	Me gusta extremadamente	7	9	Me gusta extremadamente	4	
8	Me gusta mucho	10	8	Me gusta mucho	11	8	Me gusta mucho	11	
7	Me gusta moderadamente	1	7	Me gusta moderadamente	2	7	Me gusta moderadamente	5	
6	Me gusta levemente	0	6	Me gusta levemente	0	6	Me gusta levemente	0	
5	Ni me gusta ni me disgusta	0	5	Ni me gusta ni me disgusta	0	5	Ni me gusta ni me disgusta	0	

Tarcara Evaluación

0

0

0

0

Me disgusta levemente

Me disgusta mucho

Me disgusta moderadamente

Me disgusta extremadamente

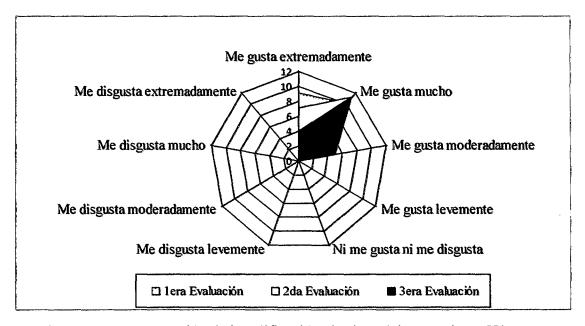
Segunda Evaluación

Me disgusta levemente

Me disgusta mucho

Me disgusta moderadamente

Me disgusta extremadamente



0

Figura 14. Representación de la calificación al sabor del tratamiento H1A

Tabla 21. Representación del sabor del tratamiento que menos significancia demostró T5F (T9) mediante escala hedónica.

Primera Evaluación Segunda Evaluación Tercera Evaluación No  $N^{o}$ No **DESCRIPCIÓN** PUNT. DESCRIPCIÓN **DESCRIPCIÓN** Eval. PUNT. Eval. PUNT. Eval. Me gusta extremadamente Me gusta extremadamente Me gusta extremadamente 0 0 8 Me gusta mucho 8 Me gusta mucho Me gusta mucho 0 0 Me gusta moderadamente 11 Me gusta moderadamente 10 Me gusta moderadamente 7 6 Me gusta levemente 6 Me gusta levemente 9 Me gusta levemente Ni me gusta ni me disgusta Ni me gusta ni me disgusta Ni me gusta ni me disgusta 0 11 Me disgusta levemente 0 Me disgusta levemente 4 Me disgusta levemente 4 Me disgusta moderadamente Me disgusta moderadamente Me disgusta moderadamente 0 2 Me disgusta mucho 0 2 Me disgusta mucho Me disgusta mucho 0 0 Me disgusta extremadamente 0 Me disgusta extremadamente Me disgusta extremadamente 0

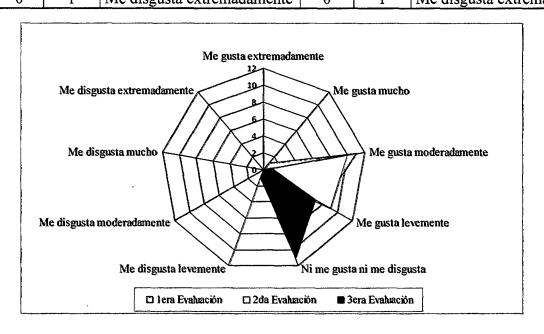


Figura 15. Representación de la calificación al sabor del tratamiento T5F

Tabla 22. Representación del sabor del queso testigo (R7A) mediante escala hedónica.

### Primera Evaluación

### Segunda Evaluación

### Tercera Evaluación

				208111111121111111111111111111111111111					
PUNT.	DESCRIPCIÓN	N° Eval.	PUNT.	DESCRIPCIÓN	N° Eval.	PUN T.	DESCRIPCIÓN	N° Eval.	
9	Me gusta extremadamente	10	9	Me gusta extremadamente	0	9	Me gusta extremadamente	0	
8	Me gusta mucho	8	8	Me gusta mucho	0	8	Me gusta mucho	0	
7	Me gusta moderadamente	2	7	Me gusta moderadamente	1	7	Me gusta moderadamente	0	
6	Me gusta levemente	0	6	Me gusta levemente	6	6	Me gusta levemente	0	
5	Ni me gusta ni me disgusta	0	5	Ni me gusta ni me disgusta	1	5	Ni me gusta ni me disgusta	0	
4	Me disgusta levemente	0	4	Me disgusta levemente	2	4	Me disgusta levemente	3	
3	Me disgusta moderadamente	0	3	Me disgusta moderadamente	9	3	Me disgusta moderadamente	10	
2	Me disgusta mucho	0	2	Me disgusta mucho	1	2	Me disgusta mucho	7	
1	Me disgusta extremadamente	0	1	Me disgusta extremadamente	0	1	Me disgusta extremadamente	0	

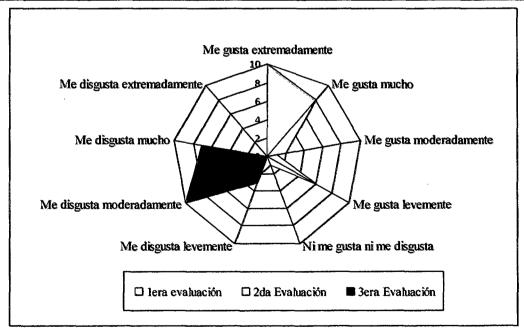


Figura 16. Representación de la calificación al sabor del queso testigo

Tabla 23. Representación de la aceptabilidad del mejor tratamiento H1A (T11) mediante escala hedónica.

Primera Evaluación Segunda Evaluación

Tercera Evaluación

1 / titici a Dyataactoji				Segunda Litatuación			Tercera Livatuacioni		
PUNT.	DESCRIPCIÓN	N° Eval.	PUNT.	DESCRIPCIÓN	N° Eval.	PUNT.	DESCRIPCIÓN	Nº Eval.	
9	Me gusta extremadamente	8	9	Me gusta extremadamente	8	9	Me gusta extremadamente	6	
8	Me gusta mucho	9	8	Me gusta mucho	3	8	Me gusta mucho	6_	
7	Me gusta moderadamente	3	7	Me gusta moderadamente	9	7	Me gusta moderadamente	6	
6	Me gusta levemente	0	6	Me gusta levemente	0	6	Me gusta levemente	2	
5	Ni me gusta ni me disgusta	0	5	Ni me gusta ni me disgusta	0	5	Ni me gusta ni me disgusta	0_	
4	Me disgusta levemente	0	4	Me disgusta levemente	0	4	Me disgusta levemente	0	
3	Me disgusta moderadamente	0	3	Me disgusta moderadamente	0	3	Me disgusta moderadamente	0	
2	Me disgusta mucho	0	2	Me disgusta mucho	0	2	Me disgusta mucho	0	
1	Me disgusta extremadamente	0	1	Me disgusta extremadamente	0	1	Me disgusta extremadamente	0	

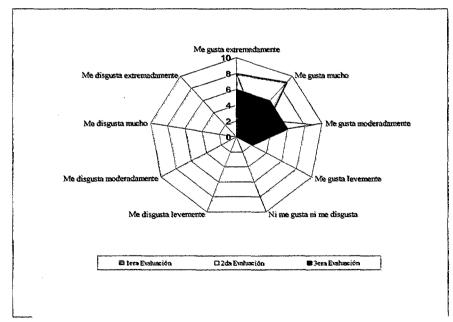


Figura 17. Gráfico de la aceptabilidad del tratamiento H1A

Tabla 24. Representación de la aceptabilidad del tratamiento que menos significancia demostró F0Y (T14) mediante escala hedónica.

Primera Evaluación Segunda Evaluación Tercera Evaluación

		Nº			Nº			Nº
PUNT.	DESCRIPCIÓN	Eval.	PUNT.	DESCRIPCIÓN	Eval.	PUNT.	DESCRIPCIÓN	Eval.
9	Me gusta extremadamente	0	9	Me gusta extremadamente	0	9	Me gusta extremadamente	0
8	Me gusta mucho	1	8	Me gusta mucho	0	8	Me gusta mucho	0
7	Me gusta moderadamente	11	7	Me gusta moderadamente	5	7	Me gusta moderadamente	1
6	Me gusta levemente	7	6	Me gusta levemente	10	6	Me gusta levemente	6
5	Ni me gusta ni me disgusta	1	5	Ni me gusta ni me disgusta	3	5	Ni me gusta ni me disgusta	10
4	Me disgusta levemente	0	4	Me disgusta levemente	2	4	Me disgusta levemente	3
3	Me disgusta moderadamente	0	3	Me disgusta moderadamente	0	3	Me disgusta moderadamente	0
2	Me disgusta mucho	0	2	Me disgusta mucho	0	2	Me disgusta mucho	0
1	Me disgusta extremadamente	0	1	Me disgusta extremadamente	0	1	Me disgusta extremadamente	0

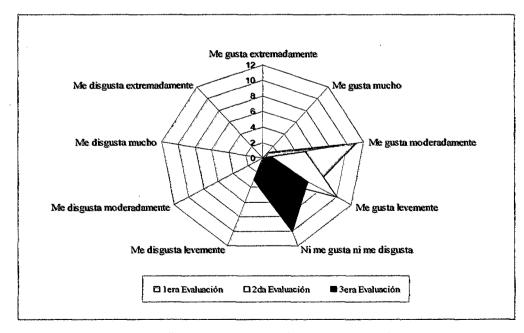


Figura 18. Gráfico de la aceptabilidad del tratamiento F0Y

Tabla 25. Representación de la aceptabilidad del queso testigo (R7A) mediante escala hedónica.

Primera Evaluación Segunda Evaluación Tercera Evaluación

1 iiiici a Livatiaa con				Degunua Livatuacion	Tercera Lyainacion			
PUNT.	DESCRIPCIÓN	N° Eval.	PUNT.	DESCRIPCIÓN	Nº Eval.	PUNT.	DESCRIPCIÓN	N° Eval.
0		1	0	The state of the s	<del> </del>			D 7 44.1.
9	Me gusta extremadamente	<u> </u>	9	Me gusta extremadamente	0	9	Me gusta extremadamente	U
8	Me gusta mucho	7	8	Me gusta mucho	0	8	Me gusta mucho	0
7	Me gusta moderadamente	9	7	Me gusta moderadamente	1	7	Me gusta moderadamente	0
6	Me gusta levemente	3	6	Me gusta levemente	4	6	Me gusta levemente	0
5	Ni me gusta ni me disgusta	0	5	Ni me gusta ni me disgusta	8	5	Ni me gusta ni me disgusta	0
4	Me disgusta levemente	0	4	Me disgusta levemente	7	4	Me disgusta levemente	2
3	Me disgusta moderadamente	0	3	Me disgusta moderadamente	0	3	Me disgusta moderadamente	14
2	Me disgusta mucho	0	2	Me disgusta mucho	0	2	Me disgusta mucho	4
1	Me disgusta extremadamente	0	1	Me disgusta extremadamente	0	1	Me disgusta extremadamente	0

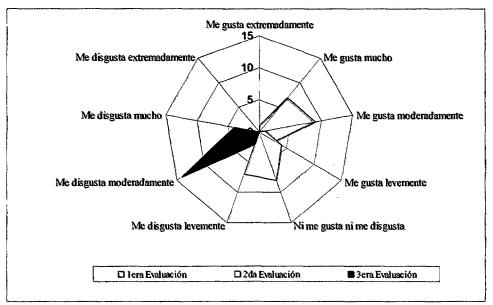


Figura 19. Gráfico de la aceptabilidad del queso testigo

### 8.2. Optimización con el diseño estadístico de Box-Behnken para el aroma del queso fresco

#### Resumen del Diseño.

------

Clases de Diseño: Superficie de respuesta, Nombre de Diseño: Diseño Box-Behnken, Nombre de fichero: <Sin título>

#### Base de Diseño

\_\_\_\_\_

Número de factores experimentales: 3, Número de bloques: 1, Número de residuos: 1 Número de ejecuciones: 15, Error Grados de libertad: 5, Aleatorizado: Si

Factores	Pequeño	Grande	Unidades	Continuo
X1	60	80	Si	
X2	0,1	0,5	Si	
X3	0,25	0,75	Si	
Respuestas	Unic	lades		

Y número de días de vida útil

Ha creado Diseño Box-Behnken diseños que estudiaran los efectos de 3 factores en 15 ejecuciones. El diseño será ejecutado en un solo bloque. El orden de los experimentos se ha aleatorizado totalmente. Esto protegerá contra los efectos de variables ocultas.

BLOQUE	X1	X2	X3	Y
1	80	0,5	0,75	23
1	80	0,5	0,50	25
1	80	0,3	0,75	24
1	70	0,5	0,75	23
1	80	0,5	0,25	25
1	80	0,1	0,75	23
1	60	0,3	0,50	24
1	70	0,3	0,50	25
1	60	0,5	0,75	24
1	70	0,1	0,25	29
1	60	0,1	0,50	30
1	80	0,3	0,25	26
1	60	0,3	0,75	25
1	70	0,1	0,75	24
1	60	0,1	0,25	26

### Resumen del análisis

Nombre de fichero: <Sin título>

Efectos estimados para Y: número de días de vida útil

Promedio	=	24,6979 +/- 1,28739
A:X1	=	0,847845 +/- 1,74948
B:X2	=	-4,51495 +/- 1,98683
C:X3	=	-0,253078 +/- 1,58842
AA	=	0,729991 +/- 1,82912
AB	=	2,19415 +/- 1,70182
AC	=	-3,63347 +/- 2,09041
BB	=	1,49538 +/- 1,87105
BC	==	2,6438 +/- 1,79158
CC	=	-2,32498 +/- 1,89482

Los errores estándar están basados en un error total con 5 g.l.

### Análisis de la Varianza para Y

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado medio	F-Ratio	P-Valor
A:X1	0,500657	1	0,500657	0,23	0,6484
B:X2	11,0081	1	11,0081	5,16	0,0722
C:X3	0,0541135	1	0,0541135	0,03	0,8796
AA	0,339531	1	0,339531	0,16	0,7063
AB	3,54352	1	3,54352	1,66	0,2537
$\mathbf{AC}$	6,44031	1	6,44031	3,02	0,1427
BB	1,36164	1	1,36164	0,64	0,4604
BC	4,64209	1	4,64209	2,18	0,2001
CC	3,20944	1	3,20944	1,51	0,2744
Error Total	0,6585	5	2,13171		
Total (corr.)	58,9333	14			

Total (corr.) 58,9333 1

R-cuadrado = 81,9143 por ciento

R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 49,3599 por ciento

Error Estándar de Est. = 1,46004

Error absoluto de la media = 0,64119

Estadístico Durbin-Watson = 1,54981 (P=0,0921)

Autocorrelación residual Lag 1 = 0,152412

### Coeficiente de regresión para Y

Constante	=	30,3376
A: X1	=	-0,269816
B: X2	=	-74,1194
C: X3	_	61,0308
AA	=	0,00364996
AB	=	0,548538
AC	=	-0,726693
BB	=	18,6923
BC	=	26,438
CC	=	-18,5998

La ecuación del modelo de la regresión ajustado para el aroma del queso fresco es:

Siendo los valores de las variables especificados en sus unidades originales.

### Respuesta Optimizada

Meta: maximizar Y (número de días de vida útil)

Valor Optimo = 28,7704 días.

Factor	Inferior	Mayor	Óptimo
X1	60,0	80,0	60,0
X2	0,1	0,5	0,1
X3	0,25	0,75	0,539095

### 8.3. Optimización con el diseño estadístico de Box-Behnken para el sabor del queso fresco

### Resumen del Diseño.

Clases de Diseño: Superficie de respuesta, Nombre de Diseño: Diseño Box-Behnken, Nombre de fichero: <Sin título>

#### Base de Diseño

Número de factores experimentales: 3, Número de bloques: 1, Número de residuos 1 Número de ejecuciones: 15, Error Grados de libertad: 5, Aleatorizado: Si

Factores	Pequeño	Grande	Unidades	Continuo	
X1	60	80	Si		
X2	0,1	0,5	Si		
X3	0,25	0,75	Si		
Respuestas	Unid	ades			
Y	número de días de vida útil				

Ha creado Diseño Box-Behnken diseños que estudiaran los efectos de 3 factores en 15 ejecuciones. El diseño será ejecutado en un solo bloque. El orden de los experimentos se ha aleatorizado totalmente. Esto protegerá contra los efectos de variables ocultas.

BLOQUE	X1	X2	Х3	Y
1	80	0,5	0,75	23
1	80	0,5	0,50	25
1	80	0,3	0,75	24
1	70	0,5	0,75	23
1	80	0,5	0,25	24
1	80	0,1	0,75	22
1	60	0,3	0,50	22
1	70	0,3	0,50	21
1	60	0,5	0,75	20
1	70	0,1	0,25	26
1	60	0,1	0,50	30
1	80	0,3	0,25	24
1	60	0,3	0,75	24
1	70	0,1	0,75	22
1	60	0,1	0,25	24

### Resumen del análisis

Nombre de fichero: <Sin título>

Efectos estimados para Y: número de días de vida útil

\_\_\_\_\_\_

Promedio	= 20,3316 +/- 2,05572
A:X1	= 2,26209 +/- 2,7936
B:X2	= -5,62357 +/- 3,1726
C:X3	= 2,46966 +/- 2,53641
AA	= 3,3861 +/- 2,92076
AB	= 4,92568 +/- 2,71748
AC	= -5,04178 +/- 3,33799
BB	= 3,53782 +/- 2,98771
BC	= 3,5365 +/- 2,86081
CC	= -0,965259 +/- 3,02567

Los errores estándar están basados en un error total con 5 g.l.

### Análisis de la varianza para Y.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado medio	F-Ratio	P-Valor
A:X1	3,56392	1	3,56392	0,66	0,4549
B:X2	17,0777	1	17,0777	3,14	0,1365
C:X3	5,15311	1	5,15311	0,95	0,3749
AA	7,30541	1	7,30541	1,34	0,2987
AB	17,8581	1	17,8581	3,29	0,1296
AC	12,4003	1	12,4003	2,28	0,1913
BB	7,6213	1	7,6213	1,40	0,2896
BC	8,30623	1	8,30623	1,53	0,2713
CC	0,553197	1	0,553197	0,10	0,7626
Error Total	27,1772	5	5,43544		

Total (corr.) 77,6 14

R-cuadrado = 64,9778 por ciento

R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 1,93786 por ciento

Error Estándar de Est. = 2,3314

Error absoluto de la media = 1,06954

Estadístico Durbin-Watson = 1,04829 (P=0,0055)

Autocorrelación residual Lag 1 = 0,390609

### Coeficiente de regresión para Y

Constante	=	95,0435
A: X1	=	-2,12242
B: X2	=	-144,474
C: X3	=	72,6368
AA	=	0,0169305
AB	=	1,23142
AC	=	-1,00836
BB	=	44,2227
BC	=	35,365
CC	=	-7,72208

La ecuación del modelo de la regresión ajustado para el sabor del queso fresco es:

$$Y = 95,0435 - 2,12242*X_1 - 144,474*X_2 + 72,6368*X_3 + 0,0169305*X_1^2 + 1,23142*X_1*X_2 - 1,00836*X_1*X_3 + 44,2227*X_2^2 + 35,365*X_2*X_3 - 7,72208*X_3^2$$

Siendo los valores de las variables especificados en sus unidades originales.

### Respuesta Optimizada

Meta: maximizar Y

Valor Optimo = 29,36

Factor	Inferior	Mayor	Óptimo
X1	60,0	80,0	60,0
X2	0,1	0,5	0,102335
X3	0,25	0,75	0,75

## 8.4. Optimización con el diseño estadístico de Box-Behnken para la aceptabilidad del queso fresco.

### Resumen del Diseño.

\_\_\_\_\_

Clases de Diseño: Superficie de respuesta, Nombre de Diseño: Diseño Box-Behnken, Nombre de fichero: <Sin título>

### Base de Diseño

\_\_\_\_\_

Número de factores experimentales: 3, Número de bloques: 1, Número de residuos 1, Número de ejecuciones: 15, Error Grados de libertad: 5, Aleatorizado: Si

Factores	Pequeño	Grande Unid	ades Continuo
X1	60	80	Si
X2	0.1	0.5	Si
X3	0.25	0.75	Si
D	T T: 4	1	*

Respuestas Unidades

Y número de días de vida útil

Ha creado Diseño Box-Behnken diseños que estudiaran los efectos de 3 factores en 15 ejecuciones. El diseño será ejecutado en un solo bloque. El orden de los experimentos se ha aleatorizado totalmente. Esto protegerá contra los efectos de variables ocultas.

BLOQUE	X1	X2	Х3	Y
1	80	0,5	0,75	23
1	80	0,5	0,50	22
1	80	0,3	0,75	21
1	70	0,5	0,75	22
1	80	0,5	0,25	21
1	80	0,1	0,75	22
1	60	0,3	0,50	20
1	70	0,3	0,50	22
1	60	0,5	0,75	23
1	70	0,1	0,25	25
1	60	0,1	0,50	30
1	80	0,3	0,25	23
1	60	0,3	0,75	21
1	70	0,1	0,75	20
1	60	0,1	0,25	23

### Resumen del análisis

Nombre de fichero: <Sin título>

Efectos estimados para Y: número de días de vida útil

\_\_\_\_\_

Promedio	=	22,0673 +/- 2,06568
A:X1	=	1,97493 +/- 2,80714
B:X2	=	-5,39842 +/- 3,18797
C:X3	=	1,28562 +/- 2,5487
AA	=	1,48153 +/- 2,93491
AB	=	2,96768 +/- 2,73065
AC	=	-3,02704 +/- 3,35417
BB	=	2,55343 +/- 3,00219
BC	=	3,97889 +/- 2,87468
CC	=	-4,95383 +/- 3,04034

Los errores estándar están basados en un error total con 5 g.l.

Análisis de la varianza para Y

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado medio	F-Ratio	P-Valor
A:X1	2,71652	1	2,71652	0,49	0,5131
B:X2	15,7376	1	15,7376	2,87	0,1512
C:X3	1,39644	1	1,39644	0,25	0,6354
AA	1,39851	1	1,39851	0,25	0,6352
AB	6,4824	1	6,4824	1,18	0,3267
AC	4,46995	1	4,46995	0,81	0,4082
BB	3,97014	1	3,97014	0,72	0,4339
BC	10,5143	1	10,5143	1,92	0,2249
CC	14,5705	1	14,5705	2,65	0,1642
Error Total	27,4413	5	5,48826		
Total (corr.)	83,7333	14			

R-cuadrado = 67,2278 por ciento

R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 8,23771 por ciento

Error Estándar de Est. = 2,3427

Error absoluto de la media = 1,14556

Estadístico Durbin-Watson = 1,45679 (P=0,0617)

Autocorrelación residual Lag 1 = 0,218224

### Coeficiente de regresión para Y

Constante =		47,54
A:X1	=	-0,858196
B:X2	=	-104,476
C:X3	=	72,6438
AA	=	0,00740765
AB	=	0,74192
AC	=	-0,605409
BB	=	31,9179
BC	=	39,7889
CC	=	-39,6306

La ecuación del modelo de la regresión ajustado para la aceptabilidad del queso fresco es:

$$Y = 47,54 - 0,858196*X1 - 104,476*X2 + 72,6438*X3 + 0,00740765*X1^2 + 0,74192*X1*X2 - 0,605409*X1*X3 + 31,9179*X2^2 + 39,7889*X2*X3 - 39,6306*X3^2$$

Siendo los valores de las variables especificados en sus unidades originales.

### Respuesta Optimizada

Meta: maximizar Y (número de días de vida útil)

Valor Optimo = 27,2832 días.

Factor	Inferior	Mayor	Óptimo
X1	60,0	80,0	60,0
X2	0,1	0,5	0,1
X3	0,25	0,75	0,508459

# 8.5. Optimización con el diseño estadístico de Box-Behnken para el aroma, sabor y aceptabilidad del queso fresco.

#### Resumen del Diseño.

Clases de Diseño: Superficie de respuesta, Nombre de Diseño: Diseño Box-Behnken

Nombre de fichero: <Sin título>

### Base de Diseño

------

Número de factores experimentales: 3, Número de bloques: 1, Número de residuos 1

Número de ejecuciones: 15, Error Grados de libertad: 5, Aleatorizado: Si

Factores	Pequeño	Grande	Unidades	Continuo
X1	60	80	Si	
X2	0,1	0,5	Si	
X3	0,25	0,75	Si	

Respuestas Unidades

número de días de vida útil

Y

#### Resumen del análisis

\_\_\_\_\_\_\_

Nombre de fichero: <Sin título>

Efectos estimados para Y: número de días de vida útil

\_\_\_\_\_

Promedio= 22,6438 +/- 1,76865 1,74055 +/- 2,40349 A:X1 B:X2 -5,10642 +/- 2,72957 C:X3 1,27221 +/- 2,18222 AA 1,01935 +/- 2,5129 AB3,36719 +/- 2,338 AC-3,87643 +/- 2,87186 2,65831 +/- 2,5705 BBBC== 3,64116 +/- 2,46132 CC -3,04837 +/- 2,60316

Los errores estándar están basados en un error total con 5 g.l.

### Análisis de la varianza para Y

Fuente	Suma de Cuadra	dos G	l Cuadrado medio	F-Ratio	P-Valor
A:X1	2,10998	1	2,10998	0,52	0,5014
B:X2	14,0812	1	14,0812	3,50	0,1203
C:X3	1,36745	1	1,36745	0,34	0,5852
AA	0,662049	1	0,662049	0,16	0,7018
AB	8,34524	1	8,34524	2,07	0,2094
AC	7,33041	1	7,33041	1,82	0,2350
BB	4,30298	1	4,30298	1,07	0,3485
BC	8,80514	1	8,80514	2,19	0,1991
CC	5,51732	1	5,51732	1,37	0,2944
Error Total	20,117	5	4,02339	•	,
Total (corr.)	65 3333	14			

Total (corr.) 65,3333 1

R-cuadrado = 69,2087 por ciento

R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 13,7844 por ciento

Error Estándar de Est. = 2,00584

Error absoluto de la media = 0,92706

Estadístico Durbin-Watson = 1,20365 (P=0,0160)

Autocorrelación residual Lag 1 = 0.331143

### Coeficiente de regresión para Y

Constante	=	36,9819	
A:X1	=	-0,491414	
B:X2	=	-109,835	
C:X3	=	70,2779	
AA	=	0,00509675	
AB	=	0,841799	
AC	=	-0,775286	
BB	=	33,2289	
BC	=	36,4116	
CC	==	-24,387	

La ecuación del modelo de la regresión ajustado para el aroma, sabor y aceptabilidad del queso fresco es:

$$Y = 36,9819 - 0,491414*X1 - 109,835*X2 + 70,2779*X3 + 0,00509675*X1^2 + 0,841799*X1*X2 - 0,775286*X1*X3 + 33,2289*X2^2 + 36,4116*X2*X3 - 24,387*X3^2$$

Siendo los valores de las variables especificados en sus unidades originales.

### Respuesta Optimizada

Meta: maximizar Y (número de días de vida útil); Valor Óptimo = 27,9412 días.

Factor	Inferior	Mayor	Óptimo
X1	60,0	80,0	60,0
X2	0,1	0,5	0,100034
X3	0,25	0,75	0,560804
			•

### 8.6. Resultados del análisis microbiológico

Tabla 26. Coliformes totales determinadas por el Número Mas Probable (NMP/g)

Tratamientos	Primera Evaluación	Última Evaluación
T1	3	4
T2	3	4
Т3	3	3
T4	3	3
T5	3	3
Т6	3	7
T7	3	3
T8	4	7
Т9	3	3
T10	3	3
T11	3	3
T12	3	3
T13	3	4
T14	3	7
T15	4	7
Testigo	11	15

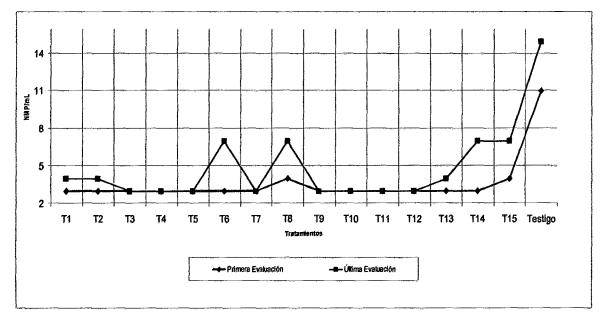


Figura 20. Gráfico del crecimiento de las coliformes totales en los días de evaluación

Tabla 27. Resultados del crecimiento de mesófilos aerobios, log (ufc/g)

Tratamientos	Primera Evaluación	Última Evaluación
T1	4,15	4,17
T2	4,05	4,19
Т3	4,16	4,2
T4	4,26	4,28
T5	3,97	3,98
Т6	4,07	4,09
<b>T7</b>	3,96	4,12
T8	4,11	4,25
Т9	3,97	4,11
T10	3,96	4,05
T11	3,85	3,91
T12	3,9	3,94
T13	4,13	4,14
T14	3,9	3,94
T15	4,25	4,31
Testigo	4,81	5,22

5.20
(5) 5.00
(5) 5.00
(7) 4.80
(8) 4.60
(9) 4.40
(9) 4.20
(1) 4.20
(1) 4.20
(1) 4.20
(2) 4.20
(3) 4.00
(3) 4.00
(3) 4.00
(3) 4.00
(3) 4.00
(4) 4.00
(5) 4.00
(6) 4.00
(7) 4.00
(8) 4.00
(8) 4.00
(9) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.00
(1) 4.0

Figura 21. Gráfico del crecimiento de los mesófilos aerobios log (ufc/g)

Tabla 28. Resultados del crecimiento de *Staphylococcus* aureus, log (ufc/g)

Tratamientos	Primera Evaluación	Última Evaluación
T1	3,60	3,78
T2	3,48	3,70
T3	3,48	3,70
T4	3,60	3,78
<b>T5</b>	3,60	3,78
Т6	3,70	3,85
T7	3,60	3,78
T8	3,70	3,90
T9	3,70	3,85
T10	3,48	3,60
T11	3,00	3,30
T12	3,70	3,85
T13	3,70	3,78
T14	3,70	3,85
T15	3,78	3,85
Testigo	4,08	4,48

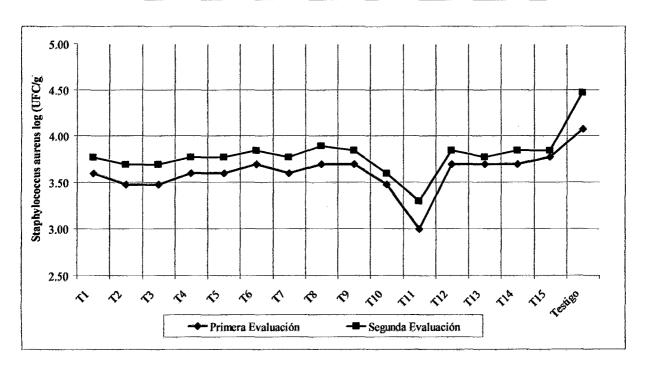


Figura 22. Gráfico del crecimiento de Staphylococcus aureus log (ufc/g)

#### Anexo B

8.7. Descripción de los métodos de análisis utilizados para la determinación de las características físico – químicas de la leche y del queso fresco elaborado con aceite esencial de hierba luisa (Cymbopogon citratus, (DC), Stapf), aislado proteico de lactosuero a diferentes humedades (60%, 70%, 80%)

#### 8.7.1. Análisis fisicoquímico de la leche

### a)Preparación de la muestra (AOAC 925.21, 1998)

Llevar la muestra de leche aproximadamente a 20 °C y mezclar por trasvase a otro recipiente limpio, repitiendo la operación hasta asegurar una muestra homogénea. Si no se han dispersado los grumos de crema, entibiar la leche en un baño de agua aproximadamente a 38 °C y mezclar hasta homogeneidad. Enfriar a 20 °C antes de medir el volumen para analizar.

### b) Densidad: Método del lactodensímetro (AOAC 925.23 (B), 1998)

Se aplica a la leche entera cruda, leche pasteurizada, leche UHT y leche esterilizada.

En el caso que el instrumento esté graduado a otra temperatura, debe realizarse una conversión a 20 °C mediante la siguiente fórmula:

$$\rho_{20} \circ C = \rho_T + 0.0002 (T - 20)$$

Donde:

 $\rho_{20}$ °C : densidad a 20 °C en g/mL

 $\rho_{\rm T}$  : densidad a temperatura del ensayo

T: temperatura del ensayo, en °C

Para la determinación de la densidad, se debe entibiar la leche en una botella en baño de agua, hasta alcanzar una temperatura entre 40 – 45 °C, manteniéndola durante 5 min., mezclar, enfriar hasta que la muestra alcance 20 +/- 1 °C, vaciar la muestra a una probeta, manteniendo ésta en forma inclinada para evitar formación de espuma. Introducir el lactodensímetro y una vez en reposo registrar la lectura.

### c) Determinación de la acidez titulable (AOAC 947.05, 1998)

- Medir exactamente 20 mL de leche en una probeta.
- Diluir con aproximadamente 2 veces su volumen con agua destilada libre de CO<sub>2</sub> (para eliminar el CO<sub>2</sub> hervirla 5 min y enfriarla evitando la incorporación de aire)
- Agregar 2 mL de fenolftaleína al 1% (solución de fenolftaleína 1% en etanol de 95% v/v), y titular con NaOH 0,1 N hasta color rosa débil pero persistente. Expresar los resultados en % en ácido láctico p/p.

%ácidoláctico = 
$$\frac{N*V*peX}{W}*100$$

Donde:

N : normalidad de la solución de NaOH.

V : mL de NaOH gastados en la titulación

peX : peso mili equivalente del ácido láctico = 0,090

W: peso de la muestra

### d) Determinación de pH: método potenciómetro

- Medir 10 mL de leche.
- Añadir 90 mL de agua destilada
- Introducir el electrodo del pH-metro en la muestra y leer pH.

### 8.7.2. Análisis fisicoquímico del queso fresco

### a) Determinación de la acidez titulable (AOAC 947.05, 1998)

- Pesar 20 g de queso.
- En un mortero demoler el queso para obtener una masa uniforme
- Diluir con aproximadamente 2 veces su volumen con agua destilada libre de CO<sub>2</sub> (para eliminar el CO<sub>2</sub> hervirla 5 min y enfriarla evitando la incorporación de aire).

Agregar 2 mL de fenolftaleína al 1% (solución de fenolftaleína 1% en etanol de 95% v/v), y titular con NaOH 0,1 N hasta color rosa débil pero persistente. Expresar los resultados en % en ácido láctico p/p

%ácidoláctico = 
$$\frac{N*V*peX}{W}*100$$

Donde:

N : normalidad de la solución de NaOH.

V: mL de NaOH gastados en la titulación

peX: peso mili equivalente del ácido láctico = 0,090

W: peso de la muestra

### b) Determinación de pH: método potenciómetro

- Pesar 10 g. de queso fresco

- Añadir 100 mL de agua destilada

- Moler en un mortero

- Decantar el sobrenadante y filtrar

- Introducir el electrodo del pH-metro en la muestra filtrada y leer el pH.

### c) Determinación de proteínas – método Biuret por espectrofometría Propósito

Las proteínas y péptidos reaccionan con iones de cobre en solución alcalina, formando un quelato color violeta de configuración desconocida. La intensidad de color es directamente proporcional a la concentración de proteínas presente en la muestra.

La reacción se caracteriza por una coloración púrpura cuando los iones cúpricos son complejados por los enlaces peptídicos a pH alcalino.

### Equipos, materiales y reactivos

Equipos y materiales

Espectrofotómetro

Baño María a 37 °C

- Centrífuga
- Balanza
- Bagueta de vidrio
- Vasos precipitados de 50 mL
- Gradilla y tubos de ensayo de 13 x 100 mm (2) y de 16 x 125 mm(7)

#### Reactivos

- Agua destilada
- Estándar de caseína 1% en NaOH
- Reactivo Biuret

#### **Procedimiento**

- 5 mL de reactivo de Biuret se mezcla con 1 mL de solución proteica (1 10 mg de proteínas /mL). El reactivo incluye Sulfato de Cobre, Hidróxido de Sodio, y, Tartarto de Sodio y Potasio el cual se utiliza para estabilizar el ion cobre en la solución alcalina.
- Después del reposo a temperatura ambiente durante 15 a 30 minutos, se lee la absorbancia a 540 nm contra un blanco con solo reactivo.
- Si la reacción no es clara debe centrifugarse la muestra (queso, aislado proteico del lactosuero) previo a la lectura de la absorbancia.

### 8.7.3. Análisis microbiológico del queso fresco

Preparación de la muestra: Se realizaron según la metodología de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) de los Estados Unidos de América y la Comisión Internacional para las Especificaciones Microbiológicas de los Alimentos.

Se homogenizarán 50 g de cada muestra en 450 mL de solución de Butterfield (tampón de fosfato pH  $7.2 \pm 0$ ) durante un minuto en una licuadora doméstica,

lo que constituirá la dilución  $10^{-1}$ . A partir de ésta se realizarán diluciones decimales consecutivas hasta una concentración  $10^{-5}$  en solución de Butterfield.

#### a) Bacterias aerobias mesófilas.

Se realizarán siembras de las diluciones  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  y  $10^{-5}$  en agar para conteo en placas. Los resultados se informarán como unidades formadoras de colonias por gramo (ufc/g).

### b) Coliformes.

Para la prueba presuntiva se inocularán las diluciones  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$  en caldo lauril triptosa. Como prueba confirmatoria de la presencia de coliformes totales se usará el caldo bilis verde brillante. Para la confirmación de *Escherichia coli* se usarán placas de Agar Levine eosina azul de metileno (EMB) y, para un mejor aislamiento, se pasarán después a agar para conteo en placas. La identificación se realizará mediante la prueba de indol, rojo de metilo, Voges-Proskauer y citrato, además de la prueba de fermentación en agar hierro triple azúcar y la tinción de Gram. Los resultados se informarán como número más probable por gramo (NMP/g)

#### c) Estreptococos.

Se harán siembras a partir de las diluciones  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$  en Agar Baird-Parker. Como confirmación de *Staphylococcus aureus* se usará la prueba de coagulasa, así como la tinción de Gram. Los resultados se informarán como ufc/g.

#### 8.8. Procedimiento para obtener tres humedades diferentes en el queso fresco

Se tomó 10 gramos como muestra de la primera masa y luego fue sometido al calor de manera indirecta – baño María - para lograr su deshidratación, el cual fue medido mediante pesadas utilizando una balanza digital (Precision ES-200A) cada 3 minutos, hasta lograr un peso constante; entonces luego haciendo la diferencia entre el peso

inicial y el peso final encontramos un valor en gramos que se convertirá posteriormente en el porcentaje de humedad presente en la muestra, mediante el cual se pudo obtener la tres porcentajes de humedad especificadas en la presente investigación.

### 8.9. Procedimiento de la liofilización del suero lácteo

320 mL de lactosuero, fueron repartidos en 4 bandejas del liofilizador a 7 mm de altura de capa (80 mL por bandeja), y colocados en el congelador, marca COLDEX, por espacio de 8 horas. Luego:

7:40 a.m., se prendió el equipo a 20 °C y se colocó en modo (0) de refrigeración prendido el frío.

8:00 a.m., se prendió el vacío tras colocar la muestra congelada.

9:10 a.m., se prendió el calentamiento (programado a 50 °C - automático) cuando la muestra está a - 0,4 °C

11:50 a.m., la To en la cámara de secado llegó a 50 °C

18:50 p.m., se apagó el equipo y se pasó a retirar la muestra.

Al final se obtuvo 36,22 g de muestra seca.

#### Anexo C

# 8.10. Formatos utilizados para la realización de los análisis físicos químicos, microbiológicos y la evaluación sensorial del queso fresco

Tabla 29. Codificación alfanumérica de tres cifras para la recolección de datos en la evaluación sensorial de los quesos elaborados con aceite esencial de hierba luisa (Cymbopogon citratus, (DC) Stapf), aislado proteico, y humedades diferentes 60%, 70% y 80%.

TRATAMIENTOS	CODIGOS
T1	В9Ј
T2	C8P
T3	E6R
T4	M3Q
T5	Z0M
T6	Z4S
Т7	Y2T
Т8	L1P
T9	T5F
T10	H7A
T11	H1A
T12	N3H
T13	P6X
T14	F0Y
T15	W5G
Testigo	R7A

Fuente: Elaboración propia

### Formato test de escala hedónica para evaluar la aceptabilidad del producto

NOMBRE	:	FECHA	<b>A</b> :	
PRODUCTO	: Queso	Código	:	

Pruebe por favor las muestras en el orden que se le dan e indique su nivel de agrado en las características que se le piden señalando el punto que mejor describe su sentir con el código de la muestra.

ESCALA ESTRUC	ESCALA ESTRUCTURADA (ACEPTABILIDAD)		
PUNTUACIÓN	DESCRIPCIÓN		
9	Me gusta extremadamente		
8	Me gusta mucho		
7	Me gusta moderadamente		
6	Me gusta levemente		
5	Ni me gusta ni me disgusta		
4	Me disgusta levemente		
3	Me disgusta moderadamente		
2	Me disgusta mucho		
1	Me disgusta extremadamente		

Comentarios: .		 •••••	
	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	 	
************	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	 	

### Formato test de escala hedónica para evaluar aroma y sabor

Nombre:
Fecha:
Producto: Queso fresco
Pruebe por favor las muestras en el orden que se le dan e indique su nivel de agrado en la
características que se le piden señalando el punto que meior describe su sentir con

as el código de la muestra.

Me gusta extremadamente	= 9
Me gusta mucho	= 8
Me gusta moderadamente	= 7
Me gusta levemente	= 6
Ni me gusta ni me disgusta	= 5
Me disgusta levemente	= 4
Me disgusta moderadamente	= 3
Me disgusta mucho	= 2
Me disgusta extremadamente	= 1

Muestras	Aroma	Sabor
В9Ј		
C8P		
E6R		
M3Q		
Z0M		
Z4S	1,000	
Y2T	- Henrick Control of the Control of	
L1P		
T5F		
H7A		
H1A		
N3H		
P6X		
F0Y		
W5G		
R7A		

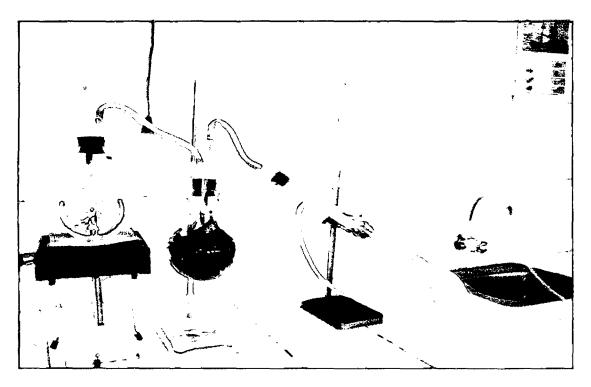
Comer	ntarios	s:		 	 • • • • •	• • • • • •		· • • • • •	 	 		• • •
•••••			• • • • • •	 	 • • • • • •	•••••	• • • • •		 	 •••••	• • • • • •	• • • •

### Formato para la prueba de discriminación

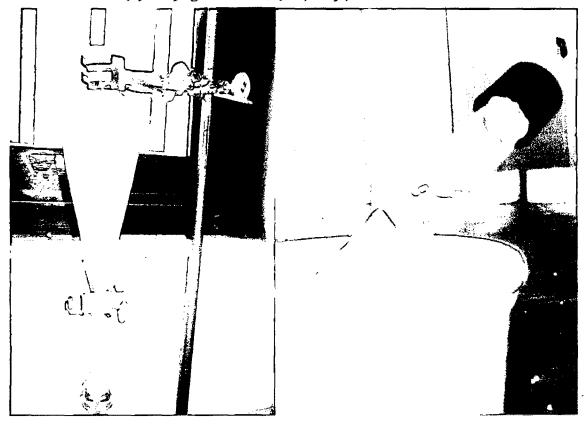
PRUEBA DEL TRIÁNGULO								
Nombre:								
Evaluador Nº:Fecha:/								
Usted recibirá un grupo de tres muestras. Dos de estas muestras son								
idénticas y la otra es diferente. Por favor, marque el número de la								
muestra diferente.								
	248	327	512					

Figura 23. Esquema de la prueba del triángulo

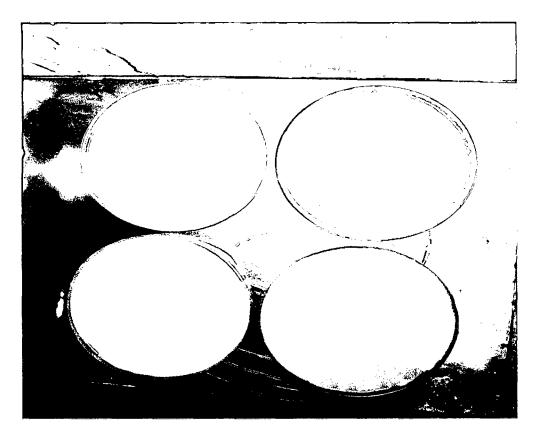
### Anexo D



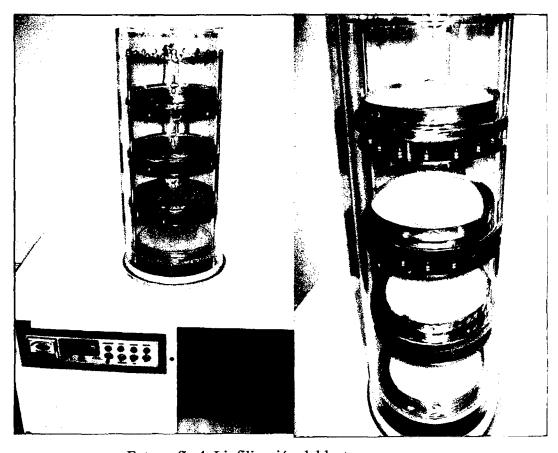
Fotografía 1. Equipo de arrastre por vapor para la extracción del aceite esencial de hierba luisa (*Cymbopogon citratus*, (DC) Stapf).



Fotografía 2. Decantación para la obtención del aceite esencial de hierba luisa (*Cymbopogon citratus*, (DC) Stapf).



Fotografía 3. Lactosuero congelado para ser liofilizado.



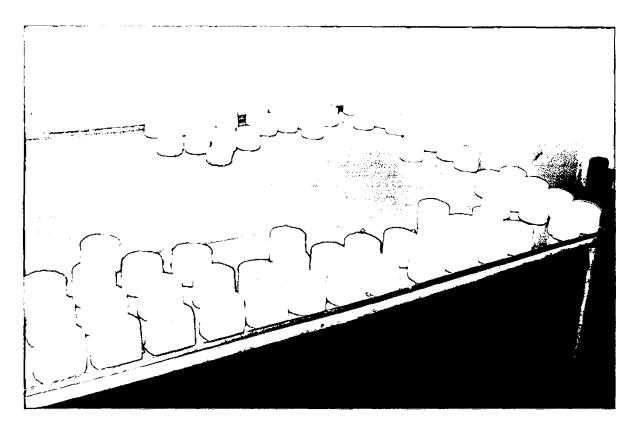
Fotografía 4. Liofilización del lactosuero.



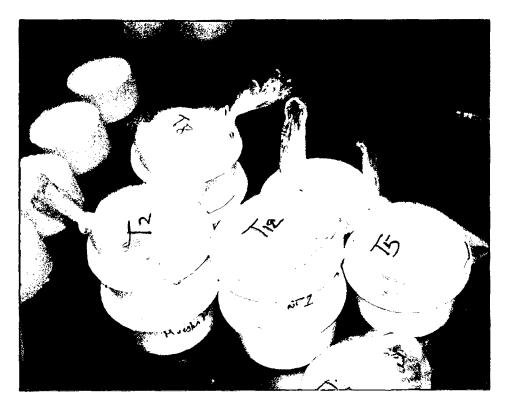
Fotografia 5. Cuajada.



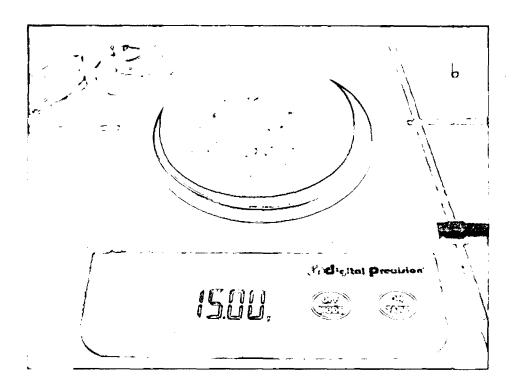
Fotografía 6. Molienda de la cuajada.



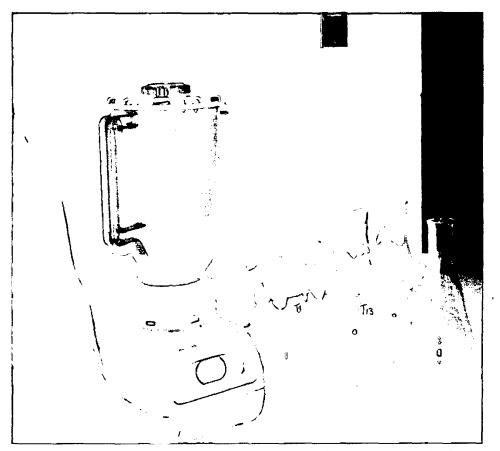
Fotografía 7. Quesos frescos (unidades experimentales).



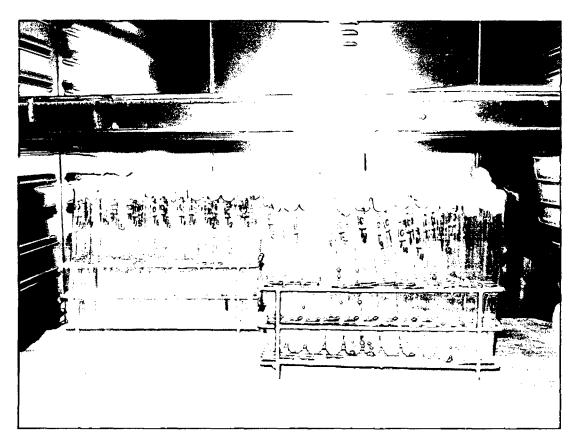
Fotografía 8. Muestras de quesos frescos, según el tratamiento aplicado.



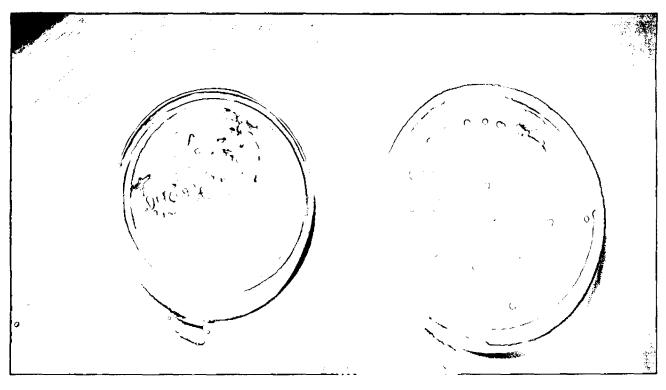
Fotografia 9. Muestra de queso fresco destinado al análisis microbiológico.



Fotografía 10. Preparación de las muestras a ser analizadas microbiológicamente.



Fotografía 11. Tubos de prueba con muestras de queso sembradas en Caldo Lauril Sulfato puestas en incubación a 37°C.



Fotografía 12. Colonias de bacterias mesófilas aerobias.



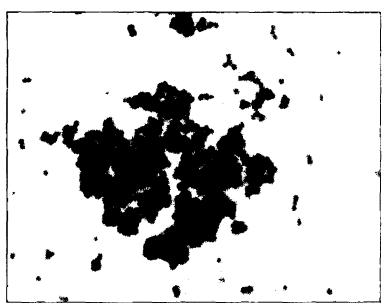
Fotografía 13. Prueba bioquímica Rojo de Metilo para identificación de Escherichia coli.



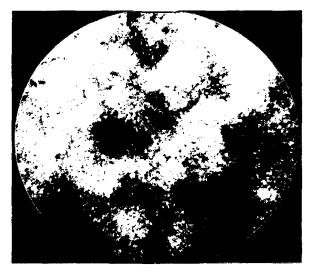
Fotografia 14. Tinción GRAM para la identificación de Escherichia coli.



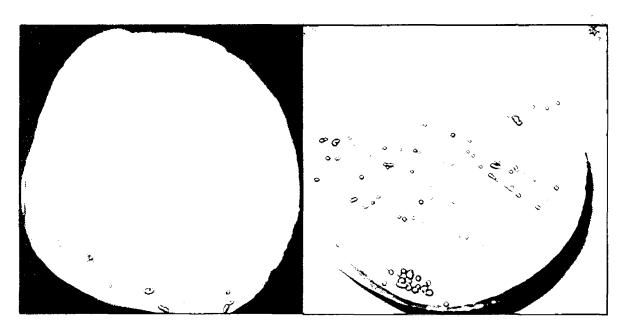
Fotografia 15. Colonias de Staphylococcus aureus.



Fotografía 16. Staphylococcus aureus a 100X.



Fotografía 17. Posible presencia de *Escherichia coli* en el queso testigo a 100X.



Fotografía 18: Ambas caras del queso a los 30 días de su elaboración.



Fotografía 19. Presentación de las muestras de queso fresco para la evaluación sensorial.



Fotografia 20. Panelista evaluando al queso fresco.



Fotografía 21. Realización de la evaluación sensorial del queso fresco.