

## RESOLUCIÓN DE COMISIÓN ORGANIZADORA N° 244-2017-UNAM

Moquegua, 06 de junio de 2017.

VISTOS, el Informe N° 127-2017-EPIA/VIPAC/UNAM de 29 de mayo de 2017, Oficio N°193-2017-VIPAC-CO/UNAM de 29 de mayo de 2017, Acuerdo de Sesión Ordinaria de Comisión Organizadora de 05 de junio de 2017, y;

### CONSIDERANDO:

Que, el párrafo cuarto del artículo 18° de la Constitución Política del Estado, concordante con el artículo 8° de la Ley N° 30220, Ley Universitaria, reconoce la autonomía universitaria, en el marco normativo, de gobierno, académico, administrativo y económico, que guarda concordancia con los artículos 6°, 7°, 8°, 9° y 10° del Estatuto Universitario.

Que, el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional de Moquegua, aprobado con Resolución de Comisión Organizadora N° 190-2016-UNAM de 05 de agosto de 2016, establece en el Artículo 12°, que el proyecto de tesis es un trabajo de investigación individual que presentan los estudiantes del último año académico, egresados o bachilleres al Director de la Escuela Profesional, con la finalidad de resolver un problema objeto de estudio, asimismo, precisa en el Artículo 15° que todo proyecto de tesis debe tener un asesor principal, quien deberá ser docente ordinario de la Escuela Profesional o en forma facultativa un docente contratado en la especialidad en el área que se investiga. El jurado dictaminador del proyecto, será designado por el Comité Asesor y el Director de la Escuela Profesional, el mismo que estará compuesto por tres miembros elegidos entre los docentes ordinarios y/o contratados, conforme se indica en los artículos 18°, 19° 20° del precitado Reglamento.

Que, mediante Informe N° 127-2017-EPIA/VIPAC/UNAM de 29 de mayo de 2017, el Ing. Mario Roger Cotacallapa Sucapuca Director de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial solicita a Vicepresidencia Académica la aprobación del proyecto de tesis denominado: "Efecto de la adición de nisina y aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) en la estimación de la vida útil del queso fresco elaborado a partir de leche de vaca (*Bos taurus*) no pasteurizada, obtenida en el Centro Poblado de Yacango, Distrito de Torata - Moquegua" presentado por el bachiller John Victor Cama Curasi, el mismo que fue declarado apto según informe N°83-2017-EEP-UNAM de 12 de mayo de 2017, para optar el título profesional de Ingeniero Agroindustrial, solicitando se emita acto resolutivo.

Con Oficio N° 193-2017-VIPAC-CO/UNAM, de 29 de mayo de 2017, la Dra. Maria Elena Echevarría Jaime Vicepresidenta Académica de la Universidad Nacional de Moquegua, solicita al Dr. Washington Zeballos Gámez Presidente de la Comisión Organizadora – UNAM, la emisión de acto resolutivo de reconocimiento de aprobación de proyecto de tesis, así como la designación de asesor y miembros del jurado dictaminador, conforme se precisa en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional de Moquegua.

Que, en Sesión Ordinaria de Comisión Organizadora de 05 de junio de 2017, se acordó por UNANIMIDAD, Aprobar el proyecto de tesis en referencia presentado por el bachiller John Victor Cama Curasi, asimismo se acordó designar al Asesor de Tesis Ing. Mario Roger Cotacallapa Sucapuca, como Co Asesor al Ing. Erik Edwin Allcca Alca y a los miembros del jurado dictaminador de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la UNAM, encargados de evaluar el trabajo de investigación.

Por las consideraciones precedentes, en uso de las atribuciones que le concede la Ley Universitaria N°30220, el Estatuto de la Universidad Nacional de Moquegua y lo acordado en Sesión Ordinaria de Comisión Organizadora, de 05 de junio de 2017;

### SE RESUELVE:

**ARTÍCULO PRIMERO.- APROBAR**, el Proyecto de Tesis: "EFECTO DE LA ADICIÓN DE NISINA Y ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO (*ORIGANUM VULGARE* L.) EN LA ESTIMACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DEL QUESO FRESCO ELABORADO A PARTIR DE LECHE DE VACA (*BOS TAURUS*) NO PASTEURIZADA, OBTENIDA EN EL CENTRO POBLADO DE YACANGO, DISTRITO DE TORATA - MOQUEGUA" presentado por el bachiller en Ingeniería Agroindustrial JOHN VICTOR CAMA CURASI.



## RESOLUCIÓN DE COMISIÓN ORGANIZADORA N° 244-2017-UNAM

**ARTÍCULO SEGUNDO.-** DESIGNAR, al ING. MARIO ROGER COTACALLAPA SUCAPUCA, como asesor y al ING. ERIK EDWIN ALLCCA ALCA como Co Asesor del proyecto de tesis aprobado en el artículo primero de la presente resolución.

**ARTÍCULO TERCERO.-** DESIGNAR, al jurado dictaminador del Proyecto de Tesis: “EFECTO DE LA ADICIÓN DE NISINA Y ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO (ORIGANUM VULGARE L.) EN LA ESTIMACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DEL QUESO FRESCO ELABORADO A PARTIR DE LECHE DE VACA (BOS TAURUS) NO PASTEURIZADA, OBTENIDA EN EL CENTRO POBLADO DE YACANGO, DISTRITO DE TORATA - MOQUEGUA”, presentado por el bachiller en Ingeniería Agroindustrial JOHN VICTOR CAMA CURASI, conforme al siguiente detalle:

- |                              |   |                 |
|------------------------------|---|-----------------|
| ➤ Mg. ELIAS ESCOBEDO PACHECO | : | PRESIDENTE      |
| ➤ Mg. OLIMPIA LLALLA CORDOVA | : | PRIMER MIEMBRO  |
| ➤ Ing. LENIN QUILLE QUILLE   | : | SEGUNDO MIEMBRO |

**ARTÍCULO CUARTO.-** ENCARGAR, a los profesionales designados el cumplimiento de lo establecido en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional de Moquegua, asimismo, Vicepresidencia Académica de la Comisión Organizadora deberá adoptar las acciones administrativas necesarias, para el cumplimiento de la presente resolución.

Regístrese, Comuníquese, Publíquese y Archívese.



  
DR. WASHINGTON ZEBALLOS GÁMEZ  
PRESIDENTE



  
ABG. GUILLERMO S. KUONG CORNEJO  
SECRETARIO GENERAL

Presidencia  
VIPAG  
VIFI  
EPIA  
Interesado  
OTIN  
Arch. (2)



PERÚ

SUNEDU

Superintendencia Nacional de Educación Superior Universitaria

UNAM

Universidad Nacional de Moquegua

VIPAC

Vicepresidencia Académica

EPIA

Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial



"AÑO DEL BUEN SERVICIO AL CIUDADANO"

**INFORME N° 127-2017-EPIA/VIPAC/UNAM**

A : DRA. MARIA ELENA ECHEVARRIA JAIME  
Vicepresidenta Académica - UNAM

DE : Ing. M.Sc. MARIO ROGER COTACALLAPA SUCAPUCA  
Director de la Escuela Profesional de INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

ASUNTO : Aprobación de Proyecto de Tesis, Ratificación de Asesor, Jurado Dictaminador y Revisor.

REFERENCIA : INFORME N° 83-2017-EEP-UNAM

FECHA : Moquegua, 29 de mayo del 2017

29 MAYO 2017 1833  
 Para: RST  
 N° Reg. ....  
 Firma: [Signature]  
 Folio: 27 [Signature]

Es grato dirigirme a usted, con la finalidad de saludarla cordialmente, y a su vez hacer de su conocimiento que en atención al documento de la referencia, presentado por el Mg. Elías Escobedo Pacheco tiene a bien informar a esta dirección que con fecha 12 de mayo del 2017 se declara APTO el Proyecto de Tesis denominado "EFECTO DE LA ADICIÓN DE NISINA Y ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO (*Origanum vulgare* L.) EN LA ESTIMACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DEL QUESO FRESCO ELABORADO A PARTIR DE LECHE DE VACA (*Bos taurus*) NO PASTEURIZADA, OBTENIDA EN EL CENTRO POBLADO DE YACANGO, DISTRITO TORATA-MOQUEGUA", presentado por el Bachiller JOHN VICTOR CAMA CURASI; Para lo cual se adjunta un (01) ejemplar del Proyecto de Tesis Aprobado.

En tal sentido y en amparo del Reglamento de Grados y Títulos de la UNAM, según se indica en su art. 30° se inscribe el Proyecto de Tesis en el Registro de Trabajos de Tesis de la Escuela y se notifica al Tesista sobre la aprobación del referido proyecto.

Por lo mismo, solicito a usted que mediante su despacho se realice el trámite correspondiente para la emisión del acto resolutorio según se precisa:

**Artículo Primero:** Aprobar el Proyecto de Tesis denominado "EFECTO DE LA ADICIÓN DE NISINA Y ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO (*Origanum vulgare* L.) EN LA ESTIMACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DEL QUESO FRESCO ELABORADO A PARTIR DE LECHE DE VACA (*Bos taurus*) NO PASTEURIZADA, OBTENIDA EN EL CENTRO POBLADO DE YACANGO, DISTRITO TORATA-MOQUEGUA", presentado por el Bachiller JOHN VICTOR CAMA CURASI.

**Artículo Segundo:** Ratificación de Asesor de Proyecto de Tesis:

- Asesor : Ing. M.Sc. Mario Roger Cotacallapa Sucapuca
- Co Asesor : Ing. Erik Edwin Allcca Alca

**Artículo Tercero:** Ratificación de Jurado Dictaminador y Revisor, según el siguiente detalle:

- Presidente : Mg. Elías Escobedo Pacheco
- Primer Miembro : Mg. Olimpia Llalla Cordova
- Segundo Miembro : Ing. Lenin Quille Quille

Es todo cuanto informo a usted, para su conocimiento y acciones necesarias.

Atentamente



[Signature]

Ing. M.Sc. MARIO ROGER COTACALLAPA SUCAPUCA  
DIRECTOR DE LA EPIA

MRCS/DEPIA.  
SCO/Sec.  
C.C.: ARCHIVO

VICEPRESIDENCIA ACADÉMICA  
 Fecha: 29 MAYO 2017 ... Prov. N° 1833  
 Folio: RST ... Para: Presidente  
 Para: Acto Resolutorio  
 Firma: [Signature]



2-4  
5/05/06/17



Universidad Nacional de Moquegua  
Vicepresidencia Académica

UNIVERSIDAD NACIONAL MOQUEGUA  
COMISIÓN ORGANIZADORA  
PRESIDENCIA  
**RECIBIDO**  
30 MAY 2017  
2184  
Hora: 9:25am  
Nº Reg. ....  
Firma: .....  
Folios: 3 + 1 ANEXOS

"Año del Buen Servicio al Ciudadano"

Moquegua 29 de Mayo del 2017

SECRETARIA GENERAL  
**RECIBIDO**  
30 MAYO 2017  
Hora: ..... Nº REG. 302  
Firma: ..... Folios: 3 + 01  
Anulado

OFICIO N° 193 -2017-VIPAC-CO/UNAM

SEÑOR:  
Dr. WASHINGTON ZEBALLOS GAMEZ  
PRESIDENTE DE LA COMISIÓN ORGANIZADORA  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA  
Presente.-

ASUNTO : APROBACIÓN DE PROYECTO DE TESIS, RATIFICACIÓN DE ASESOR Y JURADO DICTAMINADOR  
REFERENCIA : INFORME N° 127-2017-EPIA/VIPAC/UNAM

Mediante el presente es grato dirigirme a usted, para saludarlo cordialmente y en atención al documento en referencia, remito a usted el proyecto de tesis denominado: "EFECTO DE LA ADICIÓN DE NISINA Y ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO (*origanum vulgare* L.) EN LA ESTIMACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DEL QUESO FRESCO ELABORADO A PARTIR DE LECHE DE VACA (*Bos Taurus*) NO PASTEURIZADA, OBTENIDA EN EL CENTRO POBLADO DE YACANGO, DISTRITO TORATA-MOQUEGUA" Presentado por el Bachiller JOHN VICTOR CAMA CURASI, otorgándose conformidad por haber cumplido con presentar los requisitos exigidos en el reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional de Moquegua, aprobado con Resolución de Comisión Organizadora N° 190-2016-UNAM.

Por lo expuesto, solicito a usted se apruebe mediante acto resolutivo lo siguiente:

Artículo Primero: Aprobar el Proyecto de Tesis denominado "EFECTO DE LA ADICIÓN DE NISINA Y ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO (*origanum vulgare* L.) EN LA ESTIMACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DEL QUESO FRESCO ELABORADO A PARTIR DE LECHE DE VACA (*Bos Taurus*) NO PASTEURIZADA, OBTENIDA EN EL CENTRO POBLADO DE YACANGO, DISTRITO TORATA-MOQUEGUA)".

Artículo Segundo: Ratificación de Asesor de Proyecto de Tesis:

- Asesor : Ing. MSc. Mario Roger Cotacallapa Sucapuca
- Co Asesor : Ing. Erick Edwin Allcca Alca

Artículo Tercero: Ratificar de Jurado Dictaminador y Revisor:

- Presidente : Mg. Elías Escobedo Pacheco
- Primer Miembro : Mg. Olimpia Llalla Cordova
- Segundo Miembro : Ing. Lenin Quille Quille

Agradeciendo la atención al presente, hago propicia la ocasión para reiterarle los sentimientos de mi especial consideración y estima personal.

Atentamente,

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA

*M. Echevarría*  
Dra. MARÍA ELENA ECHEVARRÍA JAIME  
VICEPRESIDENTA ACADÉMICA

PRESIDENCIA - UNAM Prov. 2184  
Folios: 3 + 2 ANEXOS Pase a: 56  
Fecha: 30 MAYO 2017 Para: Sesión de  
COMISIÓN ORGANIZADORA

MEEJ/VIPAC  
MASM/SEC  
C.c./Archivo.

Moquegua, Prolongación Calle Ancash S/N Telefax 053 - 461227 053 - 463514 Anexo (202) 053-461471

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA  
SECRETARIA GENERAL

www.unam.edu.pe

Vice\_presidencia@unam.edu.pe

PROVEIDO: 302  
FECHA: .....  
PASE A: Dra. Lorena  
PARA: .....



UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA

"AÑO DEL BUEN SERVICIO AL CIUDADANO"

INFORME N° 83-2017-EEP-UNAM

A : MSc. MARIO ROGER COTACALLAPA SUCAPUCA  
 Director de la E.P. Ingeniería Agroindustrial

DE : Mg. ELÍAS ESCOBEDO PACHECO  
 Docente Ordinario

ASUNTO : DICTAMEN PROYECTO DE TESIS

FECHA : Moquegua, 12 de mayo del 2017



Es grato dirigirme a usted para saludarlo cordialmente y en cumplimiento al artículo 26° del Reglamento de Grados y Títulos de la UNAM, se informa que el Proyecto de Tesis presentado por el Tesista JOHN VICTOR CAMA CURASI ha sido declarado APTO por el Jurado dictaminador y se hace alcance del Proyecto aprobado en tres ejemplares.

Es cuanto se informa.

Atentamente.

  
 Mg. OLIMPIA LLALLA CORDOVA  
 Primer Miembro del Jurado

  
 Mg. ELIAS ESCOBEDO PACHECO  
 Presidente del Jurado

  
 Mg. LENIN QUILLE QUILLE  
 Segundo Miembro del Jurado

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA  
 ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

Pase a: *secretario*

Para: *prop. informe p/*  
*acto resolutorio*

Fecha: *22/05/2017* V°B°



# UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



## PROYECTO DE TESIS

EFFECTO DE LA ADICIÓN DE NISINA Y ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO (*Origanum vulgare* L.) EN LA ESTIMACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DEL QUESO FRESCO ELABORADO A PARTIR DE LECHE DE VACA (*Bos taurus*) NO PASTEURIZADA, OBTENIDA EN EL CENTRO POBLADO DE YACANGO, DISTRITO TORATA - MOQUEGUA.

PRESENTADO POR

**BACHILLER CAMA CURASI, JOHN VICTOR**

PARA OPTAR TÍTULO PROFESIONAL DE  
INGENIERO AGRINDUSTRIAL

MOQUEGUA - PERÚ

2017

  
**Olimpia Llalla Coraova**  
Ing. AGROINDUSTRIAL  
CIP N° 148334

  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA  
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL  
**John Victor Cama Curasi**  
INGENIERO AGROINDUSTRIAL  
DOCENTE

## ÍNDICE GENERAL

I.	DATOS GENERALES DE LA CARATULA .....	1
1.1.	TÍTULO .....	1
1.2.	NOMBRE DEL AUTOR.....	1
1.3.	LOCALIDAD DONDE SE REALIZA LA INVESTIGACIÓN .....	1
1.4.	ASESOR .....	1
1.5.	CO ASESOR.....	1
II.	PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN .....	2
2.1.	DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA.....	2
2.2.	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	3
2.3.	JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN.....	3
2.4.	OBJETIVOS .....	5
2.4.1.	OBJETIVO GENERAL.....	5
2.4.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	5
2.5.	HIPÓTESIS .....	6
2.5.1.	HIPÓTESIS GENERAL .....	6
2.5.2.	HIPÓTESIS ESPECÍFICAS.....	6
III.	MARCO TEÓRICO .....	7
3.1.	ANTECEDENTES DEL ESTUDIO .....	7
3.2.	BASES TEÓRICAS .....	10
3.2.1.	LA LECHE.....	10
3.2.2.	COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA LECHE .....	10
3.2.3.	PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE LA LECHE .....	15
3.2.4.	MICROBIOLOGÍA DE LA LECHE .....	18
3.2.5.	EL QUESO .....	20
3.2.6.	TIPOS DE QUESOS.....	21
3.2.7.	CLASIFICACIÓN DE LOS QUESOS.....	21
3.2.8.	QUESO FRESCO.....	21
3.2.9.	CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICA DEL QUESO .....	22
3.2.10.	CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS DEL QUESO FRESCO .....	24
3.2.11.	CRECIMIENTO MICROBIANO.....	24
3.2.12.	FACTORES QUE INFLUYEN EN EL CRECIMIENTO MICROBIANO.....	25
3.2.13.	MICROBIOLOGÍA PREDICTIVA.....	26
3.2.14.	ELABORACIÓN DEL QUESO: OPERACIONES GENERALES .....	27
3.2.15.	VIDA ÚTIL DE LOS ALIMENTOS .....	28
3.2.16.	Estimación de la vida útil .....	29
3.2.17.	Instructivo para la determinación del tiempo de vida útil.....	29
3.2.18.	ANÁLISIS SENSORIAL .....	30
3.2.19.	EL ORÉGANO.....	32
3.2.20.	PROPIEDADES DEL ORÉGANO .....	32
3.2.21.	COMPOSICIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO.....	32
3.2.22.	ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE DE ORÉGANO.....	33
3.2.23.	NISINA .....	34
3.2.24.	CARACTERÍSTICAS DE LA NISINA.....	34
3.2.25.	USOS DE LA NISINA .....	35
3.2.26.	ÍNDICE DE PERÓXIDOS .....	36
3.3.	DEFINICIÓN DE TÉRMINOS .....	37

IV.	MARCO METODOLÓGICO .....	40
4.1.	LUGAR DE EJECUCIÓN .....	40
4.2.	TIPO Y DISEÑO .....	40
4.2.1.	TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	40
4.2.2.	DISEÑO.....	41
4.3.	NIVEL DE INVESTIGACIÓN .....	42
4.4.	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES .....	42
4.4.1.	Variable Independiente .....	42
4.4.2.	Variable Dependiente.....	42
4.5.	POBLACIÓN Y MUESTRA .....	44
4.6.	PROCESO DE ELABORACIÓN DEL QUESO FRESCO CON ADICIÓN DE NISINA Y ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO .....	44
4.7.	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS PARA RECOLECCIÓN DE DATOS .....	45
4.7.1.	Para determinar las características físico-químicas (densidad, acidez titulable, pH, materia seca, proteína y grasa) y microbiológicas (aerobios mesófilos) de la leche fresca. ....	45
4.7.2.	Para evaluar el efecto de la adición de nisina (0, 0.02, 0.04 y 0.06%) y aceite esencial de orégano (0, 0.01, 0.015 y 0.02%) en las características fisicoquímicas (acidez, pH, grasa, proteína, humedad e índice de peróxidos) del queso fresco almacenado a 4° C durante 0, 3, 6 y 9 días.....	45
4.7.3.	Evaluar el efecto de la adición de nisina (0, 0.02, 0.04 y 0.06%) y aceite esencial de orégano (0, 0.01, 0.015 y 0.02%) en la calidad microbiológica (aerobios mesófilos, coliformes totales y <i>Escherichia coli</i> ) del queso fresco almacenado a 4° C durante 1, 4, 7 y 10 días respectivamente.....	46
4.7.4.	Para evaluar el efecto de la adición de nisina y aceite esencial de orégano en las características sensoriales (sabor, olor, color, textura) del queso fresco.....	46
4.7.5.	Para determinar el tiempo de vida útil del queso fresco.....	47
4.8.	MATERIALES .....	47
4.8.1.	Materiales de vidrio. ....	47
4.8.2.	Agares.....	48
4.9.	EQUIPOS E INSTRUMENTOS.....	48
4.10.	REACTIVOS UTILIZADOS.....	48
4.11.	MATERIA PRIMA .....	49
4.12.	MATERIALES PARA EL PROCESO DE ELABORACIÓN DEL QUESO.....	49
4.13.	INSUMOS .....	49
4.14.	ADITIVOS.....	49
4.15.	DISEÑO EXPERIMENTAL O MÉTODOS Y TÉCNICAS PARA LA PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS .....	49
4.15.1.	Para el análisis estadístico.....	49
V.	ASPECTOS ADMINISTRATIVOS .....	50
5.1.	CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES .....	50
5.2.	RECURSOS HUMANOS.....	51
5.3.	BIENES.....	51
5.4.	SERVICIOS.....	51
5.5.	FUENTES DE FINANCIAMIENTO Y PRESUPUESTO .....	51
5.5.1.	FUENTES DE FINANCIAMIENTO .....	51
5.5.2.	PRESUPUESTO .....	52
VI.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	53
VII.	ANEXOS .....	56



## INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química media de la leche de vaca/100 g de leche.....	11
Tabla 2. Proteína de la leche.....	13
Tabla 3. Constantes físicas de la leche .....	16
Tabla 4. Requisitos físico-químicos de la leche .....	16
Tabla 5. Requisitos microbiológicos .....	20
Tabla 6. Criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad del queso fresco.....	24
Tabla 7. Número mínimo de jueces recomendado para las pruebas sensoriales .....	31
Tabla 8. Componentes del aceite esencial de orégano ( <i>O. vulgare</i> ). .....	33
Tabla 9. Actividad antibacteriana del aceite esencial de orégano. ....	33
Tabla 10. Factores y niveles del diseño.....	41
Tabla 11. Tratamientos.....	41
Tabla 12. Operacionalización de variables.....	43

## I. DATOS GENERALES DE LA CARATULA

### 1.1. Título

EFFECTO DE LA ADICIÓN DE NISINA Y ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO (*Origanum vulgare* L.) EN LA ESTIMACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DEL QUESO FRESCO ELABORADO A PARTIR DE LECHE DE VACA (*Bos taurus*) NO PASTEURIZADA, OBTENIDA EN EL CENTRO POBLADO DE YACANGO, DISTRITO TORATA - MOQUEGUA.

### 1.2. Nombre del Autor

Bach. Cama Curasi John Víctor

### 1.3. Localidad donde se realiza la investigación

En la región Moquegua, provincia Mariscal Nieto, distrito Torata, Centro Poblado Yacango.

### 1.4. Asesor

M. Sc. Mario Roger Cotacallapa Sucapuca

### 1.5. Co asesor

Ing. Erik Edwin Allcca Alca

## II. PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

### 2.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

Los quesos frescos se consumen en estado fresco, es decir sin proceso de maduración. Estos quesos tienen elevado contenido acuoso que oscila entre 50 y 80 %. A causa de tal humedad, no se conservan durante mucho tiempo. Además, si hay gérmenes patógenos, pueden desarrollarse en el producto elaborado (Meyer *et al.*, 2014).

Los productores de derivados lácteos, elaboran el queso fresco de manera artesanal, obteniendo un producto con mayor acidez, orificios en su textura interna, y en algunos casos hinchazón. Lo que conlleva, a que el producto se deteriore rápidamente, siendo menos aceptado por los consumidores, quienes pierden la confianza al dejar de adquirirlo, ocasionando así, pérdidas económicas a quienes lo comercializan.

En la actualidad, existen conservantes para el queso, pero la mayoría son sintéticos, hay algunos estudios en los que se ha descubierto que a largo plazo pueden ser dañinos para la salud, por lo tanto, una solución benéfica sería el uso de bioconservantes.

La finalidad del presente proyecto de investigación es evaluar la adición de aditivos naturales como la nisina y el aceite esencial de orégano, para determinar sus efectos sobre las características fisicoquímicas, microbiológicas del queso fresco, además de prolongar su vida útil. Estos bioconservantes, inhiben las bacterias Gram positivas incluyendo las patógenas, disminuyendo la carga microbiana del producto. Como consecuencia, de ésta aplicación se obtendrá un producto innovador, saludable y natural, confiable por su calidad, logrando fortalecer la pequeña empresa en la zona, con la generación de puestos de trabajo en dicha elaboración. Es por ello, se propone superar ésta problemática.

## 2.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Se plantea la siguiente interrogante:

¿Cuál será el efecto de la adición de nisina y aceite esencial de orégano en la estimación de la vida útil del queso?

## 2.3. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN

Uno de los aspectos de cuidado es que por lo regular el lácteo destinado a la fabricación del queso fresco no se pasteuriza, por lo que debemos cuidar que sea de excelente calidad para que el producto no tenga riesgo alguno en el consumo (Valencia, 2001).

La leche como materia prima del queso, es un producto altamente alterable por los microorganismos que llegan a ella por contaminación y que pueden producir cambios deseables o indeseables. Los microorganismos patógenos para el hombre, portados por la leche, hacen daño al hombre y contaminan la leche (Villegas y Santos, 2011).

El Quesillo es un queso fresco, no madurado, es de alta humedad (ligeramente inferior a 70%). No presenta acidez desarrollada y es de sabor y aroma suave. No posee sabor salado, ya que se elabora con un ligero nivel de sal. Se expende en forma circular de más o menos 400-500g y, que elaborado con el método tradicional dura, como máximo, 7 días (Castañeda *et al.*, 2012).

Uno de los problemas del queso fresco es la contaminación, principalmente se debe a las deficientes prácticas de manufactura, pero al aplicarlas adecuadamente si bien disminuye no desaparece.

Es necesario inhibir el desarrollo de los microorganismos para minimizar el deterioro en las características fisico-químicas y en la calidad sanitaria

de los quesos frescos, y obtener un producto sanitariamente aceptable, de buena calidad y duradero en el tiempo. Para ello es fundamental utilizar conservantes naturales en los productos lácteos como agentes inhibitorios, entre ellos se tiene a la nisina y el aceite esencial de orégano. Este último fue utilizado por Albado *et al.* (2001) en su investigación "Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano)", y demostró que posee actividad microbiana contra las bacterias gram-negativas: *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella tiphymurium*, *Salmonella cholerae suis* y *Vibrio cholerae* y las bacterias gram-positivas: *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*, mostraron diferentes grados de sensibilidad.

Se debe practicar medidas higiénicas en el ordeño de la leche con la finalidad de asegurar una baja tasa de gérmenes en el producto. Sin embargo, en la práctica no se cumple con dichas medidas higiénicas y es necesario utilizar los preservantes naturales en la leche para mejorar sus propiedades fisicoquímicas y reducir el contenido microbiológico como base segura del queso fresco.

Con la finalidad de hacer frente a esta problemática, se plantea adicionar nisina y aceite esencial de orégano a diferentes concentraciones con fines de mejorar las propiedades fisicoquímicas y reducir el contenido microbiológico del queso fresco, prolongando su tiempo de vida útil en anaquel.

## **2.4. OBJETIVOS**

### **2.4.1. Objetivo General**

Evaluar el efecto de la adición de nisina y aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) en la estimación de la vida útil del queso fresco elaborado a partir de leche de vaca (*Bos taurus*) no pasteurizada.

### **2.4.2. Objetivos Específicos**

Realizar la caracterización físico-químicas (densidad, acidez titulable, pH, materia seca, proteína y grasa) y microbiológicas (aerobios mesófilos) de la leche fresca.

Evaluar el efecto de la adición de nisina (0, 0.02, 0.04 y 0.06%) y aceite esencial de orégano (0, 0.01, 0.015 y 0.02%) en las características fisicoquímicas (acidez, pH, grasa, humedad e índice de peróxidos) del queso fresco almacenado a 4° C, durante 0, 3, 6 y 9 días.

Evaluar el efecto de la adición de nisina (0, 0.02, 0.04 y 0.06%) y aceite esencial de orégano (0, 0.01, 0.015 y 0.02%) en la calidad microbiológica (aerobios mesófilos, coliformes totales y *Escherichia coli*) del queso fresco almacenado a 4° C, durante 0, 3, 6 y 9 días.

Evaluar el efecto de la adición de nisina y aceite esencial de orégano en las características sensoriales (color, olor, textura, sabor) de los tratamientos en el queso fresco.

Estimar el tiempo de vida útil del queso fresco a partir del crecimiento microbiano.

## 2.5. HIPÓTESIS

### 2.5.1. Hipótesis General

La adición de nisina y aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) influye positivamente en las características físico-químicas, microbiológicas y sensoriales del queso fresco elaborado a partir de leche de vaca (*Bos taurus*) no pasteurizada.

### 2.5.2. Hipótesis Específicas

A través de las características fisicoquímicas (densidad, acidez titulable, pH, materia seca, proteína y grasa) y microbiológicas (aerobios mesófilos) se logra conocer la calidad de la leche.

La adición de nisina (0, 0.02, 0.04 y 0.06%) y aceite esencial de orégano (0, 0.01, 0.015 y 0.02%) influye en las características fisicoquímicas (acidez, pH, grasa, humedad e índice de peróxidos) del queso fresco almacenado a 4° C, durante 0, 3, 6 y 9 días.

La adición de nisina (0, 0.02, 0.04 y 0.06%) y aceite esencial de orégano (0, 0.01, 0.015 y 0.02%) influyen en la calidad microbiológica (aerobios mesófilos, coliformes totales y *Escherichia coli*) del queso fresco almacenado a 4° C, durante 0, 3, 6 y 9 días.

La adición de nisina y aceite esencial de orégano influyen en las características sensoriales (sabor, olor, color, textura) del queso fresco.

El crecimiento microbiano influye en el tiempo de vida útil del queso fresco.

### III. MARCO TEÓRICO

#### 3.1. ANTECEDENTES DEL ESTUDIO

López (2010), en su investigación "Aplicación de nisina para incrementar el tiempo de vida útil en queso fresco en el centro de adiestramiento lechero (CAL) en el 2010", demostró la efectividad de la nisina, prolongando el tiempo de vida útil en queso fresco, este conservante actúo como agente antimicrobiano. En dicha investigación utilizó cuatro diferentes concentraciones de nisina (0.2, 0.3, 0.4, 0.5 g/Kg de queso), esta se añadió posterior al lavado de la cuajada. El conservante se aplicó en quesos elaborados con leche cruda y leche pasteurizada con su respectiva replica. Se analizó Aerobios y Coliformes totales los cuales disminuyeron un 99.2% y 98.5% respectivamente al añadir 0.5g de nisina por kg de queso elaborado con leche pasteurizada, las muestras presentaron una insignificante diferencia en sus características físico – químicas y sensoriales. El uso de nisina en queso fresco elaborado con leche pasteurizada permitió prolongar aproximadamente 4 días adicionales de vida útil normal.

Lanchípa y Sosa (2003), es su investigación "Evaluación de la carga microbiana patógena en la elaboración del queso fresco en el distrito de Tacna", determinaron la carga microbiana patógena en las operaciones de elaboración del queso fresco, donde se utilizó la metodología de conteo de colonias en placa (*Escherichia coli*, *Staphylococcus*, *Salmonella*) y numeración más probable (NMP) para coliformes. Y presentaron los siguientes resultados: Coliformes totales  $1,1 \times 10^3$ /g (marginamente aceptable), *Escherichia coli*  $2,1 \times 10^2$ /g (marginamente aceptable), *Staphylococcus coagulasa positiva*  $4,7 \times 10^4$ /g (inaceptable), aerobios mesófilos viables  $3,0 \times 10^5$ /g (existe presencia de contaminación). Y concluyeron que el 50% de quesos frescos que se elaboran en Tacna presentan contaminación microbiana, la mitad de los queso analizados no



son aptos para consumo debido a que sobrepasan los estándares nacionales aún que no presentan *Salmonella*, los quesos aptos están en función al nivel de microorganismos presentes como marginalmente aceptables y como es el caso de los productos en que se realiza pasteurización, la contaminación de los quesos frescos está representada por una elevada carga de los indicadores microbiológicos. *S. aureus* y *E. coli* es decir, las condiciones higiénico sanitarias de proceso y de personal son deficientes.

Cristóbal y Murtua (2003), en su investigación "Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima, Perú, y la supuesta acción bactericida de *Lactobacillus spp.*" Donde utilizaron la metodología de muestreo para 39 muestras de 100 g cada una de queso fresco artesanal (de leche de vaca). Utilizaron técnicas microbiológicas convencionales de cultivo y evaluaron la carga microbiana de bacterias aerobias mesófilas, coliformes totales y fecales, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* y *Lactobacillus spp.* y analizaron la correlación entre la presencia de esta última bacteria y la de las anteriores, obtuvieron resultados de valores promedio de carga microbiana: bacterias aerobias mesófilas,  $7.13 \times 10^6$  UFC/g; coliformes totales,  $9.33 \times 10^2$  NMP/g; coliformes fecales,  $8.33 \times 10^2$  NMP/g; *E. coli*,  $2.63 \times 10^2$  NMP/g; *S. aureus*,  $3.13 \times 10^5$  UFC/g; *En. faecalis*,  $4.63 \times 10^2$  NMP/g; y *Lactobacillus spp.*,  $1.63 \times 10^5$  UFC/g. En general, la carga microbiana de 97,4% de las muestras estuvo por encima de los valores máximos permitidos por la Norma Técnica Peruana 202.087 para los diferentes microorganismos o grupos de microorganismos: coliformes totales (74,2% de las muestras), coliformes fecales (58,6%), *E. coli* (28,1%) y *S. aureus* (87,2%). La presencia de *Lactobacillus spp.* no impidió la presencia de *S. aureus* y *En. Faecalis*. La elevada carga microbiana en las muestras de queso analizadas refleja deficiencias higiénicas en la manipulación del queso fresco artesanal que se comercializa en los mercados estudiados, lo cual representa un riesgo

para la salud del consumidor. No observaron que la presencia de *Lactobacillus spp.*, impidiera el crecimiento de los otros microorganismos estudiados en los quesos.

Albado *et al.* (2001), en su investigación "Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano)", tuvo como objetivo, determinar la actividad antimicrobiana en el aceite esencial (Carvacrol) del *Origanum vulgare*, la actividad antimicrobiana del aceite de *O. vulgare* la realizó por el método semi-cuantitativo de incorporación y de disco difusión en agar. Las bacterias gram-negativas: *Escherichia coli* (15mm diámetro de halo), *Pseudomona aeruginosa* (16mm diámetro de halo), (Resistente), *Salmonella tiphymurium* (15mm diámetro de halo), *Salmonella choleraesuis* (14mm diámetro de halo), y *Vibrio cholerae* (15mm diámetro de halo), y las bacterias gram-positivas: *Staphylococcus aureus* (28mm diámetro de halo), y *Bacillus cereus* (14mm diámetro de halo), mostraron diferentes grados de sensibilidad. Finalmente el aceite esencial posee actividad microbiana contra todas las bacterias evaluadas, excepto antes para *P. aeruginosa*.

Marcial *et al.*, (2016) en su investigación "Influencia del aceite esencial de orégano en la elaboración tradicional de quesos: Efecto sobre el fermento láctico" En la fabricación del queso prototipo, se añadió después de la pasteurización diferentes concentraciones de aceite esencial de orégano (OEO) (50, 100, 150 y 200 mg / kg de cuajada prensada) Se detectó crecimiento de enterobacterias (2 log CFU / g de queso) en los quesos de control a los 15 días de maduración y no se detectó en el queso con OEO. En todas las muestras, el número total de bacterias aerobias mesófilas aumentó ligeramente (1 - 1,5 log UFC / g).

## **3.2. BASES TEÓRICAS**

### **3.2.1. LA LECHE**

La leche desde el punto de vista biológico es la secreción de las glándulas mamarias de los mamíferos hembras (Dianda, 2008), desde el punto de vista legal es el producto del ordeño de una o varias vacas (Schlimme *et al.*, 2002), y desde el punto de vista tecnológico es un sistema fluido muy complejo formado por tres subsistemas fisicoquímicos bien definidos, una solución verdadera, una emulsión aceite-agua (o/w) y una suspensión coloidal proteica (Villegas y Santos, 2011). Según la NTP 202.001:2003 (INDECOPI, 2003) “La leche es el producto integro de la secreción mamaria normal sin adición ni sustracción alguna y que ha sido obtenida mediante el ordeño”.

### **3.2.2. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA LECHE**

Las sustancias componentes de la leche son: agua, carbohidratos, lípidos, proteínas, sales minerales y microcomponentes, tanto orgánicos (vitaminas) como inorgánicos (hierro, cobre, etc.). Asimismo, contiene una diversidad de microorganismos (principalmente bacterias) y células somáticas (leucocitos) (Villegas y Santos, 2011).

Los componentes de la leche están definidos de la siguiente manera:

#### **a. Agua**

El contenido de agua en la leche puede variar de 79 a 90.5%, pero normalmente representa el 87% de leche. El agua contenida en la leche es idéntica a cualquier otra agua sirve como medio de solución y de dispersión o suspensión para otros ingredientes. La leche contiene un nivel relativamente alto de agua, lo que hace que algunas personas

duden de su valor alimenticio. Gracias a esa cantidad de agua la distribución de sus componentes es bastante uniforme y permite que pequeñas cantidades de esta contengan casi todos los nutrientes (Revilla, 1982).

**Tabla 1.** Composición química media de la leche de vaca/100 g de leche.

<b>Nutrientes</b>	<b>Unidad</b>	<b>Vaca</b>
Agua	g	87,70
Glúcidos (lactosa)	g	4,70
Lípidos	g	3,60
Sus. Nitrogenadas	g	3,30
✓ Caseínas	g	2,70
✓ Proteínas del suero	g	0,42
✓ Nitrógeno no proteico	g	0,18
Sales minerales	g	0,70
Na	mg	50
K	mg	150
Ca	mg	120
Mg	mg	12
P	mg	95
Fe	ppm	0,40
Cu	ppm	0,22
Zn	ppm	4,19
Vitaminas	Trazas	Trazas
Enzimas	Trazas	Trazas
Gas disuelto	% volumen	5
ES	g	12,3

**Fuente:** Chamorro y Losada (2002)

### **b. Glúcidos**

EL glúcido mayoritario en la leche es la lactosa y se encuentra en disolución molecular, la lactosa tiene propiedad de ser fermentada, por algunos microorganismos presentes en la leche y por acción de sus enzimas sufre una fermentación láctica, propiónica, alcohólica y butírica,

originándose, principalmente, ácido láctico, ácido propiónico y otros componentes que dan al queso el gusto y olor característico. En la industria quesera, fermentaciones de mayor interés son la láctica y la propiónica, mientras que la butírica y la debida a microorganismos coliformes son un problema y causa defectos en los quesos. En la leche también se encuentran pequeñas cantidades de glucosa, galactosa y sacarosa (Chamorro y Losada, 2002).

### **c. Lípidos**

La materia grasa se encuentra en la leche en forma de pequeños glóbulos esféricos emulsionados en el suero de la leche. El tamaño varía entre 2 y 10  $\mu\text{m}$  de diámetro dependiendo de la especie, la raza, el periodo de lactación. El glóbulo de grasa está estructurado; en el centro se sitúa el colesterol, las vitaminas liposolubles, los triglicéridos insaturados y los de bajo peso molecular. Rodeando a éstos se sitúan los triglicéridos sólidos, fosfolípidos y proteínas, de forma que se tienen a los triglicéridos líquidos. En definitiva el glóbulo de grasa es una masa de triglicéridos envueltos en una masa lipidoprotéica (Gil, 2010).

### **d. Sustancias nitrogenadas**

#### **Proteína**

La proteína de la leche juega un papel importante en la elaboración de quesos. Entre las proteínas de la leche, la más importante es la caseína y representa el 80% de la proteína. Además de la caseína, la leche tiene las proteínas llamadas lactoalbúmina y lactoglobulina. Una de las principales particularidades de la caseína, es que se encuentra al estado de fosfocaseinato de calcio, al coagularse por la acción del cuajo lo que no sucede con la albumina y globulina (Veisseeyre, 1980).

Se muestra al detalle en la tabla (Tabla 2):

**Tabla 2.** Proteína de la leche

<b>FRACCIÓN NITROGENADA</b>	<b>VALOR MEDIO %</b>	<b>VALOR RELATIVO %</b>
PROTEÍNA TOTAL	3.20	--
CASEÍNA	2.50	78.2
PROTEÍNA DEL SUERO	0.54	16.8
Beta lactoglobulina	0.27	--
Alfa lactoglobulina	0.12	--
Albúmina sérica	0.025	--
Lactoglobulinas (Igs)	0.065	--
Proteasa-Peptona	0.060	--
NITRÓGENO NO PROTEICO	0.16	5.0

**Fuente:** Alais (1985)

#### **e. Sales minerales**

La leche tiene un alto contenido de calcio, cuya absorción se ve favorecida por la presencia de lactosa, vitamina D y una adecuada proporción calcio/fósforo. La leche y productos lácteos aportan el 60-75% de calcio total de la dieta (Aranceta y Serra, 2005).

#### **f. Vitaminas**

Las vitaminas son sustancias orgánicas esenciales para el desarrollo de la vida y deben ser aportadas por los alimentos en cantidades suficientes. La leche figura entre los alimentos que contiene la variedad más completa de vitaminas (Gil, 2010).

En la leche hay vitaminas hidrosolubles (grupo B y la C), provienen de la biosíntesis que realizan las bacterias del rumen, y vitaminas liposolubles (A, E, D, K), asociadas a la grasa y sujetas a variaciones importantes

debido a la alimentación del animal y a las radiaciones solares. El contenido de vitaminas no ejerce ninguna influencia en la aptitud quesera de la leche (Chamorro y Losada, 2002).

#### **g. Ácidos orgánicos**

El ácido cítrico es un componente normal de la leche y se encuentra entre 1.80 y 2.45 gramos por cada kilogramo de leche. Este ácido es importante por ser la materia prima para la producción de compuestos aromáticos durante la fermentación láctica. El ácido láctico, el butírico y todos los demás que se encuentran en la leche son productos metabólicos que se originan durante la fermentación de la lactosa (Revilla, 1982).

#### **h. Enzimas**

Existe poca información sobre el papel de las enzimas en la leche. Para la mayoría no se encuentran sustratos sobre los que poder desarrollar su actividad en este medio, salvo la lipasa y la proteasa. En el caso de enfermedad de la mama, ciertas enzimas se hallan con mayor abundancia (catalasa, A-esterasa). La cantidad de estas enzimas en la leche es escasa; pero su actividad como catalizadores bioquímicos es tal que provocan importantes modificaciones a muy baja concentración. Esta actividad depende del pH y la temperatura; la elevación de esta última provoca su destrucción que, es rápida por encima de los 70°C, otras se destruyen por encima de los 90°C; tenemos la lisozima y la ribonucleasa. Sus propiedades son: Son factores de degradación que tienen importancia tecnológica; tales con la lipasa, factor de rancidez; la proteasa, que provoca la hidrólisis de la caseína, y, puede ser que las oxidasas, con influencias sobre el sabor. Su sensibilidad al calor permite el control del calentamiento de la leche en la pasteurización. La cantidad

de enzimas depende, para algunas, del número de leucocitos o bacterias que se encuentran en la leche; se esta manera se pueden obtener datos sobre la calidad higiénica de la leche. Algunas enzimas tienen actividad bactericida, y constituyen una protección limitada de la leche (Alais, 1985).

#### **i. Flora microbiana**

La leche, incluso cuando es recogida lo más asépticamente posible y procedente de un animal sano, contiene: células procedentes de la sangre (leucocitos) y células de diversos microorganismos que acceden a ella procedentes de diferentes fuentes (ubres, aire, aguas de lavado, personal y equipo de ordeño). Muchos de estos microorganismos son capaces de crecer a temperaturas cercanas a 7°C, aunque su temperatura óptima de crecimiento sea otra y se les denomina psicrótrofos. Estos microorganismos presentan un grave problema, pues mientras la leche refrigerada a 4°C espera a ser procesada, ellos seguirán multiplicándose, con lo que perderá calidad bacteriológica al aumentar el número de ufc/ml, y sobre todo porque excretarán al medio enzimas proteolíticos y lipolíticos termo-resistentes, que actuarán, sin control, en la fase de maduración del queso, dando lugar a procesos no deseados que influirán en la calidad organoléptica del queso (Chamorro y Losada, 2002).

### **3.2.3. PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE LA LECHE**

La leche tiene propiedades físico-químicas que son el resultado de su composición y estructura. En la tabla (Tabla 3), se aprecian los valores del índice de refracción, punto de congelación, acidez, y densidad.



**Tabla 3.** Constantes físicas de la leche

Constantes	Valores usuales	Unidades
pH (20°C)	6.5 – 6.8	
Acidez valorable (°D)	16 – 18	°D
Densidad	1,028 – 1,036	g/ml
Punto de congelación	-0.54 a -0.59	°C
Índice de refracción	1.3440 - 1.3485	

**Fuente:** Gil (2010)

De acuerdo a la NTP (Norma Técnica Peruana) 202.001: 2003 (INDECOPI, 2003), que establece los parámetros físico-químicos de la leche, los cuales se detallan en la tabla 4.

**Tabla 4.** Requisitos físico-químicos de la leche

Ensayo	Requisito	Método de ensayo
Materia grasa (g/100g)	Mínimo 3,2	NTP 202.028:1998 FIL-IDF 1D:1996
Sólidos no grasos (g/100g)	Mínimo 8,2	*
Sólidos totales (g/100g)	Mínimo 11,4	NTP 202.118:1998
Acidez, expresada en g. de ácido láctico (g/100g)	0,14 – 0,18	NTP 202.116:2000
Densidad a 15°C (g/ml)	1,0296 – 1,0340	NTP 202.007:1998 NTP 202.008:1998
Ceniza total (g/100g)	Máximo 0,7	NTP 202.172:1998
Prueba de alcohol (74% v/v)	No coagulable	NTP 202.030:1998
Prueba de reductasa con azul de metileno	Mínimo 4 horas	NTP 202.014:1998

(\*) Por diferencia entre los sólidos totales y la materia grasa.

**Fuente:** NTP 202.001: 2003 (INDECOPI, 2003)

A continuación las propiedades físicas de la leche:

#### **a. Acidez**

La acidez de la leche es muy importante para la elaboración de cualquier producto, porque determina si la leche es fresca, o está en vías de alteración; la leche con acidez elevada, son leches viejas o pueden provenir de vacas enfermas. Existen varios métodos para determinar la acidez ya sea en forma precisa o aproximada, la forma más precisa es por titulación en grados Dornic; indica los grados de acidez en miligramos de ácido láctico. Las leches normales y frescas tienen un promedio de (16- 18°D) (Valdivia, 1992). La leche normal debe tener una acidez mínima de 0,14% y máxima de 0.18% esta expresado en gramos de ácido láctico que contiene (100g) de leche (Oria, 1991).

La leche, para soportar el proceso de pasteurización debe tener una acidez menor a (20 °D) (Dornic), para evitar una posible coagulación de las caseínas. La expresión de la acidez en leche y otros productos lácteos, de acuerdo a la ley establece que se debe expresar la acidez titulable de la leche en porcentaje de ácido láctico. Sin embargo, en el ambiente de fabricación de productos lácteos es común que se exprese en grados Dornic (°D) (Villegas y Santos, 2011).

Relación:

$$^{\circ}D = \text{porcentaje de ácido láctico en peso} \times 100$$

$$\text{Porcentaje de ácido láctico} = ^{\circ}D/100$$

#### **b. Densidad**

La densidad o peso específico, depende de sus componentes coloidales; como son la caseína y fosfatos, para la leche de buena calidad oscila, entre (1.028 - 1.033g/ml) a una temperatura de (15°C) el objetivo de determinar este análisis es para determinar fraudes pro

aguado y/o descremado considerando que las variaciones de la densidad están relacionadas con su riqueza en extracto seco desprovisto de sustancia grasa (Dubach, 1998).

#### c. pH

La leche normal tiene un pH comprendido entre 6.6 a 6.8; como consecuencia de la presencia de caseína; ácido fosfórico y ácido cítrico. El pH no es un valor constante puede variar como consecuencia de la alimentación y periodo de lactancia. Pero la variación es mínima y dentro de una misma especie (Valdivia, 1992).

### 3.2.4. MICROBIOLOGÍA DE LA LECHE

La leche es un producto altamente alterable por los microorganismos que se transmiten a ella por contaminación o inoculados por el hombre para obtener productos derivados, y que pueden producir cambios deseables o indeseables.

Se pueden clasificar en banales (inocuos) y patógenos (dañinos para la salud).

**a. Microorganismos banales.** Los microorganismos banales son aquellos que no producen enfermedades, pero que alteran los componentes de la leche y productos lácteos, lo que resulta en el deterioro de sus propiedades sensoriales, pérdida de su valor mercantil y el acortamiento de su vida en anaquel. Las bacterias constituyen el principal grupo de microorganismos por su número constituyen un índice de calidad sanitaria. De lejos le siguen las levaduras y los hongos microscópicos (mohos). Las bacterias banales de la leche cruda, consideradas como flora nativa, son del género *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Corynebacterium*,

*Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Leuconostoc*, *Corynebacterium* *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Clostridium*, y la familia de las enterobacterias (entre ellas las coliformes). Si bien las bacterias banales no ocasionan enfermedades, sí pueden provocar acidificación, sabores extraños y producción de gas en la leche y derivados (quesos), deteriorando sensorialmente estos productos. Las bacterias ácido-lácticas (BAL), listas para ser inoculados en la leche pasteurizada destinada a diferentes derivados, de la flora ácido-láctica se incluyen *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* y *Lactobacillus* (Villegas y Santos, 2011).

- b. Microorganismos patógenos.** Microorganismos patógenos para el hombre, portados por leche. Son aquellos que hacen daño al hombre y de alguna manera contaminan la leche (por estiércol, saliva). Las principales bacterias patógenas que pasan a la leche son: *Salmonella spp.*, que produce la tifoidea; *Shigella*, que produce la disentería bacteriana y *Corynebacterium diphtheriae*, que ocasiona difteria; *Staphylococcus aureus*, puede producir toxinas (como enterotoxinas estafilocócicas termoestables) que dan origen a infecciones gastrointestinales. Microorganismos patógenos bovinos, transmitidos por la leche. Son microorganismos que dañan al hombre y se transmiten a la leche directamente de la vaca. Éstos tienen dos orígenes: enfermedades de la vaca e infecciones de las glándulas mamarias (mastitis). Entre los primeros se hallan las bacterias *Mycobacterium tuberculosis*, que produce la tuberculosis, y *Brucella abortus*, que ocasionan la brucelosis. Dentro del segundo grupo se ubica también la *Staphylococcus aureus* (Villegas y Santos, 2011).

Según la NTS (Norma Técnica Sanitaria) 071: 2008 (MINSA, 2008), los alimentos y bebidas deben cumplir íntegramente con la totalidad de los criterios microbiológicos correspondientes para ser considerados aptos para el consumo humano, a continuación se muestra la tabla 5:

**Tabla 5.** Requisitos microbiológicos

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por mL	
					m	M
Aerobios mesófilos	3	3	5	1	$5 \times 10^5$	$10^6$
Coliformes	4	3	5	3	$10^2$	$10^3$

**Fuente:** NTS 071: 2008

### 3.2.5. EL QUESO

De acuerdo a la composición: "es el producto, fermentado o no, constituido esencialmente por la caseína de la leche en forma de gel más o menos deshidratado que requiere casi toda la materia grasa, si se trata de queso graso, un poco de la lactosa en forma de ácido láctico y una fracción variable de sustancias minerales" (Veisseyre, 1988).

La NTP 202.193:2010 (INDECOPI, 2010) define al queso como el producto fresco o madurado, sólido o semisólido se obtiene mediante:

- La coagulación de la leche pasteurizada, entera, parcialmente descremada, descremada, crema, crema de suero, suero de mantequilla o una combinación de cualquiera de estos materiales, por la acción del cuajo u otros coagulantes apropiados, y escurriendo parcialmente el suero que se produce como consecuencia de tal coagulación.
- Técnicas de elaboración que comprenden la coagulación de la leche y/o de los materiales obtenidos de la leche y que dan un producto final.

### **3.2.6. TIPOS DE QUESOS**

Los quesos tienen una variabilidad alta, no únicamente puede ser distinta la materia prima de que se parte (leche de vaca, oveja o cabra), sino que pueden realizarse mezclas muy diversas con ellas. Los principales parámetros para clasificar los quesos son: el tipo de leche, el tipo de coagulación, la textura, la humedad, el extracto seco, la grasa, los microorganismos desarrollados, la zona de elaboración y la tecnología (Chamorro Losada 2002).

### **3.2.7. CLASIFICACIÓN DE LOS QUESOS**

De acuerdo a la NTP 202.193: 2010 (INDECOPI, 2010), se establece:

#### **a. Según su consistencia**

Duro (baja humedad), semiduro (mediana humedad), blando (alta humedad), muy blando (muy alta humedad).

#### **b. Según el contenido de materia grasa**

Extra graso, graso, semigraso, memidescremado, descremado.

#### **c. Según el proceso**

Fresco, semimadurado, madurado, madurado por mohos.

### **3.2.8. QUESO FRESCO**

Según la Norma Técnica Peruana 202.087 (INDECOPI, 1982), define al queso fresco (tradicional) como el producto sin madurar obtenido por separación del suero después de la coagulación de la leche cruda o

reconstituida, pasteurizada, entera o parcialmente descremada, o de una mezcla de estos productos, y que cumple con los requisitos especificados en las Normas Técnicas Peruanas.

El Quesillo es un queso fresco, típicamente chileno, no madurado, de alta humedad, similar a varios otros elaborados en Latinoamérica. No posee cáscara y se caracteriza por ser muy fresco al paladar, de color blanco cremoso y cuerpo suave. No presenta acidez desarrollada y es de sabor y aroma suaves, muy similar a la leche fresca. No posee sabor salado, ya que se elabora sin sal o con un muy ligero nivel, sólo para realzar el sabor natural del producto. Contiene una humedad igual o ligeramente inferior a 70% y un tenor de materia grasa cercana al 40% en base seca. Anteriormente se utilizaba leche cruda recién ordeñada, pero en la actualidad se utiliza leche pasteurizada, Se expende en forma circular de más o menos 400-500g y, que elaborado con el método tradicional dura, como máximo, 7 días (Castañeda *et al.*, 2012).

### **3.2.9. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICA DEL QUESO**

Las características fisico-químicas que definen al queso son: el pH, la acidez, la grasa, entre otros. A continuación se nombran algunos:

#### **a. pH del queso**

En los quesos frescos, la elevada humedad y el bajo pH, son condiciones que afectan notoriamente la textura y sabor durante la conservación, de forma que una excesiva proteólisis podría ocasionar defectos como una textura excesivamente blanda y un sabor amargo (Fox y McSweeney, 1996).

La influencia del pH sobre el desarrollo microbiano y la actividad enzimática es especialmente determinante. Únicamente las bacterias

lácticas, algunas levaduras y los mohos pueden desarrollarse a pH inferior a 5. La actividad enzimática es sensible a las variaciones de pH ya que a  $\text{pH} < 4.5$ , la actividad y estabilidad de numerosas enzimas se ve fuertemente reducida (García, 1998).

#### **b. Acidez**

La acidez, en el queso es otro factor que no sólo tiene incidencia sobre el sabor, sino también directamente en los cambios que experimenta la red de proteína (cuajada) del queso, teniendo ésta una correlación directa en los fenómenos de sinéresis (es decir; a mayor acidez, mayor sinéresis) y textura final (Pinho *et al.*, 2004).

#### **c. Grasa**

La importancia de la grasa en la calidad del queso, viene determinada por el aporte energético de la grasa de la leche de partida, su composición en ácidos grasos y triglicéridos y por facilitar la disponibilidad de las vitaminas liposolubles. La firmeza del coágulo viene determinada fundamentalmente por el contenido en proteínas, aunque también se ve afectada por el intervalo de fusión de grasa. Además la grasa del queso favorece su adhesividad, mejora la homogeneidad de la pasta y confiriendo un aspecto cremoso, observándose además que altos contenidos de grasa proporcionan menor firmeza y un aumento de elasticidad. La grasa está compuesta fundamentalmente por triglicéridos con pequeñas cantidades de fosfolípidos, cerebrósidos, carotenoides, esteroides (principalmente colesterol) y vitaminas (A, E, D, K) (García, 1998).



### 3.2.10. CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS DEL QUESO FRESCO

**Tabla 6.** Criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad del queso fresco

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Coliformes	5	3	5	2	$5 \times 10^2$	$10^3$
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	3	5	2	10	$10^2$
<i>Escherichia coli</i>	6	3	5	1	3	10
<i>Listeria monocytogenes</i>	10	2	5	0	Ausencia/25g	...
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia/25g	...

**Fuente:** NTS 071: 2008

### 3.2.11. CRECIMIENTO MICROBIANO

Los microorganismos crecen o se multiplican cuando se exponen a un ambiente favorable, como el alimento. Su crecimiento se asocia a la descomposición de alimentos, las enfermedades de origen alimentario y el bioprocesamiento de los mismos. El crecimiento es importante también para aislar una cepa, en una forma pura, y para estudiar sus características morfológicas, fisiológicas, bioquímicas y genéticas a fin de diseñar métodos para controlar o estimular su crecimiento en los alimentos (Ray y Bhunia, 2010).

La causa de un recuento alto de aerobios mesófilos en los lácteos, junto con la presencia de coliformes en un 47,9 % de muestras con calificación insatisfactoria indica deficiencias no solo en los procesos de

pasteurización sino en la fuente misma de generación del alimento, es decir en las prácticas de higiene previas al ordeño, la calidad del agua empleada, la desinfección de los recipientes usados en el ordeño y en la implementación de redes de frío para la conservación de la leche (Blanco *et al.*, 2009)

### **3.2.12. FACTORES QUE INFLUYEN EN EL CRECIMIENTO MICROBIANO**

La capacidad de los microorganismos (excepto los virus) para crecer o multiplicarse en un alimento está determinada por el ambiente alimentario y el medio en el que se almacena el alimento, designados como ambientes alimentarios intrínseco y extrínseco. No se puede estudiar en forma independiente la influencia de ningún factor de crecimiento, porque se interrelacionan. Por lo contrario, la influencia de cualquier factor en diferentes niveles de crecimiento se compara manteniendo otros factores sin cambio (Ray y Bhunia, 2010).

#### **a. Factores intrínsecos o ambiente alimentario**

Influyen nutrientes, factores de crecimiento e inhibidores (o antimicrobianos), actividad del agua, pH y potencial de oxidación-reducción. En un sistema alimentario los factores se presentan juntos y, en conjunto, ejercen efectos sobre el crecimiento microbiano, ya sean favorables o adversos (Ray y Bhunia, 2010).

#### **b. Factores extrínsecos**

Los factores extrínsecos importantes del crecimiento microbiano en un alimento influyen las condiciones ambientales en que éste se almacena. Éstos consisten en temperatura, humedad relativa y ambiente gaseoso. La humedad relativa y la condición gaseosa de almacenamiento, respectivamente influyen en la actividad del agua ( $A_w$ ) y el potencial redox (Eh) del alimento (Ray y Bhunia, 2010).

### 3.2.13. MICROBIOLOGÍA PREDICTIVA

Se han desarrollado varios modelos matemáticos para predecir el aumento del número de microorganismos y la descomposición causada por estos en los alimentos, con base en los datos generados por el estudio de las tasas de proliferación microbiana a diferentes niveles de pH y  $A_w$ , de temperatura y concentraciones de preservadores en un medio de laboratorio. La disponibilidad de computadoras adecuadas ha ayudado a efectuar con rapidez el análisis multifactorial de datos. Los modelos cinéticos indican el efecto de los parámetros de cultivo sobre la tasa de crecimiento de un microorganismo, en las fases de retardación y de crecimiento exponencial (Ray y Bhunia, 2010).

#### a. Modelo sigmoidal (Gompertz: modelo USDA)

Modelo desarrollado por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos de América (USDA), con el propósito de predecir el crecimiento microbiano en un ambiente alimentario que contiene muchos parámetros de control. Se ha probado en medios de laboratorio para determinar la tasa de crecimiento de *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Shigella flexneri*, *Escherichia coli* O157:H7 y *Aeromonas hydrophila* a temperaturas, concentraciones de pH,  $A_w$ , NaCl y  $\text{NaNO}_2$  y atmósferas aeróbicas y anaeróbicas variables. Las curvas de crecimiento se determinaron estadísticamente por medio del análisis de regresión no lineal con la funciones de Gompertz. Luego, los resultados se analizaron para desarrollar este modelo y permite obtener el tiempo de retardación, la tasa máxima de crecimiento constante y la carga microbiana máxima, directamente de la regresión no lineal de las cantidades vs datos de tiempo. La ecuación sigmoidal asimétrica es:

$$\text{Log } N = A + C \exp\{-\exp[-B(t - M)]\}$$

donde  $N$  es  $\log_{10}$  de unidades formadoras de colonias (UFC) por milímetros en un tiempo  $t$ ;  $A$  es el  $\log_{10}$  inicial UFC/ml;  $C$  el  $\log_{10}$  de la

diferencia de UFC entre el inicio y  $t$ , o tiempo;  $\exp$  es exponencial;  $B$  la tasa de crecimiento relativa a  $M$ , y  $M$  el tiempo durante el cual la tasa de crecimiento es máxima.

### b. Modelo de Baranyi

Baranyi et al. (1993) informaron un nuevo modelo matemático para el crecimiento bacteriano. Este modelo es una combinación del modelo logístico y el modelo de Michaelis-Menten. El modelo de Baranyi (Baranyi y Roberts, 1994):

$$y(t) = y_{max} + \ln \left[ \frac{-1 + \exp(\mu_{max} \cdot \lambda) + \exp(\mu_{max} \cdot t)}{-1 + \exp(\mu_{max} \cdot t) + \exp(\mu_{max} \cdot \lambda + y_{max} - y_0)} \right]$$

Donde:

$y(t) = \ln N(t)$ , siendo  $N(t)$  la densidad bacteriana ( $\text{ufc} \cdot \text{g}^{-1}$ ) al tiempo  $t$ .

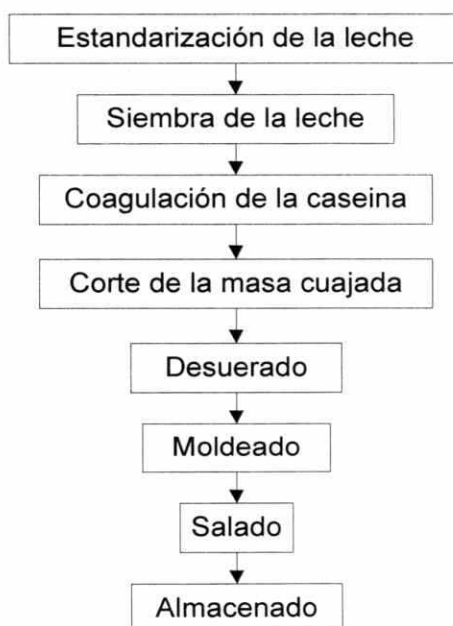
$y_0 = \ln N_0$ , siendo  $N_0$  el valor asintótico inferior y aproximadamente igual a la densidad bacteriana inicial ( $\text{ufc} \cdot \text{g}^{-1}$ ).

$y_{max} = \ln N_{max}$ , siendo  $N_{max}$  el valor asintótico superior y aproximadamente igual a la máxima densidad bacteriana ( $\text{ufc} \cdot \text{g}^{-1}$ ).

$\mu_{max}$  = máxima velocidad específica de crecimiento ( $\text{tiempo}^{-1}$ ).

$\lambda$  = tiempo de latencia (tiempo).

### 3.2.14. ELABORACIÓN DEL QUESO: OPERACIONES GENERALES



Fuente: Meyer et al. (2014)

### 3.2.15. VIDA ÚTIL DE LOS ALIMENTOS

La vida útil o vida de almacenamiento se define como el tiempo que transcurre hasta que el producto se convierte en inaceptable. En muchos casos, la vida útil es el periodo de tiempo durante el cual el producto permanece en buenas condiciones de venta. La duración de la vida útil de un alimento dado, depende de un número de factores, método de procesado, de envasado y condiciones de almacenamiento. (Norman y Hotchkiss, 1995).

La vida útil es un período en el cual, bajo circunstancias definidas, se produce una tolerable disminución de la calidad del producto. La calidad engloba muchos aspectos del alimento, como sus características físicas, químicas, microbiológicas, sensoriales, nutricionales y referentes a inocuidad. En el instante en que alguno de estos parámetros se considera como inaceptable el producto ha llegado al fin de su vida útil (Singh, 2000).

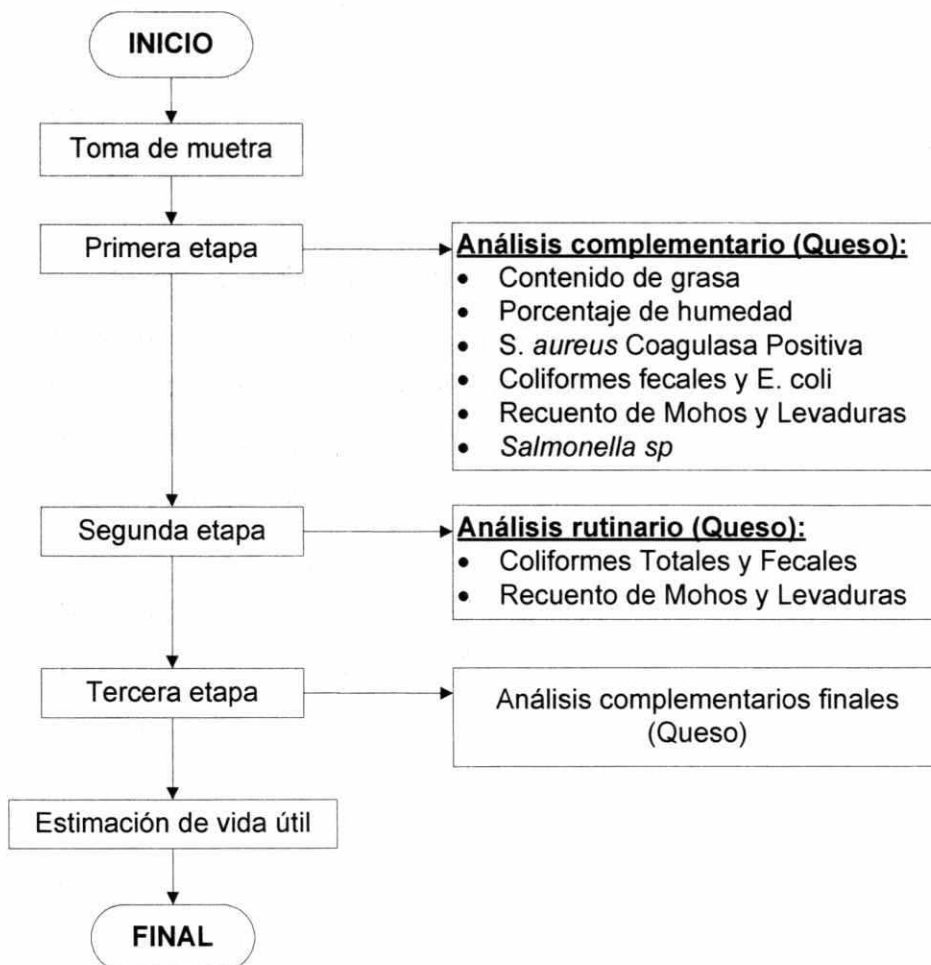
Este período depende de muchas variables en donde se incluyen tanto el producto como las condiciones ambientales y el empaque. Dentro de las que ejercen mayor peso se encuentran la temperatura, pH, actividad del agua, humedad relativa, radiación (luz), concentración de gases, potencial redox, presión y presencia de iones (Brody, 2003).

El método de supervivencia se utiliza para estimar el tiempo de vida útil de los alimentos, se basa en la opinión del consumidor para estimar la vida útil sensorial, conocer la actitud del consumidor hacia el producto, haciendo un test sensorial sobre si consumiría o no el producto. Para ello, sólo se requiere disponer de muestras almacenadas a lo largo del tiempo y muestras recién fabricadas. Se debe distinguir entre fecha de caducidad y fecha de consumo preferente (Carreres, s.f.).

### 3.2.16. Estimación de la vida útil

El tiempo de vida útil se estima considerando las variables microbiológicas, físico-químicas y sensoriales de mayor influencia sobre el producto a través del tiempo. Se analizan todos los parámetros dándole mayor importancia a los microbiológicos para la determinación de la vida útil, se observan los cambios producidos en cada producto con el pasar de las semanas y se comparan los resultados obtenidos con la respectiva norma que rige cada tipo de alimento para saber hasta qué semana los parámetros analizados dejan de cumplir con la misma y así se estima la vida útil de cada alimento (Restrepo y Montoya, 2010).

### 3.2.17. Instructivo para la determinación del tiempo de vida útil



Fuente: Restrepo y Montoya (2010).

### 3.2.18. ANÁLISIS SENSORIAL

El análisis sensorial es la identificación, medida científica, análisis e interpretación de las propiedades (atributos) de un producto que se perciben a través de los cinco sentidos, vista, olfato, gusto, tacto y oído (Carpenter *et al.*, 2009).

El análisis sensorial va a permitir conocer la preferencia, aceptación y grado de satisfacción de los consumidores; así como determinar la posible diferencia entre los caracteres sensoriales de los quesos y describir exhaustivamente los distintos descriptores de un queso. La valoración de los caracteres sensoriales de un queso es de tres grupos: hedónicas, discriminantes y descriptivas (Chamorro y Losada, 2002).

#### a. Pruebas descriptivas

Su utilización presenta varios objetivos, entre los que destacan: Definir claramente los atributos del queso y las sensaciones que producen. Evitar subjetividades y criterios hedonistas. Expresar los resultados de forma clara y sencilla. Aplicarlas para formular, especificar, controlar y comparar quesos homólogos. Reunir jerárquicamente la información que debe dar el catador. Poder describir solamente caracteres del queso o también describir y valorar estos caracteres (Chamorro y Losada, 2002).

Ficha descriptiva, anexo 11.

#### b. Personas adecuadas para el análisis sensorial

El análisis sensorial implica la obtención de información compleja a partir de jueces especialmente entrenados. La cualificación y entrenamiento necesarios para que un juez sensorial represente un instrumento de medida efectivo son considerables (Carpenter *et al.*, 2009).

### c. Selección de personas para trabajos específicos

#### Pruebas descriptivas

Representan, probablemente, en términos de entrenamiento de los jueces. Estos deberán ser especialmente seleccionados, en base a una capacidad sensorial para reconocer y diferenciar dentro de una gama de productos pertinentes. También necesariamente recibir un entrenamiento especializado sobre la técnica de análisis sensorial descriptivo, antes de participar en la pruebas (Carpenter *et al.*, 2009).

### d. Número de jueces

La selección de los jueces se realiza de acuerdo a su capacidad, el número de ellos se observa en la tabla 7:

**Tabla 7.** Número mínimo de jueces recomendado para las pruebas sensoriales

Tipo de prueba	Jueces	Jueces seleccionados
<b>Pruebas de diferencia</b>		
Prueba apareada	30	20
Prueba triangular	24	18
Prueba dos de cinco	--	12
Prueba dúo-trío	32	20
<b>Prueba de ordenación</b>	30	5
<b>Prueba de clasificación</b>	20	8
<b>Prueba descriptiva</b>	--	8
<b>Pruebas de aceptación</b>		
Prueba de preferencia de dos muestras	50	--
Preferencia mediante ordenación multi-muestra	50	--
Clasificación hedónica	70	--
Estimación de la magnitud	70	--

**Nota:** la palabra «juez» se refiere a la persona que realiza la prueba sensorial. «juez seleccionado» se refiere al juez que ha sido especialmente seleccionado, en base a su probada sensibilidad y capacidad para realizar la prueba en cuestión.

**Fuente:** Carpenter (2009).



### 3.2.19. EL ORÉGANO

El orégano, (*Origanum vulgare*), es una herbácea perenne aromática del género *Origanum*, muy utilizada en la cocina mediterránea. Pertenece a la familia de las labiadas. Proviene de la zona mediterránea, extendiéndose por toda Europa y Asia central. En España e Italia crece sobre todo en las colinas y montañas. (Fundación Española de Nutrición, s.f.).

### 3.2.20. PROPIEDADES DEL ORÉGANO

Los aceites esenciales están cerca del 4%, son los fenoles y en particular el timol que es un antiséptico, antiespasmódico y vermífugo que se usa en la preparación de los productos a utilizar para uso interno y externo; el otro es el carvacrol, un antiséptico muy utilizado en perfumería. Las propiedades son: analgésico, antiséptico, antiespasmódico, expectorante, estomacal y tónico, ayuda a la digestión, atenúa los dolores intestinales y el meteorismo y además es un óptimo calmante para la tos con propiedades expectorantes (Elicriso, s.f.).

### 3.2.21. COMPOSICIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO

Los procedimientos para determinar la composición química del aceite esencial de orégano, se realizan bajo la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), y revelan los principales componentes químicos, destacando el Timol (67.51%) como mayoritario, seguido por p-Cimeno,  $\gamma$ -Terpineno, cariofileno, oxido de cariofileno, trans- $\alpha$ -Bergamoteno, Eugenol, y  $\alpha$ -Bergamoteno, con 11,66%, 5,51%, 5,38%, 2,22%, 1,65%, 1,49%, y 1,32% respectivamente, que representan más del 80% del total registrado del aceite esencial de orégano (Acevedo *et al.*, 2013), los significativos en la tabla 7.

**Tabla 8.** Componentes del aceite esencial de orégano (*O. vulgare*).

Tr (min)	Compuesto	Familia química	Área relativa (%)
13,14	p-cymene	Hidrocarburo monoterpénico	11,66
14,32	γ-Terpinene	Hidrocarburo monoterpénico	5,51
21,78	Thymol	Compuesto oxigenado	67,51
24,89	Caryophyllene	Sesquiterpenobicíclico	5,38
25,26	α-Bergamotene	Hidrocarburo sesquiterpénico	1,32
25,26	Trans-alpha-Bergamotene	Hidrocarburo sesquiterpénico	1,65
28,90	Caryophyllene oxide	Terpenoide oxigenado	2,22

**Fuente:** Acevedo *et al.* (2013)

### 3.2.22. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE DE ORÉGANO

Según Albado *et al.* (2001). Las bacterias gram-negativas: *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella tiphymurium*, *Salmonella choleraesuis* y *Vibrio cholerae* y las bacterias gram-positivas: *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*, mostraron diferentes grados de sensibilidad. De los microorganismos evaluados solo *pseudomona aeruginosa* mostró resistencia. Concluyó, que el aceite esencial posee actividad microbiana contra todas las bacterias evaluadas, excepto antes para *P. aeruginosa*, y se muestra en la tabla 8:

**Tabla 9.** Actividad antibacteriana del aceite esencial de orégano.

	CEPA	Diámetro de halo (mm)	
		D.D.*	I
GRAM POSITIVOS			
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538P	28	29
<i>Bacillus cereus</i>	(salvaje)	14	16
GRAM NEGATIVAS			
<i>E. coli</i>	ATCC 25922	16	16
<i>Salmonella tiphymuriom</i>	Aislado	15	16
<i>Vibrio cholerae</i>	ATCC 14033	15	15
<i>Salmonella cholerae suis</i>	ATCC 14028	14	18
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	ATCC 24853	R	R

\*D.D.=Disco difusión; I= Incorporación; R= Resistente.

**Fuente:** Albado *et al.* (2001)

### 3.2.23. NISINA

Es el antibiótico mejor conocido entre los de las bacterias lácticas y el único que se produce industrialmente y se emplea en las industrias alimentarias. Su nombre se deriva de las iniciales de "Groupe N Inhibitory Substance". Es elaborado por determinadas cepas de la especie *S. lactis*. De hecho, todas las cepas parece que producen péptidos básicos pero no todos están dotados de actividad antibacteriana. La nisina forma parte del grupo de los antibióticos polipeptídicos. Los primeros de estos que se descubrieron (bacitracina, gramicidina) son secretados por *Bacillus* esporulados, que se caracterizan por la presencia de aminoácidos atípicos, que no se encuentran nunca en las proteínas y cuya forma de acción se puede comparar a la de los detergentes catiónicos (Alais, 1985).

La nisina es un polipéptido producido por la fermentación de varias cepas de *Lactococcus lactis sub sp. lactis*; presenta actividad como un conservador natural para los alimentos con una alta eficiencia y no es tóxico (Campos, s.f.).

**Fórmula molecular:**  $C_{143}H_{228}N_{42}O_{37}S_7$

**Masa molecular UMA (Unidad de Masa Atómica), Dalton:** 3348 g/mol

### 3.2.24. CARACTERÍSTICAS DE LA NISINA

La Nisina es eficaz contra una amplia gama de bacterias Gram positivas, particularmente contra las que producen esporas resistentes al calor. Inhibe ciertas cepas de patógenos en los alimentos, tales como *Clostridium spp.*, *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus hemolyticus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus stearothermophilus* y otros. La nisina no tiene ningún efecto contra bacterias Gram negativas, levaduras ni mohos (Campos, s.f.).

Según López (2010), la nisina es una proteína con acción antibiótica producida por un microorganismo inofensivo presente en la leche fresca de forma natural y que interviene en la fabricación de diferentes productos lácteos. Existe como un conservante natural en algunos quesos y otros productos lácteos fermentados, producidos por su flora de maduración. La nisina posee actividad antimicrobiana contra una amplia gama de las bacterias gran positivas, particularmente las que produzcan las esporas. La nisina es un polvo de color blanco, potencia acuosa 1000 IU/mg. La acidez es estable a temperatura ambiente e incluso al calentarse. Puede resistir 30 minutos en pH 2.0 a 121°C y 15 minutos en pH 3.0 a 121°C, pero en pH mayores la estabilidad de actividad puede ser afectada.

### **3.2.25. USOS DE LA NISINA**

Solo es eficaz contra algunos tipos de bacterias como conservante de ciertos tipos de quesos procesados, especialmente los fundidos. Se utiliza como conservante de la leche y otros derivados lácteos ante los problemas para mantener estos productos siempre en refrigeración (López, 2010).

El uso de la nisina como conservador alimenticio puede reducir las temperaturas de tratamiento térmico así como reducir el tiempo de estos tratamientos, de tal forma que permite un ahorro en los consumos de energía en los procesos, mejora el valor nutricional, la apariencia, el sabor y la textura de los alimentos, además de incrementar de manera significativa la vida de anaquel del producto (Campos, s.f.).

Según Martínez (1996), Las primeras observaciones de antibiosis microbiana realizada por Pasteur y Joubert (1877) permitieron vislumbrar las posibilidades terapéuticas de los fenómenos de antagonismo.

Posteriormente, Rogers (1928) identificó una sustancia de naturaleza peptídica (nisina), producida por *S. lactis*, que inhibía a microorganismos Gram positivos, incluyendo patógenos y alterantes de alimentos. Debido a que la cepa productora era utilizada como cultivo iniciador en la producción de derivados lácteos se plantearon nuevas aplicaciones, no sólo con fines terapéuticos, del antagonismo microbiano. De hecho, la fermentación (proceso de transformación biológica de alimentos) es una de las técnicas más antiguas utilizadas para aumentar el período de consumo de alimentos perecederos. De las muchas especies microbianas que se encuentran inicialmente en el alimento crudo o materia prima, solamente unas pocas están dotadas de las capacidades fisiológicas necesarias para multiplicarse masivamente en las condiciones concretas que ofrecen el alimento y el medio ambiente que se genera.

Según Castro *et al.* (2009). La nisina es un bactericida capaz de frenar el crecimiento de microorganismos Gram positivos, entre ellos *Staphylococcus aureus*.

Sangronis y García (2007) Mencionan que el uso de la nisina, un bactericida natural, es una alternativa para disminuir los riesgos de la elaboración de queso con leche cruda, aumentarle la vida útil del producto y en consecuencia mejorar su comercialización.

### **3.2.26. ÍNDICE DE PERÓXIDOS**

El índice de peróxidos de una grasa, en el punto de enranciamiento, tiende a aumentar, cuando aumenta la insaturación de la grasa y su contenido en antioxidantes. En ensayos de oxidación acelerada, a 100°C, de manteca de cerdo, aceite de algodón ligeramente hidrogenada y el mismo sin hidrogenar comienzan los signos de rancidez organoléptica a índices de peróxido de 20, 75 y 125 miliequivalentes por kilogramo, respectivamente; sin embargo, las

grasas expuestas a la luz del sol o a radiaciones de corta longitud de onda, o almacenadas con un limitado acceso de oxígeno, pueden llegar a enranciarse con unos índices de peróxidos más bajos que los indicados. Si se prosigue la oxidación hasta una fase avanzada, el índice de peróxido alcanzará un máximo y luego disminuirá, cuando los peróxidos se descompongan y polimericen mucho más rápidamente que se formen; al aumentar la temperatura a la que se verifica la oxidación, el máximo del índice de peróxidos tiende a disminuir (Bailey, 1984).

Los productos iniciales en la oxidación (rancidez) de aceites y de grasas son los hidroperóxidos (R-OOH); sin embargo, se denominan normalmente peróxidos. La determinación de peróxidos se basa en su capacidad de liberar yodo de una disolución de yoduro de potasio en ácido acético glacial. El yodo formado se valora con una disolución patrón de tiosulfato de sodio, utilizando una disolución de almidón como indicador (Herrera et al., 2003).

### 3.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

**Aceite esencial.-** Compuestos formados por varias sustancias orgánicas volátiles, que pueden ser alcoholes, acetonas, cetonas, éteres, aldehídos, y que se producen y almacenan en los canales secretores de las plantas. Son líquidos a temperatura ambiente, y por su volatilidad, son extraíbles por destilación en corriente de vapor, u otros métodos. Generalmente son los responsables del olor de las plantas.

**Aerobio.-** Un organismos que puede usar el O<sub>2</sub> en la respiración; algunos requieren O<sub>2</sub> para el crecimiento.

**Agente antimicrobiano.-** Un compuesto químico que mata o inhibe el crecimiento de los microorganismos.

**Agente bactericida.-** Un agente que mata las bacterias.

**Alimentos perecederos.-** Alimentos frescos generalmente con alta actividad de agua que disponen de periodos de conservación muy cortos debido a una potencial alteración por el crecimiento de microorganismos.

**Antibiótico.**- Sustancia química producida por un microorganismo que mata o inhibe el crecimiento de otro microorganismo.

**Bacteria.**- Un grupo de procariotas filogenéticamente relacionados y distinto de *Archaea*.

**Catalizador.**- Una sustancia que acelera una reacción química, pero que no se consume en la reacción.

**Célula.**- Unidad fundamental de la materia viva.

**Coliformes.**- Bacterias Gram negativas, no esporuladas, fermentadoras de lactosa y aeróbicas o anaeróbicas facultativas.

**Crecimiento.**- Incremento del número de células.

**Crecimiento exponencial.**- Crecimiento de un microorganismo cuyo número de células se duplica en un periodo constante de tiempo.

**Desnaturalización.**- Eliminación del plegamiento correcto de un proteína que conduce a la pérdida de la actividad biológica.

**Enfermedad.**- Daño que se produce en un hospedador y que afecta a su capacidad funcional.

**Enterotoxina.**- proteína liberada por un organismo mientras se multiplica y que actúa sobre el intestino delgado.

**Enzima.**- Una proteína que tiene la capacidad de acelerar (catalizar) una reacción química específica.

***Escherichia coli* O157:H7.**- Cepa enterotoxigénica de *E. coli* que se transmite por contaminación fecal de origen animal o humano a los alimentos o el agua.

**Eucariota.**- Una célula con un núcleo delimitado por una membrana nuclear y que en general presenta otros orgánulos, pertenecientes al dominio *Eukarya*.

**Facultativo.**-Con respecto al O<sub>2</sub> un organismo que puede crecer en su ausencia o en su presencia.

**Fase lag.**- Periodo anterior a la fase de crecimiento exponencial cuando las células pueden tener un metabolismo activo pero aun no crecen.

**Fecha de caducidad:** Es el momento a partir del cual un alimento ya no es apto para su consumo porque podría ser perjudicial para la salud. Generalmente se estima mediante estudios microbiológicos.

**Fecha de consumo preferente:** A partir de la cual las propiedades físico-químicas y organolépticas del producto (sabor, color, olor o textura) empiezan a modificarse y pueden ser percibidas de forma negativa por el consumidor. Se estima mediante estudios físico-químicos y/o organolépticos.

**Gram negativa.-** Un tipo de célula procariótica cuya pared celular contiene relativamente poco peptidoglicano y presenta una membrana externa compuesta por lipopolisacárido, lipoproteína y otras macromoléculas complejas.

**Gram positiva.-** Tipo de célula procariótica cuya pared celular es compuesta básicamente por peptidoglicano y que carece de membrana externa.

**Inhibición.-** La reducción del crecimiento microbiano debido a un descenso en el número de microorganismos presentes o alteraciones en el ambiente microbiano.

**Medio de cultivo.-** Un medio de cultivo del que se conoce su composición química exacta.

**Medio selectivo.-** Medio que permite el crecimiento de unos organismos retrasando el crecimiento de otros, tiene un componente añadido.

**Mesófilo.-** Organismo que crece mejor a temperatura entre 20°C y 45°C.

**Metabolismo.-** Conjunto de reacciones bioquímicas de una célula.

**Microorganismo.-** Organismo microscópico constituido por una sola célula o varias, incluyendo los virus.

**Patógeno.-** Un microorganismo parásito que causa daño al hospedero.

**pH.-** Valor negativo del logaritmo de la concentración de iones hidrógeno ( $H^+$ ) en una solución.

**Procariota.-** Una célula que carece de un núcleo delimitado por una membrana nuclear y de otros orgánulos.



## IV. MARCO METODOLÓGICO

### 4.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

En el presente proyecto se obtendrá la materia prima del centro poblado de Yacango, distrito de Torata - Moquegua, la elaboración, los análisis fisicoquímicos y microbiológicos del queso fresco con y sin adición de nisina y aceite esencial de orégano, se ejecutarán en las instalaciones del laboratorio de química y procesos de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial.

### 4.2. TIPO Y DISEÑO

#### 4.2.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

- a) **En cuanto a su finalidad, se distingue como:** Aplicada; ya que sus aportes están dirigidos a iluminar la comprensión referida a un aspecto de la realidad perteneciente al dominio de estudio de una disciplina científica en específico.
- b) **Según el Tipo de Diseño de Investigación es:** Experimental, debido a la manipulación de las variables a nivel de laboratorio.
- c) **Según su prolongación en el tiempo es:** Transversal o Sincrónica; ya que el estudio se circunscribe a un momento puntual, un segmento de tiempo durante el año a fin de medir o caracterizar la situación en ese tiempo específico.
- d) **Según el énfasis en la naturaleza de los datos manejados es:** Cuantitativa, ya que la preponderancia del estudio de los datos se basa en la cuantificación y cálculo de los mismos.

#### 4.2.2. DISEÑO

Un Diseño de Taguchi:

Tres factores y cuatro niveles:

**Tabla 10.** Factores y niveles del diseño.

SÍMBOLO	PARÁMETRO DE VARIABLE INDEPENDIENTE	1	2	3	4
A	Nisina (%)	0,0	0,02	0,04	0,06
B	Aceite esencial (%)	0,0	0,01	0,015	0,02
C	Tiempo de almacenamiento (día)	0	3	6	9

**Tabla 11.** Tratamientos.

CÓDIGO DEL TRATAMIENTO	NISINA (%)	ACEITE ESENCIAL (%)	ALMACENAMIENTO (DÍA)
NA01	0,0	0,0	0
NA02	0,0	0,01	3
NA03	0,0	0,015	6
NA04	0,0	0,02	9
NA05	0,02	0,0	3
NA06	0,02	0,01	0
NA07	0,02	0,015	9
NA08	0,02	0,02	6
NA09	0,04	0,0	6
NA10	0,04	0,01	9
NA11	0,04	0,015	0
NA12	0,04	0,02	3
NA13	0,06	0,0	9
NA14	0,06	0,01	6
NA15	0,06	0,015	3
NA16	0,06	0,02	0

### 4.3. NIVEL DE INVESTIGACIÓN

En el presente proyecto el nivel de investigación es aplicativo, porque, se utilizarán agentes naturales antibacterianos en el queso fresco, como innovación industrial que influirá en el tiempo de vida en anaquel. Además, se utilizarán técnicas estadísticas que evaluarán el éxito de la intervención.

### 4.4. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

#### 4.4.1. Variable Independiente

- **Independiente no controlable**  
Materia prima.
- **Independiente controlable**  
Aplicación de aceite esencial de orégano.  
Aplicación de nisina.  
Tiempo de almacenamiento.

#### **Indicadores**

- Densidad, acidez, pH, grasa,
- Unidades formadoras de colonias (UFC): aerobios mesófilos.
- Porcentaje de nisina.
- Porcentaje de aceite esencial de orégano.
- Día.

#### 4.4.2. Variable Dependiente

Propiedades fisicoquímicas, carga microbiana y tiempo de vida en anaquel del queso fresco, análisis sensorial.

#### **Indicadores**

- ° Dornic, unidades de pH, % de grasa, humedad, índice de peróxidos.
- UFC: coliformes totales, *Escherichia coli*, aerobios mesófilos.
- Color, olor, textura, sabor.

**Tabla 12.** Operacionalización de variables.

Variable	Dimensiones	Indicadores	Método
	Propiedades fisicoquímicas de la materia prima	- Densidad - Acidez - pH - Grasa	A.O.A.C. 925.22(1990) A.O.A.C. 981.12 (2005). A.O.A.C. 947.05 (1990). Método Gerber.
<b><u>Variable Independiente:</u></b> Materia prima Aplicación de aceite esencial de orégano Aplicación de nisina Día de almacenamiento	Carga microbiana de la leche	Unidades formadoras de colonias (UFC): - Aerobios mesófilos	Método NF V 08-051
	Dosis de aceite esencial de orégano	Porcentaje	
	Dosis de nisina	Porcentaje	
	Tiempo	Día	
	Propiedades fisicoquímicas	- Acides - pH - Humedad - Índice de peróxidos	Método Ártica (2014). Método A.O.A.C. 981.12 Método NTE 1973-10 Método de índice de peróxidos
<b><u>Variable Dependiente:</u></b> Propiedades fisicoquímicas, carga microbiana y tiempo de vida útil del queso fresco.	Carga microbiana	UFC: - Coliformes - <i>Escherichia coli</i> - Aerobios mesófilos	Método NF V 08-050 Método NF V 08-053 Método NF V 08-051
	Evaluación sensorial	- Color, olor, textura, sabor	Método descriptivo
	Vida útil	- Unidades formadoras de colonias.	Modelo Baranyi y Roberts (1994)

#### **4.5. POBLACIÓN Y MUESTRA**

##### **Población**

Producción de leche del Centro Poblado de Yacango del distrito de Torata, región Moquegua.

##### **Muestra**

Leche del fundo Yacango – La Hoyada

#### **4.6. PROCESO DE ELABORACIÓN DEL QUESO FRESCO CON ADICIÓN DE NISINA Y ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO**

Se elaborará el tipo de queso fresco artesanal, a partir de leche de vaca cruda, obtenida en el centro poblado de Yacango. En tal experimentación se prepararán 16 lotes diferentes de 5 litros de leche cada uno, con lo cual se obtendrán 16 quesos de 250g aproximadamente, a 15 quesos se les agregará los porcentajes de nisina y aceite esencial de orégano (descritos en el diseño experimental de Taguchi) y uno que servirá como muestra en blanco. Del proceso de elaboración; todas las leches se calentarán a 32° C agitando manualmente antes de la adición de (0,4% p/v) de cuajo (Marschall k-100) a 32° C durante 45 min. Luego se cortará la cuajada de manera manual en cubos de 1 cm por lado aproximadamente y se mantendrá en reposo a 37° C durante 15 min. La cuajada se verterá en moldes de polipropileno (capacidad de 250g) y será desuerado durante 1,5 h a temperatura ambiente. Finalmente los quesos se mantendrán a temperatura de 4° C en almacenamiento.

El proceso de elaboración del queso fresco con adición de nisina y aceite esencial de orégano se observa en el esquema del anexo 10.

## **4.7. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS PARA RECOLECCIÓN DE DATOS**

### **4.7.1. Para determinar las características físico-químicas (densidad, acidez titulable, pH, materia seca, proteína y grasa) y microbiológicas (aerobios mesófilos) de la leche fresca.**

- a. Determinación de densidad: A.O.A.C. 925.22 (1990). Anexo 1.
- b. Determinación de acidez: A.O.A.C. 947.05 (1990). Anexo 2.
- c. Determinación de pH: A.O.A.C. 981.12 (2005). Anexo 3.
- d. Determinación del contenido de grasa: Método de Gerber. Anexo 4.
- e. Análisis microbiológico: Aerobios m. Método NF V 08-051. Anexo 12.

### **4.7.2. Para evaluar el efecto de la adición de nisina (0, 0.02, 0.04 y 0.06%) y aceite esencial de orégano (0, 0.01, 0.015 y 0.02%) en las características fisicoquímicas (acidez, pH, grasa, proteína, humedad e índice de peróxidos) del queso fresco almacenado a 4° C durante 0, 3, 6 y 9 días.**

Los porcentajes de adición de nisina (0, 0.02, 0.04 y 0.06%) de acuerdo a la investigación "Aplicación de nisina para incrementar el tiempo de vida útil en queso fresco en el centro de adiestramiento lechero (CAL) siendo de (0.2, 0.3, 0.4, 0.5 g/Kg de queso) (López, 2010). Los porcentajes de adición de aceite de orégano (0, 0.01, 0.015 y 0.02%) se plantearon de acuerdo a la investigación "Influencia del aceite esencial de orégano en la elaboración tradicional de quesos: Efecto sobre el fermento láctico" con las concentraciones (50, 100, 150 y 200 mg/kg de cuajada prensada) (Marcial et al., 2016).

- a. Determinación de acidez del queso: Artica (2014). Anexo 6.
- b. Determinación de pH en queso: A.O.A.C. 981.12 (2005). Anexo 3.
- c. Determinación del contenido de grasa: Método de Gerber. Anexo 4.
- d. Para determinar humedad: NTE 1973-10. Anexo 9.
- e. Para determinar índice de peróxidos: anexo 8.

**4.7.3. Evaluar el efecto de la adición de nisina (0, 0.02, 0.04 y 0.06%) y aceite esencial de orégano (0, 0.01, 0.015 y 0.02%) en la calidad microbiológica (aerobios mesófilos, coliformes totales y *Escherichia coli*) del queso fresco almacenado a 4° C durante 1, 4, 7 y 10 días respectivamente.**

- a. Análisis microbiológico: coliformes. Método NF V 08-050. Anexo 5.
- b. Análisis microbiológico: *Escherichia coli*. Método NF V 08-053. Anexo 7.
- c. Análisis microbiológico: Aerobios m. Método NF V 08-051. Anexo 12.

**4.7.4. Para evaluar el efecto de la adición de nisina y aceite esencial de orégano en las características sensoriales (sabor, olor, color, textura) del queso fresco.**

Se realizará mediante la aplicación de una prueba de evaluación sensorial. Específicamente una prueba descriptiva; Se pedirá a los panelistas que señalen la valoración que se considere para cada carácter que consta en la ficha (Chamorro y Losada, 2002). La ficha se muestra en el anexo 11.

La metodología es la siguiente, la ficha descriptiva deberá estar acompañada de los valores límites que indiquen la calificación que merece el queso. Por ejemplo: Un valor de 100 equivale a un queso Excelente. Un valor comprendido entre 79-100 equivale a un queso Bueno. Un valor comprendido entre 78-79 equivale a un queso Aceptable. Un valor menor de 58 equivale a un queso Deficiente. También se valoran los defectos en las características que se contemplan y que definen al queso. Ligero defecto: cuando presenta un valor cercano a 40. Gran defecto: cuando presenta un valor inferior a 20.

#### 4.7.5. Para determinar el tiempo de vida útil del queso fresco.

Se utilizará modelos predictivos de ComBase que son herramientas de software basados en los datos de ComBase para predecir el crecimiento o inactivación de los microorganismos.

Se determinará el tiempo de vida útil del mejor tratamiento considerando el modelo propuesto por Baranyi y Roberts (1994), utilizando el programa DMFit. (Instituto de Investigación Alimentaria, Norwich, Reino Unido) obtenido de <http://modelling.combase.cc/DMFit.aspx> con el fin de estimar el tiempo de retraso, el crecimiento máximo y los errores estándar de estimación sobre estos parámetros. Con estos parámetros es posible estimar la vida útil de los alimentos (Arriagada *et al*, 2014, Fujikawa, Kai y Morozumi, 2004, Sant'Ana, Franco y Schaffner, 2012).

$$y(t) = y_{max} + \ln \left[ \frac{-1 + \exp(\mu_{max} \cdot \lambda) + \exp(\mu_{max} \cdot t)}{-1 + \exp(\mu_{max} \cdot t) + \exp(\mu_{max} \cdot \lambda + y_{max} - y_0)} \right]$$

Donde:

$y(t) = \ln N(t)$ , siendo  $N(t)$  la densidad bacteriana ( $\text{ufc} \cdot \text{g}^{-1}$ ) al tiempo  $t$ .

$y_0 = \ln N_0$ , siendo  $N_0$  el valor asintótico inferior y aproximadamente igual a la densidad bacteriana inicial ( $\text{ufc} \cdot \text{g}^{-1}$ ).

$y_{max} = \ln N_{max}$ , siendo  $N_{max}$  el valor asintótico superior y aproximadamente igual a la máxima densidad bacteriana ( $\text{ufc} \cdot \text{g}^{-1}$ ).

$\mu_{max}$  = máxima velocidad específica de crecimiento ( $\text{tiempo}^{-1}$ ).

$\lambda$  = tiempo de latencia (tiempo).

El cálculo de los tiempos de vida se lo efectuó mediante el contenido microbiano en las muestras obtenidas de los mejores tratamientos, se llevó a cabo teniendo en cuenta que se trata de una cinética de primer orden (López, 2010).

## 4.8. MATERIALES

### 4.8.1. Materiales de vidrio.

- Probeta de 250ml.



- Bureta
- Pipeta graduada de 10mL.
- Butirómetro Gerber
- Placas de Petri
- Pipetas de 1mL
- Tubo de ensayo (13x100) mm
- Asa de siembra.
- Matraz erlenmeyer 500mL

#### **4.8.2. Agares**

- Agar lactosado con bilis al cristal violeta y rojo neutro (VRBL)
- Agua peptonada "BD (DIFCO)"
- Agar con tergitol – BCIG (PTX)

#### **4.9. Equipos e instrumentos**

- Termo-lactodensímetro.
- Termómetro.
- pH-metro (SI Analytis HandyLab 100).
- Centrífuga, con velocidad de  $1100 \pm 100$  r/min (Funke-Gerber Alemania).
- Baño de agua, con regulador de temperatura, ajustado a  $65^\circ \pm 2^\circ$  C. (Gemmyco Model: YCW-010E)
- Estufa (memmert Modelo: UNSS)
- Autoclave (Modelo: YX-280D)

#### **4.10. Reactivos utilizados**

- Solución de NaOH 0,1N valorada.
- Solución de fenolftaleína 0,5% en etanol 95%.
- Alcohol amílico (3-metil-butanol y 2-metil-butanol) densidad de  $0,811 \pm 0,002$  g/cm<sup>3</sup> a 20°C.

- Acido sulfúrico, concentrado para análisis, densidad  $1,815 \pm 0,003 \text{ g/cm}^3$  a  $20^\circ\text{C}$ .
- Agua destilada y peptona.

#### **4.11. Materia Prima**

- Leche obtenida en el centro poblado de Yacango, distrito de Torata – Moquegua.

#### **4.12. Materiales para el proceso de elaboración del queso**

- Tacho para leche
- Tina de cuajado
- Moldes
- Tamiz

#### **4.13. Insumos**

- Cuajo

#### **4.14. Aditivos**

- Sal
- Nisina
- Aceite esencial de orégano

#### **4.15. DISEÑO EXPERIMENTAL O MÉTODOS Y TÉCNICAS PARA LA PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS**

##### **4.15.1. Para el análisis estadístico**

El análisis de varianza (ANOVA) se realizará a través del software Minitab. Para la comparación múltiple de los promedios de los datos, se utilizará la prueba de Duncan, considerando a los quesos como factor principal dentro de los días de almacenamiento. Las evaluaciones se basarán en un nivel de significación de  $p < 0,05$ .

V. ASPECTOS ADMINISTRATIVOS

5.1. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

N°	ACTIVIDADES	2017											
		Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Setiembre	Octubre		
1	Elaboración del Plan de Trabajo	■											
2	Organización de los protocolos y material de laboratorio	■											
3	Capacitación previa (microbiología)		■										
4	Construcción del Marco Teórico	■											
5	Preparación del trabajo en laboratorio		■										
6	Elaboración del informe preliminar 01 (trimestral)			■									
7	Trabajo de campo (muestras de leche)			■									
8	Trabajo en laboratorio				■								
9	Análisis de resultados					■							
10	Procesamiento de datos						■						
11	Elaboración de informe preliminar 02 (trimestral)							■					
12	Redacción del informe final								■				
13	Presentación del informe final /Tramitación respectiva									■			
14	Sustentación de tesis										■		

## **5.2. RECURSOS HUMANOS**

- Asesor
- Co-Asesor
- Tesista

## **5.3. BIENES**

- Centrifuga P.8 butirómetros FUNKE-GERBER ALEMANIA.
- Termo-lactodensímetro.
- Pipeta graduada de 10mL
- Pipeta aforada de 10mL
- Butirómetro Gerber
- Placa de Petri
- Tubo de ensayo (13x100) mm
- Pipeta de 1mL
- Asa de drigalski triangular

## **5.4. SERVICIOS**

- Capacitación en procesamiento de quesos.
- Capacitación en identificación de microorganismos.
- Capacitación en la especialidad

## **5.5. FUENTES DE FINANCIAMIENTO Y PRESUPUESTO**

### **5.5.1. FUENTES DE FINANCIAMIENTO**

Canon minero, sobre canon y regalías mineras.

## 5.5.2. PRESUPUESTO

PRESUPUESTO TOTAL DEL PROYECTO DE TESIS							
Cod.	Ítem	Unidad	Cant.	Valor Unit. (soles)	Valor Total (Soles)	Subtotal (Soles)	%
<b>1</b>	<b>VIÁTICOS Y PASAJES</b>					2800,00	14,01
1.1	Diversos	Unidad	1,00	2800,00	2800,00		
<b>2</b>	<b>CONTRATOS</b>					3750,00	18,76
2.1	<b>Servicio de terceros</b>						
2.1.1	Capacitación en procesamiento de quesos	Unidad	1,00	1200,00	1200,00		
2.1.2	Capacitación en identificación y cuantificación microbiana	Unidad	1,00	1350,00	1350,00		
2.1.3	Capacitación en la especialidad	Unidad	1,00	1200,00	1200,00		
<b>3</b>	<b>EQUIPOS Y BIENES DURADEROS</b>					9056,00	45,31
3.1	<b>Equipos</b>						
3.1.1	Centrifuga P.8 butirómetros FUNKE-GERBER ALEMANIA, código FG_0005	Pza	1,00	7500,00	7500,00		
3.1.2	Soporte para butirómetro P.12 muestras FUNKE GERBER ALEMAN. Código FG-8888854	Pza	1,00	350,00	350,00		
3.2	<b>Bienes</b>						
3.2.1	Butirómetro P. Leche 0-8 %: 0,1 "FUNKE GERBER" ALEMANIA. Código FG-0010	Pza	2,00	30,00	60,00		
3.2.2	Butirómetro P. queso Van Gulik 0-40 %: 0,5 "FUNKE GERBER". Código FG-0019	Pza	3,00	70,90	212,70		
3.2.3	Tapón para butirómetro "FUNKE GERBER" ALEMANIA. Código FG-0030	Pza	3,00	18,00	54,00		
3.2.4	Placa de Petri de 90mm x 15mm	Unidad	45,00	15,00	675,00		
3.2.5	Pipeta serológica de punta ancha (vidrio) de 10mL	Unidad	4,00	8,75	35,00		
3.2.6	Pipeta serológica de punta ancha (vidrio) de 1mL	Unidad	10,00	7,20	72,00		
3.2.7	Matraz Erlenmeyer de 500mL	Unidad	2,00	16,65	33,30		
3.2.8	Matraz Erlenmeyer de 1000mL	Unidad	2,00	32,00	64,00		
<b>4</b>	<b>MATERIAL FUNGIBLE</b>					1930,00	9,66
4.1	Nisina (Handary) x 500g	Frasco	1,00	190,00	190,00		
4.2	Agua peptonada "BD (DIFCO)" x 500g	Frasco	1,00	400,00	400,00		
4.3	Agar con tergitol – BCIG (PTX) x 500g	Frasco	1,00	1000,00	1000,00		
4.4	NaOH (1Kg)	Frasco	2,00	25,00	50,00		
4.5	Alcohol amílico x (1L)	Frasco	1,00	290,00	290,00		
<b>5</b>	<b>PROGRAMAS INFORMATICOS Y BIBLIOGRAFIA</b>					1500,00	7,51
5.1	Elaboración de productos lácteos	Unidad	1,00	145,00	145,00		
5.2	Biología de los microorganismos	Unidad	1,00	357,00	357,00		
5.3	Métodos de análisis microbiológicos de los alimentos (Corrie et al., 2015)	Unidad	1,00	260,00	260,00		
5.4	Ensayos microbiológicos	Unidad	1,00	260,00	260,00		
5.5	Otros	Unidad	1,00	478,00	478,00		
<b>6.</b>	<b>GASTOS GENERALES</b>					950,00	4,75
6.1	<b>Gastos varios (Contingencias)</b>						
6.1.1	Diversos	Unidad	1,00	950,00	950,00		
<b>TOTAL</b>						19986,00	100,00

## VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACEVEDO, D., NAVARRO, M., MONROY, L. (2013). Composición química del aceite esencial de hojas de orégano (*Origanum vulgare*). Scielo Chile. [en línea]. Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0718-07642013000400005](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642013000400005)
- ALAIS, C. (1985). Ciencias de la Leche, Principios de la Tectura Lechera. Barcelona: Editorial Reverté, S.A.
- ALBADO, P., E., SAEZ, F., G., GRABIEL, A., S. (2011). Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano). Rev Med Hered , 17-18.
- ARANCETA, B. J. y SERRA, M. LI. (2005). Leche, lácteos y salud. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana.
- ARRIAGADA, E., HERNÁNDEZ, H., & TRUJILLO, G. (2014). Commercial application of high-pressure processing for increasing. LWT - Food Science and Technology , 498-505.
- ARTICA, M. L. (2014). Métodos para el análisis fisicoquímico de la leche y derivados lácteos. Perú: @ Libros y editoriales, TEIA. Ltd.
- BAILEY, A. (1984). Aceites y grasas industriales. Barcelona: Editorial Reverté S.A.
- BLANCO RIOS, F., CASADIEGO ARDILA, G., & PACHECO, P. (2011). Calidad microbiológica de alimentos remitidos a un laboratorio de salud pública en el año 2009. Salud Pública ISSN 0124-0064 , 953-965.
- BRODY, A.L. 2003. Predicting Packaged Food Shelf Life. Food Technology. 57 (4): 100-102
- CAMPOS, N. J. A. (s.f.). Nisina antimicrobiano natural producido por fermentación de cepas de *Lactococcus lactis* subsp *lactis*. Ruff S.A. , 1.Disponible en: <<http://www.raff.com.mx/>>
- CARPENTER, R., LYON, D., & HASDELL, T. (2009). Análisis Sensorial en el Desarrollo y Control de la Calidad de Alimentos. Zaragoza (España): Acriba, S.A.
- CARRERES, J. E. (s.f.). Tres métodos para estimar la vida útil de un producto de alimentación. ANIA Centro Tecnológico.
- CASTAÑEDA, R., BORBONET, S., IBARRA, A., IPAR, J. L., VÁQUEZ, A. M., CONTRERAS, C. B., y otros. (2012). Quesos de America del Sur. Buenos Aires: Albatros.

- CASTRO, G., VALBUENA, E., BRÍÑEZ, W., SÁNCHEZ, E., VERA, T., A., (2009) "Comparación del Empleo de Nisina y Cultivos de *Lactococcus Lactis* subsp. *Lactis* para la Biopreservación de Queso Blanco" [en línea]. Disponible en: [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-22592009000200015](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-22592009000200015)
- CHAMORRO, C. y LOSADA, M. (2002). Tecnología de Alimentos, El Análisis Sensorial de los Quesos. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa.
- CRISTOBAL, D. R. y MAURTUA T. D. (2003). Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima, Perú, y la supuesta acción bactericida de *Lactobacillus* spp. *Rev Panam Salud Pública* , 158-159.
- DIANDA, M. A. (2008). Elaboración de Quesos Artesanales. Buenos Aires: Editorial Hemisferio Sur S.A.
- DUBACH, J. (1998). "El ABC de la quesería rural de los andes" Proyecto quesería rural del Ecuador. Quito - Ecuador.
- FOX, P .F. y MCSWEENWY, P. L. H . (1996). Proteolysis in cheese during ripening . *Food Reviews International* , 12, 457-509.
- FUJIKAWA, H., & MOROZUMI SATOSHI, A. K. (2004). A new logistic model for *Escherichia coli* growth at constant and. *Food Microbiology* , 501-509.
- GARCÍA, R. A. (1998). Estudio estadístico para predecir el tiempo de maduración del queso Manchego, e identificación de la microbiota . Cuenca: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Castilla-La Mancha.
- GIL, A. (2010). Tratado de Nutrición - Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos. Madrid: Editorial Médica Panamericana S.A.
- HERRERA, R., C., BOLAÑOS, V., N., LUTZ, C., G. (2003). Química de alimentos, manual de laboratorio. san José, Costa Rica: Editorial de la Universidad de Costa Rica.
- INDECOPI, (2003). Norma Técnica Peruana 202.001.
- INDECOPI, (2010). Norma Técnica Peruana 202.193.
- INDECOPI, (1982). Norma Técnica Peruana 202.087.
- LANCHIPA, B. L. y SOSA, G. Y. (2003). Evaluación de la carga microbiana patógena en la elaboración del queso fresco en el distrito de Tacna. Tacna-Perú.
- LÓPEZ, B. O. H. (2010). Aplicación de nisina para incrementar el tiempo de vida útil en queso fresco en el centro de adiestramiento lechero (CAL) en el (2010). Ambato - Ecuador.

- MARCIAL, E., GUILLERMO; L. GEREZ, CARLA; NUÑEZ DE KAIRUZ, MARTHA; COLL ARAOZ, VICTORIA; SCHUFF, CAROLA; FONT DE VALDEZ, GRACIELA;. (2016). Influencia del aceite esencial de orégano en la elaboración tradicional de quesos: Efecto sobre fermento láctico. Elsevier , 231; 234.
- MARTÍNEZ, F. B. (1996) "Bacteriocinas de lactococcuslactis aislados de quesos asturianos: nisina z y lactococina 972" (Departamento de Biología Funcional) de la Universidad de Oviedo, Asturias [En línea]. Disponible en: <http://digital.csic.es/bitstream/10261/8416/1/bea%20tesis.pdf>
- MEYER R., MARCO, SALINAS KIRCHNER, F.R. OLMOS, USAMI, C.; D. BERLIJN, J., MEDINA FIGUEROA, J.;. (2014). Elaboración de productos lácteos. Mexico: Trillas, S.A. de S.V.
- NORMAN, P. y HOTCHKISS. (1995). Ciencia de los Alimentos. Zaragoza - España: Aspen Publishers, Inc.
- NORMA TÉCNICA SANITARIA (NTS) 071:2003 MINSa (2003)
- ORIA, R. (1991). Ciencia y tecnología de la Leche. Zaragoza - España: Editorial Acriba S.A.
- PINHO, O., MENDES, E., ALVES, M., M., FERREIRA, IMPLVO. (2004). Chemical, physical, and sensorial characteristics of "Terrincho" ewe cheese: during ripening and intravarietal comparison . Journal of Dairy Science , 87(2): 249-257.
- RAY, BIBEK; BHUNIA, ARUN;. (2010). Fundamentos de Microbiología de los Alimentos. Mexico: McGraw-Hill Interamericana Editores S.A. de S.V.
- RESTREPO ANGEL, A. F., & MONTOYA GOMEZ, C. A. (2010). Implementación y diseño de procedimiento para determinación de vida útil de quesos frescos, chorizos frescos y aguas en bolsa. Pereira.
- REVILLA, A. (1982). Tecnología de la leche. San José, Costa Rica.
- SANGRONIS, E. y GARCÍA, J. "Efecto de la adición de nisina en los parámetros físicos, químicos y sensoriales del queso "telita" [en línea]. Disponible en: <http://anales.fundacionbengoia.org/ediciones/2007/1/?i=art2>
- SANT'ANA, A., FRANCO, B., & SCHAFFNER, D. (2012). Modeling the growth rate and lag time of different strains of Salmonella enterica. Food Microbiology , 267-273.
- SCHLIMME, E., BUCHHEIM, W., LÓPEZ, B., P. (2002). La Leche y sus Componentes: Propiedades químicas y Físicas, Ciencia y tecnología de los Alimentos . Editorial Acriba.
- VALDIVIA, J. (1992). Industrias Lácteas Universidad Nacional La Molina FIAL-DTAPA.



VALENCIA, M., Ó. (2001). Elaboración de Productos Lácteos. Mexico.

VEISSEYRE, R. (1980). Lactología Técnica. España: Editorial Acriba S.A.

VILLEGAS de G., A. y SANTOS M., A. (2011). Manual Básico para la Elaborar Productos Lácteos. Mexico: Editorial Trilla, S.A. de C.V.

#### SITIOS WEB

ELICRISO (s.f.). Orégano. Disponible en: [http://www.elicriso.it/es/plantas\\_medicinales/orégano](http://www.elicriso.it/es/plantas_medicinales/orégano). Consulta: 08 abril 2016.

FUNDACIÓN ESPAÑOLA DE LA NUTRICIÓN (s.f.). Orégano. Disponible en: <http://www.fen.org.es/mercadofen/pdfs/oregano.pdf>. Consulta: 06 abril 2016.

## VII. ANEXOS

## ANEXO 1

### DETERMINACIÓN DE DENSIDAD

Puede determinarse con balanza hidrostática, picnómetro o lactodensímetro, a la temperatura de 15°C.

#### **Determinación de densidad con lactodensímetro AOAC 925.22 (1990)**

Se vierte la leche preparada para el análisis, en un recipiente cilíndrico, evitando formación de espuma e incorporación de aire. Introducir el lactodensímetro de modo que ocupe la parte central del líquido, se espera a que alcance el nivel correspondiente y luego se lee la densidad cuidando que la visual enrase con la superficie libre de la leche. Leer la temperatura. Un tipo difundido de lactodensímetro, es el Quevenne, cuyo vástago con escala graduada comprende valores entre 15 y 40 que corresponden a las milésimas de densidad por encima de la unidad, es decir, que el número 32 del lactodensímetro indica la densidad (1,032g/ml).

El instrumento está calibrado a 15°C y a esa temperatura, por lo tanto, el número leído representa la densidad de la leche. A temperaturas diferentes, debe recurrirse a tablas especiales de corrección.

Cuando la discrepancia con respecto a los 15°C no es mucha (no más de  $\pm 5^\circ\text{C}$ ), se puede obtener la corrección sumando o restando 0,0002 a la densidad hallada, o bien (0,2) a los grados leídos en el lactodensímetro, por cada grado de temperatura respectivamente superior o inferior a 15°.

#### **Materiales para determinar la densidad**

- Lactodensímetro.
- Probeta de 250ml.
- Termómetro.

## ANEXO 2

### DETERMINACIÓN DE ACIDEZ A.O.A.C. 947.05(1990)

La leche fresca, en estado normal, no contiene prácticamente ácido láctico. Al determinarse la acidez total, el gasto de álcali es debido al CO<sub>2</sub> disuelto, fosfatos ácidos, proteínas (principalmente caseína), y citratos ácidos contenidos en la leche. El ácido láctico producido durante el "agriado", se debe fundamentalmente a la acción de microorganismos del tipo de los estreptococos lácticos, sobre la lactosa.

Medir con pipeta aforada, 10,0ml de muestra y colocarlos en una cápsula de porcelana. Añadir 1ml de fenolftaleína. Titular con bureta de 10,0ml con NaOH 0,1N hasta aparición de color rosa débil persistente (utilizar como contraste el interior blanco de la cápsula). Los resultados se expresan en ácido láctico % de muestra (p/v). Un mililitro de NaOH 0,1N = 0,0090g de ácido láctico. Para expresar la acidez en grados Dornic (forma corriente en la industria láctea), se multiplica por 100 el resultado anterior.

#### 1. REACTIVOS

Solución de NaOH 0,1N valorada.

Solución de fenolftaleína 0,5% en etanol 95%.

#### 2. RECIPIENTES DONDE SE COLOCA LA SOLUCIÓN DONDE SE ENCUENTRA LA SOLUCIÓN DE HIDRÓXIDO DE SODIO 0.1N.

Bureta automática, equipo de titulación, llenador automático de pipetas, pipeta graduada de 10ml.

#### 3. DISPOSITIVO PARA DOSIFICAR EL DISPOSITIVO LÁCTEO

Pipeta volumétrica de 10ml.

## ANEXO 3

### DETERMINACIÓN DE PH MÉTODO AOAC. 981.12 (2005)

#### 4. MÉTODO POTENCIOMÉTRICO

Para la determinación del pH se realiza la medida del potencial eléctrico creado en la membrana del electrodo de vidrio, que es función de la actividad de los iones hidrógeno a ambos lados de la membrana, usando un medidor automático de pH calibrado con protones primarios de pH.

##### 4.1. MATERIALES Y APARATOS

Electrodo de pH (ATC pHmetro 0.0 – 14.0 digitalis).

Material de vidrio de uso en laboratorio.

##### 4.2. REACTIVOS

Disolución tampón pH 6.86 a 25°C.

Disolución tampón pH 4.01 a 25°C.

##### 4.3. PROCEDIMIENTO

Se calibra el medidor con soluciones tampón de pH (6.86 y 4.01).

##### 4.4. PRODUCTO ELABORADO QUESO

A continuación se pesan aproximadamente 5g de muestra, previamente picada, en un vaso de precipitados y se mezclan con 25ml de agua destilada hasta obtener una disolución uniforme. Posteriormente, se sumerge los electrodos del medidor de pH en la misma y se realiza la lectura.

##### 4.5. LECHE

Se mide la leche 30ml de muestra en un vaso de precipitados, y luego se procede directamente a la medición del valor de pH correspondiente introduciendo el electrodo en la muestra en estudio.

## ANEXO 4

### DETERMINACIÓN DE CONTENIDO DE GRASA EN LECHE. MÉTODO DE GERBER

#### 4.1 Resumen

Separar, mediante acidificación y centrifugación, la materia grasa contenida en el producto analizado, y determinar el contenido de grasa mediante lectura directa en un butirómetro estandarizado.

#### 4.2 Instrumental

- Pipeta aforada de 10 cm<sup>3</sup>, de seguridad, para ácido sulfúrico.
- Pipeta aforada de 1 cm<sup>3</sup>, para alcohol amílico.
- Pipeta aforada de 10,94 cm<sup>3</sup>, para medir la muestra.
- Butirómetros Gerber, para leche y para leche descremada, (ver A.1),
- Centrífuga, con velocidad de 1100 ± 100 r/min.
- Baño de agua, con regulador de temperatura, ajustado a 65° ± 2° C.
- Baño María.

#### 4.3 Reactivos

- Acido sulfúrico, concentrado para análisis, con densidad 1,815 ± 0,003 g/cm<sup>3</sup> a 20°C.
- Alcohol amílico, compuesto principalmente de 3-metil-butanol y 2-metil-butanol y prácticamente exento de alcoholes amílicos secundarios o terciarios y furfural; deberá tener una densidad de 0,811 ± 0,002 g/cm<sup>3</sup> a 20°C.
- Agua destilada.

#### **5.4 Preparación de la muestra**

Llevar la muestra a una temperatura de aproximadamente 20°C, y mezclarla mediante agitación suave hasta que esté homogénea, cuidando que no haya separación de grasa por efecto de la agitación.

Si se forman grumos de crema y éstos no se dispersan, calentar la muestra en baño María hasta 35°- 40°C, mezclando cuidadosamente e incorporando cualquier partícula de crema adherida al recipiente, y enfriar rápidamente hasta 18°-20°C. Si quedan partículas blancas o grumos de grasa adheridos a las paredes del recipiente, la determinación no dará resultados exactos.

#### **5.5 Procedimiento**

Para la determinación del contenido de grasa en la leche fresca u homogeneizada (pasteurizada o esterilizada) debe usarse el butirómetro Gerber para leche, mientras que para la leche descremada debe usarse el butirómetro Gerber para leche descremada.

Verter 10 cm<sup>3</sup>, exactamente medidos, de ácido sulfúrico en el butirómetro respectivo, cuidando de no humedecer con ácido el cuello del butirómetro.

Invertir lentamente, tres o cuatro veces, la botella que contiene la muestra preparada, y pipetear 10,94 cm<sup>3</sup> de leche, de tal manera que el borde inferior del menisco coincida con la línea de calibración de la pipeta después de limpiar con papel absorbente la parte exterior de su punta de descarga. Luego, sosteniendo la pipeta con su punta pegada al borde inferior del cuello del butirómetro, descargar cuidadosamente la leche en el mismo hasta que el menisco se detenga, dejar transcurrir 3 segundos y frotar la punta de la pipeta contra la base del cuello del butirómetro.

Verter  $1\text{cm}^3$ , exactamente medido, de alcohol amílico en el butirómetro, cuidando de no humedecer con el alcohol el cuello del butirómetro, El alcohol amílico debe añadirse siempre después de la leche.

Tapar herméticamente el cuello del butirómetro y agitar en una vitrina de protección, invirtiendo lentamente al butirómetro dos o tres veces durante la operación, hasta que no aparezcan partículas blancas.

Inmediatamente después de la agitación, centrifugar el butirómetro con su tapa colocada hacia afuera. Si no hay un número suficiente de butirómetros para llenar completamente la centrífuga, colocarlos simétricamente, equilibrándolos con uno que contenga igual volumen de agua en caso de ser necesario. Una vez que la centrífuga alcanza la velocidad necesaria, continuar la centrifugación durante un tiempo no menor de 4 min., ni mayor de 5 min., a tal velocidad.

Retirar el butirómetro de la centrífuga y colocarlo, con la tapa hacia abajo, en el baño de agua a  $65^\circ \pm 2^\circ\text{C}$  durante un tiempo no menor de 4 min., ni mayor de 10 min., manteniendo la columna de grasa completamente sumergida en el agua.

Leche fresca. Antes de proceder a la lectura, colocar el nivel de separación entre el ácido y la columna de grasa sobre la marca de una graduación principal de la escala; esto se consigue presionando o aflojando adecuadamente la tapa del butirómetro. Leer las medidas correspondientes a la parte inferior del menisco de grasa y al nivel de separación entre el ácido y la columna de grasa; la diferencia entre las dos lecturas da el contenido de grasa de la leche. Al realizar las lecturas, debe mantenerse la escala en posición vertical y el punto de lectura al mismo nivel de los ojos. La lectura del menisco debe aproximarse a 0,05%.

**Instrucciones adicionales.** Si existe formación de una capa esponjosa o no definida en la base de la columna de grasa, debe repetirse el ensayo teniendo cuidado de añadir el volumen correcto de alcohol

amílico y de disolver completamente cualquier partícula blanca de la leche, Si la columna de grasa presenta una coloración muy oscura que dificulta la lectura, o hay carbonización en la interfase, debe repetirse el ensayo luego de verificar la densidad del ácido sulfúrico, El butirómetro debe lavarse perfectamente al final de la operación (ver A.1).

### **A.1 LIMPIEZA DE LOS BUTIROMETROS**

Es conveniente limpiar los butirómetros mientras están calientes para mayor, facilidad de la limpieza.

Quitar los tapones y, luego de verter el ácido en una cápsula, lavar los butirómetros llenándolos parcialmente con una solución a 40°-50°C de carbonato de sodio o fosfato trisódico al 2% (o con algún detergente adecuado) y agitándolos enérgicamente para conseguir la limpieza de la ampolla graduada. Repetir la operación tres o cuatro veces.

Enjuagar inmediatamente con agua caliente, dos o tres veces, con agitación enérgica y, finalmente, aclararlos con agua fría y colocarlos, con el cuello hacia abajo, en una gradilla para que goteen y se sequen.

Inmediatamente antes de usar los butirómetros es indispensable verificar que se encuentren completamente secos.

Visto en: <<https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.0012.1973.pdf>>



## ANEXO 5

### MÉTODO HORIZONTAL PARA EL RECuento DE COLIFORMES TOTALES

PNT – AL – 012

Basado en la norma NF V 08-050 (Diciembre 1992)

#### 1. Definición:

*Coliformes*: Bacterias que a 30°C forman colonias característica en el agar lactosado con bilis al cristal violeta y rojo neutro (VRBL) cuando el ensayo se realiza según el siguiente método.

#### 2. Medio de cultivo:

Agar lactosado con bilis al cristal violeta y rojo neutro (VRBL).

#### 3. Siembra:

- Sembrar en placa Petri 1 mL de la muestra líquida o 1 mL de dilución madre.
- Repetir la operación con 1 mL de cada una de las siguientes diluciones decimales.
- Verter 15 mL de VRBL a 45°C – 47°C.
- Mezclar y dejar solidificar.
- Preparar de la misma manera una placa testigo, para controlar la esterilidad del medio.
- Cubrir con 5mL del mismo medio a 45°C – 47°C.
- Dejar solidificar e incubar a 30°C ± 1°C durante 24 h ± 2 h.

#### 4. Recuento:

- Contar las colonias características de coliformes (de diámetro mayor o igual de 0,5 mm, de color rojo-violeta y a veces rodeadas de un halo de precipitación) en las placas que contengan menos de 150 colonias características y/o no características.

#### 5. Expresión de resultados:

- Retener las placas que contengan un máximo de 150 colonias características y/o no características al nivel de dos diluciones sucesivas. Es necesario que al menos una placa contenga más de 15 colonias características.
- Calcular el número  $N$  de coliformes por mililitro o por gramo de producto con la expresión:

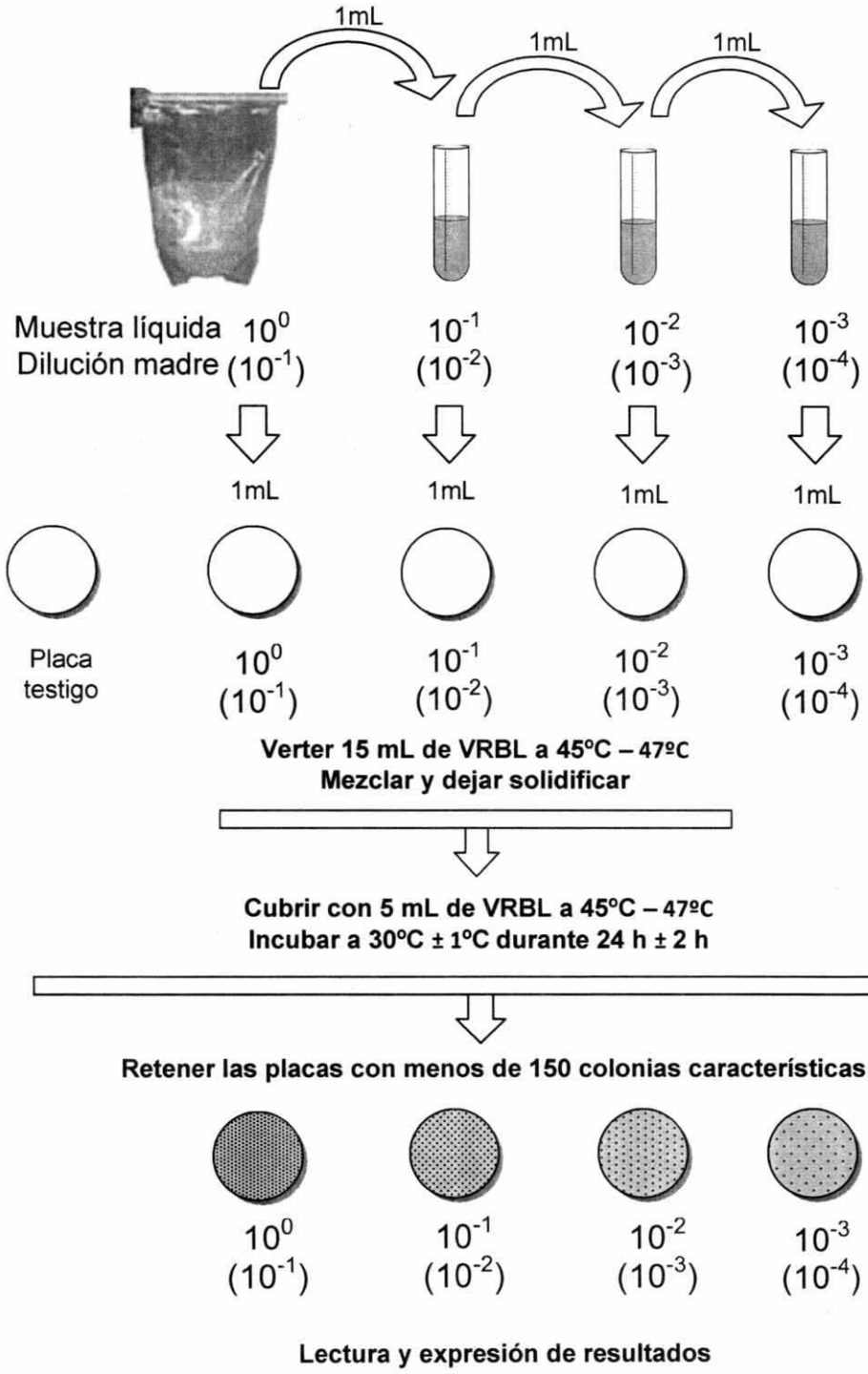
$$N = \sum C / 0,1 \cdot d$$

<b>MÉTODO HORIZONTAL PARA EL RECUENTO DE COLIFORMES TOTALES</b>	
PNT – AL – 012	Basado en la norma NF V 08-050 (Diciembre 1992)

**DÍA 1**

---

**DÍA 2**



**1. Finalidad del uso:**

VRBL (Agar Lactosado con Bilis al Cristal Violeta y Rojo Neutro) es un medio de cultivo selectivo utilizado para el aislamiento y recuento de coliformes.

**2. Principios:**

El medio contiene cristal violeta y sales biliares que inhiben el crecimiento de la flora acompañante Gram positiva.

La fermentación de la lactosa provoca la acidificación del medio, dando unas colonias de color rojo debido al indicador (rojo neutro) y a veces con un halo de precipitación de ácidos biliares.

**3. Preparación:**

- Flamear con alcohol el recipiente y los instrumentos a utilizar y dejar enfriar.
- Disolver 41,5 g de medio deshidratado en 1 L de agua destilada estéril.
- Llevar a ebullición durante 1-2 min hasta conseguir una completa disolución.
- Repartir 150 mL de medio en frascos estériles de 250 mL.
- NO AUTOCLAVAR.
- Atemperar en baño a 45°C – 47°C.

**4. Composición en g/l:**

Triptona.....	7
Extracto de levadura.....	3
Lactosa.....	10
Sales biliares.....	1,5
Cloruro sódico.....	5
Rojo neutro.....	0,03
Violeta cristal.....	0.002
Agar bacteriológico.....	15

**5. Controles de medio preparado:**

- Control macroscópico: Medio sólido de color granate claro, ligeramente opalescente.

- pH a 25°C: 7,3 ± 0,2.
- Control de esterilidad.
- Control de eficiencia:

<b>Microorganismos</b>	<b>Crecimiento</b>	<b>Color colonias</b>	<b>Color medio</b>
<i>Escherichia coli</i>	Bueno	Rojo	Rojo
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bueno	Naranja	No cambia

## 6. Conservación

Utilizar inmediatamente.

## ANEXO 6

### Método para determinar la acidez en queso. Artica (2014)

#### Procedimiento.

- a. Pesar 10 gramos de queso triturado, luego se tratan con 100 mL. de agua a 40°C, se agita fuertemente, se filtra, se lava bien la masa sobre el filtro.
- b. Luego se titula el filtrado con NaOH N/10, en presencia de fenolftaleína, y se expresa en ácido láctico o en grados de acidez. Cada mL. de NaOH N/10 = 0,009 gramos de ácido láctico.

## ANEXO 7

<b>MÉTODO HORIZONTAL PARA EL RECuento DE <i>Escherichiacoli</i> β-GLUCURONIDASA POSITIVOS</b>	
PNT – AL – 014	Basado en la norma NF V 08-053 (Diciembre 1993)

### 1. Definición:

*Escherichia coli* β-glucuronidasa: Bacterias que a 44°C forman colonias características en el agar con tergitol (PTX), adicionado de un sustrato cromogénico (BCIG) que revele la presencia de β-glucuronidasa cuando el ensayo se realiza según el siguiente método.

### 2. Medio de cultivo:

Agar con tergitol – BCIG (PTX)

### 3. Siembra:

- Sembrar en una placa Petri 1 mL de muestra líquida o 1 mL de disolución madre.
- Repetir la operación con 1 mL de cada una de las siguientes diluciones decimales.
- Verter 15 mL de PTX a 45°C – 47°C.
- Mezclar y dejar solidificar.
- Incubar a 44°C ± 1°C durante 18 h – 24 h.

**Nota:** En caso de sospechar la presencia de *Escherichia coli* estresados, es conveniente realizar una primera incubación a 37°C ± 1°C durante 4 h y luego la incubación a 44°C ± 1°C durante 18 h – 20 h.

### 4. Recuento:

- Contar las colonias características de *Escherichiacoli* β-glucuronidasa positivos (de color azul) en las placas que contengan menos de 150 colonias características y no características.

### 5. Expresión de resultados:

- Retener las placas que contengan menos de 150 colonias al nivel de dos diluciones sucesivas. Es necesario que al menos una placa contenga un mínimo de 15 colonias características.
- Calcular el número *N* de *Escherichiacoli* β-glucuronidasa positivos mediante la expresión:

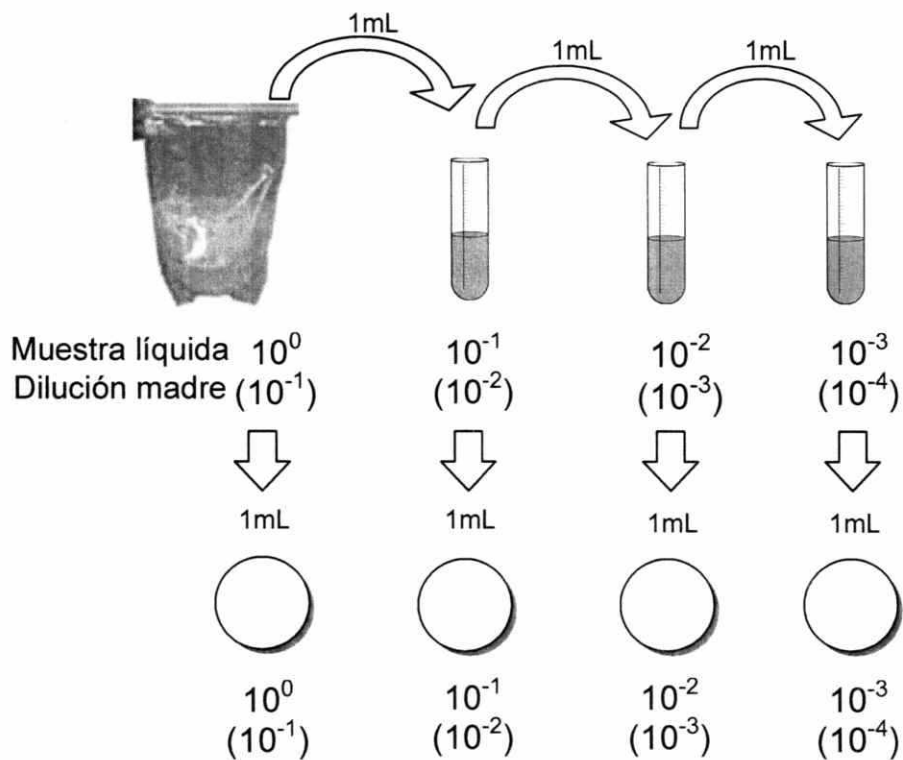
$$N = \sum a/1,1 \cdot d$$

**MÉTODO HORIZONTAL PARA EL RECuento DE *Escherichia coli* β-GLUCURONIDASA POSITIVOS**

PNT – AL – 014

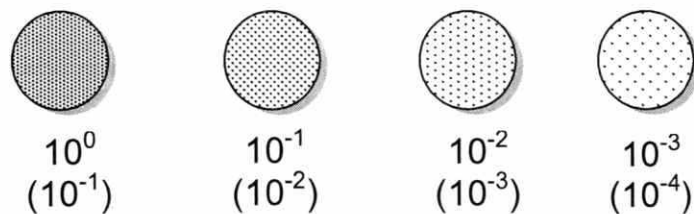
Basado en la norma NF V 08-053 (Diciembre 1993)

**DÍA 1**



Verter 15 mL de PTX a 45°C – 47°C  
Mezclar y dejar solidificar  
Incubar a 44°C ± 1°C durante 18 h ± 3 h

**DÍA 2**



**Lectura y expresión de resultados**

**1. Finalidad de uso:**

PTX (Agar con Tergitol-BCIG) es un medio de cultivo selectivo utilizado para el recuento de *Escherichiacoli*  $\beta$ -D-glucuronidasa positivos en alimentos.

**2. Principios:**

El medio contiene tergitol-7, que inhibe el crecimiento de bacterias Gram positivas, limita la invasión de *Proteus* y favorece la recuperación de *Escherichiacoli*.

El BCIG es un sustrato cromógeno; la mayoría de cepas de *Escherichiacoli* tienen  $\beta$ -D-glucuronidasa, que hidroliza el BCIG, dándole una coloración azul.

**3. Preparación:**

- Disolver 20,4 g de medio deshidratado en 1 L de agua destilada.
- Llevar a ebullición durante 1-2 min hasta conseguir una completa disolución.
- Repartir 100 mL de medio en frascos de 250 mL.
- Esterilizar en autoclave a 120°C durante 15 min.
- Atemperar en un baño a 45°C – 47°C.

**4. Composición en g/l:**

Peptona de carne.....	5
Extracto de levadura.....	3
Fosfato dipotásico.....	0,3
Tergitol-7.....	0,095
BCIG.....	0,05
Agar bacteriológico.....	12

**5. Controles del medio preparado:**

- Control macroscópico: Medio sólido blanquecino, ligeramente opalescente.
- pH a 25°C: 7,2  $\pm$  0,2.
- Control de esterilidad.
- Control de eficiencia:

Microorganismo	Crecimiento	Color colonias
<i>Escherichia coli</i>	Bueno	Azul
<i>Citrobacter freundii</i>	Bueno	Blanco
<i>Staphylococcus aureus</i>	Nulo	

**6. Conservación:**

- Frascos..... 1 mes a 2°C-8°C, resguardados de la luz.



## ANEXO 8

### MÉTODO PARA DETERMINAR EL ÍNDICE DE PERÓXIDO EN LAS GRASAS Y ACEITES VEGETALES O ANIMALES.

#### 1. TERMINOLOGÍA

- 1.1 Índice de peróxido. Es el número de miliequivalentes de oxígeno por kilogramo de muestra, determinado de acuerdo con esta norma.

#### 2. INSTRUMENTAL

- 2.2 Pipeta de Mohr, de 1 cm<sup>3</sup> de capacidad.
- 2.3 Matraz Erlenmeyer, de 250 cm<sup>3</sup> con tapa esmerilada.
- 2.4 Balanza analítica, sensible al 0,1mg.

#### 3. REACTIVOS

- 3.1 Solución de ácido acético y cloroformo. Mezclar tres volúmenes de ácido acético glacial con dos volúmenes de cloroformo.
- 3.2 Solución saturada de yoduro de potasio, recientemente preparada. (Ver).
- 3.3 Solución 0,1 N de tiosulfato de sodio, debidamente estandarizada.
- 3.4 Solución de almidón. Disolver 1 g de almidón soluble en agua destilada fría (formando una pasta), añadir 100 cm<sup>3</sup> de agua hirviendo, agitar rápidamente la solución y enfriar.

#### 4. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

- 4.1 Si la muestra es líquida y presenta un aspecto claro y sin sedimento, se la homogeniza invirtiendo varias veces el recipiente que la contiene.
- 4.2 Si la muestra es líquida y presenta un aspecto turbio o con sedimento, se coloca el recipiente que la contiene en una estufa a 50°C; se lo mantiene allí hasta que la muestra alcance tal temperatura y se procede de acuerdo con lo indicado en el numeral 4.1. Si, luego de calentar y agitar, la muestra no presenta un aspecto claro y sin sedimento, se la filtra dentro de la estufa a 50°C. El filtrado no debe presentar ningún sedimento.
- 4.3 Si la muestra es sólida o semisólida, se procede de acuerdo con lo indicado en el numeral 4.2, pero calentándola (y filtrándola si es necesario) a una temperatura que se encuentra comprendida entre 40°C y 60°C (la suficiente para fundir la muestra completamente).

## 5. PROCEDIMIENTO

- 5.1 La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la misma muestra preparada (ver 5.9).
- 5.2 Pesar, con aproximación a 0,1 mg, aproximadamente 5 g de muestra.
- 5.3 Transferir la muestra al matraz Erlenmeyer de tapa esmerilada de 250 cm<sup>3</sup> y agregar 30 cm<sup>3</sup> de la solución de ácido acético y cloroformo.
- 5.4 Agitar el matraz Erlenmeyer hasta completa disolución del contenido y luego añadir 0,5 cm<sup>3</sup> de la solución saturada de yoduro de potasio, usando de preferencia la pipeta de Mohr.
- 5.5 Agitar el matraz Erlenmeyer con su contenido durante un minuto y añadir 30 cm<sup>3</sup> de agua destilada.
- 5.6 Usando la solución 0,1 N de tiosulfato de sodio titular gradualmente y con agitación constante el contenido en el matraz Erlenmeyer, hasta que el color amarillo haya casi desaparecido.
- 5.7 Añadir 0,5 cm<sup>3</sup> de la solución indicadora de almidón y continuar la titulación cerca del punto final, agitando constantemente para liberar todo el yodo de las capas de cloroformo. Añadir la solución de tiosulfato de sodio gota a gota, hasta que el color azul desaparezca completamente.
- 5.8 Si en la titulación se ha obtenido un valor menor de 0,5 cm<sup>3</sup>, repetir el ensayo usando solución 0,01 N de tiosulfato de sodio.
- 5.9 Realizar un solo ensayo en blanco con todos los reactivos sin la muestra y siguiendo el mismo procedimiento a partir de 7.3 para cada determinación o serie de determinaciones.

## 6. CÁLCULOS

- 6.1 El Índice de peróxido se calcula mediante la ecuación siguiente:

$$I = \frac{vN}{m} 1000$$

Siendo:

*I* = Índice del peróxido en meq. de O<sub>2</sub> por kilogramo del producto.

*v* = Volumen de la solución de tiosulfato de sodio empleado en la titulación de la muestra, en cm<sup>3</sup> (corregido del blanco).

*N* = Normalidad de la solución de tiosulfato de sodio.

*m* = Masa de la muestra analizada, en g.

## **7. ERRORES DEL MÉTODO**

- 7.1 La diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder de 0,1 meq. de O<sub>2</sub> por kilogramo; caso contrario, debe repetirse la determinación.

## **8. INFORME DE RESULTADOS**

- 8.1 Como resultado final, debe reportarse la media aritmética de los dos resultados de una determinación.
- 8.2 En el informe de resultados, deben indicarse el método usado y el resultado obtenido. Debe mencionarse, además, cualquier condición no especificada en esta norma, o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el resultado.
- 8.3 Deben incluirse todos los detalles necesarios para la completa identificación de la muestra.

## **9. PREPARACIÓN DE YODURO DE POTASIO**

- 9.1 Solución saturada de yoduro de potasio.
- 9.2 Preparar con yoduro de potasio y agua destilada recientemente hervida. Debe asegurarse de que la solución permanezca saturada, lo que se comprueba por la presencia de cristales sin disolver.
- 9.3 Guardar en cámara oscura y ensayar diariamente de la manera siguiente: A 30 cm<sup>3</sup> de la solución de ácido acético y cloroformo agregar 0,5 cm<sup>3</sup> de la solución de yoduro de potasio y dos gotas de la solución de almidón, si se forma un color azul que requiera más de una gota de solución 0,1 N de tiosulfato de sodio para desaparecer; se descarta la solución de yoduro de potasio y se prepara una nueva solución.

## ANEXO 9

### DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO HUMEDAD EN QUESO NTE 1973-10

#### 1. OBJETO

- 1.1 Esta norma tiene por objeto establecer un método para determinar el contenido de humedad en el queso.

#### 2. RESUMEN

- 2.1 Se calienta el producto a 103° C hasta eliminar completamente la materia volátil, y se determina la humedad a partir de la diferencia de peso.

#### 3. INSTRUMENTAL

- 3.1 Balanza analítica, sensible a 0,1 mg.  
3.2 Cápsula de porcelana, con 6 cm a 8 cm de diámetro.  
3.3 Varilla de vidrio.  
3.4 Estufa, con ventilación y regulador de temperatura, ajustada a  $103^{\circ} \pm 2^{\circ}$  C.  
3.5 Desecador, con cloruro de calcio anhidro u otra sustancia deshidratante.  
3.6 Rallo.

#### 4. REACTIVOS

- 1.1 Arena silíceo o arena marina, de granulometría tal, que pase a través de un tamiz de 0,500mm de abertura y sea retenida por un tamiz de 0,177mm de abertura, lavada con una solución (1:4) de ácido clorhídrico en agua, enjuagada con agua hasta reacción negativa de cloruros, secada, calcinada a 500° C y enfriada en desecador.

#### 5. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

- 5.1 Si la muestra corresponde a queso blando o semiduro, cortarla en trozos de forma aproximadamente cúbica con 3 mm a 5 mm de lado y mezclar los trozos obtenidos.  
5.2 Si la muestra corresponde a queso duro, rallarla y mezclar las virutas obtenidas.

#### 6. PROCEDIMIENTO

- 6.1 La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la misma muestra preparada.

- 6.2 Colocar en la cápsula de porcelana la varilla de vidrio y una porción de arena comprendida entre 20 g y 30 g, secar el conjunto durante una hora en la estufa a  $103^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{ C}$  y pesarlo con aproximación a mg.
- 6.3 Transferir rápidamente a la cápsula aproximadamente 3 g de muestra y pesar nuevamente el conjunto con aproximación a mg.
- 6.4 Usando la varilla de vidrio y cuidando que no haya pérdida de material, mezclar íntimamente el queso con la arena.
- 6.5 Colocar el conjunto en la estufa a  $103^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{ C}$  y mantenerlo allí durante 3 h (ver 6.7).
- 6.6 Enfriar el conjunto en el desecador y pesarlo con aproximación a mg. Repetir el calentamiento por períodos de 30 min, enfriando y pesando hasta que la diferencia entre dos pesadas consecutivas no sea mayor de 2 mg.
- 6.7 Si la muestra presenta el aspecto de una masa pastosa a  $103^{\circ} + 2^{\circ} \text{ C}$ , mantener el conjunto en un desecador durante 16 h, a temperatura ambiente, y pesarlo con aproximación a mg luego de tal período de tiempo.

## 7. CÁLCULOS

- 7.1 El contenido de humedad en el queso se calcula mediante la ecuación siguiente:

$$H = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m} \times 100$$

Siendo:

H = contenido de humedad, en porcentaje de masa.

m = masa de la cápsula con arena y varilla, en g.

m<sub>1</sub> = masa de la cápsula con arena, varilla y muestra, en g.

m<sub>2</sub> = masa de la cápsula con arena, varilla y residuo seco, en g.

## 8. ERRORES DE METODO

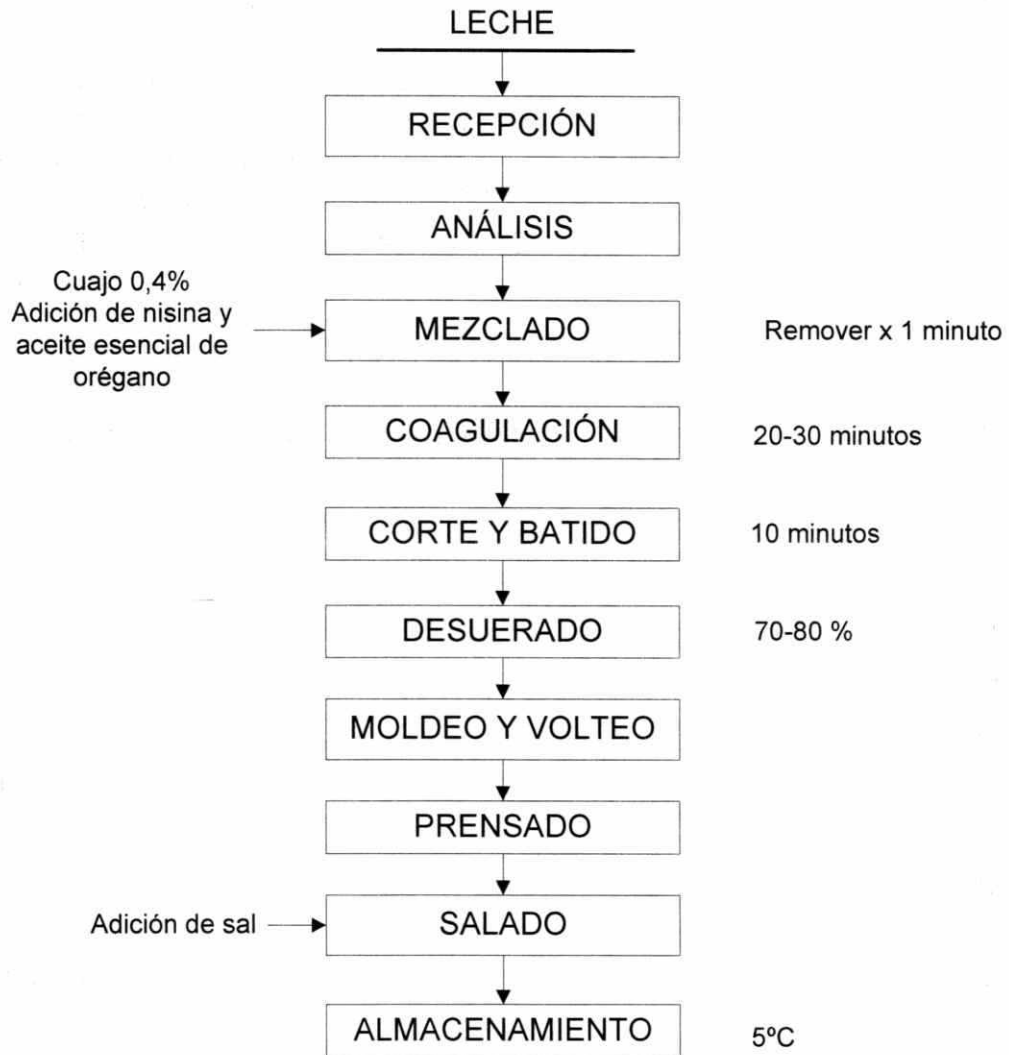
- 8.1 La diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder de 0,3%; en caso contrario, debe repetirse la determinación.

## 9. INFORME DE RESULTADOS

- 9.1 Como resultado final debe reportarse la media aritmética de los dos resultados de la determinación, aproximada a décimas.
- 9.2 En el informe de resultados debe indicarse el método usado y el resultado obtenido. Debe mencionarse además cualquier condición no especificada en esta norma, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el resultado.
- 9.3 Deben incluirse todos los detalles necesarios para la completa identificación de la muestra.

## ANEXO 10

### PROCESO DE ELABORACIÓN DEL QUESO FRESCO CON ADICIÓN DE NISINA Y ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO



Fuente: Elaboración propia

**ANEXO 11**  
**FICHA DESCRIPTIVA**

<b>NOMBRE DEL CATADOR:</b> .....		<b>Nº DE MUESTRA:</b> .....												
<b>FECHA:</b> .....		<b>ELABORACIÓN:</b> .....												
<p>Cátese atentamente la muestra de queso y señálese la valoración que se considere para cada carácter que consta en la ficha.</p>														
VALORACIÓN		Excelente	Bueno	Aceptable	Defecto		Eliminado							
					Ligero	Grave								
<b>APARIENCIA EXTERNA</b>	<b>Forma</b>	5	4	3	2	1	0							
	<b>Corteza</b>	5	4	3	2	1	0							
<b>ASPECTO DEL CORTE</b>	<b>Coloración</b>	5	4	3	2	1	0							
	<b>Ojos</b>	5	4	3	2	1	0							
<b>OLOR</b>	<b>Intensidad</b>	2 X 5	2 X 4	2 X 3	2 X 2	2 X 1	0							
	<b>Calidad</b>	2 X 5	2 X 4	2 X 3	2 X 2	2 X 1	0							
<b>TEXTURA</b>	<b>Consistencia</b>	5	4	3	2	1	0							
	<b>Tacto</b>	5	4	3	2	1	0							
	<b>Elasticidad</b>	5	4	3	2	1	0							
	<b>Friabilidad</b>	5	4	3	2	1	0							
<b>SABOR</b>	<b>Intensidad</b>	2 X 5	2 X 4	2 X 3	2 X 2	2 X 1	0							
	<b>Calidad</b>	3 X 4	3 X 3	3 X 2	4	2	0							
	<b>Regusto</b>	2 X 4	2 X 3	2 X 2	2	1	0							
<b>IMPRESIÓN GLOBAL</b>		2 X 5	2 X 4	2 X 3	2 X 2	2 X 1	0							
<b>Totales</b>		<table border="1" style="width: 100%; height: 20px; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 15%;"></td> <td style="width: 15%;"></td> <td style="width: 15%;"></td> <td style="width: 15%;"></td> <td style="width: 15%;"></td> <td style="width: 15%;"></td> <td style="width: 15%;"></td> </tr> </table>												
<b>Total</b>		<table border="1" style="width: 100%; height: 20px; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 100%;"></td> </tr> </table>												
		_____ Firma del catador												

## ANEXO 12

### MÉTODO HORIZONTAL PARA EL RECuento DE MICROORGANISMOS

PNT – AL – 004

Basado en la norma NF V 08-051 (Diciembre 1993)

