



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“EFECTO DEL AHUMADO SOBRE LA VIDA ÚTIL Y LA
CALIDAD SENSORIAL DEL QUESO FRESCO”**

Trabajo de titulación presentado para optar al grado académico de:

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTORA: SALGUERO CEVALLOS CRISTINA ELIZABETH

TUTORA: ING. PAOLA ARGUELLO. Msc.

Riobamba – Ecuador

2016

©2015, Cristina Elizabeth Salguero Cevallos

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que, el trabajo de investigación: **EFFECTO DEL AHUMADO SOBRE LA VIDA ÚTIL Y LA CALIDAD SENSORIAL DEL QUESO FRESCO**, de responsabilidad de la señorita Cristina Elizabeth Salguero Cevallos, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Titulación, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Ing. Paola Arguello. M.sc

**DIRECTORA DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN**

PhD. Gerardo Medina

**MIEMBRO DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN**

Dra. Ana Albuja. M.sc

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

DOCUMENTALISTA

SISBID ESPOCH

NOTA DEL TRABAJO DE

TITULACIÓN

Yo, **Cristina Elizabeth Salguero Cevallos**, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este Trabajo de Titulación y el patrimonio intelectual del Trabajo de Titulación, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.

CRISTINA ELIZABETH SALGUERO CEVALLOS

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, **Cristina Elizabeth Salguero Cevallos**, declaro que el presente Trabajo de Titulación es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autor, asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Titulación.

Riobamba, 29 de febrero de 2016

Cristina Elizabeth Salguero Cevallos

C.I. 050380327-2

DEDICATORIA

Todo el esfuerzo y dedicación empleada en este trabajo se lo dedico a Dios por darme sabiduría y el carisma para alcanzar este sueño tan anhelado.

A mi madre Yolanda por depositar su confianza en mí, quien con su cariño, paciencia y su ejemplo de superación, me ha enseñado a ser humilde y a luchar por mis sueños.

A mis queridas hermanas Nataly y Yeseñia por su compañía y palabras de aliento.

A mi novio Miguel Loján quien me ha enseñado a ser perseverante y a trabajar duro para conseguir lo que quiero.

A mi tía Albita porque ha sido como mi segunda madre quien ha estado siempre al pendiente de mi formación como persona y como profesional.

A mi abuelita que desde el cielo me cuida y me bendice.

A toda mi familia porque son lo más valioso que Dios me ha regalado.

Cristina

AGRADECIMIENTO

En primer lugar a Dios por darme salud y vida, por bendecirme y guiarme por el camino del bien para poder cumplir mis metas.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por los conocimientos que me supieron compartir haciendo de mí una buena profesional, de forma muy especial a la Ing. Paola Arguello Msc., a mi asesor el Dr. Gerardo Medina por su paciencia, apoyo y colaboración para culminar este trabajo de investigación.

A mis padres Iván y Yolanda a quienes quiero mucho, por su apoyo no solo económico sino también moral porque gracias a sus consejos he conseguido seguido adelante y por enseñarme que un error es una enseñanza para seguir luchando incansablemente hasta lograr lo que quiero. A mi novio Miguel Loján por su amor, comprensión, su compañía fiel y ayuda cuando lo más lo he necesitado.

Cristina

CONTENIDO

PORTADA	
DERECHO DE AUTOR.....	i
AUTORIZACIÓN DE PRESENTACIÓN.....	ii
FIRMA DE RESPONSABILIDAD.....	iii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD.....	iv
DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTO.....	vi
ÍNDICE GENERAL.....	vii
ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS.....	xii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiii
RESUMEN.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.....	4
CAPÍTULO I	
MARCO TEÓRICO REFERENCIAL.....	5
1.1. Antecedentes de la investigación.....	5
1.2. Bases teóricas.....	7
1.2.1. Queso.....	7
1.2.2. Queso fresco.....	10
1.2.2.1. Proceso de elaboración del queso fresco.....	10
1.2.3. Queso ahumado.....	14
1.2.4. Requisitos físico-químicos del queso fresco.....	14
1.2.5. Requisitos microbiológicos del queso fresco.....	14
1.2.6. Microbiología del queso fresco.....	16
1.2.7. Recuento bacteriano.....	23
1.2.8. Vida útil del queso fresco.....	23
1.2.9. Métodos para alargar la vida útil del queso fresco.....	30
1.2.10. Pruebas de aceptabilidad.....	39
1.2.10.3. La degustación.....	40
CAPÍTULO II	
METODOLOGÍA.....	42
2.1. Lugar de la investigación.....	42
2.2. Unidad experimental.....	42

2.3.	Materiales, equipos y reactivos	42
2.3.1.	<i>Materia Prima</i>	42
2.3.2.	<i>Para elaboración del queso fresco ahumado</i>	42
2.3.3.	<i>Análisis físico-químico</i>	43
2.3.4.	<i>Análisis microbiológico</i>	44
2.4.	Métodos y técnicas	45
2.4.1.	<i>Elaboración del queso fresco ahumado</i>	45
2.4.2.	<i>Determinación de la aceptabilidad del queso fresco</i>	50
2.4.3.	<i>Determinación de la vida útil del producto</i>	50
2.4.4.	<i>Análisis estadístico</i>	54
CAPÍTULO III		
RESULTADOS Y DISCUSIÓN		55
3.1.	Análisis bromatológico de la leche cruda, del queso ahumado y sin ahumar	55
3.2.	Resultados del análisis sensorial en la primera catación.....	56
3.3.	Resultados del análisis sensorial en la segunda catación.	58
3.4.	Análisis sensorial del queso ahumado.....	59
3.5.	Análisis microbiológico	61
3.6.	Análisis físico químico.....	64
CONCLUSIONES		66
RECOMENDACIONES		67
BIBLIOGRAFÍA		68
ANEXOS		76

Índice de tablas

Tabla 1-1	Composición de la leche y queso fresco.....	9
Tabla 2-1	Tipos de quesos según composición físico-química del queso fresco.....	14
Tabla 3-1	Criterios microbiológicos para productos lácteos.....	15
Tabla 4-1	Requisitos microbiológicos para quesos frescos o madurados.....	15
Tabla 5-1	Integrantes de la familia Enterobacteriaceae, según su comportamiento frente a la lactosa.....	17
Tabla 6-1	Tipos de ahumado.....	30
Tabla 7-1	Composición química de la madera.....	32
Tabla 8-1	Aromas de ciertos compuestos aislados del humo por pirólisis del roble.....	33
Tabla 9-1	Influencia de los componentes del humo sobre las características organolépticas.....	37
Tabla 10-2	Tratamientos de ahumado.....	47
Tabla 11-2	Condiciones de incubación.....	53
Tabla 12-3	Composición de los nutrientes de la leche cruda de vaca, del queso fresco sin ahumar y ahumado.....	55
Tabla 13-3	Resultados de la primera catación, mediante la prueba de ordenamiento.....	57
Tabla 14-3	Resultados del análisis sensorial del queso ahumado a través del tiempo.....	59
Tabla 15-3	Resultados del análisis microbiológico del queso fresco ahumado y sin ahumar.....	61
Tabla 16-3	Resultados del análisis físico-químico del queso ahumado y sin ahumar.....	64

Índice de figuras

Figura 1-1	Sensaciones que se integran en el análisis sensorial de los quesos.....	26
Figura 2-1	Descomposición de la lignina por pirólisis.....	35
Figura 3-1	Gráfico de las partes de un ahumador artesanal.....	39
Figura 4-2	Ahumador caliente usado en la presente investigación.....	48
Figura 5-2	Diagrama de flujo del proceso de elaboración del queso fresco ahumado.....	49
Figura 6-3	Gráfico del porcentaje de preferencia de los quesos ahumados en la segunda catación.....	58

Índice de fotografías

Fotografía 1	Construcción del ahumador.....	79
Fotografía 2	Obtención de la viruta y aserrín de roble	79
Fotografía 3	Primera catación-prueba de aceptabilidad de ordenamiento	79
Fotografía 4	Segunda catación-prueba de aceptabilidad de preferencia.....	80
Fotografía 5	Evolución del queso fresco y ahumado durante los 40 días de almacenamiento	80
Fotografía 6	Procesamiento de las muestras de queso para el análisis microbiológico.....	81
Fotografía 7	Crecimiento bacteriano en placas petrifilm.....	81
Fotografía 8	Crecimiento de mohos y levaduras en el queso fresco sin ahumar y el queso fresco ahumado.....	81

Índice de ANEXOS

Anexo A	Prueba de ordenamiento	76
Anexo B	Prueba de preferencia	77
Anexo C	Norma COVENIN 3821:2003.....	78
Anexo D	Evidencia fotográfica	79

ABREVIATURAS

AGSO	Asociación de Ganaderos de la Sierra y Oriente
ANOVA	Analysis of Variance
a_w	Actividad de agua
BOE	Boletín Oficial del Estado español
COVENIN	Comisión Venezolana de Normas Industriales
DOP	Denominación de Origen Protegida "Queso Palmero"
EAEC	<i>E. coli</i> entero agregativa
EHEC	<i>E. coli</i> entero hemorrágicas
EIEC	<i>E. coli</i> entero invasiva
EPEC	<i>E. coli</i> entero patógena
ETEC	<i>E. coli</i> entero toxigénica
g	Gramos
°C	Grados centígrados o celcius
HR	Humedad relativa
ICAITI	Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología Industrial
mL	Mili litros
NMP	Número más probable
NTE	Norma técnica ecuatoriana
ppb	Partes por billón
P-A	Pruebas de presencia-ausencia
RC	Recuento de colonias
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
STEC	<i>E. coli</i> productora de toxina Shiga
UFC	Unidades formadoras de colonias

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue determinar el efecto del ahumado sobre la vida útil y la calidad sensorial del queso fresco, realizado en la quesera “El Tablón” en el cantón Pujilí de la provincia de Cotopaxi y en el Laboratorio de Bromatología de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo de la ciudad de Riobamba. El ahumado de alimentos, técnica antigua de conservación, por su efecto bacteriostático y antioxidante, proporciona un sabor, color y aroma característico. En la primera etapa se ahumó con aserrín de roble y laurel, durante 30 y 60 minutos, para establecer el tratamiento que permita obtener el producto de mayor aceptabilidad, aplicando un análisis sensorial (color, sabor, aroma y textura), efectuado por 16 panelistas semi entrenados; los resultados condujeron a usar la mezcla de los dos materiales durante 45 minutos. En la segunda etapa se evaluó acidez, pH, análisis microbiológico y sensorial, a los 0, 10, 20, 30 y 40 días de almacenamiento, en el queso obtenido en la primera etapa y sin ahumar. Los resultados fueron sometidos a una prueba de ANOVA, y comparación de medias con el test de Tukey ($P < 0,05$) en el programa estadístico SPSS18®. Los resultados de *Escherichia.coli*, coliformes totales, *Staphylococcus aureus* y mohos-levaduras hasta los 40 días en el queso ahumado, fueron menores a lo establecido por la norma COVENIN3821:2003. La acidez aumentó hasta 0,10% de ácido láctico, la mitad del valor del queso sin ahumar. El análisis sensorial no presentó cambios hasta los 30 días. Concluyendo que la vida útil del queso ahumado fue 30 días, mientras que del queso sin ahumar fue de 20 días, se recomienda a los productores apliquen esta técnica para mayor conservación del queso fresco, producto consumido ampliamente en el país.

Palabras clave: <AHUMADO>, <VIDA ÚTIL>, <ANÁLISIS SENSORIAL>, <QUESO FRESCO>, <ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO>.

ABSTRACT

This research aims to determine the effect of smoke on useful life and sensorial quality of fresh cheese conducted at cheese-making industry “El Tablón” in the town Pujilí, in the province of Cotopaxi and in the laboratory of Bromatology of the Faculty of Sciences of Escuela Superior Politécnica de Chimborazo in the city of Riobamba. Smoking of food is an old conservation technique which produces a flavor, color and characteristic aroma for this effect bacteriostatic and antioxidant. At the first phase, sawdust of oak and laurel tree were smoked for 30 y 60 minutes in order to the treatment to get a product of major acceptability applying sensorial analysis (color, taste, aroma and texture), it was done by 16 panelists semi-trained; the results used a mixture of both materials during 45 minutes. At the second phase, acidity, pH, microbiological and sensorial analysis were assessed at 0, 10, 20, 30 and 40 days of store in the cheese obtained in the first phase and without smoking. The result were subjected to ANOVA test, and compared with the Tukey test ($P < 0,05$) in the statistics program SPSS18. The results of *Escherichia coli*, total coliforms, *Staphylococcus aureus* and mould-yeast were lower than the norm COVENIN3821:2003. Acidity increased to 0,10 % of lactic acid, the half of the value of cheese without smoking. The sensorial analysis did not preset changed up to 30 days. It concluded that the useful life of smoked cheese was 30 days, while unsmoked cheese was 20 days. It is recommended that producers apply this technique to preserve fresh cheese which is product consumed by many people in the country.

Key words: <SMOKING>, <USEFUL LIFE>, <SENSORIAL ANALYSIS>, <FRESH CHEESE>, <MICROBIOLOGICAL ANALYSIS>

INTRODUCCIÓN

La necesidad de conservar los alimentos se produce con el desarrollo de la agricultura hace unos 15000 años debido a la producción de excedentes que deriva de la producción estacional. Es evidente que en esas primeras épocas la conservación de alimentos era escasa y su utilización estaba condicionada por el clima. El rigor invernal tenía sus ventajas en la conservación de los alimentos, facilitaba su congelación y también se utilizaba el secado, ahumado, salado y encurtido. (SALAS, Jordi *et al*, 2005. p. 452).

El ahumado habría surgido ya en la edad de piedra, cuando el hombre de las cavernas, tratando de secar su pescado al fuego, notó que el humo transfería a la carne un olor y gusto agradables, y sobre todo aumentaba considerablemente la duración del producto. El secado y el ahumado serían entonces las técnicas más antiguas usadas por el hombre para preservar los alimentos. (FERNÁNDEZ, Sonia *et al*, 1995. p. 7).

En la región de Cracovia, se ha encontrado la cámara de ahumado más antigua, en una colonia de la edad de piedra, que los arqueólogos sitúan en una época de hace 90 000 años, se encontró un hogar cuya disposición hace suponer que fue utilizado como ahumadero. Parece ser que el tratamiento de los alimentos con humo fue una práctica tan corriente que no merecía dar ningún testimonio especial sobre él. Así se comprende la escasez de textos acerca del ahumado, sin embargo la mayor parte de los datos sobre el ahumado que constan en los libros de cocina, corresponden a la Edad Media, los más conocidos del área idiomática alemana proceden del cocinero electoral de Maguncia M. Marxen Rumpolt (1581). (MÔLER, K., 1980. p. 3).

Las investigaciones de MÔLER, K. (1980), describen que las viviendas en las que el hogar constituía siempre una instalación central, donde el humo salía hacia arriba y bajo el caballete del tejado estaban colgadas las piezas de carne, expuestas a su acción sin ningún control. El caballete servía de ahumadero y de cámara de conservación al mismo tiempo. El desarrollo de los métodos modernos de ahumado empieza hacia finales del siglo XIX y donde las modernas instalaciones para ahumado son aisladas, selladas herméticamente y cuentan con controles termostáticos, el humo se genera por un aparato que quema aserrín o astillas de madera. Hoy en día no se prefieren los productos fuertemente ahumados ni salados, sino únicamente que exhiban el sabor, olor y textura característica de los productos ahumados.

Esta técnica ha sido utilizada en diversidad de productos alimenticios, sobre todo en el continente Europeo, entre estos, el queso. Uno de los quesos más célebres de Asturias es el queso Ahumado de Pría, que se lleva elaborando desde 1938. Su ahumado se realiza con madera

de roble pero el dato más característico de este queso es que se elabora con leche de vaca y se le añade nata de leche de oveja. (RUIZ, C., 2014)

En México y América Latina la producción de queso se inició con la llegada de los colonizadores españoles, quienes en el siglo XVI introdujeron en el continente especies animales como vacas, ovejas y cabras, productoras de leche, que se adaptaron rápidamente a la vegetación y clima locales (MOURA, M^a Elena, 2011).

Según Walstra P. (2006), desde el punto de vista físico-químico, el queso se define como un sistema tridimensional tipo gel, formado básicamente por la caseína integrada en un complejo caseinato fosfato cálcico, el cual por coagulación, engloba glóbulos de grasa, agua, lactosa, albúminas, globulinas, minerales, vitaminas y otras sustancias menores de la leche, los mismos que permanecen en el sistema o a su vez se mantienen en la fase acuosa retenida. (RAMÍREZ, C. & VÉLEZ J. F., 2012. pp. 131-132).

La producción diaria de leche en el Ecuador oscila entre los 3.5 millones de litros. Destinado, según cifras de la AGSO, a la venta de la leche cruda 35%, al autoconsumo de los terneros un 23%, a la producción artesanal de quesos 11%. El resto de la producción significa unos 31%, se dirige a la industria láctea. Dentro de los principales productos elaborados por la industria láctea se encuentran: queso fresco con el 8,91%, leche no concentrada ni edulcorada con el 38,17%, leche y crema concentrada con el 15,49%, chocolate y otros preparados 9,89%, yogur con el 9,29%, margarina 8,48% y helados con el 4,38% estos 7 productos representaron el 94,55 del total de productos de la industria láctea. (RUIZ P., 2006. p. 55).

Las ventas de la industria quesera crecieron 3,4 veces entre el 2005 y el 2014, al pasar de USD 71,4 millones a 243,1 millones en ese período. En el país existen 31 empresas dedicadas a la producción de lácteos, según el último censo económico del 2010. En algunas empresas la producción de quesos es más importante que en otras. En Floralp, por ejemplo esta es su principal línea de negocio y abarca un 80% de su producción, la mayoría de queso tipo maduro y semi maduro. Ocho de cada 10 ecuatorianos dicen que compran queso fresco, seguido en preferencia el mozzarella, queso crema, maduro, semi maduro y el queso de cabra. (LÍDERES, 2015).

El queso por su elevada actividad de agua y su composición química, se convierte en un alimento altamente perecedero cuyo foco de contaminación principal es la leche que procede de pequeñas empresas rurales del país donde las condiciones de ordeño, transporte y conservación de la leche no son las adecuadas, por falta de información, por no disponer de recursos técnicos apropiados o por descuido en el manejo de la leche. Por lo que pequeños y grandes productores

de queso se ven obligados a usar leche de mala calidad obteniendo productos no inocuos y de pésima calidad, reflejado en su período de vida útil corta.

Por esta razón es fundamental investigar alternativas que ayuden a reducir la existencia de microorganismos encargados del deterioro del queso fresco. La alternativa escogida fue aplicar un método de conservación térmico mediante la aplicación de ahumado en caliente al queso fresco, que por acción del humo producido por la combustión lenta de trozos de leña de roble o laurel, disminuirá la proliferación de bacterias que producen la descomposición del producto.

En el país no existe la tradición de fabricar y consumir quesos ahumados, lo que motivó a ejecutar la presente investigación, cuyo principal objetivo es determinar el efecto que tiene el ahumado sobre la vida útil y la calidad sensorial del queso fresco; donde se evaluará diferentes tratamientos de ahumado usando aserrín de roble y de laurel; y tiempos de ahumado de 30 y 60 minutos; una mezcla de aserrín de laurel y viruta de roble, y 45 minutos de ahumado, para escoger el tratamiento que le proporcione las mejores características organolépticas al queso fresco, determinadas mediante pruebas de aceptación aplicadas a un grupo de panelistas relacionados con el área de lácteos. Posteriormente se realizará la determinación del período de vida útil del queso ahumado con mayor aceptación basándose en el análisis físico-químico, microbiológico y sensorial a través del tiempo a los 0, 10, 20, 30 y 40 días de almacenamiento.

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

Objetivo General

Determinar el efecto que tiene el ahumado sobre la vida útil y la calidad sensorial del queso fresco.

Objetivos Específicos

1. Determinar el mejor tratamiento de ahumado en caliente que se le puede dar al queso fresco a un tiempo de 30 o 60 minutos, con aserrín de roble (*Quercus robur*) o laurel (*Laurus nobilis*); y escoger el que tenga mayor aceptación a través de la prueba de ordenamiento para sus posteriores análisis.
2. Cuantificar y comparar la carga microbiana presente en el queso ahumado de mejor aceptación con la del queso sin ahumar.
3. Establecer el período de vida útil que pueda alcanzar el queso ahumado preferido.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1. Antecedentes de la investigación

El ahumado de los alimentos es uno de los métodos más antiguos de conservación. El proceso de ahumado imparte un color, sabor, olor y textura, característico a los alimentos. Las reacciones químicas por las cuales se forma el color de ahumado característico en alimentos se han investigado y documentado. De tal modo que Ziemba informó que la formación del color en los alimentos ahumados está implicado el pardeamiento no enzimático. Rüter encontró que la formación del color se debe por la reacción de Maillard, en las que los grupos amino de las proteínas del alimento reaccionan con los carbonilos del humo. (RIHA, W.E. & WENDORFF, W.L., 1993. p. 1491).

A continuación se detallan algunas investigaciones publicadas en revistas científicas sobre la técnica el ahumado aplicado en alimentos, en las mismas que determinaron el mejor tratamiento de ahumado con mayor aceptabilidad por los consumidores.

De acuerdo con BORJAS, F. & COLORADO J. (2010, p. iii y 2) en su trabajo de grado, efecto del tiempo de ahumado y temperatura en las características físico-químicas y sensoriales del queso crema Zamorano, se evaluó características de apariencia, aroma, textura, acidez, sabor y aceptación general a diferentes tiempos de ahumado de 40, 60 y 80 minutos y temperaturas de 40 y 60 °C, el queso con un ahumado de 80 min a 60 °C obtuvo la mayor aceptación. El contenido de coliformes totales de los tratamientos de queso ahumado fue menor a lo permitido por las normas de ICAITI: 2002. Realizaron un análisis de preferencia con 100 personas entre los quesos ahumados Zamorano, Bijagual y Palo Blanco, resultando el queso ahumado Zamorano, preferido sobre los demás analizados ($P < 0.01$).

En Venezuela ALVARADO, Carmen *et al* (2007, p. 301), aislaron, identificaron y caracterizaron bacterias ácido lácticas de un queso venezolano ahumado andino artesanal y determinaron su uso como cultivo iniciador; donde sólo tomaron en cuenta los géneros *Lactococcus*, *Lactobacillus* y *Leuconostoc* que son los más utilizados como cultivos iniciadores, analizaron la capacidad acidificadora de la leche, resistencia a antibióticos y compatibilidad entre cepas, según sus características de aptitud tecnológica seleccionaron cuatro cepas: dos lactococos y dos lactobacilos que se aprovecharon como cultivos iniciadores en la fabricación

de quesos ahumados experimentales utilizando leche pasteurizada. Los quesos se sometieron a una evaluación sensorial incluyéndose dos controles: un queso elaborado con leche cruda (sin cultivo iniciador) y el artesanal que dio origen a las cepas, donde demostraron que los quesos elaborados con las cepas seleccionadas, son equivalentes al artesanal y al fabricado con leche cruda.

Después de varios ensayos realizados por Tilgner (RDA), según los cuales el humo procedente de madera de roble, haya y arce es el mejor; comparable en calidad, el generado por virtutas de pino y abedul, mientras que menos deseable, el de aliso, álamo o abeto. En investigaciones realizadas por Russ (Checoslovaquia) y Tilgner demostraron que la elección del tipo de madera influye en la coloración del producto ahumado. El humo de las maderas blandas tiñe con mayor rapidez y provoca una coloración más atractiva. (REHBRONN, E. *et al*, 1989, p. 50-51).

FRESNO, M. *et al* (2007, p.170), realizaron una evaluación sensorial de la textura de quesos canarios ahumados con diferentes materiales, en donde utilizaron los 4 materiales autorizados por la DOP Queso Palmero: cáscara de almendra (*Prunus dulcis*), troncos de tunera seca (*Opuntia ficus indica*), acículas y tronco de pino canario (*Pinus canariensis*) y los 2 empleados en el queso gomero: jara (*Cistus spp.*) y brezo (*Erica arborea*), donde concluyeron que los quesos mejor valorados fueron los ahumados con brezo y jara, seguidos por los ahumados con penca de tunera. Con valoración un poco más baja, se situaron los ahumados con cáscaras de almendra, troncos de pino y pinillo.

En el trabajo de grado realizado por BONILLA, C. & GURDIÁN, C. (2011. p. iii) en donde evaluaron el efecto de dos atmósferas modificadas de empaque (al vacío y 100% nitrógeno), así como dos temperaturas de ahumado (60 y 50 °C durante 60 minutos), en las características físico-químicas y sensoriales del queso Cheddar Zamorano. El tratamiento más aceptado en Zamorano fue el queso Cheddar sin ahumar seguido del queso ahumado a 50 °C/60 min y empacado al vacío. El conteo de coliformes en todos los tratamientos y repeticiones fue menor al límite permisible por las normas de ICAITI: 2002.

En Cuenca QUEZADA M. (2011. p. 1, 162, 256) en su trabajo de investigación “Innovación de las características gustativas de los quesos artesanales aplicando técnicas de ahumado y especiado”; utilizó en la técnica de ahumado: semillas de eucalipto, palo santo, pétalos de rosa, laurel, pimienta negra y corteza de cítricos para ahumar específicamente los quesos elaborados con : ají y chorizo: además aplicó técnicas de especiado utilizando: ají, higo, chorizo, albahaca, hierbabuena, romero, menta, cedrón, toronjil, corteza de cítricos y frutos secos con el objetivo de combinar el sabor y textura clásica del queso con estos productos; llegó a la conclusión de que la técnica de ahumado se debe realizar brevemente para cuidar y mantener el equilibrio de

los tres sabores: el sabor del queso, del saborizante y del ahumado; pues un exceso del tiempo de ahumado puede opacar uno de los sabores.

Según la información científica expuesta anteriormente, existe evidencia sobre la aceptación del consumidor a quesos ahumados y por eso se ha decidido probar esta técnica en el queso fresco.

1.2. Bases teóricas

1.2.1. Queso

1.2.1.1. Definición

La palabra queso proviene del vocablo *caseus*, que significa que carece de suero (VARGAS, S., 2009. p. 2). Según las normas del Codex para el queso CODEX STAN 283, 1978 y la norma NTE INEN 1528:2012, se concibe por queso el producto blando, semiduro, duro y extra duro, madurado o no madurado, que puede estar recubierto, en donde la proporción entre las proteínas de suero y la caseína no deben ser superior a la de la leche, y es obtenido mediante:

(a) coagulación total o parcial de la proteína de la leche, leche desnatada/descremada, leche parcialmente desnatada/descremada, nata (crema), nata (crema) de suero o leche de mantequilla/manteca, o de cualquier combinación de estos materiales, por acción del cuajo u otros coagulantes idóneos, y por escurrimiento parcial del suero que se segrega como resultado de dicha coagulación, respetando el principio de que la elaboración del queso resulta en una concentración de proteína láctea (especialmente la porción de caseína) y que por consiguiente, el contenido de proteína del queso deberá ser evidentemente más alto que el de la mezcla de los materiales lácteos ya mencionados en base a la cual se elaboró el queso; y/o

(b) técnicas de elaboración que comportan la coagulación de la proteína de la leche y/o de productos obtenidos de la leche que dan un producto final que posee las mismas características físicas, químicas y organolépticas que el producto definido en el apartado (a).

BADUI, S. (2006. p. 626) define al queso como un producto que resulta de la precipitación de las caseínas de la leche, que deja como residuo el llamado suero de la leche; para llevar a cabo este proceso, se manejan principalmente dos métodos: por medio de la renina o cuajo, o acidificar en el punto isoeléctrico de las caseínas (pH 4.6). Además menciona que los llamados quesos frescos son los más comprados en México, no son madurados y se consumen únicamente salados o sazonados con especias.

Los quesos son una forma de conserva de los dos componentes insolubles de la leche; la caseína y la materia grasa; se consiguen por coagulación de la leche seguida del desuerado, durante el cual el lactosuero se separa de la cuajada. El queso es un alimento universal, que se produce en casi todas las regiones del globo a partir de leche de diversas especies de mamíferos, se encuentran entre los mejores alimentos del hombre debido a su elevado valor nutritivo (materia grasa, proteína, calcio, fósforo, etc), y también por las cualidades organolépticas extremadamente variadas que conservan. (LACASA A., 2003. p. 617).

1.2.1.2. Composición del queso fresco

La leche está formada por 7/8 de agua y 1/8 de sólidos, que constituyen su parte nutritiva. Luego de su transformación en queso, su composición se modifica. El queso contiene en una concentración más elevada la mayoría de los nutrientes de la leche, excepto de la lactosa (Tabla 1-1), ya que durante el proceso de elaboración del queso se elimina gran parte del agua. Los procesos tecnológicos empleados en la elaboración del queso no alteran el valor nutritivo de la proteína de la leche. El contenido en minerales del queso es mayor que en la leche, destacando la cantidad en calcio, fósforo y zinc. En cuanto al contenido de vitaminas hidrosolubles de los distintos quesos es variable en función de las pérdidas en el suero y de la síntesis y utilización de los microorganismos. (HERNÁNDEZ A., 2010. p. 23).

Tabla 1-1: Composición de la leche y queso fresco.

Componentes	Leche	Queso fresco
Agua	87%	50%
Grasa	4%	24%
Proteína	3,5%	21%
Carbohidrato	4,8%	2%
Sales minerales	0,7%	2%
Sal de cocina	--	1%
Vitaminas	ABDEK	ABDEK
Total	100%	100%

Realizado por: Cristina Salguero
Fuente: DUBACH J., 1988. p. 2

1.2.1.3. Variedades de quesos en Ecuador

En el mundo existen alrededor de 1000 variedades de quesos. Y los distintos nombres que reciben en diferentes regiones obedecen a los tamaños, formas y a distas poco significativas en los métodos de manufactura. (GARCÍA M. *et al*, 2004. p. 179).

Según ALAIS Ch. & LACASA A. (2003. p. 618), la gran pluralidad de quesos se afirma por dos hechos principales:

1. La naturaleza de la leche. Pequeñas diferencias en la composición, aparte de las diferencias existentes entre leches de especies o de razas diferentes, tienen consecuencias en las propiedades del queso.
2. Las formas de preparación, que presentan una diversidad cuyos límites son difíciles de fijar. Antes se determinaban por las condiciones climatológicas, geográficas, económicas e históricas. El progreso técnico y el desarrollo de los medios de comunicación han modificado estas condiciones; sin embargo, algunos tipos de quesos permanecen en la actualidad ligados a una región y no se fabrican, o se fabrican en escasa proporción en otros lugares.

En Ecuador, existe una gran variedad de quesos que de acuerdo a la (NTE INEN 1528:2012) basándose en su composición y características físicas el producto, se clasifica en:

- Según el contenido de humedad,

- a) Duro
- b) Semiduro
- c) Semi blando
- d) Blando

- Según el contenido de grasa láctea,

- a) Rico en grasa
- b) Entero o graso
- c) Semidescremado o bajo en grasa
- d) Descremado o magro

CABALLERO H. & HERVAS T. (1985. p. 425) mencionan que dentro de la variedad de quesos existentes en Ecuador, el queso fresco es el más conocido y popular en los Andes. Se le da diversos usos, sobre todo en la preparación de varios platos típicos propios de cada una de las distintas regiones andinas.

1.2.2. Queso fresco

Es el queso no madurado, ni escaldado, moldeado, de textura relativamente firme, levemente granular, preparado con leche entera, semidescremada, coagulada con enzimas y/o ácidos orgánicos, generalmente sin cultivos lácticos. También se designa como queso blanco. (NTE INEN 1528:2012).

1.2.2.1 Proceso de elaboración del queso fresco

La producción de quesos se inicia con las diferentes operaciones que permiten, en primer lugar la formación de un coágulo o cuajada de composición fisicoquímica determinada en cuanto al extracto seco, contenido en materia grasa y minerales, acidez (pH) y textura. Posteriormente, estas propiedades del coágulo, bajo condiciones adecuadas de maduración (salado, temperatura, humedad, aeración), favorecen el desarrollo de microorganismos naturales o inoculados y la acción de sus enzimas. Esta actividad biológica, ligada a la de las enzimas naturales de la leche y las coagulantes, provocan la transformación de un coágulo de leche con poco sabor y aroma en productos organolépticamente muchos más atractivos. (GARCÍA Mariano *et al*, 2004. p. 179).

Se pueden distinguir las siguientes operaciones fundamentales:

- Recepción y tratamientos previos de la leche. Incluidos refrigeración, higienización y pasterización: La leche que se recibe para la elaboración de los quesos debe ser de buena calidad, con contenido bacteriano bajo. De preferencia se debe recibir enfriada a 4-6°C en cisternas de acero inoxidable. (CENZANO I., 1992. p. 10).

La composición de la leche depende de muchos factores, como: el tipo y raza del animal, hora de ordeña, período de lactancia, temporada del año y tipo de alimentación. La leche puede sufrir un fuerte deterioro por contaminación y desarrollo microbiano, por lo que se debe aceptar leche obtenida bajo adecuadas condiciones higiénicas con menos de 5000 UFC/mL. La refrigeración permite el control de los microorganismos pero favorecen el desarrollo de la flora sicrotrófica. Esta se destruye fácilmente por tratamiento térmico o por el sistema lactoperoxidasa. Sus enzimas (lipasas y proteasas), siendo las mas resistentes, pueden producir defectos en la fabricación si el desarrollo de la flora fue importante en el almacenamiento. (GARCÍA, Mariano *et al*, 2004. p. 181).

La pasteurización proporciona tanto ventajas como desventajas en la elaboración de queso. La leche debe ser sometida a un tratamiento térmico, antes de ser procesada, para eliminar los microorganismos patógenos y facilitar el desarrollo del cultivo láctico; sin embargo, este tratamiento también reduce el poder de coagulación de la leche e induce la precipitación de las proteínas, lo que puede causar problemas en el desuerado. Para evitar estos inconvenientes, es recomendable reducir el tratamiento térmico a una temperatura entre 62 y 65°C por un tiempo de 15 a 20 segundos. (HERNÁNDEZ, Alicia *et al.*, 2003. p. 76).

El control de la pasteurización de la leche debe efectuarse tomando en cuenta las siguientes consideraciones: higienizar la leche sin modificar a fondo su estructura mediante un calentamiento excesivo. Para este control se propone el empleo combinado de los tests de la fosfatasa cuyo resultado debe ser negativo y de la peroxidasa debe ser positivo. (VEISSEYRE, R., 1988. p. 425).

- Fermento láctico: GONZÁLEZ, M., (en el 2002. pp. 6-7), reporta que con el uso de la pasterización se pierden las bacterias lácticas que tiene la leche; entonces, se hace necesario sustituir estas bacterias utilizando los fermentos lácticos producidos en condiciones técnicas que garanticen su calidad. Los fermentos lácticos están constituidos principalmente por *Streptococos lactis* y *Streptococcus cremoris*, bacterias que fermentan la lactosa (azúcar de la leche) con producción de ácido láctico que generalmente vienen mezcladas con otras bacterias como el *Leuconostoc citroborum*, *Streptococcus diacetylactis* que fermentan el ácido cítrico y citratos con producción de aroma, obteniéndose quesos de mejor calidad. La adición de

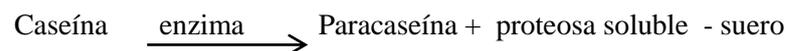
fermento láctico es de 500mL/100 litros de leche. Usualmente se utiliza un período de maduración de 5 a 10 minutos. Después que el fermento láctico ha madurado adecuadamente a la leche, se agrega el cuajo. La función principal de las bacterias lácticas (fermentos) es la producción de ácido láctico a partir de la lactosa. El ácido láctico promueve la formación y desuerado de la cuajada, evita que crezcan en ésta microorganismos patógenos debido a que disminuye el pH a 5,0-5,2 y le confiere sabor ácido. Además, las bacterias dan lugar a sustancias responsables del aroma y contribuyen a la maduración mediante la proteólisis (ruptura de proteínas) y la lipólisis (ruptura de las grasas).

Los fermentos se clasifican esencialmente por su temperatura óptima de crecimiento en dos grupos: mesófilos a temperaturas de 20 – 30° C (*Streptococcus lactis*, sbsp. *Diacetylactis* y *Leuconostoc*. spp.) Y termófilos a temperaturas de 37 – 45°C (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus lactis*).

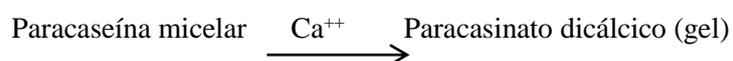
- Coagulación: La coagulación de la leche con cuajo es uno de los puntos clave de la quesería. Los coágulos que se forman mediante el cuajo regulan parcialmente el proceso de desuerado y como consecuencia el contenido de humedad de los quesos. Normalmente se cuaja la leche a 32°C, durante 30 minutos. Si las temperaturas son más altas, el corte resulta mayor, el contenido de humedad es más elevado y el queso resulta más blando. Si durante la coagulación, la leche y la cuajada se enfrían, los granos quedarán de dimensiones irregulares. En efecto la humedad en el queso estará distribuida irregularmente y además se producirán pérdidas de caseínas en el suero. (GONZÁLEZ, M., 2002. pp. 6-7).

BEDOLLA, Salvador *et al*, (2004. pp. 36-37), mencionan que en la coagulación enzimática por cuajo o renina, aunque muchas enzimas proteolíticas son empleadas para la coagulación de la leche en la elaboración de quesos, la más utilizada es la renina que tiene como principio activo la quimosina; esta coagulación se presenta en dos etapas:

1. La quimosina rompe específicamente el enlace entre los aminoácidos fenilalanina (105) y metionina (106) de la k-caseína.



2. En esta etapa la paracaseína reacciona con los iones calcio formando un gel irreversible de consistencia gelatinosa y elástica, impermeable, de notable, pero lenta contractibilidad.



En la cuajada enzimática, la caseína se encuentra como paracaseinato dicálcico y la formación de ácido favorece la desmineralización del coágulo, confiriéndole elasticidad a medida que aumenta la acidez, ocurriendo las siguientes reacciones:

Paracasinato di cálcico (A) + Ácido láctico → Paracaseinato mono cálcico (B) + Lactato de calcio

Paracaseinato mono cálcico (B) + Ácido láctico → Paracaseína libre (C) + Lactato de calcio

La velocidad de coagulación de la leche depende de los siguientes factores:

- a) Dosis de cuajo
- b) Temperatura
- c) pH, acidez
- d) Contenido de sales de calcio y materias nitrogenadas solubles.

- Corte de la cuajada: consiste en la partición del coágulo de caseína, a través de un instrumento llamado lira. El propósito del corte es convertir la masa de cuajada en granos de tamaño determinado, de tal modo que para obtener quesos blandos el bloque se cortará en granos grandes y para quesos duros, los granos deben ser muy pequeños. (DUBACH J., 1988. p. 52-55).

- Ecurrimiento: incluye dos operaciones, la sinéresis del coágulo y la evacuación del lactosuero. La sinéresis es la concentración del coágulo por eliminación del suero de la red proteica. El escurrimiento representa un fenómeno dinámico que ocurre en dos períodos: uno principal y otro secundario. El principal empieza desde la coagulación y termina al sacarse el queso joven de los moldes. El escurrimiento secundario ocurre en las operaciones posteriores como el salado. El aumento de temperatura entre 20 y 55°C acelera el escurrimiento. (GARCÍA, Mariano *et al*, 2004. p. 185).

- Moldeado y prensado: el moldeado consiste en la distribución de la cuajada en moldes, cuya forma y tamaño varían con cada tipo de queso. El prensado se desarrolla en prensas de quesería, con estas se ejerce presión que puede aumentar progresivamente durante el curso de la operación. (GONZÁLEZ, M., 2002. p. 8).

- Salado: la salmuera es una mezcla de agua con sal, donde se sumergen los quesos para propiciar la formación de la corteza. El salado se puede realizar sobre la superficie del queso, por baño en salmuera o por aplicación directa de la sal en seco. Esta operación permite completar la expulsión del suero porque favorece el escurrimiento al modificar los niveles de hidratación de las proteínas, permitiendo que la corteza se forme debido a la salida del suero y a la entrada de sal a la periferia del queso. (GARCÍA, Mariano *et al*, 2004. p. 186).

1.2.3. Queso ahumado

Es el queso que ha sido sometido a un proceso de ahumado controlado, con la intención de conservar y mejorar sus características de sabor, aroma y textura. (RAMÍREZ, Betti *et al.* 2005.p. 4)

1.2.4. Requisitos físico-químicos del queso fresco

Los quesos frescos no madurados, ensayados de acuerdo con las normas ecuatorianas correspondientes deben cumplir con lo establecido en la tabla 2-1.

Tabla 2-1: Tipos de quesos según composición físico-química del queso fresco

Tipo o clase	Humedad % máx. NTE INEN	Contenido de grasa en extracto seco, %m/m Mínimo NTE INEN
	63	64
Semiduro	55	-
Duro	40	-
Semi blando	65	-
Blando	80	-
Rico en grasa	-	60
Entero o graso	-	45
Semidescremado o bajo en grasa	-	20
Descremado o magro	-	0,1

Realizado por: Cristina Salguero
Fuente: NTE INEN 1528:2012

1.2.5. Requisitos microbiológicos del queso fresco

Según el Real Decreto 1679/1994 de 22 de julio (B.O.E. 24-9-94), se deben aplicar los siguientes criterios microbiológicos (Tabla 3-1) a los productos lácteos y a la leche de consumo. Por otra parte, no contendrán ningún microorganismo patógeno ni sus toxinas en una cantidad que afecte a la salud de los consumidores. La detección de cepas *S. aureus* enterotoxigénico o de cepas de *E. coli* patógenas, implicará la retirada del mercado de todos los lotes de que se trate.

Tabla 3-1: Criterios microbiológicos para productos lácteos

Criterios obligatorios: gérmenes patógenos. <i>Productos lácteos al salir del establecimiento de transformación</i>		
Tipo de gérmenes	Productos	Norma (ml, g)
<i>Listeria monocytogenes</i>	Quesos distintos de los de pasta dura	Ausencia 25g (a) n= 5; c= 0
<i>Salmonella spp.</i>	Todos los productos lácteos, excepto la leche en polvo	Ausencia 25g (a) n= 5; c= 0
Criterios analíticos: gérmenes testigos de falta de higiene		
<i>Staphylococcus aureus</i>	Queso a base de leche cruda y a base de leche termizada	m= 1 000 M= 10 000 n= 5; c= 2
<i>Escherichia coli</i>	Queso fresco	m= 10 M= 100 n= 5; c= 2
Gérmenes indicadores: <i>líneas directrices</i>		
Coliformes	Queso de pasta blanda a base de leche tratada térmicamente	m= 10 000 M= 100 000 n= 5; c= 2

Realizado por: Cristina Salguero

Fuente: PASCUAL, ANDERSON M^a del Rosario & CALDERÓN, Vicente, 2000. pp. 291-293

(a) Los 25 gramos se obtendrán mediante 5 tomas de 5 gramos en la misma muestra.

n: número de unidades de muestra de un lote que se analizan según el programa de muestreo establecido.

c: número de muestras que pueden rebasar el límite *m* sin ser superior al límite *M*

m: Límite microbiológico que únicamente *c* de las *n* muestras puede sobrepasar.

M: nivel límite de aceptabilidad. Los valores superiores a *M* no son aceptables.

Según la NTE INEN 1528:2012, los requisitos microbiológicos para quesos frescos deben dar ausencia de microorganismos patógenos, de sus metabolitos y toxinas. Los quesos frescos no madurados, deben cumplir con los requisitos microbiológicos establecidos en la tabla 4-1.

Tabla 4-1: Requisitos microbiológicos para quesos frescos o madurados

Requisito	N	M	M	C
Enterobacteriaceae, UFC/g	5	2x10 ²	10 ³	1
<i>Escherichia coli</i> , UFC/g	5	<10	10	1
<i>Staphylococcus aureus</i> UFC/g	5	10	10 ²	1
<i>Listeria monocytogenes</i> / 25g	5	Ausencia	-	-
<i>Salmonella</i> en 25g	5	Ausencia	-	0

Realizado por: Cristina Salguero

Fuente: Norma general para quesos frescos no madurados. Requisitos. NTE INEN 1528:2012.

n= Número de muestras a examinar

m= Índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad

M= Índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad.

c= Número de muestras permisibles con resultados entre *m* y *M*

1.2.6. *Microbiología del queso fresco*

Al ser la leche la materia prima principal para la elaboración de los quesos frescos, esta puede contener pocas bacterias al extraerla de la ubre de una vaca sana que no se multiplican cuando la leche se manipula correctamente. Sin embargo, durante el ordeño, la leche se contamina a partir del animal, especialmente de las zonas externas de la mama y áreas próximas. Las bacterias también pueden llegar a la leche desde el estiércol, el suelo y el agua. El número de organismos contaminantes por esta vía es mucho menor con el ordeño mecánico que con el manual. Esta contaminación se reduce esquilando los costados y la ubre, cepillando al animal y lavando la mama con agua o con una solución germicida antes de ordeñar. Si los utensilios o las superficies se limpian, desinfectan o secan incorrectamente, las bacterias pueden multiplicarse notablemente en los residuos lácteos, contaminando consecutivamente la leche que entra en contacto con estas superficies. (LANCHIPA BERGAMINI, Liliana & SOSA GUTIÉRREZ, Yolanda, 2003.p. 7).

Entre las bacterias procedentes de estos orígenes se incluyen a los estreptococos lácticos, bacterias coliformes, bacilos Gram-negativos psicrótrofos, así como termodúricos, que resisten la pasterización (micrococcos, bacilos y brevibacterias). Todo producto elaborado a base de leche está también sujeto a una contaminación posterior, además de la que puede tener por su propio origen. (FRAZIER, W. y WESTHOFF D., 1978. pp. 274-277).

Según el proyecto de investigación realizado en Perú en la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann; en el grupo de patógenos de los quesos frescos incluye *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp*, *Salmonella spp*, *Escherichia coli*, *Campylobacter spp*, *Yersinia enterocolítica*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* y en algunos países *Brucella spp* y *Mycobacterium tuberculosis*. Todos ellos excepto los esporulados y los enterococos, se destruyen por la pasteurización. A continuación se describen las bacterias que están dentro de los requisitos microbiológicos de la norma NTE INEN 1528:2012 (Enterobacterias, *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella* y *Listeria monocytogenes*) y en la norma COVENIN 3821:2003 (mohos y levaduras).

1.2.6.1. *Enterobacteriaceae*

Los microorganismos que pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae* son gérmenes de forma bacilar, GRAM negativos, aerobios y anaerobios facultativos, no esporulados, móviles o inmóviles, que fermentan la glucosa, reducen nitratos a nitritos, citocromo oxidasa negativos y crecen en medios que contienen sales biliares. Estas bacterias son indicadoras de contaminación

fecal, se utilizan como indicadores de la calidad sanitaria de alimentos procesados como el queso; su presencia en altos niveles en estos productos revela elaboración poco higiénica, contaminación posterior a su fabricación o ambas cosas. De los integrantes de esta familia unos fermentan la lactosa otros no, como se puede observar en la tabla 5-1. Es primordial el uso como indicadores de contaminación fecal en productos no procesados o con tratamiento insuficiente, de los *coliformes fecales* o *E. coli*. (PASCUAL, ANDERSON M^a del Rosario & CALDERÓN, Vicente, 2000. pp. 33).

Tabla 5-1: Integrantes de la familia *Enterobacteriaceae*, según su comportamiento frente a la lactosa.

No fermentadores de lactosa	Fermentadores de lactosa
<i>Salmonella</i>	<i>Escherichia</i>
<i>Shigella</i>	<i>Enterobacter</i>
<i>Edwardsiella</i>	<i>Citrobacter</i>
<i>Hafnia</i>	<i>Serratia</i> (a veces)
<i>Proteus</i>	<i>Kelbsiella</i> (excepto <i>Kb. hinocleromatis</i>)
<i>Providencia</i>	
<i>Yersinia</i>	
<i>Morganella</i>	
<i>Erwinia</i> (fermenta excepcionalmente)	

Realizado por: Cristina Salguero

Fuente: PASCUAL, ANDERSON M^a del Rosario & CALDERÓN, Vicente, 2000. pp. 33

1.2.6.2. *Escherichia coli*

Investigaciones ecológicas han demostrado que *E. coli* proviene del tracto intestinal del hombre y de los animales de sangre caliente, pueden sobrevivir e incluso multiplicarse en otros nichos apropiados. Por lo tanto la presencia de esta bacteria indica que pudo haber existido contaminación fecal y que el consumidor podría estar expuesto a patógenos entéricos cuando ingiera el alimento. Se define como una bacteria lactosa positiva del grupo *Enterobacteriaceae*. (MOSSEL, D.A.A. et al. 2003. p. 413).

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). La epidemiología de la *E. coli* patógena transmitida por los alimentos varía alrededor del mundo. En comunidades con escasa sanidad e higiene, son usuales la *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), entero invasiva (EIEC) y entero patógena (EPEC). Se adquieren a través del consumo de alimentos y agua contaminada y por la contaminación cruzada a través del contacto humano directo. Sin embargo, en comunidades con mejor desarrollo sanitario e higiénico han aparecido

las siguientes variedades *E. coli* productora de toxina Shiga (STEC), entero hemorrágicas (EHEC) y *E. coli* entero agregativa (EAEC) que se transmiten por los productos animales u hortícolas crudos o elaborados de manera incorrecta, acercamiento con estiércol de animales, agua contaminada y contaminación cruzada con alimentos crudos.

Los rumiantes, específicamente el ganado, han sido reconocidos como el principal reservorio natural de STEC y EHEC (O157:H7). La carne fresca y la leche cruda se consideran como los vehículos comunes de la *E. coli*, especialmente de la cepa de EHEC (O157:H7). (FAO, 2016).

1.2.6.3. Coliformes

Son bacilos que han sido definidos en los métodos normalizados para análisis de agua y leche como aeróbicos o anaeróbicos facultativos, GRAM-negativos y no esporulados, que fermentan la lactosa con formación de gas. Se emplean con profusión recuentos de coliformes, coliformes fecales y de *E. coli* en los alimentos con carácter indicador. En general, no se admite la presencia de bacterias coliformes en los alimentos y en algunos casos, como el agua o las ostras, es índice de contaminación con materiales cloacales y, por lo tanto, con posibles patógenos entéricos. Entre las propiedades que hacen a los coliformes microorganismos importantes en la alteración de los alimentos citaremos:

- Su capacidad de crecer en diversos sustratos y utilizar los carbohidratos y otros compuestos orgánicos como fuente de energía, así como elementos nitrogenados simples como fuente de nitrógeno.
- Su posibilidad de sintetizar la mayor parte de vitaminas necesarias
- Pueden multiplicarse bien dentro de unos amplios límites de temperatura, entre 10°C y 46°C
- Su capacidad de producir considerables cantidades de ácido y gas de los azúcares
- Dan lugar a sabores desagradables que han descritos a “sucio” o a “establo”
- La propiedad por parte de *E. aerogenes*, de causar mucosidad o viscosidad en los alimentos. (FRAZIER, W. & WESTHOFF, D., 1978).

La interpretación de la presencia y abundancia de coliformes en alimentos básicamente es considerada con un triple significado en microbiología sanitaria: a) como indicadores de contaminación fecal o de malas prácticas de trabajo en el manejo de los alimentos, b) como causa de alteración de los alimentos y c) como agentes etiológicos de enteritis. Los coliformes pueden descomponer los alimentos, tales como la leche y sus derivados, causando múltiples cambios, como producción de malos olores, sabor amargo, mucosidades, etc. La presencia de coliformes en ciertos alimentos, como los quesos, no guarda necesariamente un indicativo sanitario significativo, en relación con los antecedentes de manejo higiénico del producto. (OLIVAS, Evangelina & ALARCÓN, L., 2004. pp. 83-84).

1.2.6.4. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus es una especie bacteriana integrada por formas cocáceas de 0,8-0,1 μm de diámetro, son GRAM positivas, se agrupan irregularmente en racimos, carecen de movimiento y de esporos. Es una especie muy sensible a la acción del calor y de los desinfectantes. Cuando se detecta su presencia o la de sus toxinas en elevadas cantidades en los alimentos significa la falta de higiene por mala manipulación. (PASCUAL, ANDERSON M^a del Rosario & CALDERÓN, Vicente, 2000. p. 77).

Los *Staphylococcus aureus* se encuentra en las secreciones nasales, la piel, las heridas, los ojos y el tracto intestinal del hombre, además de estar presente en el suelo, el aire y la leche. Las toxinas son sintetizadas durante la fase exponencial de crecimiento bacteriano en los quesos almacenados. Los alimentos ligados a la intoxicación estafilocócica suelen ser aquellos que son elaborados manualmente, con insuficiente refrigeración posterior y también los cocinados pero consumidos fríos, como carnes, huevos, cremas o productos lácteos incluido los quesos. (HERNÁNDEZ A., 2010. p. 666).

Los microorganismos patógenos pueden llegar a la leche al ordeñar vacas infectadas (mastitis) o por contaminación por aire, polvo o agua; de aquí la posterior calidad del queso. Ciertos patógenos como *Staphylococcus aureus* son secretados con la leche de vacas aparentemente sanas y son usuales cuentas de 50 a 500 UFC/mL. El destino de estas bacterias patógenas depende de los siguientes factores:

- Cuentas totales de microorganismos
- Condiciones de almacenamiento previas a la producción del queso
- Intensidad de la pasteurización
- Niveles de recontaminación por equipos, personal, etc.

- Actividad de las bacterias lácticas: rapidez en la reducción del pH, pH y cantidad de ácido láctico finales, capacidad de producir sustancias inhibitorias; por ejemplo, ácido fórmico, peróxido de hidrógeno, di acetilo y antibióticos. Esta actividad dependerá de la cantidad y viabilidad del inóculo y la ausencia de fagos y antibióticos.

- Las temperaturas de procesamiento, maduración y almacenamiento de los quesos. (GARCÍA, M. et al, 2004. p. 192).

1.2.6.5. *Salmonella*

SANCHIS, Vicente *et al.* (1997. p. 73), señalan que las salmonelas son microorganismos de la familia de las Enterobacteriaceae, generalmente móviles a excepción de los serotipos de aves. Tienen forma de bastoncillos, son GRAM negativos, fermentan la glucosa, el manitol y el sorbitol. La mayoría son lactosa negativa. Son patógenos para el hombre y los animales de sangre caliente, y principalmente son responsables de las fiebres entéricas y de toxiinfecciones alimentarias.

Las salmonelas se multiplican libremente en la leche, en cambio en los productos lácteos adicionados de gérmenes lácteos, se afecta su sobrevivencia. Su desarrollo se inhibe con temperaturas menores de 7°C, pero sobrevive aún a temperaturas de congelación, no resiste la pasteurización. (OLIVAS, Evangelina & ALARCÓN, L., 2004. p. 87).

1.2.6.6. *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes es un bacilo GRAM positivo, que crece a temperaturas de 1 a 45 °C, con temperatura óptima de 30 a 37 °C; tiene la habilidad de soportar temperaturas de refrigeración y es capaz de desarrollarse a pH de 4,4 a 9,6. Además esta bacteria crece en concentraciones altas de cloruro de sodio (15 %). Es un microorganismo ambiental que tiene la facultad de pegarse a las superficies, formando biopelículas para protegerse de la acción de los tratamientos antimicrobianos. Dentro del ambiente de fábrica de producción de alimentos, tiene la posibilidad de contaminar en sus diferentes etapas, siendo esta vía la más habitual para llegar al ser humano.

Los alimentos considerados de alto riesgo para contraer listeriosis son los listos para el consumo, es una categoría amplia de alimentos que no van a tener ningún proceso de cocción antes de su consumo, entre estos tenemos leches, derivados lácteos con gran contenido de grasas, como quesos frescos, mantequillas, cremas, crustáceos cocidos, productos de mar crudos

y ahumados, vegetales, frutas ácidas y otros. La listeriosis, se sitúa entre las enfermedades transmitidas por alimentos de mayor relevancia en la salud pública, debido al impacto social y económico que tiene por la gravedad de su cuadro clínico. (MUÑOZ, Ana *et al.*, 2008. p. 429).

La *Listeria monocytogenes* es uno de los microorganismos más problemáticos en cuanto a las contaminaciones post-tratamiento en muchos productos lácteos como el queso fresco o poco madurado. Debido a su ubicuidad son muchas las posibles fuentes de contaminación en los ambientes de las plantas de procesado, incluyendo las cámaras de conservación. Su elevada resistencia ambiental y su carácter psicrótrofo contribuyen en gran medida a ello, aunque una de las principales fuentes de contaminación es la propia leche. Por ello es esencial aplicar un correcto plan de limpieza y desinfección, así como la realización periódica de controles ambientales y de superficies. (ARTUR, X., 2004).

1.2.6.7. Mohos y levaduras

De forma general son un grupo de hongos que se los conceptúa como vegetales del grupo de los *talofitas*, carentes de corno, con una estructura que puede ser unicelular o pluricelular, y caracterizados por la falta absoluta de clorofila y por ser filamentosos. Son organismos eucarióticos, miceliares, heterótrofos con nutrición por absorción y requieren de materiales orgánicos preformados como fuente de energía y esqueletos carbonatados para la síntesis celular.

Se da el nombre de moho a los hongos multicelulares filamentosos, dotados de un micelio verdadero, microscópicos y cuyo crecimiento en los alimentos se evidencia por su aspecto aterciopelado o algodonoso. La contaminación fúngica de los alimentos por mohos no sólo produce el deterioro, sino también infecciones debido a su potencial para producir micotoxinas (*Apergillus spp.*, *Penicillium spp.*, *Fusarium spp.*, etc.) a las que el hombre tiene susceptibilidad.

Las levaduras son hongos que crecen en forma de agregados sueltos de células independientes, que pueden ser globosas, ovoides, piriformes, alargadas o casi cilíndricas. Muchas de ellas presentan reproducción sexual por medio de ascosporas. Las levaduras forman colonias de aspecto característico similares a las colonias bacterianas y, a diferencia de los mohos las levaduras no se pueden identificar solamente por sus caracteres morfológicos, es necesaria las pruebas bioquímicas para la identificación específica. En cuanto al significado en la salud de los consumidores, la acción de las levaduras es meramente infectiva (*Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, etc.). (PASCUAL, ANDERSON M^a del Rosario & CALDERÓN, Vicente, 2000. pp. 142-143).

Las levaduras poseen determinadas características particulares que les permiten crecer y contaminar en alimentos de origen lácteo, entre ellas la fermentación/asimilación de la lactosa, producción de enzimas proteolíticas extracelulares, por ejemplo: lipasas, asimilación de ácido láctico y cítrico, crecimiento a bajas temperaturas y halo tolerancia. La leche se puede contaminar por levaduras después de la pasteurización, en la cual participan las especies *Cry. flavus*, *Cry. diffluens*, *Deb. hansenii* y *Kluyveromyces marxianus*. Inclusive en los quesos conservados en refrigeración, predominan especies de *Cry. albidus*, *Cry. laurentii*, *Rho. minuta*, *Rho. glutinis*, *Rho. rubra*; así como *Deb. hansenii* y *Ya. lipolytica*. En los quesos las levaduras dañinas actúan mediante producción de fructificaciones, sabores levaduriformes indeseables y una textura desagradable. Entre las características fisiológicas asociadas a los grupos de levaduras aisladas de quesos, están: actividad ureasa, alcalización, fermentación de la glucosa, crecimiento superficial, actividad esterasa y proteasa y resistencia a cicloheximida. (ORBERÁ, T., 2004).

1.2.6.8. *Aerobios mesófilos*

Se denominan aerobios porque son microorganismos dependientes de oxígeno y mesófilos porque son afines a temperatura media (30-37°C). En el recuento de microorganismos aerobios mesófilos se estima la flora total, pero sin especificar tipos de gérmenes. Esta determinación refleja la calidad sanitaria de los productos analizados, además de las condiciones higiénicas de la materia prima y la forma como fueron manipulados durante su elaboración. Un recuento total de aerobios mesófilos bajo no certifica que un alimento esté libre de patógenos o sus toxinas; tampoco un recuento alto simboliza, ineludiblemente, la existencia de flora patógena. Exclusivamente en productos que se elaboran por fermentación, donde altos recuentos microbianos se consideran poco aptos para la mayoría de los alimentos. Su presencia en los alimentos tiene varios significados, como:

- Materia prima excesivamente contaminada.
- Incorrectos métodos de manipulación durante la elaboración de los quesos.
- Por tratarse de microorganismos mesófilos, la posibilidad, de que entre ellos pueda haber patógenos, dado que esta flora suele ser mesófila.
- Altos recuentos suelen ser signo de inmediata alteración del producto. Tasas superiores a 10^6 - 10^7 gérmenes por gramo suelen ser ya inicio de descomposición. (PASCUAL, M^a del Rosario & CALDERÓN, Vicente, 2000. pp. 13).

Siendo la leche la principal materia prima para los quesos frescos, SANCHIS, Vicente *et al.* (1997. p. 120), señalan que el promedio del recuento total de organismos aerobios mesófilos por Orden de 11 de febrero de 1987 (B.O.E. 20-2-87), establece como máximo 1×10^5 UFC/mL.

1.2.7. Recuento bacteriano

Los tres procedimientos de recuento que en la actualidad se utilizan con mayor frecuencia en microbiología de los alimentos son el recuento de colonias (RC), la determinación por el número más probable (NMP) y las pruebas de presencia-ausencia (P-A). Los recuentos de colonias generalmente muestran un coeficiente de variación comprendido entre el 5% y el 20%, debido principalmente a la variabilidad intrínseca de los recuentos de colonias, originada por el hecho de que tanto las células aisladas como las cadenas cortas de células y los agregados de células dan origen a una sola colonia. El coeficiente de variación de los recuentos de UFC está integrado por factores incidentales en relación con el procedimiento empleado, es decir si utilizan: placas sembradas en todo el medio o por extensión en superficie; y un medio selectivo o un medio no selectivo. (MOSSEL, D.A.A. *et al.* 2003. pp. 388-390).

1.2.8. Vida útil del queso fresco

Según BELLO, J. (2000. p. 284), la vida media o vida útil de un alimento se define como el período de tiempo durante el cual resulta deseable el consumo de un producto alimenticio elaborado. Con ello, se quiere expresar el tiempo que tarda la calidad de un alimento en alcanzar niveles considerados inaceptables para su consumo. Al evaluarse el concepto de vida útil en términos de tiempos, significa que ha de tener un comienzo y un final:

- El principio temporal puede variar de acuerdo con el tipo de alimento a considerar; así, para los productos transformados se suele tomar como inicio el momento en que se da por concluida su fabricación.

- El final natural de este período es el momento de su consumo, a condición de haber permanecido siempre en el estado deseado hasta esa fecha. Nunca debe darse como punto final la compra del alimento, porque este hecho sólo representa el final del ciclo económico comercial, pero no el de su utilidad, para la que hay que contar con el casi obligado almacenamiento en el hogar. En consecuencia, el tiempo de duración de la vida útil de un producto alimenticio comercializado puede ser muy variable, según puedan incidir con mayor o menor intensidad todo un conjunto de factores, siempre vinculados a las circunstancias que acompañan a las distintas fases implicadas en el proceso alimentario: presentación, almacenado, transporte, distribución, venta y manipulación en el hogar. Entre todos ellos cabe destacar los siguientes:

- Estado físico del producto: concentrado, liofilizado, en polvo, etc.
- Composición química: contenido en agua, proporción de azúcar, sustancias conservantes, etc.
- Tecnología de conservación aplicada para su almacenado: refrigerado, ultra congelado, etc.

Cualquiera que sea la importancia adquirida por cada uno de estos factores, el envejecimiento del producto se suele manifestar por una serie de modificaciones fisicoquímicas (color, olor, sabor, etc.), que pueden ser debidas a reacciones entre algunos de sus componentes químicos ocasionadas por agentes de diversa naturaleza: luz, enzimas, materiales de contacto, temperaturas, etc.; o bien por algunas transformaciones debidas a la actividad metabólica de la proliferación microbiana. Todos estos fenómenos acarrearán una reducción de la calidad estable del producto, que tiene su reflejo en las propiedades intrínsecas del alimento: cualidades organolépticas, valor nutritivo e incluso inocuidad, por la posible formación de sustancias tóxicas. Los productos frescos no suelen ser sometidos a tratamientos orientados a eliminar cualquier riesgo consecuente a una posible actividad microbiana. Por ello, para prolongar su vida útil se deben respetar las estrictas reglas establecidas para su correcta manipulación. En cambio la industria alimentaria aplica para los productos transformados un proceso tecnológico que no solo tienen la finalidad de obtener alimentos con unas cualidades específicas y determinadas, sino también incrementar la duración de su estabilidad. (BELLO, J., 2000. p. 285).

Los estudios de vida útil para definir la duración de los alimentos son necesarios para no sub o sobre dimensionar el tiempo que realmente dura el producto. La vida útil de un alimento comprende el tiempo transcurrido entre la fabricación y el momento en que se presentan cambios significativos en él, que puedan generar rechazo en el consumidor final. Puede variar según el proceso de producción, la naturaleza del producto y el tiempo de almacenamiento, obteniéndose cambios a nivel microbiológico, sensorial y/o físico-químico. (VALENCIA, Francia *et al*, 2008. p. 29).

Predicción de la vida útil

Cuando se trata de productos elaborados, se pueden utilizar diversos parámetros para fijar la duración de este período de tiempo: uso de prototipos, pruebas de envejecimiento, análisis sensorial, muestreo en puntos de venta, etc. Así, partiendo de unos prototipos diseñados de modo conveniente se pueden llevar a cabo estudios de envejecimiento, que pueden ser realizados bajo dos modalidades: bajo tiempo real o bajo tiempo acelerado. Con ellos se pretenden verificar en qué momento se sobrepasan los valores normalizados para una serie de parámetros, que previamente han sido establecidos como definidores de la calidad aceptable. En los últimos años se han realizado numerosos trabajos para establecer métodos que permitan predecir la duración de la vida útil de un alimento, de acuerdo con todos los factores que pueden incidir sobre su calidad. Estos métodos de predicción se suelen basar en el estudio de los diversos mecanismos capaces de provocar alteraciones, así como de las velocidades a las que se desarrollan. En este sentido, resulta de gran relevancia el manejo del binomio temperatura-tiempo, que sirve de fundamento para una serie de indicadores usados en la actualidad por la industria alimentaria. (BELLO, J., 2000. p. 286).

A. Análisis sensorial

El análisis sensorial del queso está basado en evaluar distintos aspectos del mismo, como son la textura, el aspecto y el flavor. Se plantea por separado el análisis del flavor, constituido por olores, aromas y sabores, y la textura evaluando sensaciones kinestésicas, auditivas-táctiles y bucales. Para la evaluación del aspecto, fundamentalmente intervendrán dos sentidos, la vista y el tacto. (DELGADO, C., 2010).

A nivel sensorial, la vida útil en estantería de los alimentos depende de la aceptación, al interactuar el alimento con el consumidor. Por ello los consumidores son la herramienta más apropiada para determinarla. Cuando se realizan pruebas sensoriales, el número de muestras representa un punto crítico y se determina según el tipo de diseño experimental, sea básico o escalonado. En el diseño básico se almacena un lote de muestra en las condiciones seleccionadas y un muestreo en tiempos prefijados, mientras que en el diseño escalonado se almacenan diferentes lotes de producción en las condiciones seleccionadas a diferentes tiempos. (VALENCIA, Francia *et al*, 2008. p. 29).

En la evaluación de los quesos un aspecto importante, a veces difícil de separar de la textura propiamente dicha es el aspecto general, un el que cabe apreciar la forma tamaño y color de la pieza entera del queso y el aspecto de la superficie externa, que suelen ser características de cada tipo. Naturalmente esta es una fase previa a la degustación que permitirá apreciar tanto la textura como las características olfato-gustativas. (SANCHO, J., *et al*, 1999.p. 207).

Las sensaciones que se integran en el análisis sensorial de los quesos se aprecian en la Figura 1-2.

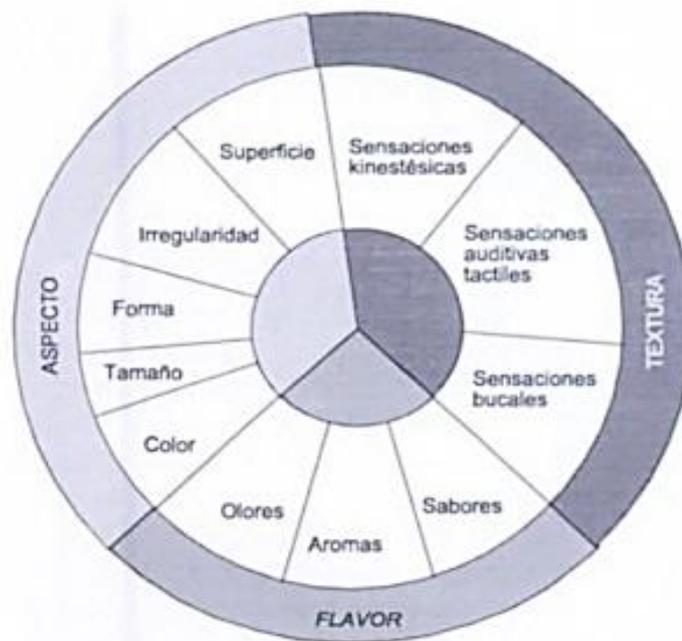


Figura 1-1: Sensaciones que se integran en el análisis sensorial de los quesos
Fuente: Sancho, J. *et al* 1999.

-Textura y cuerpo

El cuerpo y la textura de un determinado alimento afectan con mayor intensidad la percepción del sabor que el aroma y color de éste. El análisis de ambos parámetros incluye la utilización de descriptores de superficie: visuales y táctiles, además de mecánicos: elasticidad, firmeza, etc. Este atributo en quesos, es sinónimo de consistencia, por lo tanto, puede estar caracterizado mecánicamente por la elasticidad, firmeza, cohesividad, plasticidad, blandura, suavidad y otros. Las características mencionadas tienen relación con el grado de degradación de la proteína del queso, es decir la caseína, la cual se ve influenciada por una serie de factores del proceso, especialmente relacionados con el desarrollo de la acidez y las características de maduración. En cuanto a la textura, se evalúa la presencia o ausencia de ojos o agujeros en la masa de queso, este parámetro es de gran importancia, ya que constituye la primera propiedad en ser

considerada para los jueces o consumidores al evaluar una variedad específica. Según LAWRENCE, *et al* en 1987, al estudiar la relación entre el pH y el contenido de calcio en queso, con respecto a su textura, obtuvieron que el pH tiene un gran efecto sobre este parámetro, la variación de pH, está directamente relacionado con los cambios químicos de la proteína de la cuajada, a diferencia del contenido de calcio que no tiene asignado un rol determinante en este atributo sensorial. (BAZAES, M^a Elena, 2004. p. 29).

El procedimiento secuencial para apreciar la textura de los quesos una vez presentada la muestra es la siguiente: Mirar → Tocar → Morder → Deformar → Reducir → Tragar (SANCHO, J. *et al*, 1999.p. 208).

-Sabor y olor

El sabor de un alimento resulta de una serie de combinaciones de origen químico percibidas en la boca. Por otro lado, el aroma es la sensación recibida de los constituyentes volátiles que se desprenden de un alimento en la boca y que es percibida por el sistema olfatorio. El sabor y aroma de cualquier tipo de queso, resulta de la mezcla equilibrada de los compuestos presentes en la cuajada fresca y los originados de la degradación enzimática de uno o más constituyentes del queso durante la maduración. El olor es evaluado olfateando el centro de la muestra de queso, a su vez, el sabor se evalúa masticando pequeños pedazos, la sensación se percibe utilizando dos sentidos corporales simultáneamente: el gusto, detectado en la boca, principalmente en la lengua, y el olfato. Los cambios bioquímicos de la cuajada tales como glicólisis, proteólisis y lipólisis, producidos durante la maduración del queso, trae consigo la formación de componentes aromáticos, como ácidos grasos, aldehídos, cetonas, alcoholes, compuestos sulfurados, etc, que otorga las características de sabor y aroma de cada variedad. (BAZAES, M^a Elena, 2004. p. 27).

-Impresión global

SANCHO, J. *et al*. (1999.p. 212) señalan que al final de la cata, se tiende a sintetizar ciertas sensaciones, a menudo de órdenes diferentes, para conservar en la memoria una imagen única del producto. Esta imagen sensorial se origina con el empleo de los llamados descriptores de estado, que resumen todos o algunos de los atributos evaluados anteriormente. En el caso de los quesos, existen algunos de estos descriptores de estado referidos a la textura, que se utilizan con mucha frecuencia y de los cuales citamos algunos a continuación:

1. Cerrado/compacto: producto cuyos elementos constitutivos tienen cohesión y dejan poco espacio entre ellos.
2. Gomoso: producto cuya consistencia plástica se hace maleable bajo un cierto esfuerzo.
3. Pastoso: Adherente y débilmente harinoso a la vez.

4. Dúctil: que fácilmente se deja deformar varias veces, no recuperando completamente el estado inicial.
5. Grumosos: forma granos con la saliva cuando se le mastica.
6. Completivo: que forma granos durante la masticación, granos que funden mal y se dispersan por toda la boca.

B. Análisis microbiológico

La falta de calidad en los alimentos puede ser la consecuencia de cambios físico-químicos, enzimáticos o microbiológicos. Los microorganismos desempeñan un papel clave en la pérdida de calidad a través de las actividades de bacterias, hongos y levaduras pero también a través del crecimiento o supervivencia de especies patógenas. Por lo tanto, si se quieren obtener juicios confiables sobre la calidad del alimento, su vida útil y su seguridad, es necesario disponer de datos cuantitativos sobre los efectos de los factores que afectan el crecimiento, la supervivencia y/o la inactivación. (SICILIANO, M., 2010. p. 28).

El análisis microbiológico de los alimentos no tiene carácter preventivo, es una inspección que permite valorar la carga microbiana de un alimento. Se utilizan microorganismos indicadores porque cuyo número indica un tratamiento inadecuado o una contaminación posterior. (ALLAUCA, V., 2005. p. 50).

EGAS, L. (2006. p. 94), para el análisis microbiológico incluyó recuento de aerobios mesófilos (UFC/g), coliformes totales, mohos y levaduras el cual se realizó en el producto terminado almacenado en condiciones aceleradas y al ambiente; como indicadores para determinar la vida útil de un alimento.

C. Análisis físico-químico

Los factores específicos que afectan la vida útil son los intrínsecos como pH y acidez; y los extrínsecos como el procesamiento, higiene y manipulación de los alimentos.

- pH

El pH es otro factor básico en la preservación de alimentos, afectando la conformación de las proteínas, el camino de síntesis enzimática y los productos finales del metabolismo. El crecimiento y la supervivencia de los microorganismos están fuertemente influenciados por el pH y el contenido de ácidos orgánicos del alimento. Las bacterias requieren un rango de pH externo entre 4 y 9 para poder crecer, mientras que los hongos y las levaduras exhiben mayor tolerancia pudiendo desarrollarse en los rangos de pH externo 1,5-11,0 y de 1,5-8,0 respectivamente. Los quesos presentan problemas de vida útil en heladera asociados al hábito de

consumo (alimentos de abre y cierre) que provocan un deterioro prematuro por desarrollo de microorganismos. Estos productos pasteurizados poseen un pH relativamente elevado (5,1-6,2) y una actividad de agua óptima para el desarrollo microbiano. Numerosos estudios han establecido que el deterioro de los mismos depende de factores intrínsecos tales como variedad del queso, a_w , contenido de sal, pH y de factores extrínsecos, de los cuales los más importantes resultan la temperatura de almacenamiento y la contaminación post-pasteurización. (SICILIANO, M., 2010. p. 24,29).

Se considera como pH ideal del producto terminado valores entre 5,4 y 5,7. Este parámetro va aumentando durante la maduración del queso, como consecuencia de la liberación de ciertos aminoácidos básicos y NH_3 de la descomposición de proteínas y por descomposición de lactato. (BAZAES, M^a Elena, 2004. p. 17).

- Acidez

Según Pinho *et al* (2004), 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. Además de la acidez, la sinéresis está afectada también por circunstancias propias del proceso de elaboración y por la presencia de calcio libre, el cual provoca la unión de la caseína en la red proteica de la cuajada. (RAMÍREZ, C. & VÉLEZ J. F., 2012. pp.142-143).

Según DEL ANGEL MEZA, Alma Rosa *et al* (2013. pp. 55-56), el conocimiento y manejo de la a_w , ayuda a manipular la vida útil de los alimentos, a predecir los mecanismos de deterioro y determinar el nivel y tipo de protección que debe ser utilizado para lograr una mejor vida de anaquel. La actividad de agua es, el valor alcanzado por la humedad relativa (HR) de equilibrio del alimento, punto en donde no se gana ni se pierde agua. Como magnitud, la a_w expresa el agua no fijada que es por tanto la que permite el desarrollo de microorganismos en los alimentos.

1.2.9. Métodos para alargar la vida útil del queso fresco

Las técnicas de conservación de los alimentos han evolucionado de manera exponencial en los últimos años. En algunos casos, las nuevas tecnologías de conservación no solo permiten alargar la vida útil, sino que además son eficaces para mantener las características del alimento. La prevención del crecimiento de bacterias, hongos y otros microorganismos para un mejor almacenamiento y una mayor durabilidad de la vida útil se consigue a través de distintos métodos. La innovación en el campo de la conservación de alimentos es fundamental para alargar la vida útil de los alimentos. Gracias a los últimos avances en este campo, esto es posible sin que las características físicas y la composición química de los alimentos se vean comprometidas. (CHAVARRÍAS M., 2014).

1.2.9.1. El ahumado

El ahumado es una de las técnicas de conservación de alimentos más antigua, la cual descubre el hombre al dominar el fuego, observando que alimentos expuestos al humo en los hogares, no solo duraban más tiempo sin descomponerse, sino que además mejoraban su sabor. Consiste en exponer los alimentos a la acción del humo producido por la combustión lenta de trozos de leña, virutas o aserrín de madera, bajo la acción del calor desprendido por la combustión. El alimento se deseca y al mismo tiempo se impregna con los productos químicos del humo que le confieren al alimento una coloración particular, un aroma y sabor agradable. (RAMÍREZ, Betti *et al*, 2005. p. 3).

1.2.9.2. Tipos de ahumado

En la tabla 6-1 se muestran los tipos de ahumado y el material combustible que se necesita para generar humo.

Tabla 6-1: Tipos de ahumado

Ahumado frío	Ahumado húmedo	Ahumado en caliente	Ahumado muy caliente
12-18°C Virutas	Hasta 29°C Gas, virutas humedecidas o humo con vapor de agua	Hasta 50°C Virutas y leña o gas	60-100°C Virutas y madera o gas
Cámaras y estantes de ahumado		Torres y celdas de ahumado	

Realizado por: Cristina Salguero
Fuente: MORENO, E., 2003

1.2.9.2.1. Ahumado en caliente

El ahumado en caliente se refiere a la exposición del alimento a la acción del humo cerca del foco de combustión, se le somete así a una temperatura elevada que puede ser de 60 °C en adelante. En estas condiciones la operación es rápida y puede durar entre 30 – 60 minutos, el producto no solo es ahumado sino también cocido, lo que permite que se le consuma inmediatamente; es decir, su tiempo de vida útil no va a ser muy prolongado y su sabor a humo va a ser muy ligero y suave. (RAMÍREZ, Betti *et al.*, 2005. p.9).

1.2.9.2.2. Ahumado en frío

Consiste en exponer el alimento que se pretende ahumar lejos del foco de combustión, sin sobrepasar la temperatura comprendida entre 30 a 40 °C. Esta operación puede durar de 4 a 8 horas, inclusive varios días o semanas, dependiendo del tamaño del producto que se ahúma, la cantidad de las piezas, la deshidratación que se desee dar y, por ende, la textura que se quiere obtener. (RAMÍREZ, Betti *et al.*, 2005. p.9). Vale resaltar que a mayor deshidratación mayor durabilidad del producto, ya que se elimina el agua existente en el alimento, evitando dar lugar al crecimiento de ciertos organismos.

1.2.9.3. *Material combustible*

Para elaborar productos de buena calidad se utiliza como combustible aserrín y viruta de maderas duras, y en muchos casos la combinación con aserrín de árboles frutales, marlo de choclo, cáscaras de frutas desecadas o diferentes plantas aromatizantes (laurel, orégano). El combustible es un elemento productor de calor y de humo. El humo aporta aromas y sabores atractivos al producto, proporcionándole, además, el color dorado característico y un efecto preservativo del cual son responsables sustancias que forman parte de su composición. En general, las maderas duras brindan el sabor y olor deseados pero dan poco color, en tanto que las maderas blandas otorgan un color profundo pero incorporan sabores resinosos. (FERNÁNDEZ, Sonia *et al.*, 1995. p. 9-10).

1.2.9.4. *Composición química de la madera*

La composición elemental de la madera es prácticamente idéntica en las diferentes especies leñosas. Se puede generalizar que las maderas contienen aproximadamente un 50% de carbono, 6% de hidrógeno y el 43% de oxígeno. El 1% restante está compuesto por nitrógeno y elementos minerales. Estos elementos químicos se agrupan en compuestos de sostén o almacén,

llamados holocelulosas; compuestos de cementación denominados lignina, y en sustancias de impregnación tales como resinas, terpenas, ceras y otras sustancias minerales. (ZANNI, E., 2008. p. 31).

La distribución en la madera de los compuestos mencionados se observa en la tabla 7-1.

Tabla 7-1: Composición química de la madera.

COMPONENTE	PORCENTAJE
Holocelulosas	38
Celulosas	22
Hidratos de carbono	12
Coligados	72
Lignina	22
Sustancias de impregnación	6

Realizado por: Cristina Salguero
Fuente: ZANNI, E., 2008

Celulosa: es un polímero lineal insoluble en agua, formado por unidades de celobiosa, de fórmula empírica $(C_6H_{10}O_5)_n$, pudiendo ser superior a 1500. La celobiosa contiene en si el principio de la disposición helicoidal que aparece continuamente en la estructura sub microscópica de la pared celular, de forma que el resto de la glucosa puede llevarse a coincidir con el resto mediante un giro de 180° y una traslación igual a su longitud.

Hemicelulosa: son polímeros carbohidratados de fórmula empírica $(C_5H_8O_4)_n$ y $(C_6H_{10}O_5)_n$ llamados respectivamente pentosanos y hexosanos, que sirven como sustancias de sostén o de reserva y que son insolubles en agua. Los pentosanos se diferencian de la celulosa en que carecen del grupo $-CH_2OH$, y los hexosanos en su menor peso molecular, siendo ambos más fácilmente hidrolizables que la celulosa con ácidos diluidos y de mayor solubilidad en los álcalis que aquella. Las hemicelulosas al contener grupos $-OH$ son también hidrófilas y adherentes a las colas y barnices que posean grupos polares.

Lignina: polímero tridimensional, amorfo y con cadenas ramificadas, compuesto de unidades de fenil-propano. Su estructura no ha sido establecida aún de forma definitiva, pero posee grupos $-OH$ capaces de fijar agua, aunque en proporción muy pequeña. La lignina es prácticamente impermeable y protege al resto de la estructura de la pared celular a la que da rigidez y le proporciona su resistencia a la compresión. (ZANNI, E., 2008. p. 32).

1.2.9.4.1. Roble

La madera de roble alcanza alturas de hasta 40 m y diámetros de 3m. Tiene albura blanca y duramen rojizo, con anchos diarios medulares y el conjunto adquiere una coloración parda clara. Es dura, resistente, tenaz, densa, poco alterable y de labra fácil. Es la madera que mejor resiste las alternativas de sequedad y de humedad. Admite buen pulimento. (CONSTRUMATICA, 2016)

Albura de color café amarillento o rosado, transición gradual a duramen de color café claro a rosado. Límites de anillos de crecimiento poco marcados. Hilo recto a ligeramente entrecruzado; textura mediana, superficie algo lustrosa; madera seca sin olor o sabor distintivos. Presenta un característico veteado plumoso muy atractivo en las caras tangenciales (RICHTER, G. 2012).

En la tabla 8-1 se describen los compuestos aislados del humo por pirólisis del roble.

Tabla 8-1: Aromas de ciertos compuestos aislados del humo por pirólisis del roble.

FAMILIA DE COMPUESTOS	ALGUNOS COMPUESTOS	OLOR DE LOS COMPUESTOS
Furanos	Furfural	Dulce de pino caramelizado
	5-metil furfural	Dulce de especias o de caramelo ligeramente calentado
	2-acetil furano	Dulce perfumado
Alcoholes y ceto alcoholes	Alil alcohol	Cebollino
	Amil alcohol	Cebollino
	Propano 2 ona 1 ol	Cebollino
Esteres	Metil butirato	Floral
	Acetol acetal	Floral
Ácidos	Acético	Acre
	Propiónico	Acre
	Butírico	Rancio
	Valérico	Rancio
Lactonas	1 butiro lactona	Quemado ligeramente amargo
	2 butenólido	Quemado ligeramente amargo
	2 metil butenólido	Dulce de caramelo
	4 metil butenólido	Ahumado y quemado
Carbonilos	2 ciclo pentanona	A patata
	2 metil ciclo pentanona	A hierba y amargo
	3 metil ciclo penta 1-2diona	Dulce de caramelo
	3-4 dimetil ciclo penta 1-2 di ona	Dulce de caramelo
	Aceto fenona	Dulce de flores
Fenoles	Fenol	Acre y picante
	Cresol	A cresol
	Guayacol	Dulce y ahumado
	Siringol	Ahumado

Fuente: MORENO, E., 2003

1.2.9.4.2. Laurel

Laurus nobilis, laurel o lauro es un arbusto o árbol perenne de hasta 15 m de alto, perteneciente a la familia de las lauráceas, a la que da nombre. Es originario de la zona mediterránea y sus hojas son utilizadas como condimento en la cocina. Otros nombres con los que es conocido son: laurel común, del palo, laurel americano paleño o laurel de cocina, el rústico. (NANGELI, L. 2013).

El laurel es una especie nativa de los bosques primarios y secundarios de la Costa y Amazonia ecuatorianas. Se distribuye de México a Ecuador, Perú, Bolivia, Brasil. Dentro de las propiedades organolépticas de la madera, la textura es fina y homogénea, tiene un olor agradable a caña dulce, sabor ausente, no distintivo y tiene una alta durabilidad natural. La madera es moderadamente durable a durable en contacto con el suelo. (VINUEZA, Marco. 2012).

1.2.9.4.3. Descomposición térmica de la madera

La combustión clásica de la madera se desarrolla en dos etapas. Una primera fase de destrucción térmica de las partículas de la madera, que se produce en ausencia de oxígeno atmosférico, libera materiales volátiles y carbón. En esta etapa la deshidratación es total y la temperatura se eleva hasta 300-400°C; es en este momento cuando aparece el humo. La segunda fase está marcada por la oxidación de los constituyentes del humo en presencia del aire atmosférico. Esta zona se visualiza por la formación de llama y alcanza temperaturas superiores a 900°C. (MÔLER, K., 1980. p. 10).

El resultado final de la pirólisis puede equiparse al de la suma de las descomposiciones térmicas de los componentes por separado. La celulosa se desdobla primero en glucosa por hidrólisis y se convierte en 1,6-dehidroglucosa por deshidrogenación. Posteriormente se forma en seguida ácido acético como producto final; además se producen pequeñas cantidades de furanos y fenoles. La hemicelulosa resiste muy poco el calor, y en descomposición rápida, suministra derivados del furano y ácidos carboxílicos alifáticos. Estos son los productos preferentes del desdoblamiento de los pentosanos. Por eso la proporción de ácidos en las leñas duras es generalmente más alta que en las blandas. La escisión de las hexosas puede producirse de forma análoga a la de la celulosa es decir esencialmente ácido acético. La lignina es un componente de la leña que suministra la aportación más importante al aroma del humo. De la fórmula se deducen los mecanismos de desdoblamiento aplicables a los anillos heterocíclicos, pero conservando su estabilidad los bencénicos. Así se originan, por ejemplo, el guayacol y sus homólogos por escisión del anillo I del pirano (Ver figura 2-1). Los fenoles resultan de un

número menor de sustituciones. Si existen largas cadenas en posición *para* respecto al grupo fenólico OH, como en el sistema cíclico II, se origina fenoles para-sustituidos, como es el caso del ácido ferúlico, cuyo desdoblamiento térmico se ha estudiado con detalle. Como indica la fórmula, se forman un gran número de componentes del aroma (MÔLER, K., 1980. p.13).

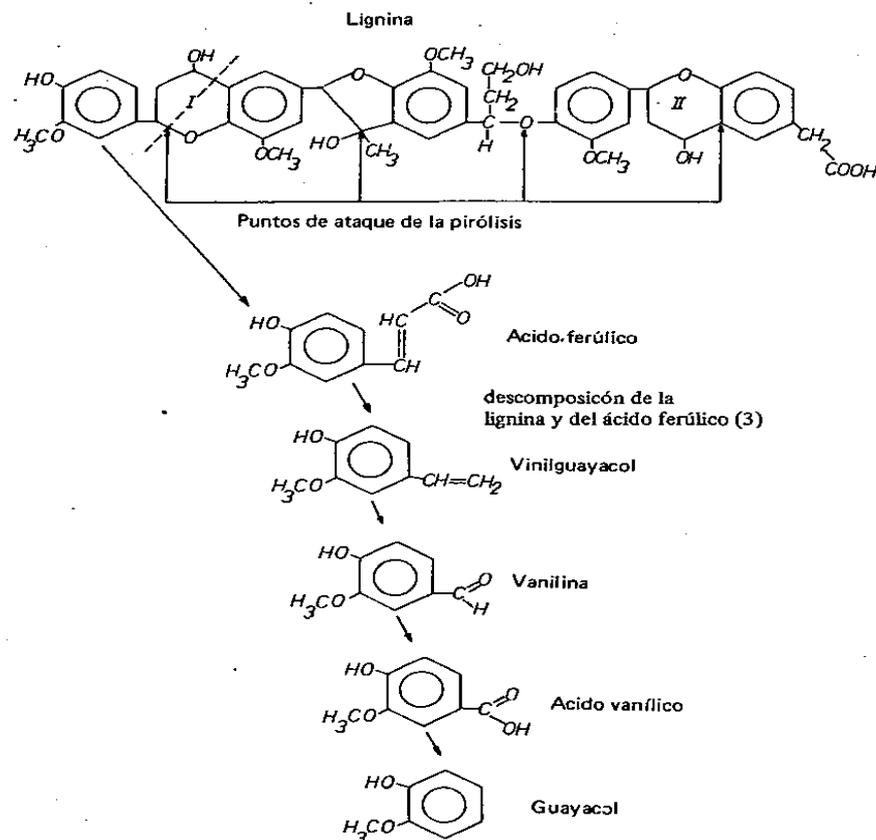


Figura 2-1: Descomposición de la lignina por pirólisis

Fuente: MÔLER, K., 1980

1.2.9.5. Humo

La combustión completa de la madera conduce a la formación de gas carbónico, agua y cenizas, la combustión incompleta lleva a la formación del humo; este último es el resultado de reacciones de descomposición (oxidación, polimerización, condensación) muy compleja a partir de los tres constituyentes esenciales de la madera: celulosa, hemicelulosa y lignina. El humo puede definirse como una mezcla de aire y gas en las que hay partículas dispersas de diverso tamaño. Los componentes del humo pueden presentar todos los estados de agregación, desde el gaseoso al sólido pasando por el líquido. Tilgner en 1967, estima que la proporción de la fase gaseosa invisible es el 10% de los componentes del humo y la de las partículas dispersas, que

son las que confieren al mismo sus propiedades ópticas por dispersión de la luz, en el 90%. (MÔLER, K., 1980. p. 15).

1.2.9.5.1. Composición química del humo

Entre los componentes más importantes se encuentran:

- Fenoles: alrededor de 45 han sido identificados en el humo. El 50% de la fase fenólica la forman el guayacol, siringol, 4-metil guayacol y cresol. La cantidad de fenoles aumenta a medida que lo hace la cantidad de oxígeno disponible para la combustión.
- Ácidos orgánicos: se encuentran principalmente en la fase gaseosa del humo y son ácidos simples de cadena corta, ácido fórmico, acético, propiónico, butírico, isobutírico. Los ácidos de cadena larga se encuentran en la fase de partículas y son: Valérico, iso Valérico, caprílico.
- Compuestos carbonílicos: son los constituyentes más numerosos del humo: acetona, 2-butanona, 3-pentanona, 3-metil-2-butanona, 2-furfural, 5-hidroximetil-2-furfural, metanol, propanol, butanol. Se los encuentra principalmente en la fracción destilable del humo.
- Alcoholes: el más común es el metanol; por eso, se le denomina alcohol de madera.
- Hidrocarburos aromáticos poli cíclicos: son muy numerosos en el humo, pero poco importantes en cuanto a su concentración en el pescado ahumado, solamente el 3-4 benzopireno y el di benzantraceno despiertan la atención por su posible efecto cancerígeno. Los valores de estas sustancias se reducen a temperaturas de combustión inferiores a 450°C, por lo que sus concentraciones en el pescado ahumado varían de acuerdo con la técnica de ahumado utilizada. Estudios realizados en diferentes tipos de pescado ahumado, indican que los valores más elevados no superan 1ppb, valor máximo admitido por la Organización Mundial para la Salud (OMS). (FERNÁNDEZ, Sonia *et al.*, 1997).

1.2.9.5.2. Reacciones de los componentes del humo con el producto ahumado

- Coloración: MÔLER, K. en 1980, señala que el color conferido por el humo es debido primeramente a la sedimentación de sustancias colorantes. Se trata principalmente de productos volátiles del grupo de los fenoles, los cuales experimentan además unos oscurecimientos por polimerización u oxidación. La superficie absorbe también sustancias procedentes de los carbohidratos. Las más importantes son el furfural y sus derivados. La causa principal de su coloración reside en las reacciones químicas de la superficie del alimento con sustancias pertenecientes al grupo de los carbonilos, reacciones conocidas como empardecimiento enzimático de Maillard. La intensidad y conservación del color depende de muchos factores, como de la proporción acuosa de la superficie, del pH del sustrato y del grado y duración del calentamiento.

- Aromatización: el aroma como el sabor no depende solamente de los componentes del humo, ni de también de sus reacciones con el sustrato. Las proteínas son las sustancias que participan en primer término en esas reacciones. De los componentes del humo los que reaccionan son los carbonilos (metil glioxal, dioxiacetona, diacetilo, furfural e hidro metil furfural). Después lo hacen los fenoles, particularmente la hidroquinona, el pirogalol y las catequinas. (MÔLER, K., 1980. p. 38).

Si los compuestos fenólicos son de primera importancia, parece que ellos solos no pueden conferir un aroma satisfactorio a los productos y que la presencia de compuestos carbonílicos, de lactonas y de furanos les complementa armoniosamente. De las lactonas el 4 metil butenólido le confiere el olor a ahumado. De los fenoles es el siringol (MORENO, E., 2003, pp.21).

Según TOTH la importancia de los diferentes compuestos es la siguiente como se muestra en la tabla 9-1.

Tabla 9-1: Influencia de los componentes del humo sobre las características organolépticas

Modo de acción	Tipos de componentes
Sobre la conservación a)acción antimicrobiana	Aldehídos (formaldehído) Ácidos (acético, fórmico) Fenoles
b)acción antioxidante	Fenol, fenol aldehídos y ácidos
Sobre el aroma	Fenoles (guayacol, siringol) Compuestos carbonílicos Lactonas
Sobre el color	Compuestos carbonílicos Formaldehído
Sobre la textura	Aldehídos, formaldehídos

Realizado por: Cristina Salguero
Fuente: MORENO, E., 2003

1.2.9.5.3. Propiedades antioxidantes del humo

Es una reacción indirecta de los componentes del humo, especialmente de los fenoles. Se producen preferentemente en la fase de partículas del humo. Por eso la acción antioxidante depende casi exclusivamente de ellas. Si se preparan por filtración electrostática, la fase gaseosa no ejerce apenas acción antioxidante. Según Daun y Tilgner en 1976, la temperatura de combustión no tiene ninguna influencia sobre la capacidad antioxidante del humo. En cambio, se origina una reducción cuando la temperatura sube entre la zona de combustión y el producto ahumado. En este caso es probable que se oxiden en gran parte los mismos fenoles, sobre todo los muy activos con grupos adicionales carbonilos o carboxílicos. (MÔLER, Klement, 1980. p. 39).

Actúan como antioxidantes porque tienen la propiedad de impedir o retardar el enranciamiento de las grasas, ya que actúan eliminando el oxígeno, captando los radicales libres o formando complejos. (AMERLING, C.).

1.2.9.5.4. Propiedades bacteriostáticas del humo

Además de impartir un sabor agradable, el ahumado tiene un marcado efecto conservador, que es en parte debido a la absorción de sustancias bactericidas a partir del humo. Jensen (1954) sostiene que el ahumado ejerce una acción conservadora definitiva producida por aldehídos, fenoles y ácidos alifáticos. Durante la operación las capas superficiales del producto se impregnan con estos constituyentes bactericidas del humo y las bacterias no esporuladas se destruyen en gran cantidad. Las contaminaciones subsiguientes se controlan en cierta extensión por la acción conservadora residual de las sustancias bactericidas absorbidas; la presencia de sal y la deshidratación que ocurre durante el ahumado contribuyen también a conservar las propiedades de los ahumados. La acción micostática de los constituyentes del humo de madera no es muy pronunciada, siendo los productos ahumados más susceptibles a la alteración por los mohos que por las bacterias. (MORENO, E., 2003.p.17).

En las investigaciones realizadas por FERNÁNDEZ, Sonia *et al*, en 1995, la fracción fenólica del humo de madera es la que posee la mayor acción en la inhibición del crecimiento bacteriano. Los más activos son los fenoles de más bajo punto de ebullición. Se ha observado que el *Staphylococcus aureus* se inhibió con el agregado de humo que contenía fracción fenólica. Se ha comprobado el efecto bacteriostático del humo, comparando la población bacteriana de pescado ahumado y no ahumado. El efecto principal se da al prolongar la duración de la fase de latencia en forma proporcional a su concentración en el producto.

1.2.9.6. Estructura del ahumador

Según RAMÍREZ, Betti *et al* (2005), describen al ahumador artesanal como un equipo para ahumar alimentos, que se construye con materiales de fácil adquisición como metal, ladrillo, adobe, bahareque o de la combinación de éstos. El ahumador consta de cuatro partes fundamentales, que van a determinar el buen funcionamiento del mismo, en la figura 3-1, se muestra la estructura general de un ahumador artesanal con sus partes:

- Quemador: Es la cámara donde se coloca el aserrín o material combustible para su posterior combustión, esta sección debe estar provista de pequeños orificios que permitan la alimentación de oxígeno, para mantener la producción de fuego.

- Ducto Transportador de Humo: Es sencillamente un canal que va a dirigir el humo producido en el quemador hasta la cámara contenedora de humo y materia prima. Durante su recorrido por este ducto, el humo disminuye un poco su temperatura (en el caso de ahumado en frío).
- Cámara Contenedora de Humo y Materia Prima: Es una cámara donde se coloca la materia prima que se pretende ahumar, puede estar dividida por niveles mediante la inserción de parrillas metálicas (fijas o móviles), o también estar provista de colgaderos horizontales (en forma de varillas). Se recomienda colocar una rejilla metálica fina por encima del quemador para ahumar en caliente, para retener las cenizas que se desprenden en la combustión.
- Chimenea o Salida: Es un orificio ubicado en la parte superior externa de la Cámara Contenedora de Humo y Materia Prima. Actúa como regulador de temperatura y purificador del humo, ya que permite la circulación continua del mismo. Sirve como acceso para introducir el termómetro y verificar la temperatura del contenedor.

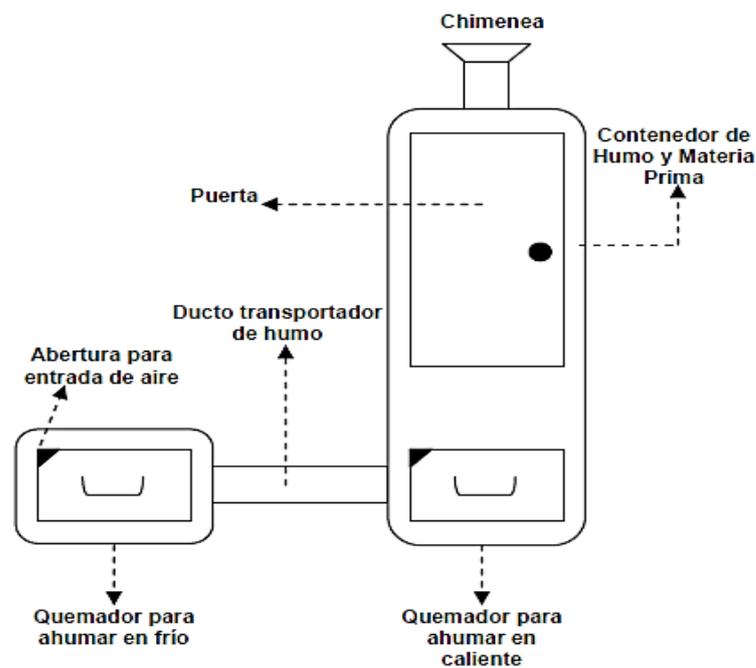


Figura 3-1: Gráfico de las partes de un ahumador artesanal.
Fuente: RAMÍREZ, Betti *et al.* 2005

1.2.10. Pruebas de aceptabilidad

Las pruebas de aceptación también se conocen como de nivel de agrado (hedónicas). Son un componente valioso y necesario de todos los programas sensoriales. Se emplean para determinar el grado de aceptación de un producto por parte de los consumidores y según su tipo permiten medir cuánto agrada o desagrade dicho producto. La aceptabilidad de un producto generalmente

indica el uso real del producto (compra y consumo). Para determinar la aceptabilidad de un producto se pueden usar pruebas de ordenamiento, escalas categorizadas y pruebas de comparación pareada. (RAMÍREZ, J., 2012. p. 90).

1.2.10.1. Prueba de ordenamiento

En esta prueba se les pide a los analistas que ordenen las muestras codificadas, con base a su aceptabilidad. Usualmente, no se permite la ubicación de dos muestras en la misma posición. Para esto se entregan a cada panelista tres o más muestras en recipientes idénticos, codificados con números aleatorios de tres dígitos. Todas las muestras se presentan simultáneamente, en un orden balanceado o en un orden aleatorio. En esta prueba es posible saborear las muestras más de una vez. Los datos se analizan, sumando el total de los valores de posición asignados a cada muestra y determinando las diferencias significativas entre muestras comparando los totales de los valores de posición de todos los posibles pares de muestras utilizando la prueba de Friedman. (RAMÍREZ, J., 2012. p. 90).

1.2.10.2. Prueba de preferencia pareada

En esta prueba se presenta al panelista dos muestras codificadas y se le pide que escoja la que prefiere y para que sea más representativa se le puede pedir que exponga sus razones sobre la decisión tomada. Para este tipo de pruebas se requiere de por lo menos cincuenta panelistas. Entre las ventajas de aplicar esta prueba tenemos: es fácil de organizar, no produce fatiga en el panelista, es fácil de realizar, el análisis estadístico es rápido y no requiere repetición. (HERNÁNDEZ, E., 2005).

1.2.10.3. La degustación

Degustar un alimento es probarlo con la intención de valorar su calidad organoléptica global en función de un modelo psicológico y real establecido a priori, con la posibilidad de que el modelo sea diferente según el lugar dónde se ensaye. En francés, “déguster” significa probar un alimento o bebida para apreciar su calidad, pero también es sinónimo de “savourer”, que significa saborear o apreciar con el sentido del gusto. En castellano el término catar está reservado para el examen organoléptico, y es sinónimo del término catalán “tastar”, muy similar al verbo en inglés “to taste”. El degustador es una persona seleccionada y entrenada para valorar

sensorialmente (apreciar el gusto, color, textura, etc), un alimento según unos modelos preestablecidos. Los degustadores o catadores (cata, palabra de origen griego que significa prueba), expresan su opinión de forma preferentemente numérica para cada variable estudiada, en función de un patrón ideal, según un escalado, o bien por medio de respuestas a preguntas determinadas. La reunión de los datos de un grupo de degustadores, ha de permitir el manejo estadístico de estos valores al objeto de determinar el grado de certeza en la igualdad o diferencia de los productos comparados. (SANCHO, J. *et al*, 1999.p. 28).

Se puede considerar que hay tres tipos de degustación: analítica, técnica y hedónica.

La degustación analítica tiene por finalidad separar, ordenar y finalmente dentro de lo posible, identificar las impresiones dominantes. Es la interpretación de un conjunto de sensaciones que se perciben simultánea o sucesivamente.

La degustación técnica, pretende juzgar las cualidades comerciales del producto, siendo exclusiva y eliminatoria, ya que debe apreciar los defectos, conociendo su causa. Tiende a la objetividad y el catador debe rellenar un cuestionario punto por punto. El placer o la satisfacción no tienen lugar en ella, si no es como punto final o remate de la valoración. Por esto, las condiciones de la degustación deberán ser aquellas que permitan o faciliten la apreciación de los objetivos buscados.

La degustación hedónica, persigue el placer de comer o beber, desea extraer la quintaesencia del producto, para lo cual se le colocará en las mejores condiciones posibles. Se trata de comer o beber inteligentemente, o sea aprovechar todo lo que el producto puede ofrecer al catador. (SANCHO, J. *et al*, 1999.p.29).

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1. Lugar de la investigación

La mencionada investigación se realizó en las siguientes instituciones:

1. Quesera “El Tablón”, ubicada en la provincia de Cotopaxi, en el cantón Pujilí.
2. En los Laboratorios de Bromatología y Bioquímica; y el Laboratorio Clínico de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
3. Colegio Regional de Ingenieros en Alimentos (CRINAL), ubicado en la ciudad de Ambato, provincia de Tungurahua.

2.2. Unidad experimental

En la presente investigación se utilizaron 15 unidades experimentales separadas en 5 tratamientos con 3 repeticiones. El tamaño de la unidad experimental fue de 0,11 kg de queso fresco y 0,11 kg de queso ahumado.

2.3. Materiales, equipos y reactivos

2.3.1. *Materia Prima*

Leche de vacas raza Holstein obtenida bajo buenas prácticas de ordeño mecánico en la finca “El Tablón”.

2.3.2. *Para elaboración del queso fresco ahumado*

A. Materiales

- Olla pasteurizadora (acero inoxidable)
- Mesa de moldeo (acero inoxidable)
- Prensa manual
- Termómetro

- Moldes de plástico
 - Tela de filtrado
 - Lira
 - Mallas de plástico
 - Tina de salmuera
 - Aserrín de roble
 - Aserrín de laurel
- B. Aditivos
- Cuajo líquido
 - Cloruro de Calcio
 - Cloruro de Sodio (sal en grano)
- C. Equipos
- Ahumador artesanal

2.3.3. Análisis físico-químico

- A. Materiales
- Erlenmeyer 100mL
 - Balones aforados 100mL
 - Vaso de precipitación 500mL
 - Probeta 50mL
 - Bureta 25mL
 - Pipeta graduada 10mL
 - Mortero y pistilo de porcelana
 - Embudos
 - Soporte universal
 - Trípode
 - Varilla de vidrio
 - Espátula
 - Papel filtro
 - Malla de asbesto
- B. Reactivos
- Fenoltaleína
 - Hidróxido de sodio 0.1%
 - Agua destilada
- C. Equipos

- Estufa
- pH-metro
- Balanza analítica
- Reverbero

2.3.3. Análisis microbiológico

A. Materiales

- Bolsas plásticas estériles
- Espátula
- Frascos de vidrio 500mL
- Micro pipeta 1000µL
- Puntas plásticas azules
- Tubos de ensayo con tapa 10mL
- Gradilla
- Lámpara de alcohol
- Algodón
- Probeta 250mL

B. Reactivos

- 3M Placas Petrifilm™ para *E. coli* y Coliformes Totales
- 3M Placas Petrifilm™ para Enterobacterias
- 3M Placas Petrifilm™ para Levaduras y mohos
- 3M Placas Petrifilm™ para Aerobios mesófilos
- 3M Placas Petrifilm™ para *S. aureus*
- Agua peptonada 0,1%
- Agua destilada
- Alcohol potable

C. Equipos

- Cámara de flujo laminar
- Autoclave
- Incubadora a 35°C
- Incubadora a 25°C
- Balanza analítica

2.4. Métodos y técnicas

La determinación del efecto del ahumado sobre el queso fresco se llevó a cabo en dos etapas, en la primera se probó dos materiales para ahumar, el aserrín de roble y de laurel, dos tiempos de ahumado (30 y 60 minutos), la mezcla de aserrín de laurel y viruta de roble con un tiempo de 45 minutos; se escogió el tratamiento que le proporcionó las mejores características organolépticas (color, aroma, sabor y textura) mediante la aplicación de un análisis sensorial de aceptabilidad a un grupo de 16 panelistas semi entrenados. La segunda etapa consistió en la determinación de la vida útil del queso ahumado con mayor aceptación mediante un análisis sensorial (aspecto interno, externo), análisis físico-químico (pH, acidez) y análisis microbiológico (Enterobacterias, *E. coli*, coliformes, aerobios mesófilos, *S. aureus*, mohos y levaduras) a los 0, 10, 20, 30 y 40 días de almacenamiento en refrigeración.

2.4.1. Elaboración del queso fresco ahumado

El proceso de elaboración del queso fresco ahumado se detalla en la Figura 5-2.

A. Recepción de la leche cruda: se realizó el control de calidad de la leche, utilizando las siguientes pruebas densidad y acidez, se escogió leche fresca de buen color y olor.

B. Filtrado: se higienizó la leche mediante filtración con un cedazo antes de pasteurizar para eliminar materias extrañas como pelos, piedras, etc.

C. Pasteurización: se pasteurizó la leche calentándola hasta 65°C por 15 minutos, tratamiento que permite inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos. Una vez que la leche alcanzó los 65°C se procedió al enfriamiento hasta alcanzar la temperatura de 40°C.

D. Adición de cloruro de calcio: se añadió cloruro de calcio 50% de 20mL por cada 100 litros de leche a una temperatura de 40°C. Esto permite recuperar el calcio alterado en la pasteurización. Además facilita la coagulación dando mejor firmeza al coágulo y facilitando la salida del suero.

E. Adición de fermento láctico: El fermento se agregó a la leche previamente disuelto en un poco de leche templada en una dosis de una punta de un cuchillo o la cucharilla dosificadora (0,1g aproximadamente) para 2 litros de leche. Se esperó una hora antes de añadir el cuajo. Esta operación tiene por objeto la producción de ácido láctico a partir de la lactosa de la leche, por acción de las bacterias del fermento láctico.

F. Adición del cuajo: Se cuajó la leche a 38°C, para esto se midió la cantidad de cuajo a adicionar según el volumen de leche y se añadió de 5-7mL de cuajo por cada 100L de leche. Se agitó suavemente por un minuto impidiendo la formación de espuma y se dejó en reposo por 30 minutos para que el cuajo actuara, durante la coagulación se debe mantener la temperatura de 38°C porque si se enfría los granos resultan de tamaño irregular y se producirán pérdidas de caseína.

G. Corte de la cuajada: La cuajada adquirió un aspecto como de una gelatina, de color blanco. Se encontró lista para cortar, cuando se notó lo siguiente: al levantar la cuajada con el dedo se partió limpiamente, sin grietas ni adherencias. La cuajada junto a la pared de la olla se despegó al presionarla con la palma de la mano, además al colocar la paleta plástica sobre la cuajada se pudo quitar sin que se adhiriera. Se realizó el corte de la cuajada con mucha delicadeza para evitar pérdidas por granos muy pequeños y por la salida de la grasa, la cual al pasar al suero cambiará su color de verde amarillento a una coloración blanquecina, se introdujo la lira pegada desde la pared de la tina hasta el otro extremo, se dio una vuelta de 180 grados, al llegar al otro extremo se procedió a cortar la cuajada en dirección transversal, siguiendo el mismo procedimiento hasta que adquirió la apariencia de una cuadrícula con granos entre 2cm y 3cm, para favorecer la eliminación del suero.

H. Desuerado: Al finalizar el corte se dejó reposar por 5 minutos, para después empezar a sacar parte del suero que no se necesita.

I. Moldeado y prensado: se colocaron los granos de cuajada dentro de los moldes para dar forma al queso, para esto es necesario que permanezcan a una temperatura de 20°C, porque si los granos se enfrían ya no se aglutinan ni se compactan. Para asegurar la forma se acostumbra prensar, para lo cual se colocaron mallas alrededor del queso para sostener la cuajada a prensarse. Se realizó el prensado ejerciendo presión sobre el queso para eliminar el suero sobrante; pasado los 30 minutos se sacó el queso del molde para colocarlo en salmuera.

J. Salmuera: La salmuera es una mezcla de agua con sal, se preparó disolviendo 10 kilos de sal en 30 litros de agua caliente; en donde se sumergieron a los quesos por 1 hora, para propiciar la formación de la corteza, debido a la salida del suero y la entrada de sal a la superficie del queso.

K. Maduración: Se dejó madurar el queso por 3 días bajo refrigeración a una temperatura de 4 °C lo que ayudó a inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos, y también a que la corteza del queso se endurezca.

L. Tratamiento de ahumado: En la figura 4-2, se muestra el ahumador que se utilizó en esta investigación. Para el proceso de ahumado se realizó la preparación del ahumador, realizando las siguientes actividades:

- Se lavó el ahumador por la parte interna, para realizar el proceso bajo condiciones de asepsia.
- Se retiró el exceso de agua del ahumador, para facilitar la combustión del aserrín.
- Se preparó el combustible (aserrín de roble o laurel) mezclándolo con ajo en polvo, romero y hojas de laurel para mejorar el aroma, con esto se abasteció la gaveta del quemador verificando que se compacte adecuadamente y que los orificios de entrada de oxígeno queden libres.
- Se inició el fuego humedeciendo taponos de algodón con aceite comestible que se colocaron sobre el aserrín contenido en el quemador y se encendió con fósforos. No utilizar bolsas plásticas, kerosene ni otro tipo de hidrocarburos como combustible para iniciar o avivar el fuego, ya que no sólo son tóxicos sino que también le dan al producto un sabor oleoso, amargo y astringente.
- Se cerraron las puertas del ahumador y de la gaveta del quemador para minimizar el escape del humo hasta que alcance la temperatura deseada con roble 30°C, laurel 60°C y con roble más laurel 50°C.
- Una vez alcanzada la temperatura deseada, se colocaron los quesos frescos sobre las rejillas de acero inoxidable dentro del ahumador.
- Se aplicaron cinco tratamientos de ahumado, los mismos que se detallan en la tabla 10-2.

Tabla 10-2: **Tratamientos de ahumado**

Tratamientos	Combustible	Tiempo
Tratamiento 1	Aserrín de laurel	30 minutos
Tratamiento 2	Aserrín de laurel	60 minutos
Tratamiento 3	Aserrín de roble	30 minutos
Tratamiento 4	Aserrín de roble	60 minutos
Tratamiento 5	Aserrín de laurel + viruta de roble	45 minutos

Realizado por: Cristina Salguero

M. Empacado y almacenado: Se dejó enfriar los quesos por 15 minutos y se empacó en fundas polipropileno, se almacenó en refrigeración para posteriores análisis.



Figura 4-2: Ahumador caliente usado en la presente investigación
Fuente: Realizado por Cristina Salguero

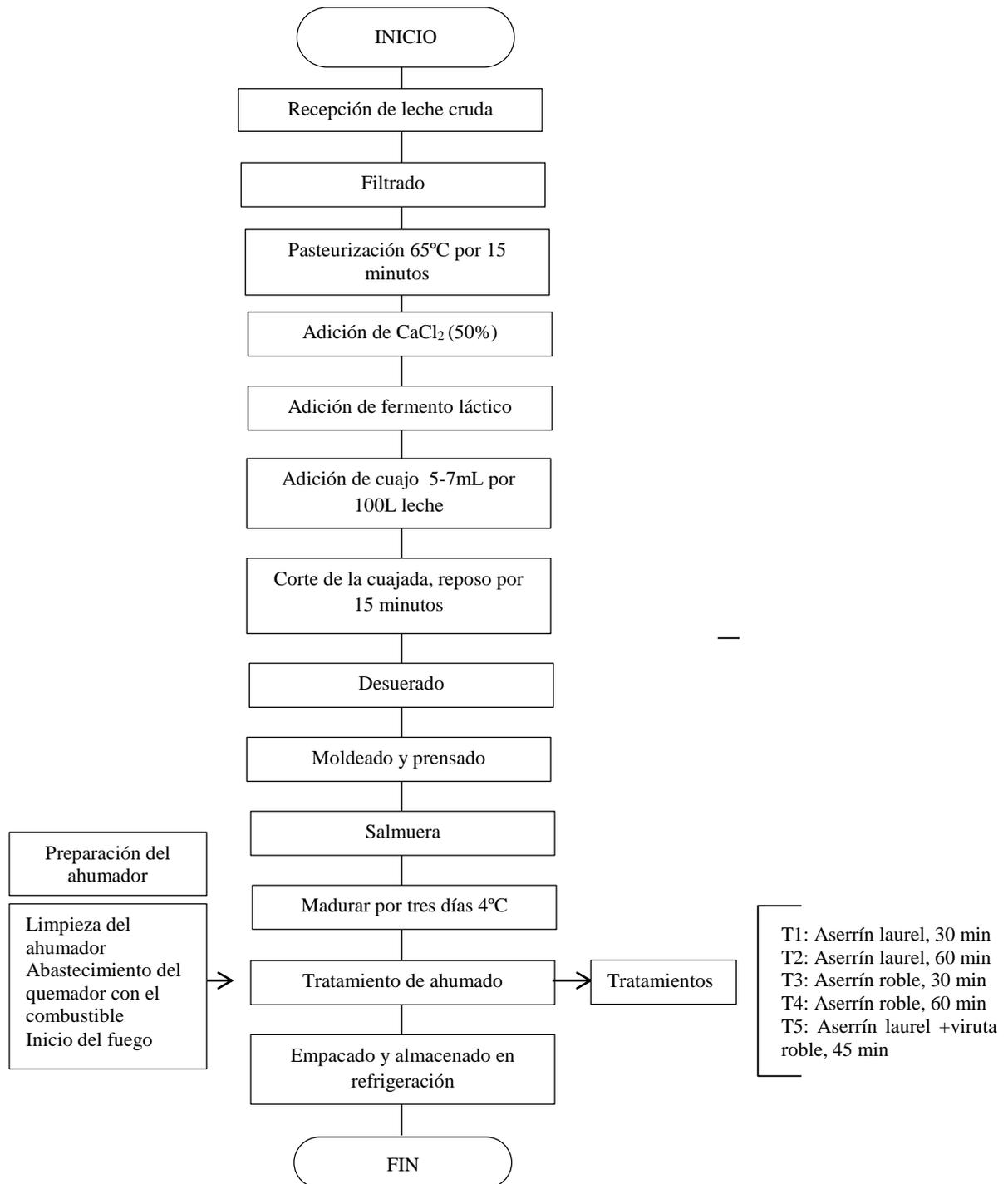


Figura 5-2: Diagrama de flujo del proceso de elaboración del queso fresco ahumado.
Fuente: Realizado por Cristina Salguero

2.4.2. Determinación de la aceptabilidad del queso fresco

La aceptabilidad del queso ahumado se determinó en dos etapas: en la primera se aplicó una prueba de ordenamiento a un grupo de 16 panelistas semi entrenados del Colegio Regional de Ingenieros en Alimentos de Ambato, a los mismos que se les entregó una muestra de cada uno de los quesos ahumados con diferentes tratamientos (T1-Queso 605: aserrín de roble por 60 minutos, T2-Queso 321:aserrín de laurel por 30 minutos, T3-Queso 490: aserrín de roble por 30 minutos, T4-Queso 810: aserrín de laurel por 60 minutos, para que los prueben empezando de izquierda a derecha, entre cada muestra debían neutralizar el sabor comiendo una galleta de sal y un bocado de agua; y el olor percibiendo café. Se les pidió que evalúen el color, sabor, olor y textura en cada muestra para que las ordenen desde la que les gustó extremadamente (1) hasta la que no le gustó (4). (Ver Anexo A). El diseño de la evaluación sensorial fue de tipo afectiva; cuyo modelo corresponde a los grados de satisfacción siguiendo una escala de 1: le gusta extremadamente, 2: le gusta moderadamente, 3: le gusta levemente y 4: no le gusta.

En la segunda etapa se aplicó una prueba de preferencia pareada al mismo grupo de panelistas, con el propósito de conocer si el panelista prefiere una muestra sobre otra. Se les repartió dos muestras de queso ahumado con otros tratamientos que se escogieron según los resultados de la primera etapa para obtener un queso con las mejores características organolépticas (T1-Queso 211: Ahumado con aserrín de laurel 100% por 45 minutos 60°C, T2-Queso 723: Ahumado con viruta de roble y aserrín de laurel (1:1) por 45 minutos a 50°C); se les pidió que las prueben y escojan el que prefieren. (Ver Anexo B).

2.4.3. Determinación de la vida útil del producto

Para estimar el tiempo de vida útil del queso ahumado, se consideró las variables microbiológicas, fisicoquímicas y sensoriales a través del tiempo (0, 10, 20, 30 y 40 días). Se observaron los cambios producidos en el queso ahumado y sin ahumar con el pasar de los días y los resultados se compararon con la norma NTE INEN 1528:2012 para saber en qué día los parámetros analizados dejaron de cumplir con la misma.

2.4.3.1. *Análisis sensorial*

El análisis sensorial de los alimentos es un instrumento eficaz para el control de calidad y aceptabilidad de un alimento, este análisis se llevó a cabo en el Laboratorio de Bromatología de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH, por tres jueces de laboratorio, personas sin habilidad especial que han sido entrenadas y que participan ocasionalmente en pruebas sencillas. Los mismos que evaluaron la apariencia interna y externa del queso ahumado a los 0, 10, 20, 30 y 40 días de almacenamiento, para encontrar en la fórmula de mayor aceptabilidad cambios en los siguientes parámetros: presencia de suero, firme al taco, húmedo al tacto, olor a humo, suave en boca, salado, resabio grumoso, color caramelo, poroso en vista, grumoso al tacto, seco a la vista, olor a leche, olor a ácido, olor a mantequilla y textura cremosa. En el cual se debió indicar si existe (SI) o no la presencia (NO) de dichos parámetros.

2.4.3.2. *Análisis físico-químico*

- Acidez: El porcentaje de acidez se determinó en base a la norma NTE-INEN 3-Leche. Determinación de la acidez titulable.

Fundamento: La acidez titulable del queso es el porcentaje de ácido láctico presente en este alimento. Se determina por medio de titulación de neutralización en donde reaccionan los iones de hidrógeno del ácido láctico con una solución de hidróxido de sodio de una concentración conocida.

Procedimiento:

La determinación se realizó por triplicado sobre la misma muestra preparada.

Se lavaron y secaron los matraces Erlenmeyer en la estufa a $103^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 30 minutos. Se dejaron enfriar en el desecador y se pesaron con aproximación al 0,1 mg.

Se pesaron 10 g de queso ahumado y sin ahumar finamente molidos, se colocaron en un balón de aforo para completar el volumen hasta 100mL con agua destilada a 40°C , se agitó vigorosamente y se filtró la solución.

La muestra filtrada se transfirió al matraz Erlenmeyer, aproximadamente 20 g con aproximación al 0,1 mg.

Se diluyó el contenido del matraz con un volumen dos veces mayor de agua destilada, y se agregó 2mL de solución indicadora de fenolftaleína.

Se agregó, lentamente y con agitación, la solución 0,1 N de hidróxido de sodio, hasta conseguir un color rosado persistente que desaparece lentamente.

Se continuó agregando la solución hasta que el color rosado persista durante 30 segundos.

Se realizó la lectura en la bureta del volumen de la solución empleada, con aproximación a 0,05mL.

La acidez titulable del queso se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$A = 0,090 \frac{VxN}{m_1 - m} x 100$$

Siendo:

A = acidez titulable de la leche, en porcentaje en masa de ácido láctico.

V = volumen de la solución de hidróxido de sodio empleado en la titulación, en mL.

N = normalidad de la solución de hidróxido de sodio.

m = masa del matraz Erlenmeyer vacío, en gramos.

m₁ = masa del matraz Erlenmeyer con la leche, en gramos.

- pH: El pH se determinó en base a la norma NTE INEN-ISO 1842:2013. Productos vegetales y de frutas determinación de pH.

La muestra se preparó mezclando 10g de queso molido con 100mL de agua destilada, se homogenizó y se procedió a medir el pH introduciendo los electrodos del pH-metro en el vaso de precipitación que contiene la muestra, teniendo cuidado de que los electrodos no toquen las paredes ni el fondo del vaso.

2.4.3.3. *Análisis microbiológico*

Se utilizaron placas Petrifilm, mediante las guías de uso de 3M, los métodos oficiales son: para *E. coli* y coliformes es el OAC991.14, para mohos y levaduras AOAC Método Oficial 997.02, para aerobios mesófilos AOAC método oficial 986.33, para *S. aureus* AOAC Método Oficial 2003.07.

Se pesó por triplicado la muestra de queso a analizar en una bolsa de polietileno estéril, se anotó el peso y se calculó el volumen de diluyente estéril (agua de peptona al 0.1%), multiplicando el peso de la muestra por 9, preparando así la primera dilución 1:10.

Se adicionó la cantidad apropiada del diluyente estéril (agua de peptona al 0.1%), se mezcló y homogenizó la muestra. Se colocó la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada luego se levantó la lámina semitransparente superior. Con una micro pipeta perpendicularmente a la Placa Petrifilm, se inoculó 1 mL de la muestra en el centro de la cuadrícula de la película inferior, se dejó caer la lámina superior sobre la dilución de la película inferior sin deslizarla. Con el lado rugoso hacia abajo del dispersor o esparcidor se presionó suavemente para distribuir la muestra sobre el área circular. Inmediatamente se levantó el dispersor o esparcidor, se esperó 1 minuto a que se solidifique el gel y se colocaron las placas petrifilm en una incubadora, en la tabla 11-2 se muestran las condiciones de incubación para cada microorganismo.

Tabla 11-2: Condiciones de incubación

MICROORGANISMO	TEMPERATURA	TIEMPO DE INCUBACIÓN
Mohos y levaduras	25°C ± 1°C	3-5 días
Coliformes	35°C ± 1°C	24 horas
E. coli	35°C ± 1°C	48 horas
S. aureus	37°C ± 1°C	24 horas
Aerobios mesófilos	32 °C ± 1 °C	48 horas
Enterobacterias	35°C ± 1°C ó 37°C ± 1°C	24 horas

Realizado por: Cristina Salguero

Para el cálculo y expresión de los resultados se tomó como referencia la ISO 7218:2007. En donde para que el recuento sea válido, se suele considerar necesario que el recuento de colonias se realice al menos en una placa que contenga un mínimo de 10 colonias.

El número de microorganismos N presentes en la muestra para análisis se calculó como la media corregida de las diluciones consecutivas, utilizando la ecuación:

$$N = \frac{\Sigma C}{V \times 1,1 \times d}$$

Dónde:

ΣC: es la suma de las colonias contadas en las placas de las diluciones consecutivas, de las cuales al menos una contiene un mínimo de 10 colonias;

V: es el volumen de inóculo utilizado en cada placa, en mililitros;

d: es la dilución correspondiente a la primera dilución elegida

El resultado calculado se redondeó a dos cifras significativas. Cuando se realizó esta operación:

- si la tercera cifra es inferior a 5, no se modifica la cifra anterior;

- si la tercera cifra es igual o superior a 5, la cifra anterior se incrementa en una unidad.

El resultado se expresó como un número entre 1.0 y 9.9 multiplicado por la potencia de 10 adecuada. El resultado se expresó como unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo.

2.4.4. *Análisis estadístico*

El tratamiento de los datos experimentales se llevó a cabo mediante el análisis de varianza (ANOVA) de un factor, cuando existieron diferencias significativas ($p < 0,05$) se comparó medias con el test de Tukey, procesados en el programa estadístico SPSS18®.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Análisis bromatológico de la leche cruda, del queso ahumado y sin ahumar

Los análisis bromatológicos de la leche cruda, del queso fresco ahumado y sin ahumar, se realizaron en el Laboratorio de Control y Análisis de Alimentos (LACONAL). Uno de los principales factores que intervienen en la calidad del queso ahumado son las características de la materia prima utilizada como la leche cruda, por lo que es de vital importancia llevar a cabo un eficiente control en su recepción para garantizar que la leche cruda reúna los requisitos establecidos por la norma NTE INEN 9: 2012. Los resultados del análisis bromatológico se muestran en la Tabla 12-3.

Tabla 12-3. Composición de los nutrientes de la leche cruda de vaca, del queso fresco sin ahumar y ahumado.

Nutrientes	Método utilizado	Unidades	Resultados Leche cruda	Resultados Queso fresco	Resultados Queso ahumado
Proteína	AOAC 991.2. Ed 19, 2012	%	3,12	14,00	15,7
Humedad	PE06-5.4-FQ.AOAC Ed 19 927.05	%(Nx6,38)	87,3	56,7	53,5
Grasa	AOAC 2000.18 Gerber. Ed 19, 2012	%	3,4	18,2	22,01
Carbohidratos Totales	Cálculo	%	5,5	9,5	7,1
Cenizas	PE05-5.4-FQ-AOAC Ed 19, 2012	%	0,674	1,64	1,69
Colesterol	Espectrofotometría	mg/100g	--	--	55,9

Realizado por: Cristina Salguero
Fuente: LACONAL. 2015

El porcentaje de humedad de la leche cruda analizada fue de 87,3%, valor similar al reportado por DUBACH, J. en 1998 de 87%. La NTE INEN 9:2012, exige que la leche cruda que vaya a ser consumida como tal o destinada a la elaboración de leches y productos lácteos, cumpla con un porcentaje mínimo de materia grasa de 3%, cenizas 0,65% y proteínas 2,9%; la leche cruda analizada cumple con estos requisitos cuyo porcentaje de grasa es de 3,4%, cenizas 0,674% y proteína 3,12% siendo mayores a los valores especificados. Uno de los componentes no grasos

de la leche son los carbohidratos que en su mayoría es lactosa, en la leche cruda analizada corresponden al 5.5%.

El contenido de proteínas, grasa y cenizas se concentraron después de aplicar el ahumado en el queso fresco, de tal modo que el porcentaje de proteína (14%), grasa (18,2%) y cenizas (1,64%) del queso fresco sin ahumar es menor al del queso ahumado en el cual el porcentaje de proteína es de 15,7, grasa 22,01 y cenizas 1,69%. Esto puede deberse a la pérdida de agua durante la fabricación del queso fresco y por acción de la temperatura a la que es expuesto durante el ahumado.

En el queso ahumado, el contenido de humedad (53,5%) y carbohidratos (7,1%), es menor al del queso fresco (56,7% y 9,5% respectivamente) ya que al ahumar el queso se deshidrata eliminando más suero y por consiguiente los carbohidratos.

Además los principios nutritivos (proteínas, grasa y cenizas) de la leche se ven concentrados en el queso fresco y se ve más concentrado en el queso ahumado. El queso ahumado se sigue destacando por su alto valor biológico siendo un alimento rico en proteínas y grasa.

Los resultados del queso ahumado se compararon con los requisitos de la NTE INEN 1528:2012 para quesos frescos no madurados, que según el contenido de grasa 22,01%, se categoriza como un queso de tipo semidescremado o bajo en grasa; y según el contenido de humedad 53,5% es un queso de tipo duro.

Los resultados del porcentaje de grasa 22,01% y humedad 53,5% del queso ahumado obtenidos en esta investigación, difieren de los valores alcanzados por BORJAS F. & COLORADO J., en el estudio de diferentes tiempos y temperaturas de ahumado, donde el porcentaje de grasa es mayor (26.67%) y el de humedad menor (48.96%), fue obtenido a 40 °C por 40 minutos de ahumado y a los 0 días.

3.2. Resultados del análisis sensorial en la primera catación.

En la primera etapa de la investigación se utilizó cuatro tratamientos de ahumado utilizando aserrín de laurel y roble; 30 y 60 minutos de ahumado, para determinar cuál de ellos confiere al queso fresco las mejores características sensoriales, para esto se utilizó una prueba de ordenamiento aplicada a un grupo de 16 panelistas semi entrenados del Colegio Regional de Ingenieros en Alimentos, los mismos que ordenaron cada muestra de mayor a menor agrado para cada parámetro (color, sabor, aroma y textura), por lo tanto, el queso que obtuvo el menor puntaje(64) tiene mayor aceptabilidad.

Tabla13-3: Resultados de la primera catación, mediante la prueba de ordenamiento.

	Puntaje (4-16)																	
Panelistas	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	TOTAL	MODA
Tratamientos																		
T1-Queso 605	12	8	4	12	7	11	12	6	11	6	14	6	8	8	8	11	144	8
T2-Queso 321	9	9	11	13	13	11	6	10	8	9	6	9	10	11	9	7	151	9
T3-Queso 490	4	13	11	5	8	4	15	12	6	12	7	11	10	5	10	6	139	4
T4-Queso 810	15	11	15	10	10	16	8	14	15	9	13	14	12	16	15	16	209	15

Realizado por: Cristina Salguero

T1-Queso 605: Ahumado con aserrín de roble por 60 minutos.

T2-Queso 321: Ahumado con aserrín de laurel por 30 minutos.

T3-Queso 490: Ahumado con aserrín de roble por 30 minutos.

T4-Queso 810: Ahumado con aserrín de laurel por 60 minutos.

Escala. 1: le gusta extremadamente, 2: le gusta moderadamente, 3: le gusta levemente y 4: no le gusta; para color, olor, sabor y textura. El puntaje corresponde a la suma de los valores asignados para el color, olor, sabor y textura, en cada tratamiento.

En la Tabla 13-3, se puede observar los resultados de la primera catación, para esto se sumaron los puntajes de las características de olor, sabor, color y textura; siendo el Queso 490 (roble, 30 minutos) el que presentó mayor aceptabilidad con un puntaje menor (139), sin embargo ningún queso alcanzó el menor puntaje perfecto de 64, es decir la ubicación de uno en todos los aspectos, ya que en las observaciones descritas por los panelistas señalaron que el color tenue no reflejaba el de un producto ahumado. En segundo lugar se encontró el Queso 605 (roble, 60 minutos), con 144 puntos, cuyo olor no es agradable y ni su color tenue. El Queso 321 (laurel, 30 minutos) se ubica en tercer lugar, por su color caramelo agradable pero el olor a humo es fuerte. El queso de menor aceptabilidad fue el 810 (laurel, 60 minutos), debido al sabor y olor a humo muy intenso, esto puede deberse a que el laurel tiene altos niveles de alquil fenoles del tipo del guayacol que producen olor intenso a humo. (MÔLER, K., 1980. p.37).

Estos resultados son similares a los obtenidos en la investigación de BONILLA, C. (2011), en la cual los panelistas tuvieron menor aceptación de aroma y sabor para los tratamientos de ahumado a 60 °C/60 min del queso Cheddar ya que los compuestos fenólicos, ácido acético y propiónico se encontraban con mayor intensidad en dichos tratamientos y porque los ácidos grasos y péptidos de cadena corta tienden a oxidarse.

Al relacionar los resultados alcanzados en esta investigación con los encontrados por BORJAS F. & COLORADO J. (2010), son similares ya que a los panelistas durante el análisis sensorial del queso crema Zamorano ahumado, les atrajo en primer lugar el color, escogiendo el queso que presentó la coloración más oscura (ahumado 80 min a 60 °C), no así en sabor.

Los resultados obtenidos en esta primera catación dieron paso a usar una mezcla de aserrín de roble y laurel, para aprovechar las dos cualidades positivas que éstos proporcionan al producto, y el tiempo de ahumado ya no fueron 60 minutos sino sólo hasta que adquiriera la coloración caramelo tan apreciada que fue a los 45 minutos.

3.3. Resultados del análisis sensorial en la segunda catación.

A pesar de que las maderas de haya, roble, arce o aliso son las preferibles como materiales para la obtención del humo. (REHBRONN, E. et al. 1989), según los resultados del apartado 3.2, y por aspectos tecnológicos ya que al ahumar con aserrín de roble alcanza una temperatura de 30°C por lo que requiere más tiempo para completar el ahumado, lo que no sucede con el aserrín de laurel porque alcanza una temperatura entre 50-60°C; además al considerar las cuestiones económicas porque el aserrín de roble es difícil de adquirir mientras que el de laurel no, se procedió a realizar un quinto tratamiento, la mezcla de aserrín de laurel y viruta de roble durante 45 minutos.

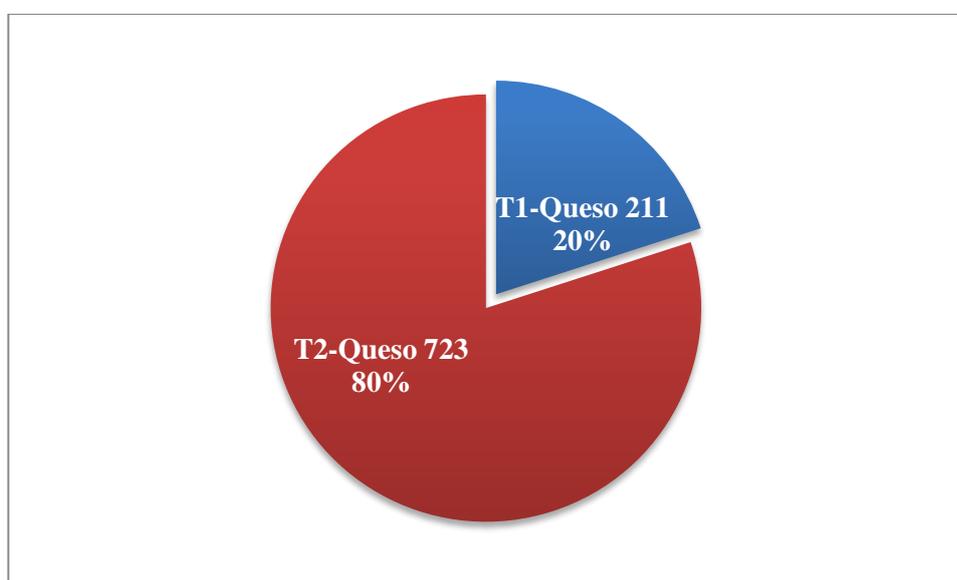


Figura 6-3. Gráfico del porcentaje de preferencia de los quesos ahumados en la segunda catación.

Realizado por: Cristina Salguero

T1-Queso 211: Ahumado con aserrín de laurel 100% por 45 minutos 60°C

T2-Queso 723: Ahumado con viruta de roble y aserrín de laurel (1:1) por 45 minutos a 50°C.

Los resultados de la segunda catación se muestran en la figura 6-3, que se aplicó al mismo grupo de panelistas; el Queso 723 (aserrín de laurel y viruta de roble 1:1) fue el preferido por el 80% de los panelistas por su sabor, olor, color y textura, mientras que el Queso 211 (aserrín laurel) fue el de menor agrado porque el olor y sabor a humo seguían siendo intensos, aunque el color fue aceptado. Esto puede deberse a que el aroma es uno de los atributos más característicos del queso ahumado por los compuestos fenólicos incorporados al mismo y se ve reflejado sobre los quesos con un tratamiento más severo. (BORJAS F. & COLORADO J., 2010).

Una vez finalizada la primera etapa, se procedió a elaborar el queso ahumado con el quinto tratamiento para determinar su vida útil en la segunda etapa de la presente investigación.

3.4. Análisis sensorial del queso ahumado

Una vez determinado el tratamiento de mayor aceptabilidad, se procedió a realizar el análisis sensorial a través del tiempo a los 0, 10, 20, 30 y 40 días, por parte de un panel de tres jueces de laboratorio, personas sin habilidad especial que han sido entrenadas y que participan ocasionalmente en pruebas sencillas. Los parámetros que se evaluaron tanto en la apariencia externa como en la interna, se muestran en la Tabla 14-3.

Tabla 14-3: Resultados del análisis sensorial del queso ahumado a través del tiempo durante 40 días.

PARÁMETROS	Apariencia externa					Apariencia interna				
	0 Días	10 Días	20 Días	30 Días	40 Días	0 Días	10 Días	20 Días	30 Días	40 Días
Presencia de suero	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	SI
Firme al tacto	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
Húmedo al tacto	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
Olor a humo	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
Suave en boca	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
Salado	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
Resabio grumoso	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	SI
Color caramelo	SI	SI	SI	SI	SI	NO	NO	NO	NO	NO
Poroso en vista	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	SI
Grumoso al tacto	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
Seco a la vista	SI	SI	SI	SI	NO	SI	SI	SI	SI	NO
Olor a leche	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
Olor a ácido	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	SI
Olor a mantequilla	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
Textura cremosa	NO	SI	SI	SI	SI	NO	SI	SI	SI	SI

Realizado por: Cristina Salguero

El panel sensorial determinó que el queso ahumado a los 0 días presentó las características de firme al tacto, suave en boca, color caramelo, seco a la vista, aroma a humo y textura cremosa, debido a la tecnología del ahumado que disminuye el porcentaje de humedad de 56,7% (queso fresco sin ahumar) hasta 53,5% (queso fresco ahumado), los resultados de esta investigación se confirman con las investigaciones realizadas en el queso Idiazábal por RENOBALLES, Mertxe

et al en el 2008, en las cuales el ahumado modifica el contenido de humedad en el interior del queso provocando pequeños cambios en la textura.

El queso ahumado no presentó diferencia significativa en la apariencia hasta los 30 días de almacenamiento, esto se asemeja a los resultados obtenidos por BORJAS F. & COLORADO J. (2010), en donde a los panelistas les fue indiferente los cambios de apariencia en una vida de anaquel de 30 días en el queso crema Zamorano ahumado.

A partir de los 40 días de almacenamiento las características de la apariencia externa e interna del queso ahumado cambiaron drásticamente observándose ya la presencia de suero, poroso en la vista, olor a ácido y resabio grumoso, esto puede deberse a los cambios bioquímicos de las enzimas proteolíticas sobre la matriz proteica, principalmente sobre la α_1 -caseína, que da como resultado una disminución de la firmeza y en consecuencia modificaciones en algunas propiedades como el color, sabor, elasticidad y textura del queso. (LAWRENCE *et al.*, 1987). El sabor a ácido puede deberse a que algunos mohos producen ácidos y los hacen agrios. (RESTREPO, Andrés & MONTOYA César, 2010). Corroborándose con los parámetros físico-químicos (pH y acidez) que se muestran en la tabla 16-3 y los resultados del análisis microbiológico de la Tabla 15-3.

3.5. Análisis microbiológico

Tabla 15-3: Resultados del análisis microbiológico del queso fresco ahumado y sin ahumar a través del tiempo durante 40 días.

MICROORGANISMO (log UFC/g)	MUESTRA	DÍAS				
		0	10	20	30	40
AEROBIOS MESÓFILOS (M: 5, según norma española cuajada pasteurizada O. 14/6/83, B.O.E 28/6/83; B.O.E. 14/7/83; B.O.E. 12/5/87)	QF	3,67±0,40 ^{ab}	6,033±0,15 ^d	6,23±0,06 ^d	7,70±0,00 ^e	7,8±0,10 ^e
	QA	3,33±0,55 ^a	4,40±0,10 ^{bc}	4,63±0,06 ^c	3,97±0,67 ^{abc}	4,8±0,00 ^c
ENTEROBACTERIAS (M: 4, según NTE INEN 1528:2012)	QF	2,77±0,21 ^a	4,37±0,05 ^e	4,50±0,26 ^e	6,23±0,12 ^f	6,73±0,06 ^f
	QA	2,00±0,00 ^d	2,00±0,00 ^b	2,13±0,23 ^e	2,70±0,17 ^e	0,77±0,68 ^e
<i>Escherichia coli</i> (M: <1, según NTE INEN 1528:2012)	QF	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
	QA	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
Coliformes totales (4,3; según COVENIN 3821.2003)	QF	2,50±0,26 ^c	4,13±0,12 ^d	4,40±0,00 ^d	6,37±0,23 ^e	6,67±0,06 ^e
	QA	1,90±0,17 ^{abc}	2,10±0,17 ^c	2,00±0,00 ^c	0,67±1,15 ^a	0,77±0,68 ^{ab}
<i>Staphylococcus aureus</i> (M: 3, según NTE INEN 1528:2012)	QF	2,33±0,12 ^c	3,60±0,10 ^e	3,07±0,06 ^d	2,97±0,06 ^d	2,00±0,00 ^b
	QA	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
Mohos y levaduras (3, según la norma COVENIN 3821.2003)	QF	1,63±0,06 ^b	1,97±0,06 ^c	2,13±0,06 ^d	4,70±0,10 ^e	6,90±0,00 ^f
	QA	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a

Realizado por: Cristina Salguero.

QF: Queso fresco

QA: Queso ahumado

Letras diferentes (a, b, c,) indican grupos estadísticamente diferentes (P<0,05)

Los resultados del análisis microbiológico del queso fresco ahumado y sin ahumar se encuentran en la Tabla 15-3, cuyos valores están expresados en log UFC/g. El ahumado inhibió el crecimiento de *S. aureus*, mohos y levaduras, mientras que el crecimiento de coliformes disminuyó notablemente, que al comparar el recuento del queso fresco a los 0 y 40 días de almacenamiento está en un rango de 2,50 log UFC/g hasta 6,67 log UFC/g; mientras que en el queso ahumado disminuye desde 1,90 log UFC/g hasta 0,77 log UFC/g. Sin embargo, el recuento de aerobios mesófilos es uniforme, solo que en el queso fresco va aumentando con el tiempo de almacenamiento mientras que en el queso ahumado es uniforme. En el queso fresco y en el queso ahumado no se detectó la presencia de *E. coli* desde el primero hasta el último día de almacenamiento, cumplen con los requisitos de la norma NTE INEN 1528 (<1 log UFC/g). Lo que indica que la materia prima utilizada fue de buena calidad y que los quesos están libres de contaminación fecal, por lo cual su consumo no representa riesgo a la salud de los consumidores. Los resultados difieren de los obtenidos por NUBIA, Vásquez *et al*, en donde no se conoce como fueron elaborados quesos blancos de diferentes marcas del estado de Lara, Venezuela, y el recuento de *E. coli* en promedio fue de 4,11 log UFC/g, que están por encima de lo establecido, pudiendo deberse a la falta de control sanitario. Lo que no sucede en la presente investigación ya que el proceso de elaboración del queso fue controlado.

Los valores de log UFC/g del recuento microbiológico de los quesos ahumado y sin ahumar presentan diferencias significativas ($P > 0,05$). De modo que el recuento microbiológico del queso ahumado es menor que el del queso fresco, confirmándose que el efecto del ahumado posee una marcada acción conservadora, debido a la absorción de sustancias bactericidas a partir del humo.

Jensen (1954), Shewan (1949), Gibbons y Colk (1954) en sus investigaciones demostraron que la acción combinada del humo intenso y alta temperatura redujo 100 000 veces el número de bacterias en el tocino ahumado. (MORENO VELOZ, E., 2003.pp.18-19).

El recuento de enterobacterias, *Escherichia coli*, Coliformes totales y *Staphylococcus aureus* del queso fresco ahumado y sin ahumar a los 0 días cumplen con los requisitos microbiológicos de la norma NTE INEN 1528:2012, indicando que son productos elaborados bajo controles higiénicos adecuados, ya que las bacterias patógenas estuvieron ausentes y los recuentos de microorganismos indicadores de la calidad higiénica en general son aceptables.

El recuento de aerobios mesófilos en el queso fresco y el queso ahumado estadísticamente son iguales a los 0 días, resultados que cumplen con lo especificado en la norma española para la cuajada pasteurizada, producto con características similares a queso fresco (O. 14/6/83, B.O.E 28/6/83; B.O.E. 14/7/83; B.O.E. 12/5/87), ya que en la norma ecuatoriana para queso no los incluye. En los días posteriores van aumentando considerablemente, de modo que en el queso fresco llega a los 40 días de almacenamiento con 7,8 log UFC/g mientras que el queso ahumado con 4,8 log UFC/g, siendo el máximo permitido 5 log UFC/g. Estos valores obtenidos son similares a los obtenidos por NUBIA, Vásquez *et al*, los mismos que evaluaron la calidad microbiológica de distintas marcas de queso blanco del estado de Lara, Venezuela, y en promedio reportaron un rango entre 6,44 y 7,4 log UFC/g, encontrándose también por encima de lo mínimo establecido.

En el queso ahumado los valores de log UFC/g para enterobacterias desde el día 0 hasta los 30 días, están en un rango de 2,00 a 2,70, pero a partir de los 40 días disminuye drásticamente hasta 0,77, debido a que a medida que aumentan los días de almacenamiento la acidez del queso ahumado va aumentando que junto con la acción bacteriostática del humo donde sus componentes formaldehído, ácidos acético, fórmico y fenoles, se impregnan en las capas superficiales del producto, las bacterias no esporuladas se destruyen en gran cantidad, también puede deberse a la acción de las bacterias del fermento láctico que inhiben a las otras bacterias. Pero, en los quesos frescos el recuento bacteriano va aumentando el mismo que está en un rango de 2,77 a 6,73 log UFC/g, es decir mientras avanza el tiempo de almacenamiento, los recuentos van aumentando y sobrepasan a lo especificado por la NTE 1528 de 4 log UFC/g desde los 30 hasta los 40 días de almacenamiento.

Dentro de las bacterias del grupo coliformes se incluyen los géneros: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Citrobacter*. Durante mucho tiempo se consideraron como evidencia de contaminación fecal, pero se ha demostrado que muchos de ellos pueden vivir e incluso crecer en el suelo, el agua y otros ambientes. Actualmente se consideran un excelente indicador de la eficiencia de los procesos de sanitización y desinfección, así como de la calidad sanitaria en agua y productos procesados. (STEVENS, M., *et al.*, 2003).

Al no especificarse el nivel aceptable de coliformes en la norma ecuatoriana NTE INEN1528, se compara con la norma COVENIN 3821:2003- Criterios microbiológicos para quesos blancos fresco (A nivel de planta y centros de distribución pertenecientes a la empresa). El recuento de coliformes totales para el queso fresco entre los 0 y 20 días de almacenamiento está en un rango de 2,5 y 4,40 log UFC/g, cumplen con lo especificado de acuerdo a la norma antes mencionada (4,3 log UFC/g), en días posteriores hasta los 40 días de almacenamiento, el recuento está por encima de lo especificado. No así en el queso ahumado que durante todo el tiempo de

almacenamiento los valores de log UFC/g están entre 1,90 hasta 0,77 log UFC /g, siendo menores a lo establecido en la norma y que además son similares a los obtenidos por BORJAS F. & COLORADO J. (2011), en donde el contenido de coliformes totales del queso ahumado fue menor a lo permitido por las normas de ICAITI (2002). Los recuentos de coliformes en el queso ahumado y sin ahumar son significativamente diferentes siendo menor en el ahumado.

Mientras que los valores de log UFC/g para mohos y levaduras en el queso fresco desde los 0 días hasta los 20 días de almacenamiento están en un intervalo 1,63 a 2,13 que cumplen con lo especificado en la norma COVENIN 3821.2003 (M:3 log UFC/g). En días posteriores hasta los 40 días llegan a 6,90 log UFC/g; resultados que son similares a los obtenidos por RESTREPO, Andrés & MONTOYA, César, los cuales encontraron que en la cuarta semana de almacenamiento el queso fresco presentó un valor de Log UFC/g > 5,2, debido a que los mohos y levaduras atacan a prácticamente todos los componentes de los alimentos. Algunos de estos microorganismos fermentan a los azúcares e hidrolizan a los almidones y la celulosa, otros hidrolizan a las grasas y producen rancidez, otros digieren a las proteínas y producen olores putrefactos o que se parecen al del amoníaco.

3.6. Análisis físico químico

En la tabla 16-3, se muestran los resultados del análisis físico-químico del queso ahumado y del queso fresco a los 0, 10, 20, 30 y 40 días de almacenamiento, los mismos que presentan diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$). La acidez es uno de los indicadores de contaminación microbiana relacionada con la fermentación láctica de los azúcares de la leche.

Tabla 16-3: Resultados del análisis físico-químico del queso ahumado y sin ahumar a través del tiempo durante 40 días de almacenamiento.

PARÁMETRO	MUESTRA	DÍAS				
		0	10	20	30	40
pH (ión hidrógeno)	QF	6,75±0,08 ^g	6,18±0,02 ^e	5,68±0,15 ^c	5,23±0,05 ^{ab}	5,16±0,03 ^a
	QA	5,93±0,06 ^d	6,41±0,14 ^f	5,63±0,03 ^c	5,34±0,05 ^{ab}	5,41±0,02 ^b
ACIDEZ (% ácido láctico)	QF	0,01±0,00 ^a	0,05±0,00 ^c	0,1±0,00 ^e	0,20±0,00 ^f	0,20±0,00 ^f
	QA	0,06±0,01 ^d	0,04±0,00 ^b	0,1±0,00 ^e	0,10±0,00 ^e	0,10±0,00 ^e

Realizado por: Cristina Salguero

QF: Queso fresco

QA: Queso ahumado

Letras diferentes (a, b, c,) indican grupos estadísticamente diferentes ($P < 0,05$)

El porcentaje de acidez tanto del queso fresco como del queso ahumado va aumentando con el tiempo de almacenamiento. Los valores de acidez del queso ahumado están en un rango entre 0,06% y 0,10% de ácido láctico a los 0 y 40 días de almacenamiento. Esto puede deberse a la acción de las bacterias del fermento láctico que son las encargadas de producir ácido láctico a partir de la lactosa.

Los resultados de pH a los 0 y 40 días de almacenamiento para el queso fresco están comprendidos entre 6,75 hasta 5,16; y para el queso ahumado desde 5,93 a 5,41; los mismos que son similares a los obtenidos por NUBIA, Vásquez *et al*, en diferentes quesos blancos del estado de Lara, Venezuela, los cuales mostraron una gran variabilidad en su composición fisicoquímica con un pH entre 5,5 y 5,8.

Según estudios realizados en el ahumado del pescado, sostienen que el pH de las capas superficiales desciende durante el ahumado de 6.7 a 5.9, aproximadamente como consecuencia de la absorción de los constituyentes ácidos del humo y un aumento de la susceptibilidad de los microorganismos del pescado a los agentes bactericidas del humo. (MORENO VELOZ, E., 2003.pp.18-19).

Según GONZÁLEZ, M., la disminución del pH a 5,0 -5,2, se debe al ácido láctico producido por las bacterias lácticas del fermento, las mismas que evitan el crecimiento de microorganismos patógenos confiriéndole sabor ácido y dando lugar a sustancias responsables del aroma y la maduración mediante la proteólisis (ruptura de proteínas) y la lipólisis (ruptura de las grasas).

CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos en esta investigación, se concluye que el ahumado sobre el queso fresco si tiene un efecto bacteriostático y antioxidante; es bacteriostático debido a ciertos compuestos químicos del humo (fenoles, ácidos y compuestos carbonilos) que inhiben el crecimiento de la población bacteriana del queso; esta acción antiséptica del humo también se vio reforzada por la temperatura que aumentó la evaporación y restó un factor necesario para la putrefacción que es la humedad; y es antioxidante sobre los lípidos del queso por acción de los fenoles que evitan la formación de peróxidos, aumentando la estabilidad del producto.

Los resultados obtenidos en las pruebas de aceptabilidad, permiten concluir que las condiciones para hacer un buen ahumado y que obtuvo mejor aceptabilidad fue el Q723 ahumado con viruta de roble y aserrín de laurel (1:1) por 45 minutos a 50°C, con un 80% de aceptación, debido a su aroma y sabor a ahumado no intensos.

El queso ahumado y el queso fresco estuvieron libres de *E. coli*, debido a que la materia prima fue de buena calidad. La carga bacteriana del queso ahumado a los 0, 10, 20, 30 y 40 días de almacenamiento fue menor que la del queso sin ahumar y los recuentos de coliformes, *E. coli*, *S. aureus* y mohos-levaduras cumplieron con lo establecido en la norma COVENIN 3821:2003.

El período de vida útil que alcanzó el queso ahumado preferido fue de 30 días según el análisis sensorial sus características organolépticas cambiaron en días posteriores con la presencia de un resabio grumoso (que para nuestros quesos no es normal), presencia de suero, olor a ácido y cambios en su textura. Sin embargo, según el análisis microbiológico el queso ahumado puede alcanzar un tiempo de vida útil de 40 días ya que los recuentos de coliformes, *S. aureus*, enterobacterias, aerobios mesófilos, mohos y levaduras permanecieron en los rangos establecidos por las normas COVENIN 3821:2003 y NTE INEN 1528:2012 hasta ese tiempo.

RECOMENDACIONES

- No utilizar maderas resinosas como las de los pinos y abetos ya que son inapropiados por su contenido elevado de trementina que tiznan con hollín y transmiten sabor desagradable al alimento.
- Almacenar el aserrín en lugares secos y frescos ya que la madera mojada contiene los nada recomendables taninos que durante la combustión se vaporizan fijándose en la superficie del alimento y confiriéndoles un sabor amargo.
- Para reducir costos se recomienda utilizar la mezcla de aserrín de laurel y viruta de roble debido a que la madera de roble es difícil de adquirir.
- No utilizar kerosene para encender el quemador porque le confiere olor desagradable al queso, se recomienda utilizar aceite de cocina.
- Se recomienda a la Facultad de Ciencias a la Escuela de Bioquímica y Farmacia continuar con la investigación en la técnica de ahumado del queso fresco, para conocer cuál sería el costo beneficio y las mejores maneras para introducir el producto al mercado.

BIBLIOGRAFÍA

1. **ALAIS, C. & LACASA, A.** *Ciencia de la leche*. 4ª ed. Sevilla. Reverté. 2003. p. 618.

2. **ALLAUCA, V.** *Desarrollo de la tecnología de elaboración de chocho germinado fresco para aumentar el valor nutritivo del grano (TESIS)* [en línea]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo de la Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador. 2005. pp. 50-51. [Consulta: 08 febrero 2016]. Disponible en:
https://books.google.com.ec/books?id=_38zAQAAMAAJ&pg=PA49&dq=microorganismos

3. **ALVARADO, Carmen. et al.** Aislamiento, identificación y caracterización de bacterias ácido lácticas de un queso venezolano ahumado andino artesanal. Su uso como cultivo iniciador. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia (LUZ)*. Vol. XVII. Mérida-Venezuela. 2007. pp. 301-308.

4. **ARTUR, X.** *Riesgos y peligros en los productos lácteos* [en línea]. Barcelona-España. *EROSKI CONSUMER*. 2004. [Consulta: 01 febrero 2016]. Disponible en:
<http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2004/08/11/13957.php>

5. **BADUI, S.** *Química de los alimentos*. 4ª ed. México D.F.-México. Pearson. 2006. pp. 626.

6. **BAZAES, Mª Elena.** Características de calidad química y sensorial de queso Guoda (TESIS) [en línea]. Universidad Austral de Chile de la Escuela de Ingeniería en Alimentos. Valdivia-Chile. 2004. pp. 17, 24-29. [Consulta: 08 febrero 2016]. Disponible en:
<http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2004/fab362c/pdf/fab362c.pdf>

7. **BEDOLLA, Salvador et al.** *Introducción de la tecnología de alimentos* [en línea]. 2ª ed. México D.F.-México. Limusa. 2004. pp. 36-37. [Consulta: 07 febrero 2016]. Disponible en:
<https://books.google.com.ec/books?id=V2IqmVapJWkC&pg=PA36&dq=etapas+de+la+elaboraci%>

8. **BELLO, Gutiérrez J.** *Ciencia bromatológica: principios generales de los alimentos* [en línea]. Madrid-España. Diaz de Santos S.A. 2000. pp. 284-286. [Consulta: 08 febrero 2016]. Disponible en:
<https://books.google.com.ec/books?id=94BiLLKBJ6UC&pg=PA286&dq=predicci%C3%B3n>

- 9. BONILLA, Christian & GURDIÁN, Cristhiam.** *Evaluación de dos temperaturas de ahumado y empaque en atmósferas modificadas en las propiedades físico-químicas y sensoriales del queso Cheddar (TESIS)*. [en línea]. Escuela Agrícola Panamericana Zamorano Carrera de agroindustria alimentaria. Tegucigalpa-Honduras. 2011. pp: iii-6. [Consulta: 03 febrero 2016] Disponible en: <http://bdigital.zamorano.edu/handle/11036/883>.
- 10. BORJAS, F. & COLORADO, J.** *Efecto del tiempo de ahumado y temperatura en las características físico-químicas y sensoriales del queso crema Zamorano. (TESIS)*. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. Honduras. 2010. pp. iii y 2. [Consulta: 01 febrero 2016]. Disponible en: <http://bdigital.zamorano.edu/handle/11036/502>
- 11. CABALLERO, H. & HERVAS, T.** *Producción lechera en la Sierra Ecuatoriana*. Panamericana. Quito-Ecuador. 1985. pp. 425-426.
- 12. CENZANO, I.** *Los quesos*. Madrid-España. Mundi Prensa. 1992. pp. 11,28.
- 13. CHAVARRÍAS, M.** *Mayor vida útil para el queso fresco. EROSKI CONSUMER* [en línea]. 2014. [Consulta: 09 febrero 2016]. Disponible en: <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2014/06/12/220040.php>
- 14. CONSTRUMATICA.** *Madera de Roble*. [Consulta: 09 febrero 2016]. Disponible en: http://www.construmatica.com/construpedia/Madera_de_Roble
- 15. DEL ANGEL MEZA, Alma Rosa et al.** *Principios básicos de bromatología para estudiantes de nutrición*. E.E.U.U. Copyright. 2013. [Consulta: 08 febrero 2016]. pp. 55-56. Disponible en: <https://books.google.com.ec/books?id=mXpqAAAAQBAJ&pg=PR3->
- 16. DÍAZ, R. C. & B. GONZÁLEZ DE G.** *Staphylococcus aureus en el queso blanco fresco y su relación con diferentes microorganismos indicadores de calidad sanitaria. Rev. Salud* [en línea]. 2005. Volumen 2, No. 3. [Consulta: 03 febrero 2016]. Disponible en: www.uanl.mx/publicaciones/respyn/ii3/articulos/saureus-1.html.

- 17. DUBACH, J.** *El ABC para la quesería rural de los andes*. 2ª ed. Quito-Ecuador. Proyecto queserías rurales del Ecuador. 1988. pp. 2-52.
- 18. ECUADOR. NTE INEN 1528:2012.** *Norma general para quesos frescos no madurados. Requisitos*. Quito –Ecuador. INEN. 2012. pp.1-11.
- 19. EGAS, L.** *Desarrollo de la tecnología de elaboración de un cereal instantáneo a partir de cebada (*Hordeum vulgare*) expandida (TESIS)* [en línea]. Universidad Técnica de Ambato de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Ambato-Ecuador. 2006. pp. 94. [Consulta: 08 febrero 2016]. Disponible en:
<https://books.google.com.ec/books?id=yXwzAQAAMAAJ&pg=PA93&dq=predicci%C3%B3n>
- 20. FAO.** *Prevención de la E. coli en los alimentos*. [en línea]. 2016. [Consulta: 30 enero 2016]. Disponible en: http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/agns/pdf/Preventing_Ecoli_es.pdf
- 21. FERNÁNDEZ, Sonia et al.** *Pescado ahumado artesanalmente. Ensayos tecnológicos* [en línea]. Rocha-Uruguay. 1995. pp. 9-15. [Consulta: 07 febrero 2016]. Disponible en: <http://www.probides.org.uy/publica/dt/DT10.pdf>
- 22. FRAZIER, W. & WESTHOFF, D.** *Microbiología de alimentos*. 3ª ed. Zaragoza-España. Acribia. 1978. p. 274-277.
- 23. FRESNO, M. et al.** *Evaluación sensorial de la textura de quesos canarios ahumados con diferentes materiales*. *Dialnet. Universidad de Córdoba, Facultad de Veterinaria* [en línea]. España. 2010. pp. 705-707. [Consulta: 13 octubre 2015]. Disponible en: <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2929557>
- 24. GARCÍA, M. et al.** *Bioteología alimentaria*. México D.F.-México. Limusa. 2004. pp. 179-180, 192.
- 25. GONZÁLEZ, M.** *Tecnología para la Elaboración de Queso Blanco, Amarillo y Yogurt* [en línea]. Soná, Veraguas-República de Panamá. 2002. [Consulta: 29 enero 2016]. Disponible en: http://www.argenbio.org/doc/tecnologia_para_la_elaboracion_de_queso.pdf

26. HERNANDEZ, Angel G.I (DRT) . *Tratado de nutrición. Composición y calidad nutritiva de los alimentos*. 2ª ed. Madrid-España. Panamericana. 2010. pp. 22-23.

27. HERNÁNDEZ Elizabeth. *Evaluación sensorial* [en línea]. UNAD- Colombia. 2005.

[Consulta: 09 febrero 2016]. Disponible en:

<http://www.slideshare.net/terelibo/mevaluacion-sensorial-alimentos>.

28. LACASA, A. *Ciencia de la leche. Principios de técnica lechera*. 4ª ed. Barcelona. Reverté. 2003. pp. 617.

29. LANCHIPA BERGAMINI, Liliana & SOSA GUTIÉRREZ, Yolanda. *Evaluación de la carga microbiana patógena en la elaboración del queso fresco en el distrito de Tacna*

[en línea]. Tacna-Perú. 2003. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. [Consulta: 30 enero 2016]. Disponible en: <http://www.unjbg.edu.pe/coin2/pdf/01040700503.pdf>

30. LAWRENCE, R. et al. Symposium: cheese ripening technology. Texture development during cheese ripening. *Journal of Dairy Science* [en línea]. 1987. Vol. 70. pp: 1748-1760. [Consulta: 03 febrero 2016]. Issue8. Disponible en:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030287802072>

31. LÍDERES. Un tercio de la producción láctea se dedica al queso [blog]. 2015. [Consulta: 03 febrero 2016]. Disponible en: <http://www.revistalideres.ec/lideres/ecuador-produccion-lactea-queso.html>

32. MÉXICO. CODEX STAN 283-1978. *Norma general del Codex para el queso*. México D.F.-México. Codex. 1978. pp. 1-7.

33. MÔLER, Klement. *El ahumado*. España. Acribia. 1980. pág. 10-13,37.

34. MOSSEL, D.A.A. et al. *Microbiología de alimentos*. 2ª ed. Zaragoza-España. Acribia.2003. p.388-390, 413.

- 35. MORENO VELOZ, E.** *Alimentos ahumados;pollo ahumado – analisis;humo liquido;conservación de alimentos (TESIS)* [en línea]. Universidad de Guayaquil. Ecuador. 2003. pp. 18-19. [Consulta: 03 febrero 2016]. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/851>
- 36. MOURA, M^a Elena.** *Quesos, exquisita fuente de proteínas y calcio* [en línea]. 2011. [Consulta: 02 febrero 2016]. Disponible en: <http://www.saludymedicinas.com.mx/centros-de-salud/nutricion/consejos-alimenticios/quesos-exquisita-fuente-de-proteinas-y-calcio.html>
- 37. MUÑOZ, Ana et al.** “Presencia de *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo, procedentes de plazas de mercado y delicatessen de supermercados de cadena, Bogotá, D.C, 2002-2008”. *Biomedica* [en línea]. Colombia. 2011. Vol.31 No.3. pp. 429-430. [Consulta: 01 febrero 2016]. ISSN 0120-4157. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-41572011000300015&script=sci_arttext
- 38. NANGELI, L.** *Arboles Laurel* [en línea]. 2013. [Consulta: 13 febrero 2016]. Disponible en: http://leonangeli.com/site/index.php?option=com_k2&view=item&id=974:arboles-%7C-laurel&Itemid=1
- 39. NUBIA, Vásquez et al.** Evaluación de las características fisicoquímicas y microbiológicas del queso blanco a nivel de distribuidores, estado Lara, Venezuela. *Zootecnia Tropical-Scielo* [en línea]. 2012. Venezuela. Vol.30. No.4. pp. 217-223. [Consulta: 03 febrero 2016]. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-72692012000400002&lang=pt
- 40. OLIVAS, Evangelina & ALARCÓN, L.** *Manual de prácticas de Microbiología básica y Microbiología de alimentos*. México D.F.-México. UACJ. 2004. pp. 83-84.
- 41. ORBERÁ, Teresa de los Milagros.** *Acción perjudicial de las levaduras sobre los alimentos*. *Rev. Cubana Salud Pública. Facultad de Ciencias Naturales. Centro de Estudios de Biotecnología Industrial. Universidad de Oriente* [en línea]. Santiago de Cuba-Cuba. 2004. [Consulta: 01 febrero 2016]. Disponible en: http://www.bvs.sld.cu/revistas/spu/vol30_3_04/spu16304.htm

- 42. PASCUAL, ANDERSON M^a del Rosario & CALDERÓN, Vicente.** *Microbiología alimentaria. Metodología analítica para alimentos y bebidas.* 2^a ed. España. Diaz de Santos. 2000. pp. 13, 142-143, 291-293.
- 43. QUEZADA, Mercy.** *Innovación de las características gustativas de los quesos artesanales aplicando técnicas de ahumado y especiado (TESIS).* Universidad de Cuenca Carrera de Gastronomía. Cuenca-Ecuador. 2011. pp: 1,162, 256.
- 44. RAMÍREZ, Betti et al.** *Elaboración de quesos ahumados.* Venezuela. Copyrigh INCE. 2005. p.3.
- 45. RAMÍREZ, C. & VÉLEZ J. F.** Quesos: propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad. *Universidad de las Américas Puebla* [en línea]. 2012. México D.F.- México. Vol 6. pp. 131-132. [Consulta: 03 febrero 2016]. Disponible en: <http://web.udlap.mx/tsia/files/2013/12/TSIA-62Ramirez-Lopez-et-al-2012.pdf>
- 46. RAMÍREZ, Juan.** *Análisis sensorial: pruebas orientadas al consumidor* [en línea]. Cali-Colombia. Recitela. 2012. p. 90. [Consulta: 09 febrero 2016]. Disponible en: https://books.google.com.ec/books?id=4_TNm-72U7MC&pg=PA90&dq=pruebas
- 47. REHBRONN, E. et al.** *Ahumado de pescado.* 5^a edición. Acribia. 1989. pp. 50-51.
- 48. RENOBALLES, Mertxe et al.** La investigación científica en el queso Idiazabal. *Revista Internacional de los Estudios Vascos* [en línea]. País Vasco. 2008. Vol. 53, 2. 395-431.
- 49. RESTREPO, A. Y C. MONTOYA.** *Implementación y diseño de procedimiento para determinación de vida útil de quesos frescos, chorizos frescos y agua en bolsas.* [en línea] (TESIS). Universidad Técnica de Pereira. Pereira-Colombia. 2010. pp. 21-41. [Consulta: 03 febrero de 2016]. Disponible en: <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/11059/1787/1/6640286R436.pdf>
- 50. RIHA, W.E. & WENDORFF, W.L.** Evaluation of Color in Smoked Cheese by Sensory and Objective Methods. *ScienceDirect* [en línea]. Madison, Wisconsin-Estados Unidos. 1993. Volumen 76. No.6. pp. 1491-1497. [Consulta: 21 de octubre de 2015]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030293774809>

- 51. RICHTER, Hans et al.** Fichas de Propiedades Tecnológicas de las Maderas Proyecto ITTO PD 385/05 Rev. 4 (I,F.) [en línea]. México D.F.-México. 2012. [Consulta: 13 febrero 2016]. Disponible en:
http://www.itto.int/files/itto_project_db_input/2596/Technical/Capitulo%207%20Fichas%20Tecnol%C3%B3gicas%20de%20las%20Especies%20de%20Madera.pdf
- 52. RUIZ C.** *Quesos y recetas la Pasiéga. Los mejores quesos ahumados españoles* [en línea]. 2014. [Consulta: 03 febrero 2016]. Disponible en:
<http://quesoyrecetaslapasiega.com/2014/09/23/mejores-quesos-ahumados-espanoles/>
- 53. RUIZ, P.** *Estudio “Globalización y TLC, escenarios teóricos y factibles para los pequeños productores del sector lácteo ecuatoriano, para el SIPAE* [en línea]. Ecuador. SIPAE. 2006. [Consulta: 29 de enero de 2016]. Disponible en:
<http://www.flacsoandes.edu.ec/biblio/catalog/resGet.php?resId=23387>
- 54. SALAS, Jordi et al.** *La alimentación y la nutrición a través de la historia.* Barcelona-España. Glosa. 2005.p. 452. [Consulta: 07 febrero 2016]. Disponible en:
<https://books.google.com.ec/books?id=7StHfcrJBTcC&pg=PA452&dq=historia++del+ahumad>
- 55. SANCHO, J. et al.** *Introducción al análisis sensorial de los alimentos.* Barcelona-España. Edicions universitat de Barcelona. 1999. pp. 28-29, 207, 212. [Consulta: 08 febrero 2016]. Disponible en: https://books.google.com.ec/books?id=-cw1_dn02I8C&pg
- 56. STEVENS, et al.** Recommendations to change the use of coliforms as Microbial indicators of drinking water quality. Department of Human Services, South Australia. 2003. [Consulta: 13 febrero 2016]. Disponible en:
http://www.nhmrc.gov.au/publications/synopses/_files/eh32.pdf
- 57. SICILIANO, M.** Estudio de la vida útil del queso crema utilizando microbiología predictiva (TESIS) [en línea]. Universidad Tecnológica Nacional de la Facultad Regional de Buenos Aires. Buenos Aires. 2010. p. 24,28-29. [Consulta: 08 febrero 2016]. Disponible en:
<http://posgrado.frba.utn.edu.ar/investigacion/tesis/MTA-2011-Siciliano.pdf>

- 58. VALENCIA, García Francia et al.** Estimación de la vida útil fisicoquímica, sensorial e instrumental de queso crema bajo en calorías. *Revista Lasallista de Investigación* [en línea]. Colombia. 2008. Vol.5, N°. 1. p. 29. [Consulta: 08 febrero 2016]. ISSN: 1794-4449. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/695/69550106.pdf>
- 59. VARGAS, S.** *Estudio técnico económico para la creación de una planta productora de queso fresco para el abastecimiento en la ciudad de Guayaquil (TESIS)*. Universidad de Guayaquil Facultad de Ingeniería Industrial. Guayaquil-Ecuador. 2009. pp. 2.
- 60. VEISSEYRE, Roger.** *Lactología técnica composición, recogida, tratamiento y transformación De la leche*. 2ª ed. Zaragoza-España. Acribia. 1988. p. 425.
- 61. VINUEZA, M.** *Ficha Técnica N° 4: LAUREL* [en línea]. Ecuador. 2012. [Consulta: 13 febrero 2016]. Disponible en: <http://ecuadorforestal.org/fichas-tecnicas-de-especies-forestales/ficha-tecnica-no-4-laurel/>
- 62. ZANNI, E.** *Patología de la madera* [en línea]. Argentina. Brujas. 2008. pp. 31-32. [Consulta: 09 febrero 2016]. Disponible en: <https://books.google.com.ec/books?id=tmGpBJ2S3IUC&pg=PA31&dq=Composici>

ANEXOS

Anexo A. Prueba de ordenamiento

Nombre: _____ **Fecha:** _____

Frente a usted se presentan cuatro muestras de QUESO AHUMADO, por favor pruebe cada una de ellas de izquierda a derecha. Ordene de la mejor a la peor de acuerdo a los siguientes parámetros:

PARÁMETROS	MUESTRAS			
	605	321	490	810
Color				
Olor				
Sabor				
Textura				

Asigne el valor 1 a la muestra que le guste extremadamente, el valor 2 a la muestra que le guste moderadamente, el valor 3 a la muestra que le guste levemente y el valor 4 a la muestra que no le guste.

COMENTARIOS:

MUCHAS GRACIAS POR SU COLABORACION

Anexo B. Prueba de preferencia

211-4
723-4.9

NOMBRE: _____

FECHA: _____

SEXO: F M

POR FAVOR ENJUAGUE SU BOCA CON AGUA ANTES DE EMPEZAR.

FRENTE A USTED SE ENCUENTRAN DOS MUESTRAS DE QUESO AHUMADO, PRUEBE CADA UNA DE ELLAS, EMPEZANDO POR LA DE LA IZQUIERDA, NO RE-PRUEBE Y SEÑALE CON UNA X CUÁL PREFERE.

211

723

OBSERVACIONES:

GRACIAS POR SU COLABORACIÓN

Tabla 6. Criterios microbiológicos para quesos blanco fresco (A nivel de planta y centros de distribución pertenecientes a la empresa)

Requisitos	n	c	Límite		Método de ensayo
			m	M	
Coliformes NMP/g (*) (1)	5	2	2100,0	21000,0	COVENIN 1104
Coliformes ufc/g (*) (2)	5	2	$2,1 \times 10^3$	$2,1 \times 10^4$	COVENIN 3276
Coliformes fecales NMP/g (*) (1)	5	2	21,0	210,0	COVENIN 1104
<i>Escherichia coli</i> ufc/g (*) (2)	5	0	< 10,0	-	COVENIN 3276
<i>Escherichia coli</i> NMP/g (*) (3)	5	2	9,0	93,0	COVENIN 1104
<i>Escherichia coli</i> ufc/g (*) (3)	5	2	10,0	1×10^2	COVENIN 3276
<i>Staphylococcus aureus</i> ufc/g (**)	5	2	1×10^2	1×10^3	COVENIN 1292
Salmonella en 25g (**)	5	0	0	--	COVENIN 1291
<i>Listeria monocytogenes</i> en 25g (**)	5	0	0	--	COVENIN 3718
Mohos ufc/g (*)	5	2	1×10^2	1×10^3	COVENIN 1337
Levaduras ufc/g (*)	5	2	1×10^2	1×10^3	COVENIN 1337

Donde:

n = Número de muestras del lote

c = Número de muestras defectuosas

m = Límite mínimo o único.

M = Límite máximo.

*: Requisitos microbiológicos recomendados (véase COVENIN 409)

** : Requisitos microbiológicos obligatorios (véase COVENIN 409)

(1) Si se utiliza el método NMP para quesos sin condimentos y especias, se determinará Coliformes y Coliformes fecales

(2) Si se utiliza el método en placas para quesos sin condimentos y especias, se determinará Coliformes y *Escherichia coli*

(3) Si el queso contiene condimentos y/o especias

Anexo D. Evidencia fotográfica



Fotografía 1: Construcción del ahumador



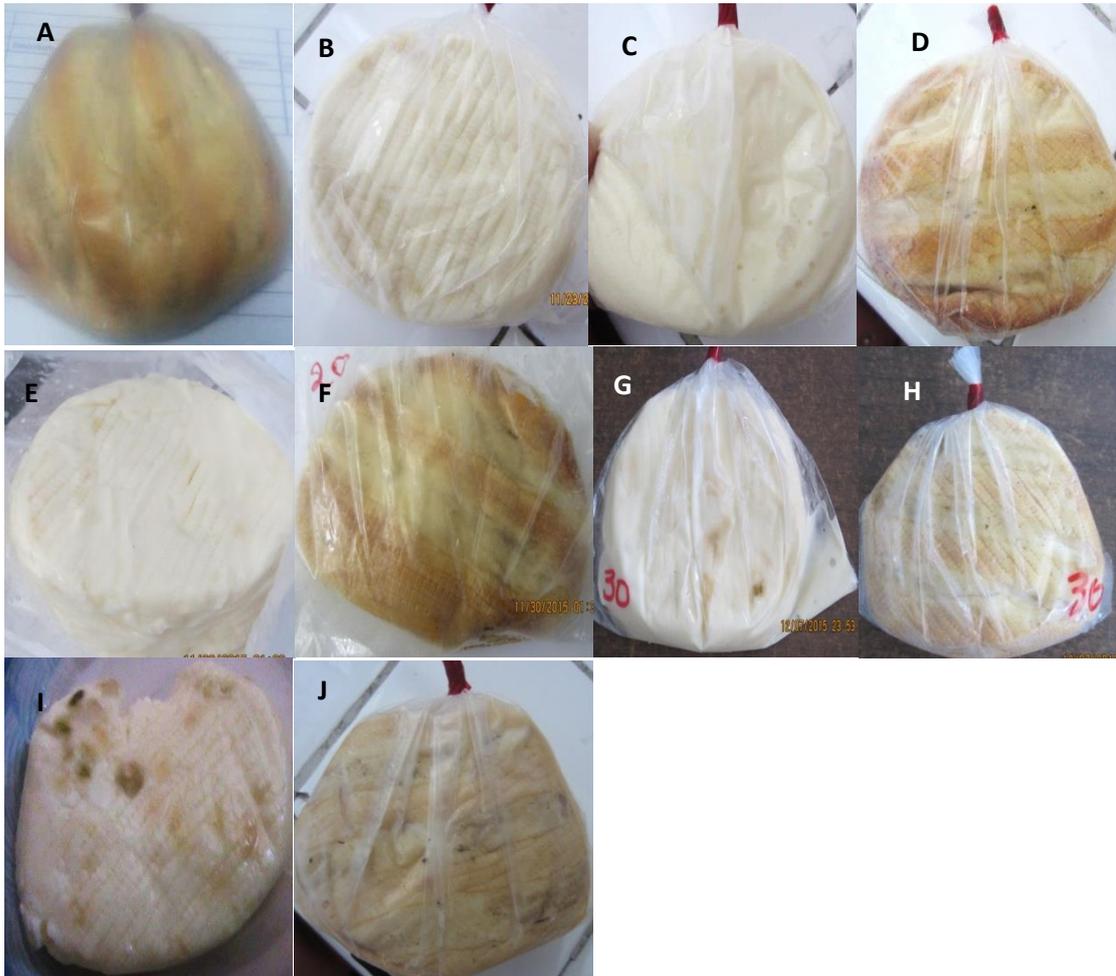
Fotografía 2: Obtención de la viruta y aserrín de roble



Fotografía 3: Primera catación-prueba de aceptabilidad de ordenamiento



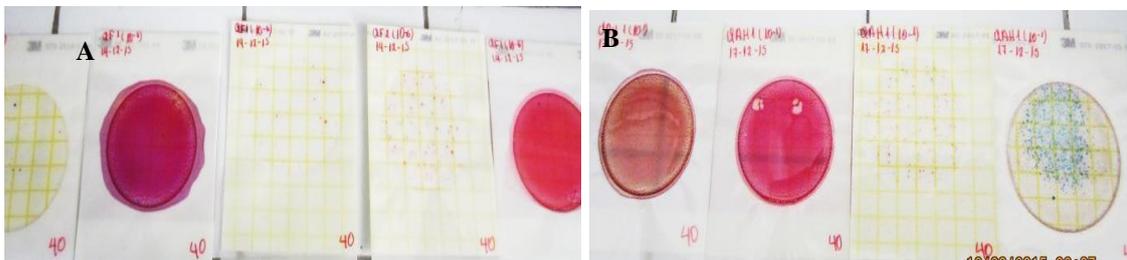
Fotografía 4: Segunda catación-prueba de aceptabilidad de preferencia



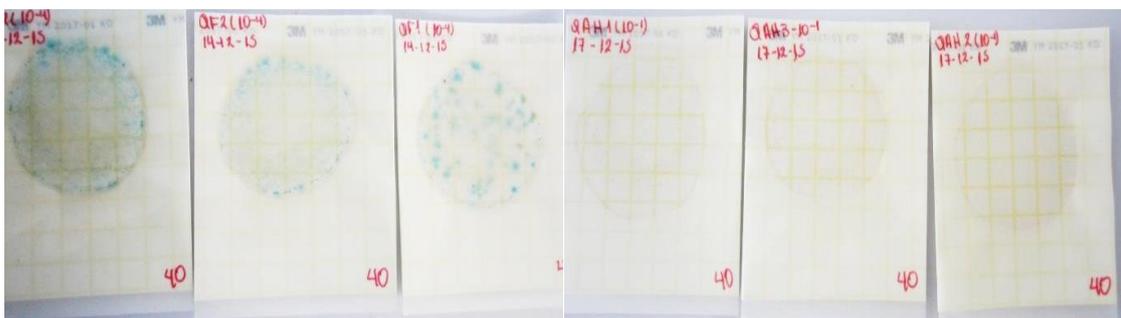
Fotografía 5: Evolución del queso fresco y ahumado durante los 40 días de almacenamiento: A. Queso ahumado 0 días. B. Queso fresco 0 días. C. Queso fresco 10 días. D. Queso ahumado 10 días. E. Queso fresco 20 días. F. Queso ahumado 20 días. G. Queso fresco 30 días. H. Queso ahumado 30 días. I. Queso fresco 40 días. J. Queso ahumado 40 días.



Fotografía 6: Procesamiento de las muestras de queso para el análisis microbiológico del queso ahumado y fresco a los 0, 10, 20, 30 y 40 días de almacenamiento.



Fotografía 7: Crecimiento bacteriano en placas petrifilm. A. Queso fresco sin ahumar, B. Queso fresco ahumado.



Fotografía 8: Crecimiento de mohos y levaduras en el queso fresco sin ahumar y el queso fresco ahumado. A. Queso Fresco. B. Queso fresco ahumado.