

TIQ/000278/G69

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO
Facultad de Ingeniería Química
Escuela Profesional de Ingeniería Química



**“VIABILIDAD DE *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS* EN
QUESO FRESCO CON GOMA DE ALGARROBA
(*PROSOPIS PALLIDA*)”**

TESIS
PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO
QUÍMICO

PRESENTADO POR: GONZALES BALLADARES, JULIO DAVID

ASESOR : DRA. LIDA CARMEN SANEZ FALCON

**BELLAVISTA-CALLAO
2012**



PROLOGO DEL JURADO

La presente Tesis fue sustentada por el Bachiller **GONZALES BALLADARES JULIO DAVID** ante el **JURADO DESUSTENTACION DE TESIS** conformado por los siguientes docentes ordinarios:

ING. CARLOS ALEJANDRO ANCIETA DEXTRE : PRESIDENTE

ING. MARIA ESTELA TOLEDO PALOMINO : SECRETARIO

ING. SONIA ELIZABETH HERRERA SANCHEZ : VOCAL

ING. LIDA CARMEN SANEZ FALCON : ASESOR

Tal como esta sustentado en el libro de Actas de Sustentación de Tesis N° 2, Folio N° 49, Acta N° 232 de fecha **VEINTINUEVE DE MAYO DE 2012** para optar el Título Profesional de Ingeniero Químico.

Agradecimiento

A Dios, mis padres y mis compañeros que me apoyaron constantemente a lo largo de mis estudios para ser profesional, a mi asesora la Dra. Lida C. Sanez F., al Dr. José R. Cáceres P. y al Msc. Edgar Zarate S. por la ayuda en la realización del presente trabajo de investigación.

INDICE

I. INTRODUCCION.....	10
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	10
1.2 FORMULACION DEL PROBLEMA	11
1.3 JUSTIFICACION	12
1.4 LIMITACIONES DE LA INVESTIGACION	12
1.5 OBJETIVOS.....	13
1.6 HIPOTESIS.....	14
1.7 VARIABLES	15
II. MARCO TEORICO.....	16
2.1 ANTECEDENTES	16
2.2 LOS ALIMENTOS PROBIOTICOS.....	21
2.2.1 LOS LACTOBACILLUS.....	25
2.2.2 EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS.....	25
2.3. LOS QUESOS FRESCOS.....	27
2.3.1 TECNOLOGÍA EN LA ELABORACIÓN DEL QUESO FRESCO CON GOMA.....	29
2.3.2 EVALUACION ORGANOLEPTICA DEL QUESO FRESCO	32
2.4 LAS GOMAS.....	35
2.4.1 LAS GOMAS VEGETALES.....	35
2.4.2 LA GOMA DE ALGARROBA (<i>PROSOPIS PALLIDA</i>)	36
2.4.3 TECNOLOGÍA EN LA ELABORACIÓN DE LA GOMA DE ALGARROBA (<i>PROSOPIS PALLIDA</i>)	39

III. MATERIALES, EQUIPOS Y METODOS	43
3.1. MATERIALES	43
3.2. EQUIPOS.....	43
3.3. METODOS.....	46
3.3.1. ELABORACION DEL QUESO FRESCO	46
3.3.2. EXAMENES MICROBIOLÓGICOS Y FÍSICOQUÍMICOS DEL QUESO FRESCO	52
IV. RESULTADOS	58
4.1 EXÁMENES FÍSICOQUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DE LA LECHE	58
4.2 EXAMENES MICROBIOLÓGICOS Y FÍSICOQUÍMICO DEL QUESO FRESCO	61
V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	76
VI. CONCLUSIONES	84
VII. RECOMENDACIONES.....	86
VIII.REFERENCIAS	87
APENDICES	95
APENDICE N ^o 1: Valores experimentales de la titulación de ácido láctico ...	95
APENDICE N ^o 2: Viabilidad de <i>Lactobacillus acidophilus</i> con distintas concentraciones de goma de Algarroba (<i>Prosopis pallida</i>) del queso fresco.	96
APENDICE N ^o 3: Análisis estadístico de la viabilidad de <i>Lactobacillus</i> <i>acidophilus</i>	97
APENDICE N ^o 4: Análisis estadístico de la hipótesis	98
APENDICE N ^o 5: Análisis estadístico atributo textura en el día 15	99

APENDICE N° 6: Análisis estadístico atributo aroma en el día 15.....	100
APENDICE N° 7: Análisis estadístico atributo sabor en el día 15.....	101
ANEXOS.....	102
ANEXO N° 1: Constancia de realización de tesis en el CET.....	103
ANEXO N° 2: CODEX del queso fresco.....	104
ANEXO N° 3: NTP 2002.001- Norma oficial de la leche.....	108
ANEXO N° 4: Guía de uso de placas PETRIFILM™ para el recuento de Aerobios.....	109
ANEXO N° 5: Guía de uso de placas PETRIFILM™ para el recuento de Coliformes totales.....	111
ANEXO N° 6: Ficha técnica del Cuajo.....	113
ANEXO N° 7: Ficha técnica del Agar M.R.S.....	114
ANEXO N° 8: Ficha técnica caldo M.R.S.....	116
ANEXO N° 9: NTP 202.148:1998 "Preparación de muestras para análisis en quesos".....	117
ANEXO N° 10: NTP 202.151:1998 "Determinación de acidez en quesos".....	117
ANEXO N° 11: Preparación y valoración de solución de NaOH.....	117
ANEXO N° 12: NTP 202.149:1998 "Determinación de la humedad en quesos".....	120
ANEXO N° 13: NTP 202.195:2004 "Requisito que debe cumplir el queso fresco".....	120
ANEXO N° 14: Norma general del CODEX para preparados a base de queso fundidos.....	122

PROLOGO

Con la globalización en los últimos años, los alimentos probióticos han adquirido importancia por lo que los productos relacionados a ellos se han vuelto de interés en el mercado nacional. Pero la vida útil de estos productos es corta por lo que es necesaria la búsqueda de componentes que ayuden a mantener la viabilidad de los agentes probióticos sin alterar sus características fisicoquímicas y organolépticas. Hoy en día existe un convencimiento general que la competitividad de un producto se mide en términos de la innovación tecnológica, es decir en capacidad para mejorar la calidad de los productos y procesos con el fin de responder a las necesidades del mercado.

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo determinar la viabilidad del *Lactobacillus acidophilus* en queso fresco con goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) en unidades formadoras de colonia por gramo de muestra (UFC/g) con respecto al tiempo; como también sus propiedades fisicoquímicas y organolépticas. Para el cumplimiento de dicho objetivo se formularon dos tratamientos diferentes. En el primero se inoculó el *Lactobacillus acidophilus* en el queso fresco con goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) y en el segundo se inoculó en un queso fresco sin goma de Algarroba (*Prosopis pallida*), ambos quesos se almacenaron a 8°C por 15 días. La identificación y recuento diario del *Lactobacillus acidophilus* en ambos quesos frescos se realizó mediante sembrado en medio agar MRS de esta forma se determinó la tasa de crecimiento microbiano (UFC/g versus tiempo). La semejanza o diferencia entre las tasas de crecimientos en ambos tratamientos se estableció mediante el análisis de varianza (ANOVA), con un nivel de significancia $p=0.05$ utilizando 16 interacciones y el test de rango múltiple de Duncan. En el caso de las propiedades fisicoquímicas: La humedad fue determinada mediante gravimetría manteniéndose mayor a 46% en ambos tratamientos, la acidez fue determinada mediante titulación manteniéndose dentro del rango de 0,4 a 0,7% en ambos tratamientos y las propiedades organolépticas determinadas mediante pruebas hedónicas manteniendo los atributos de apariencia (textura), aroma y sabor aceptables en ambos tratamientos, con valores mayores al afecto "NO ME GUSTA NI ME DISGUSTA" (puntajes >4).

I. INTRODUCCION

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El queso fresco por su forma de elaboración y conservación dificulta la viabilidad de los microorganismos probióticos (*Lactobacillus acidophilus*) en estos, recortando su viabilidad en este alimento. La vida útil de un producto refrigerado que contenga probióticos es corta, siendo más estable el contenido en productos no refrigerados. Es por ello la búsqueda de componentes que ayuden a mantener la viabilidad de agentes probióticos en los alimentos en refrigeración.

Un alimento funcional puede ser un alimento natural o modificado (alterando, añadiendo o eliminando uno o varios de sus componentes) sin alterar sus características organolépticas, mejorándolo para afectar funciones diarias en el organismo de manera específica y positiva, promoviendo efectos fisiológicos o psicológicos más allá de su valor nutritivo tradicional. El efecto positivo de un alimento funcional puede ser tanto su contribución al mantenimiento del estado de la salud y bienestar como la reducción del riesgo de padecer una determinada enfermedad.

La goma de la semilla de la Algarroba (*Prosopis pallida*) es utilizada como un estabilizante y puede ser usada para elaborar un alimento funcional como el queso probiótico, el cual es un alimento de gran importancia nutricional al ser usado como un vehículo contenedor de estos

microorganismos, La goma tiene la particularidad de no ser atacadas por los enzimas digestivas y siendo solo fermentadas en el colon. Ello le confiere propiedades fisiológicas y nutritivas de especial interés como fibra dietética. Por ser aprovechada por distintos microorganismos probióticos, ayudando así a mejorar la absorción de nutrientes en los alimentos.

1.2 FORMULACION DEL PROBLEMA

PROBLEMA GENERAL

¿Cuál es la viabilidad de *Lactobacillus acidophilus* en quesos frescos con goma de Algarroba (*Prosopis pallida*)?

SUB PROBLEMA:

- a) ¿Cuál es la tasa de crecimiento microbiano (UFC/g vs tiempo) de *Lactobacillus acidophilus* en el queso fresco con goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) y un queso fresco sin goma?
- b) ¿Cuales son propiedades fisicoquímicas y organolépticas entre un queso fresco con goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) y un queso fresco sin goma inoculados con *Lactobacillus acidophilus*?

1.3 JUSTIFICACION

El presente trabajo sirve para demostrar que el queso fresco con goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) mantiene la viabilidad del microorganismo probiótico (*Lactobacillus acidophilus*) en refrigeración a 8°C manteniendo sus propiedades fisicoquímicas y organolépticas durante un periodo de 15 días.

Beneficia a las empresas y productores de quesos frescos las cuales pueden obtener un alimento funcional de gran valor comercial. Beneficiando también a los productores de goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) de la zona norte (Tumbes y Piura). Según (Taranto *et al.*, 2005) se justifica por la demanda del mercado nacional e internacional impulsado en los últimos años en una nueva línea de alimentos funcionales probióticos, productos alimenticios que además de su valor nutritivo intrínseco ayuden a mantener el estado de salud general del organismo.

1.4 LIMITACIONES DE LA INVESTIGACION

- El presente estudio por ser longitudinal, necesitó estudiar la variable en periodos largos tiempo, por ser éste el determinante en la relación causa efecto.

- El diseño experimental tuvo un elevado costo por lo cual no permite utilizar un número elevado de unidades repetitivas.
- Para la realización de la investigación se necesita contar con un laboratorio altamente equipado.

1.5 OBJETIVOS

1.5.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar la viabilidad de *Lactobacillus acidophilus* en queso fresco con goma de Algarroba (*Prosopis pallida*).

1.5.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- a) Determinar la tasa de crecimiento microbiano (UFC/g vs tiempo) del *Lactobacillus acidophilus* entre un queso fresco con goma de Algarroba (*Prosopis Pallida*) y un queso fresco sin goma.
- b) Mantener las propiedades fisicoquímicas y organolépticas entre un queso fresco con goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) y un queso fresco sin goma inoculados con *Lactobacillus acidophilus*.

1.6 HIPOTESIS

1.6.1. HIPOTESIS GENERAL

Se puede mantener la viabilidad de *Lactobacillus acidophilus* en el queso fresco con goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) refrigerado a 8°C por 15 días manteniendo sus propiedades fisicoquímicas y organolépticas.

1.6.2. HIPOTESIS ESPECÍFICAS

- a) La tasa de crecimiento microbiano (UFC/g vs tiempo) de *Lactobacillus acidophilus* del queso fresco en los alimentos debe mantenerse por encima de 10^6 UFC/g para ser considerado como un alimento probiótico, además de mantener la vida útil del queso fresco durante 15 días.

- b) Las propiedades fisicoquímicas y organolépticas entre un queso fresco con goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) y un queso fresco sin goma inoculados con *Lactobacillus acidophilus* debe de cumplir los siguientes requisitos dados en la norma técnica peruana de leche y productos lácteos en queso fresco (NTP 202.195:2004): humedad% mayor a 46%, la acidez expresada en ácido láctico% entre (0,4-0,7%) y sus propiedades organolépticas de textura, aroma y sabor aceptables.

1.7 VARIABLES

1.7.1. VARIABLE INDEPENDIENTE

La goma de Algarroba (*Prosopis pallida*).

1.7.2. VARIABLE DEPENDIENTE

La viabilidad de *Lactobacillus acidophilus* del queso fresco.

CUADRO N° 1: Descripción de las Variables

VARIABLE	TIPO	DIMENSION	INDICADOR	ESCALA
Goma de Algarroba (<i>Prosopis pallida</i>)	Cuantitativo	Concentración (g/L) para mantener la viabilidad en el crecimiento de microorganismos	Viabilidad del crecimiento (UFC/g)	1g de goma de Algarroba (<i>Prosopis pallida</i>) por litro de Leche
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Cuantitativo	Viabilidad del crecimiento (UFC/g)	(UFC/g)	10^6 - 10^9

Fuente: Elaboración Propia

Causa: La goma de Algarroba (*Prosopis pallida*).

Efecto: Mantiene la viabilidad de *Lactobacillus acidophilus*.

II. MARCO TEORICO

2.1 ANTECEDENTES

Según (Fragoso *et al.*, 2000) explican que la utilización de microorganismos probióticos en los alimentos se ha extendido en el mundo como un medio de proporcionar a los consumidores productos no sólo nutritivos, sino también beneficiosos para la salud humana, sus principales usos actualmente se dirigen a productos lácteos como el yogurt, las leches fermentadas y más recientemente a quesos frescos. Ellos obtuvieron un queso fresco capaz de mantener la viabilidad celular adecuada de las bacterias lácticas probióticas seleccionadas utilizando la tecnología establecida para queso crema empacado en frío.

Según (Saarela *et al.*, 2000) explican que cuando se agregan bacterias probióticas para la elaboración de los alimentos funcionales, depende del sinergismo que debe establecerse entre estos cultivos y los iniciadores de la fermentación (fermentos, cultivos iniciadores) lo que permite obtener un producto fermentado con excelentes propiedades sensoriales y por el otro lado, de los factores extrínsecos que afectan o condicionan la viabilidad de las cepas funcionales. Cabe mencionar que uno de los requisitos principales de este tipo de alimentos es que los microorganismos probióticos permanezcan viables y activos en el alimento durante el

pasaje gastrointestinal para garantizar así su potencial efecto benéfico en el huésped.

Según (Taranto *et al.*, 2005) explican que los alimentos funcionales probióticos además de su valor nutritivo intrínseco, ayudan a mantener el estado de salud general del organismo y a la vez pueden tener un efecto benéfico adicional, terapéutico o preventivo.

Según (Vinderola *et al.*, 2000) determinaron que dentro de los factores extrínsecos más importantes que afectan la viabilidad y sobrevivencia de las bacterias, se encuentran: el potencial de Hidrogeno (pH) condiciones de acidez derivadas del proceso de fermentación, el oxígeno disuelto (especialmente para bifidobacterias), las interacciones antagónicas entre especies, la composición química del medio de cultivo, la concentración final de azúcares (aumento de la presión osmótica), las prácticas de inoculación (es importante conocer el momento adecuado para el agregado del cultivo probiótico), la temperatura, duración de la fermentación y las condiciones de almacenamiento del producto, etc.

Según (Taranto *et al.*, 2005) indican que Los microorganismos comúnmente empleados como probióticos se encuentran disponibles comercialmente a través de laboratorios o industrias alimenticias a nivel internacional así como en colecciones de cultivos (ATCC, DSM, CRL

[CERELA-CONICET]). Algunos ejemplos de estos microorganismos son los siguientes: *Lactobacillus acidophilus* NCFM (Rhone-Poulenc, Estados Unidos), *Lactobacillus reuteri* 106 (BioGaia, Estados Unidos), *Bifidobacterium longum* bb536 (Morinaga Milk Ind. Japón), *Lactobacillus plantarum* 299 (Proviva, Finlandia), *Lactobacillus casei* YIT9018, *Shirota*, (Yakult, Japón) y *Lactobacillus johnsonii* LJ-1 (Nestlé, Suiza). *Lactobacillus casei* CRL 431 y *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 (CERELA, Argentina), *Lactobacillus reuteri* CRL 1098 (patente en trámite nro. p040103130, CERELA, Argentina) entre otros.

Según (Bergamini *et al.*, 2005) explican que los quesos son un medio más adecuado para contener probióticos que los productos lácteos fermentados, debido a que estos presentan una acidez mayor, contienen grasas, y por ser una matriz sólida; el queso puede proteger de manera más eficiente a las bacterias probióticas que un medio fluido (productos fermentados), durante el almacenamiento del alimento y su tránsito a través del cuerpo humano.

Según (Hernández *et al.*, 2003) explican que los quesos pueden ser clasificados como sólidos visco elásticos en los que la matriz de proteína sirve como principal componente estructural, durante la elaboración de quesos las caseínas, proteínas de la leche forman una red continua que atrapan el suero y grasa, sea por unión física o química. Muchos autores

han incorporado en esta matriz de caseína; hidrocoloides, proteínas vegetales y animales; polisacáridos naturales y sintéticos. El objetivo de esta incorporación de aditivos es variado, puede ser para incrementar el rendimiento, disminuir la producción de suero, estandarizar calidad, sustituir la grasa, disminuir los costos de producción, disminuir o eliminar los tiempos de madurado, realzar o dar algunas características físicas, como cremosidad, fundibilidad, etc.

Según (Dinakar y Mistry, 1994) explican que los productos lácteos fermentados se han utilizado como un medio para reintroducir una población viable en el tracto gastrointestinal de niños y adultos. Para ejercer una influencia positiva el microorganismo debe ser viable en el alimento desde el transporte del producto hasta el consumo. Los productos probióticos deben contener una concentración $\geq 10^6$ UFC/ml de microorganismos que se implanten en el intestino para ser considerado como tal y deben ser consumidos regularmente.

Según (FAO y OMS, 2000) define que el *Aditivo Alimentario*: Es cualquier sustancia que por si misma no se consume normalmente como alimento ni tampoco se usa como ingrediente básico en alimentos, tenga o no valor nutritivo y cuya adición al alimento en su fase de producción, fabricación, elaboración, preparación, tratamiento, envasado, empaquetado, transporte o almacenamiento resulte (o pueda esperarse que

razonablemente resulte) directa o indirectamente por sí o sus subproductos un componente del alimento o bien afecte sus características, esta definición no incluye contaminantes.

Según (Grados, 1996) determinó mediante análisis químicos que el endospermo de la semilla del Algarrobo está conformado por un polisacárido llamado galactomanano, los cuales son macromoléculas capaces de absorber una gran cantidad del agua aumentando su volumen varias veces para formar una solución sumamente viscosa.

Según (Hernández *et al.*, 2003) explican que desde hace algunas décadas y por muchas razones existe el interés por la incorporación de biopolímeros en la matriz de caseína, tales como proteínas y polisacáridos. Dicho proceso ha logrado aumentar rendimientos, reducir calorías o desarrollar atributos especiales: en la mayoría de estos casos se hizo mezclando los biopolímeros en coágulos de la leche previamente obtenidos.

Según (Torricela *et al.*, 2007) explican que entre el conjunto de indicadores que definen la calidad de los alimentos, el sensorial ocupa un lugar destacado. Aspectos desagradables, defectos en el olor y sabor, o una textura inadecuada hacen que los alimentos sean rechazados por el consumidor, aunque desde el punto de vista nutricional, tengan una composición óptima, una adecuada calidad sanitaria y estética.

2.2 LOS ALIMENTOS PROBIOTICOS

Entre los alimentos funcionales están los alimentos probióticos, los cuales son aquellos modificados por la adición de bacterias probióticas, estos alimentos son generalmente productos fermentados (Mollin, 2001).

Los alimentos probióticos son aquellos que contienen bacterias vivas que permanecen activas en el intestino, que no causan enfermedades y que ejercen importantes efectos fisiológicos, porque al ser ingeridos en cantidades suficientes tienen efecto muy beneficioso, contribuyendo al equilibrio de la flora intestinal y a potenciar el sistema inmunológico (Schrezenmeir *et al.*, 2001).

Según (Taranto *et al.*, 2005.) los definen también como "alimentos susceptibles de producir un efecto benéfico sobre una o varias funciones específicas en el organismo, más allá de los efectos nutricionales habituales; de mejorar el estado de salud, de bienestar y de reducir el riesgo de una enfermedad".

Según (Gibson *et al.*, 1995) las bacterias probióticas se definen como "Microorganismos vivos que tras ser ingerido en cantidad suficientes

ejercen un efecto positivo en la salud, más allá de los efectos nutricionales tradicionales". Son representadas en el Cuadro N° 2.1.

CUADRO N° 2.1: Bacterias Probióticas según su género

BACTERIAS PRO BIÓTICAS (GÉNERO)		
LACTOBACILLUS	GRAM – POSITIVO COCOS	BIFIDOBACTERIAS
L. acidophilus	Lactococcus lactis sobsp. cremoris	B. bifidum
L. casei	Streptococcus salivarius subsp. thermophilus	B. adolescentis
L. reuteri	Enterococcus faecium	B. animalis
L. brevis	S. diaacetylactis	B. infantis
L. cellobiosus	S. Intermedius	B. longum
L. curvatus		B. thermophilus
L. fermentum		
L. plantarum		

FUENTE: (Collins y Gibson, 1999)

Según (Rosado *et al.*, 2003) destacan los criterios que debe reunir una bacteria probiótica para ser considerado como útil: Esta deberá ser producida en forma viable y en gran escala, durante su uso y almacenamiento deberá permanecer viable y estable, deberá sobrevivir en el ecosistema intestinal y el huésped deberá verse beneficiado por albergar al probiótico. Según (Collins y Gibson, 1999) una bacteria para ser considerada como una bacteria probiótica debe:

- Poder digerirse en la alimentación.

- Estar presentes en células vivas, preferentemente en cantidades importantes antes de la ingestión.
- Ser estable y viable durante toda la vida útil del producto.
- Ser beneficiosa para la salud del huésped.

Según (Moriñigo, 2001) los criterios que debe cumplir un probiótico incluyen que la cepa sea de origen humano, seguro para su uso, estable en ambiente ácido y en presencia de sales biliares. Según (Rosado *et al.*, 2003) estos criterios los cumplen fundamentalmente los lacto bacilos y las bifido bacterias. Además porque estos pueden establecerse en el colon, volverse activos y pueden adherirse al epitelio intestinal para sobreponerse a las condiciones de stress.

Dentro de los factores extrínsecos más importantes que afectan la viabilidad y sobrevivencia de las células se encuentra la acidez, las interacciones antagónicas entre especies, la composición química del medio de cultivo, la temperatura, entre otras (Vinderola *et al.*, 2000). Por su parte (Shah, 2001) sostiene que para el desarrollo de microorganismos probióticos se deben considerar entre otros factores los siguientes:

- **La viabilidad de organismos probióticos:** Las bacterias probióticas deben ser viables y disponibles en altas concentraciones, típicamente 10^6 UFC/g de producto. Muchos estudios relacionados con este tema se han llevado a cabo con concentraciones más bajas de microorganismos, sin

embargo es dudoso que concentraciones más bajas de 10^6 puedan presentar beneficios probióticos. Muchos factores se han presentado como responsables de la pérdida de viabilidad de los organismos probióticos, tales como: acidez de los productos, acidez producida durante el almacenamiento en frío, nivel de oxígeno en los productos, permeabilidad al oxígeno a través del empaque y sensibilidad a sustancias antimicrobianas producidas por otras bacterias, entre otras (Shah, 2001).

- **Acidez y tolerancia a la bilis:** Uno de los más importantes criterios para seleccionar los organismos probióticos es su habilidad para sobrevivir en productos ácidos y en el estómago, donde el pH puede llegar a ser menor a 1,5 análogamente los organismos que pueden sobrevivir las concentraciones de bilis usualmente son encontrados en el intestino (Shah, 2001).

- **Propiedades adherentes:** La adherencia es uno de los criterios de selección de bacterias probióticas más importantes; los deseados efectos de los microorganismos probióticos son producidos sólo si son capaces de adherirse, colonizar y multiplicarse en el intestino. La habilidad de las bacterias probióticas para adherirse en el intestino les dará la posibilidad de ganar la competencia contra "Las bacterias poco amistosas" para reemplazarlas en el intestino. La adherencia en las paredes celulares del intestino es un importante pre requisito para la colonización en el tracto intestinal (Shah, 2001).

Según (Taranto *et al.*, 2005) sostiene que los requisitos principales para los alimentos sean probióticos son que los microorganismos permanezcan viables y activos en el alimento durante el pasaje gastrointestinal para garantizar así su potencial efecto benéfico en el huésped.

2.2.1 LOS LACTOBACILLUS

Según (Frasier, 1972) los *Lactobacillus* son bacilos microaerófilos (anaerobios facultativos), Gram positivos y de catalasa negativa. Estos organismos forman ácido láctico como producto principal de la fermentación de los azúcares. Por su parte (Gomes y Malcata, 1999) señalan que son microorganismos inmóviles, no esporulados, que mejoran su crecimiento en anaerobiosis o bajo reducidas presiones de oxígeno entre 5 y 10 % de dióxido de carbono. Su temperatura óptima de crecimiento se sitúa entre 30 y 40°C su tolerancia al ácido varía desde 0,3% hasta 1,9% de acidez titulable. Los *Lactobacillus* se dividen en dos grupos:

- **Lactobacillus Homofermentativos**, los cuales dan lugar a ácido láctico como producto principal de la fermentación de los azúcares. Este grupo está integrado por *Lactobacillus caucasicus*, *Lactobacillus bulgaricus*, entre otros (Alais, 1985).

- **Lactobacillus Heterofermentativos**, estos producen además de ácido láctico, dióxido de carbono, etanol y otros productos volátiles. Morfológicamente algunos bacilos son bastones delgados y largos; otros algo parecidos a los colibacilos, pero por el contrario de este todos son Gram positivos, casi todos son inmóviles pero se han señalado excepciones (Alais, 1985).

2.2.2 EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS

Es una bacteria que crece fácilmente en medios mucho más ácidos que los ideales para otros microorganismos (pH entre 4 y 5) crece en condiciones óptimas a unos 45 °C el *Lactobacillus acidophilus* crece de manera natural en una gran variedad de alimentos incluidos la leche, la carne, el pescado y los cereales. No solo está presente en los intestinos de los animales y en el del propio ser humano, sino también en la boca y la vagina. El *Lactobacillus acidophilus* absorbe la lactosa y la metaboliza formando ácido láctico (Jones, 1999).

Según (Reinheimer *et al.*, 2006) los medios de cultivo para recuento de colonias no deben ser complejos ni consumir demasiado tiempo en su preparación, además de ofrecer una buena recuperación celular de los microorganismos. Sugiere para la identificación y recuento de *Lactobacillus acidophilus* el uso de agar MRS como medio selectivo. Se

puede adicionarse opcionalmente 0,2% de Ovgall (bilis de tenera deshidratada) para obtener un mejor resultado.

Si bien existen recomendaciones oficiales para el recuento de *Lactobacillus acidophilus*. "International Dairy Federation- Milk products - Enumeration of presumptive *Lactobacillus acidophilus* on a selective medium - colony-count technique at 37 °C." (ISO 20128/ IDF 192:2006). Según (Roy, 2001) los medios de cultivo propuestos por esta reglamentación y los usados por otros autores para el recuento de una especie probiótica son universalmente aceptadas.

2.3. LOS QUESOS FRESCOS

El queso es una de las formas más antiguas de conservar los principales elementos nutritivos de la leche. Están compuestos por caseína, grasa, sales insolubles, agua, pequeñas cantidades de lactosa, albúmina, sales solubles de la leche. Los cuales son concentrados por coagulación de la leche debido a la acción de la renina o del ácido láctico producido por algunos microorganismos. Después de la coagulación parte del agua de la leche es removida mediante el calentamiento, agitación desuerado y prensado de la cuajada (Herrera *et al.*, 2003).

El queso desde el punto de vista nutricional es considerado como un alimento altamente nutritivo, debido a su variado contenido de materias nitrogenadas, materias grasas, calcio, fósforo y vitaminas. La elaboración del queso se ve condicionado por varios factores, entre los que se tienen la temperatura, el pH, la concentración del agente coagulante y otros (Herrera *et al.*, 2003).

El queso fresco tiene un alto contenido de humedad (>50 %) y no ha sufrido un proceso de maduración, por lo que suelen tener características gustativas similares a la leche fresca o la leche acidificada. El mismo debe consumirse en pocos días, su transporte y conservación debe realizarse a temperatura entre 2 a 10⁰C. (Chamorro *et al.*, 2002).

La formación de ácido láctico a partir de la lactosa y debida a la acción de microorganismos lácticos, es imprescindible en la elaboración de quesos. El ácido láctico cumple varias funciones importantes entre las cuales debe destacarse aquellas que se ejerce sobre la cuajada, donde favorece su formación, su contracción posterior y su elasticidad, además de su influencia sobre los cambios que se producen durante la maduración. De este modo el ácido láctico constituye en gran medida a determinar las características del queso (Peralta, 2003).

Según PROFECO (Procuraduría Federal del Consumidor) de Mexico recomienda que el queso fresco debe consumirse antes del día 15 desde su elaboración (PROFECO, 2010).

2.3.1 TECNOLOGÍA EN LA ELABORACIÓN DEL QUESO FRESCO CON GOMA

Recepción de la leche.

La leche cruda debe cumplir ciertos requisitos en cuanto a calidad, disposición y aptitud para la fermentación. Será sometida entre otras a las siguientes prácticas: filtración (eliminación de impurezas), enfriamiento a 4°C (inhibir el crecimiento microbiano) y almacenamiento a temperatura baja para conservar su calidad.

Tratamiento térmico.

El tratamiento térmico intenta estandarizar la calidad microbiológica de la leche, destruyendo los microorganismos patógenos, reduciendo las enzimas no deseadas. Para ello se aplica una pasteurización media de 72°C durante 15 minutos (Chamorro *et al.*, 2002).

Adición de sales de Calcio y otros aditivos.

Se adicionan sales de calcio para restituir las sales que precipitaron durante la pasteurización; para evitar los problemas que se producen por esta falta se aconseja añadir 0,2 g/L de cloruro de calcio (Ca Cl₂) y en este momento añadir también otros posibles aditivos como colorantes, lizosima, lipasa, etc. (Chamorro *et al.*, 2002).

Incorporación de Gomas en la Leche.

La goma de Mezquite (*Prosopis Sp.*) se dispersa en agua destilada en proporción del 1% relación peso en volumen (p/v) se calienta con agitación constante, hasta alcanzar 75-85⁰C, por 5 minutos posteriormente se retira del calentamiento. Se deja reposar unos minutos hasta alcanzar la temperatura de la leche 32⁰C, para después ser incorporada mediante agitación manual suave a la leche (Hernández *et al.*, 2003).

Coagulación.

La forma más extendida de coagular la leche, es la efectuada mediante la adición del cuajo, aunque para algunos tipos de queso se adicionan otras enzimas proteolíticas, o se acidifica la caseína a su punto isoeléctrico pH 4,6-4,7 (el cuajo es una sustancia que se encuentra en una de las cavidades del estomago de los rumiantes, cuyo principio activo la renina tiene las propiedades de coagular la leche). Durante la coagulación las micelas de la caseína por influencia de la renina del cuajo evolucionan en para-caseína que absorben iones de calcio, formando un entramado de para-caseína en donde el suero queda retenido. Esta sustancia semisólida y gelatinosa de leche coagulada se denomina cuajada (Vivente *et al.*, 2006).

Tratamiento de la cuajada.

El coagulo se contrae y expulsa el liquido (suero) que está encerrado por la red formada por la caseína coagulada. Este fenómeno de

drénaje del suero que sigue a la coagulación de la leche, se conoce con el nombre de sinéresis y resulta favorecido por un pH bajo y una temperatura elevada. Para facilitar la evacuación del suero de las cavidades y la sinéresis, se fragmenta el coagulo. El tamaño de las partículas en que se corta el coagulo depende del tipo de queso, pero se debe evitar partículas demasiadas finas, en este caso la expulsión del líquido se dificulta. Las partículas de las cuajadas deben ser del mismo tamaño, en las partículas grandes queda más líquido que en las pequeñas, lo que provocaría una mala distribución del contenido acuoso en el queso elaborado. Después de la fragmentación se debe agitar la masa para impedir que los granos de la cuajada se vuelvan a soldar y para facilitar la expulsión del suero. Sin embargo la mayor parte del líquido capilar permanece en la cuajada cortada después del desuerado, esta cantidad influye en la acidez y en el contenido acuoso final del producto elaborado (Vivente *et al.*, 2006).

Desuerado.

El coágulo contiene una cantidad de suero, cuya mayor parte se encuentra en los poros o cavidades de la cuajada. Otra parte se encuentra en los intersticios capilares entre las partículas de la caseína coagulada, en el desuerado se trata de eliminar este suero.

Moldeado.

La cuajada escurrida del queso se pasa a los moldes acondicionados a la temperatura de la cuajada, en los quesos blandos el desuerado

continúa espontáneamente en los moldes; por eso se utilizan moldes perforados que se invierten varias veces para aventajar la expulsión del suero, favorecer el moldeado y facilitar el desarrollo de la corteza.

Salado.

La masa prensada se espolvorea con sal, para impedir el desarrollo de microorganismos perjudiciales, completar el desuerado y contribuir con el sabor deseado del queso. También facilita a la formación de una corteza pues la sal absorbe la humedad de la capa periférica de la masa prensada (Chamorro *et al.*, 2002).

Envasado.

El queso elaborado puede envasarse para ser protegido contra influencias externas como polvo, suciedad y contra la desecación (Chamorro *et al.*, 2002).

2.3.2 EVALUACION ORGANOLEPTICA DEL QUESO FRESCO

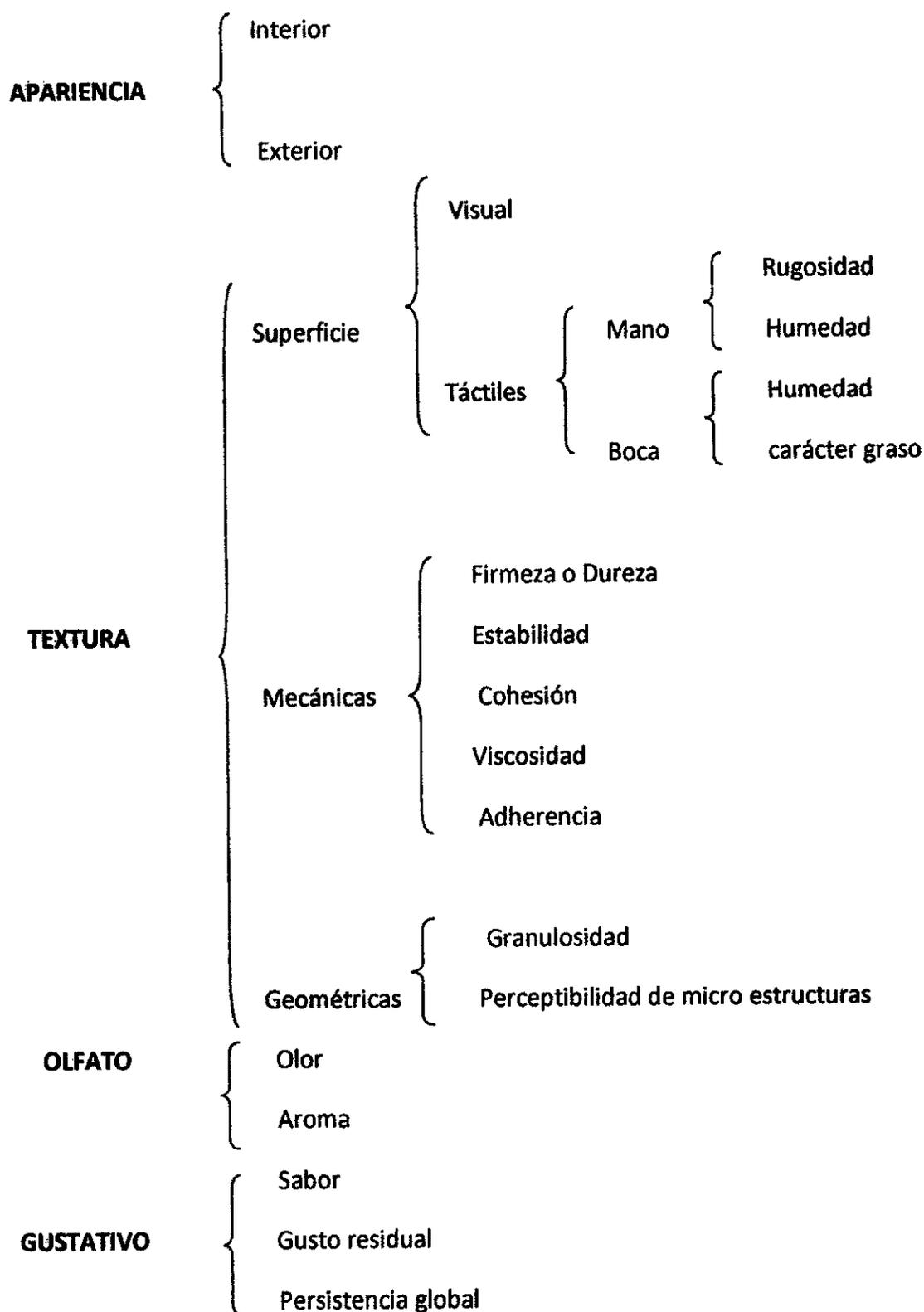
Por lo general la vida útil de un alimento se define como el periodo de tiempo durante el cual resulta deseable el consumo de un producto alimenticio elaborado. Con ello se quiere expresar el tiempo que tarda la calidad del alimento en alcanzar niveles considerados inaceptables para el consumo. Por una parte los criterios de aceptabilidad pueden variar según tengan como base la inocuidad o bien se apoye en la evaluación subjetiva de unas propiedades sensoriales (Bello, 2000).

Análisis Sensorial: Es una forma racional que permite conocer las preferencias, aceptación y grado de satisfacción de los consumidores; así como determinar la posible diferencia entre los caracteres sensoriales de los quesos y describir exhaustivamente los distintos aspectos del queso fresco. El conjunto de pruebas utilizadas para la valoración de los caracteres sensoriales de un queso se distribuye en tres grupos: hedónicas, discriminantes y descriptivas (Chamorro *et al.*, 2002).

Pruebas Hedónicas: Se utilizan para investigar la opinión de los consumidores elegidos al azar. El principal ámbito de aplicación de este análisis es el estudio de mercados y deben ser realizados a grupos muy grandes de consumidores no entrenados y que representen el estamento o clase social sobre al que se quiere obtener información. En algunos casos estas pruebas se llevan a cabo en un grupo muy reducido con el fin de conseguir una información orientativa sobre la aceptabilidad de un producto en los estudios de calidad. (Chamorro *et al.*, 2002). Teniendo en cuenta determinadas características sensoriales como la apariencia, textura y caracteres olfatos-gustativos el queso queda definido y caracterizado en la cata Diagrama N° 2.1.

Según (Carvajal, 2004) realizó pruebas hedónicas con un número de 20 jueces consumidores (panelistas). Por su parte (Watts *et al.*, 1992) realizó pruebas hedónicas con un número de 28 panelistas.

DIAGRAMA N° 2.1: Principales Características Sensoriales de los Quesos a Describir en la Cata



FUENTE: (Chamorro *et al.*, 2002)

2.4 LAS GOMAS

Según (Bello, 2000) las gomas son polisacáridos utilizados por la industria alimentaria para reforzar o modificar la textura de numerosos productos, son también llamadas gomas hidrocoloides y son polímeros que algunas veces están integrados por un solo tipo de monosacárido, pero en la mayoría de los casos pueden participar en su estructura hasta cinco o seis monosacáridos diferentes o sus derivados. Las gomas son productos que por su procedencia y origen se agrupan en cuatro grupos diferentes:

- a) Obtenidas por extracción de semillas y raíces.
- b) Obtenidos por exudados de arboles.
- c) Obtenido mediante cultivo de ciertos microorganismos.
- d) Extraídas de alguna variedad de alga marina.

2.4.1 LAS GOMAS VEGETALES

Según (Bello, 2000) las semillas de leguminosas contienen polisacáridos del tipo de los galactomananos en los que unidades de beta-D-manosa y alfa-D-galactosa, se distribuyen no solo con diferentes proporciones, sino también repartidas de modo arbitrario y agrupadas por bloques, que marca las características de sus propiedades. La cadena principal está formada por moléculas de

manosa unidas a través de enlaces beta 1→4, que lleva insertada molécula de galactosa mediante enlace 1→6.

2.4.2 LA GOMA DE ALGARROBA (*PROSOPIS PALLIDA*)

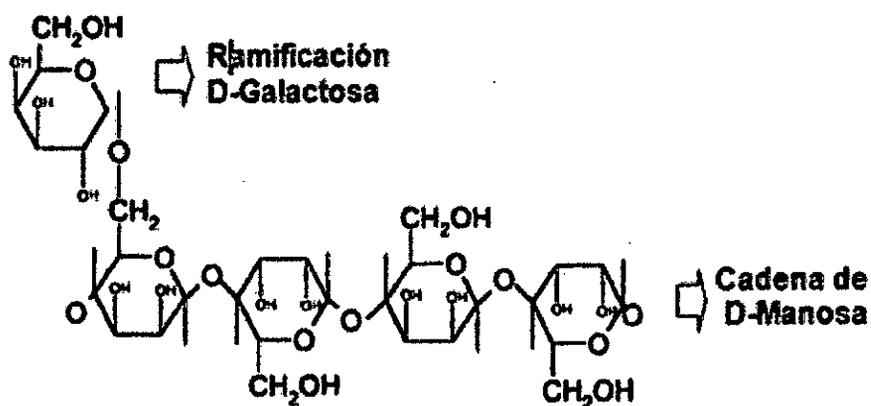
La goma de la semilla del Algarrobo (goma de garrofin) es considerada como un espesante y un estabilizador. Es asignado con el código E-410 para aditivos cuyo uso es permitido en alimentos en general, salvo indicación contraria, de conformidad con las buenas prácticas de fabricación (BPF). No se conoce ningún efecto de la ingestión de esta sustancia que sea perjudicial para la salud según estudios. (FAO y OMS, 2000).

Según (Cubero *et al.*, 2002) la goma de la semilla de Algarroba (*Prosopis pallida*) es un galactomanano formado por una cadena simple con cuatro unidades de manosa por una de galactosa, esto es descrito en el Diagrama N^o 2.2. Las moléculas se agrupan en bloques alternando zonas lisas y zonas ramificadas, las zonas lisas se asocian en agregados pseudo cristalinos que dificultan su hidratación. La goma se solubiliza totalmente a 80^oC básicamente actúa como espesante con un comportamiento pseudo plástico, aumentando la viscosidad de sistemas acuosos o lácticos. Tiene buena resistencia a tratamientos a altas temperaturas, es poco sensible a los efectos mecánicos y tiene buena resistencia a los ciclos de congelación-descongelación.

La goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) mantiene su estabilidad en productos que se almacenan a temperatura ambiente. Se caracteriza porque la viscosidad de sus soluciones ofrece un comportamiento pseudo plástico, el cual crece con el grado de polimerización (Cubero *et al.*, 2002).

Sus funciones pueden ser muy variadas, la industria alimentaria lo utiliza para elaborar los más diversos alimentos: En productos cárnicos, tratados al calor actúa como agente ligante y estabilizante; en postres y helados, fija el agua, proporciona suavidad y cuerpo; en quesos frescos acelera la formación de la cuajada; en masa de pan escasas de gluten favorece la capacidad de retener agua; etc. (Bello, 2000).

DIAGRAMA N° 2.2: Estructura Molecular De La Goma Algarroba
(*Prosopis Pallida*)



E-410 Goma garrofin

FUENTE (Cubero *et al.*, 2002).

Según (Grados *et al.*, 1994) la goma es el constituyente de mayor interés en la semilla, representa un 84% aproximadamente de los extractos de endospermo de la semilla. Su composición química está dada en el Cuadro N^o 2.2. La goma de *Prosopis pallida* es resinosa amarilla y se puede usar en farmacología.

En la fabricación de queso suave la goma de Algarrobo aumenta la velocidad de coagulación, reduciendo el tiempo de desuerado y el rendimiento de sólidos en la cuajada en un 10%, este queso acabado tiene cuerpo, estructura excelente, constancia en el pH, y mayor homogeneidad. En los quesos para untar hechos con alto contenido de agua mezclados con 1% de esta goma (1 g por litro de Leche) mejora la textura, da buena palagosidad y superior aptitud para untar (Laboratorios Bristhar, 2010).

Para la elaboración de queso fundido se usa aproximadamente (0,8g por litro de Leche) de goma de Algarroba según CODEX STAN A-8c-1978.

**CUADRO N° 2.2: Composición Química de la Goma de Algarroba
(*Prosopis Pallida*)**

COMPONENTE	(%)
Galactosa	33,97
Manosa	46,28
Fructuosa, Arabinosa, Xilosa, Glucosa, Otros.	19,75
Relación Galactosa/Manosa	1:1,36

Fuente: (Grados *et al.*, 1994).

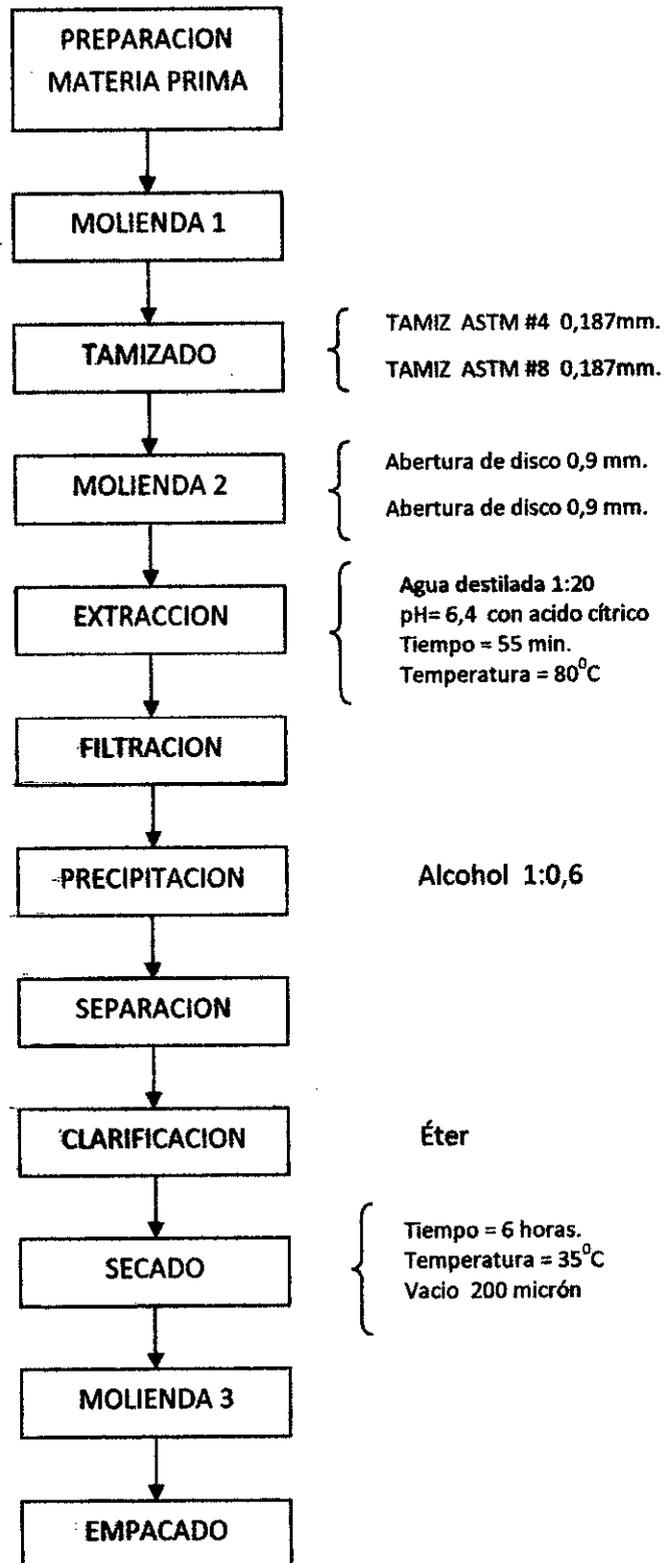
**2.4.3 TECNOLOGÍA EN LA ELABORACIÓN DE LA GOMA DE
ALGARROBA (*PROSOPIS PALLIDA*)**

La extracción del galactomanano comienza con la separación de los componentes de la semilla: endospermo, germen y testa. Para ello se tiene conocimiento de tres técnicas experimentadas a nivel de laboratorio: el método alcalino, ácido y de tostado, con rendimientos variables (Suarez, 2003). Varios estudios dejan de manifiesto que las diversas técnicas utilizadas en la extracción del galactomanano inciden en las propiedades funcionales de éste, diferencia que depende fundamentalmente de la estructura que presenten, es decir el grado de sustitución de las unidades de galactosa en la cadena de manosa (Oliva *et al.*, 2010).

- a) **Método de Tostado:** La goma se extrae de la siguiente manera, se tuesta la semilla (130°C por 3 minutos) se muele, se tamiza separando el germen por cribado, la separación de la goma de las impurezas, cutículas y fragmentos se lleva a cabo por vía húmeda. El agua es eliminada mediante el uso de rotavapor llevándose a precipitación por adición de etanol para así de esta manera obtener una goma de alta pureza (goma de garrofin) (Grados *et al.*, 1994).
- b) **Método Alcalino:** Se mezclan 20 gramos de semillas con solución de hidróxido de sodio (NaOH) al 0,5% p/v a 60°C esta mezcla se agita durante 7 minutos en vortex. Inmediatamente se lava con agua y se deja hidratar durante 18 horas, el líquido sobrenadante se descarta y se separa manualmente al endospermo de la testa y el germen. El endospermo obtenido se seca a 37°C (Frez, 2001).
- c) **Método Acido:** Se mezclan 20 gramos de semillas en 30 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) al 72% relación peso en peso (p/p) a 35°C. Esta mezcla se agita durante 20 minutos, luego las semillas se lavan mediante chorros de agua a alta presión por intervalos cortos de tiempo, operación que se repite hasta la eliminación completa del H₂SO₄. Posteriormente las semillas se frotan en forma manual para eliminar los fragmentos de la testa, luego las semillas se secan a 60°C en estufa a presión reducida y finalmente se muelen en un molino de cereales para obtener fragmentos más pequeños de endospermo (Cruz, 1999).

Según (Céspedes, 1985) determinó mediante experiencia en laboratorio usando el método de tostado que las mejores condiciones para la extracción de la goma de garrofin son: a pH 6,4; a una temperatura de 80 °C, con una relación de hidratación de 1:20 por un tiempo de 55 minutos, para obtener por cada 20 g de semillas unos 4g de goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) como se observa en el Diagrama N° 2.3.

DIAGRAMA N° 2.3: Flujo de Extracción de Goma a Partir de Semilla Algarroba (Prosopis Pallida)



FUENTE: (Céspedes, 1985).

III. MATERIALES, EQUIPOS Y METODOS

3.1. MATERIALES

El material biológico de estudio son los microorganismos *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356-02. Que se encuentran presentes en las muestras de queso fresco con y sin la goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) elaborados en el Centro Experimental Tecnológico (CET) de la Universidad Nacional del Callao (Anexo N°1).

3.2. EQUIPOS

- Estufa esterilizadora marca Memmert de 20°C a 250 °C.
- Estufa incubadora marca Memmert de 20°C a 250°C.
- Estufa al vacio de -1 a 0 Kp/cm².
- Balanza analítica tipo GR-200 20.
- Autoclave fabricado por V. Miranda de 20°C a 300°C y 0 a 30Lb/in.
- Equipo de baño María marca Salvis. Tipo SBK25.
- Cámara de refrigeración marca FAEDA modelo Caravelle.
- Cuenta colonias marca Dr. N Gerber & Co. Tipo 1143-04.

- Molino general marca Culalti. Tipo DCFH48.
- LactoScan (Milk Analyser) modelo MCC30.
- Cocina de gas.
- Prensa para quesos.
- Licuadora marca Oster modelo RFM-0.
- Cuchillas para licuadora marca Oster.
- Vasos de licuadora de 250 mL.
- Recipientes de 15 L de capacidad.
- Tamices y cernidores.
- Moldes para quesos.
- Placas Petrifilm™ para recuento de Aerobios.
- Placas Petrifilm™ para recuento de Coliformes totales
- Placas Petris.
- Pipetas de 1mL.
- Pipetas de 0,1 mL.
- Probetas 100 y 50 mL.
- Soporte universal con pinzas.
- Bureta de 50 mL.

- Termómetro.
- Fiola de 250 mL.
- Vasos de precipitados.
- Tubos de ensayos con tapas.
- Guantes, mascarillas y tocas.

Reactivos

- Alcohol etílico.
- Agar MRS marca Britania®
- Caldo Agar MRS marca Britania®
- Cloruro de calcio CaCl_2 .
- Cloruro de sodio NaCl .
- Cuajo CHR-Hansen® (polvo)
- Suero fisiológico.
- Sorbato de potasio $\text{C}_6\text{H}_7\text{KO}_2$.
- Hidróxido de sodio NaOH .
- Solución fenolftaleína.

3.3. METODOS

3.3.1. ELABORACION DEL QUESO FRESCO

Se elaboraron en el laboratorio del CET dos tipos de queso: Uno sin goma de Algarroba y otro con goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) el que está permitido según la norma estándar para el queso no madurado-queso fresco (CODEX STAND 221-2001) (Anexo N° 2). La elaboración del queso se realizó siguiendo el protocolo de quesería tradicional.

Exámenes fisicoquímicos de la leche

Se basaron en la Norma Técnica Peruana para la leche NTP 202.001 (Anexo N° 3). Las instrucciones generales para el muestreo de productos lácteos fueron obtenidas de la NTP 202.112:1998 y la preparación de la muestra de la NTP 202.115:1998. Los exámenes fisicoquímicos de porcentaje de grasas; SNF (sólidos no grasos); proteínas; lactosa; cantidad de agua; sólidos (sales); densidad en kilogramo por metro cubico (Kg/m^3); punto de congelación y conductividad en mili siemens por centímetro (mS/cm), fueron realizados a leche no pasteurizada y pasteurizada con goma y sin goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) mediante el uso del lacto scan del laboratorio del CET entre un rango de trabajo de:

Grasa.....de 0,01% a 25%

SNF (solido no graso).....de 3% a 40%

Densidad.....de 1000 a 1150 Kg/m³

Proteínas.....de 2% a 7%

Lactosa.....de 0,01% a 20%

Cantidad de agua.....de 0% a 90%

Temperatura de la leche.....de 1^oC a 40^oC

Punto de congelación.....de -0,400^oC a -0,700^oC

Sólidos (Sales)de 0,4 a 4%

pH.....de 0 a 14

Conductividad...de 2 a 14 [mS/cm]

Según el manual de operación con una exactitud del Lacto Scan
MCC30 (Milk Analyser) de:

Grasa..... ± 0,06%

SNF (solido no graso)..... ± 0,15%

Densidad.....± 0,3 Kg/m³

Proteínas..... ± 0,15%

Lactosa..... ± 0,20%

Cantidad de agua..... ± 3,0%

Temperatura de la leche..... ±1^oC

Punto de congelación..... ±0,005^oC

Sólidos (Sales) ± 0,05%

pH..... ± 0,05

Conductividad..... ± 0,05 [mS/cm]

Examen microbiológico de la leche

Los límites máximos permisibles (LMP) de microorganismos Aerobios y Coliformes según la resolución Ministerial RM-591-2008-MInsa fueron tomados antes y después de la pasteurización. Estos métodos de control están basados en las normas de la Federación Internacional de la Leche (FIL) y del libro COMPENDIUM OF METHODS FOR THE MICROBIOLOGICAL EXAMINATION OF FOODS 4Th edition 2008. Usándose placas Petrifilm™ para recuento de Aerobios (Anexo N° 4) y para el recuento de Coliformes totales (Anexo N° 5).

Pasteurización de la leche

La leche de vaca fue colocada en dos recipientes para ser pasteurizada a 65°C por 30 minutos y enfriada posteriormente a 34°C.

Incorporación de Gomas en la leche

La goma Algarroba (*Prosopis pallida*) se dispersó en agua destilada (en proporción del 1% (p/v)) se calentó con agitación constante, hasta alcanzar 75-85°C, por 5 minutos posteriormente se retiró del calentamiento. Se dejó reposar unos minutos hasta alcanzar la temperatura de la leche 32°C, esta solución después fue incorporada a la leche durante agitación manual suave a uno de los recipientes.

Adición de sales de Calcio

El cloruro de calcio (CaCl₂) al 0,02% p/v fue suplementado en los recipientes que contenían la leche.

Coagulación

Se le agregó el cuajo CHR-Hansen^(R) (Anexo N° 6) a cada recipiente y se esperó por 25 minutos a 34⁰C.

Tratamiento de la cuajada

Luego se trozaron las cuajadas de ambos recipientes en cubos de dimensiones aprox. 1cm x 1cm.

Primer Desuerado

Se eliminó el lacto suero de ambos recipientes.

Adición de sal y preservante

Se pesaron las cuajadas de ambos recipientes y se le agregó el cloruro de sodio (ClNa) al 2% p/p y sorbato de potasio C₆H₇KO₂ al 0,3% p/p.

Adición de cultivo

El *Lactobacillus acidophilus* fue tomado con la ayuda del aza de siembra de una de las cepas activadas en una placa con agar MRS (Anexo N° 7) provenientes del caldo MRS (Anexo N° 8), y se agregaron en un tubo de ensayo que contienen 20mL de suero fisiológico con el método nefelométrico (escala de Mc Farland) se llevó a la turbidez deseada de aproximadamente 10⁶ UFC/mL luego se dividió en 2 tubos del mismo volumen y se inocularon en ambas cuajadas.

Moldeado y Segundo Desuerado

Las cuajadas fueron escurridas y colocadas en los moldes, para posteriormente ser llevadas a la prensa para quesos, el desuerado continuó espontáneamente en los moldes perforados, y los quesos fueron invertidos varias veces para aventajar la expulsión del suero, Se procedió finalmente al moldeo cumpliendo con la NTP 202.195:2004.

Envasado

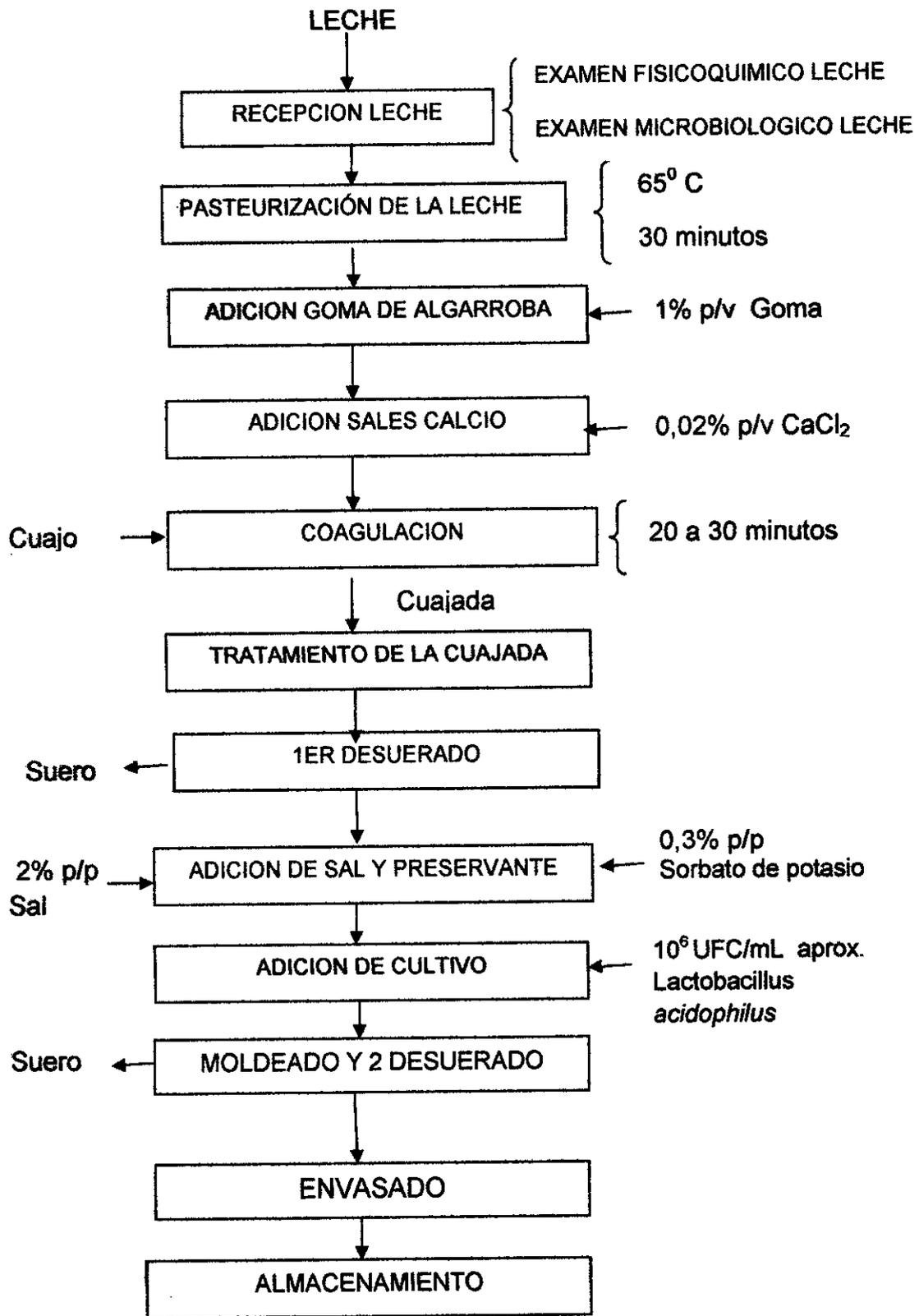
Los quesos fueron colocados en envases de vidrio el primero rotulado como "queso con goma de Algarroba" y el segundo envase rotulado como "queso sin goma Algarroba".

Almacenamiento

Los quesos se almacenaron en la refrigeradora del CET a temperatura controlada de 8°C durante los siguientes 15 días después de su elaboración ambos quesos fueron analizados para determinar la viabilidad de la cepa de *Lactobacillus acidophilus* presentes en estos.

El procedimiento es descrito en el Diagrama N^o 3.1 y fue repetido tres veces.

DIAGRAMA N° 3.1: Diagrama de Flujo del Proceso de Elaboración del Queso Fresco con Goma de Algarroba (*Prosopis pallida*)



Fuente: Elaboración propia.

3.3.2. EXAMENES MICROBIOLÓGICOS Y FÍSICOQUÍMICOS DEL QUESO

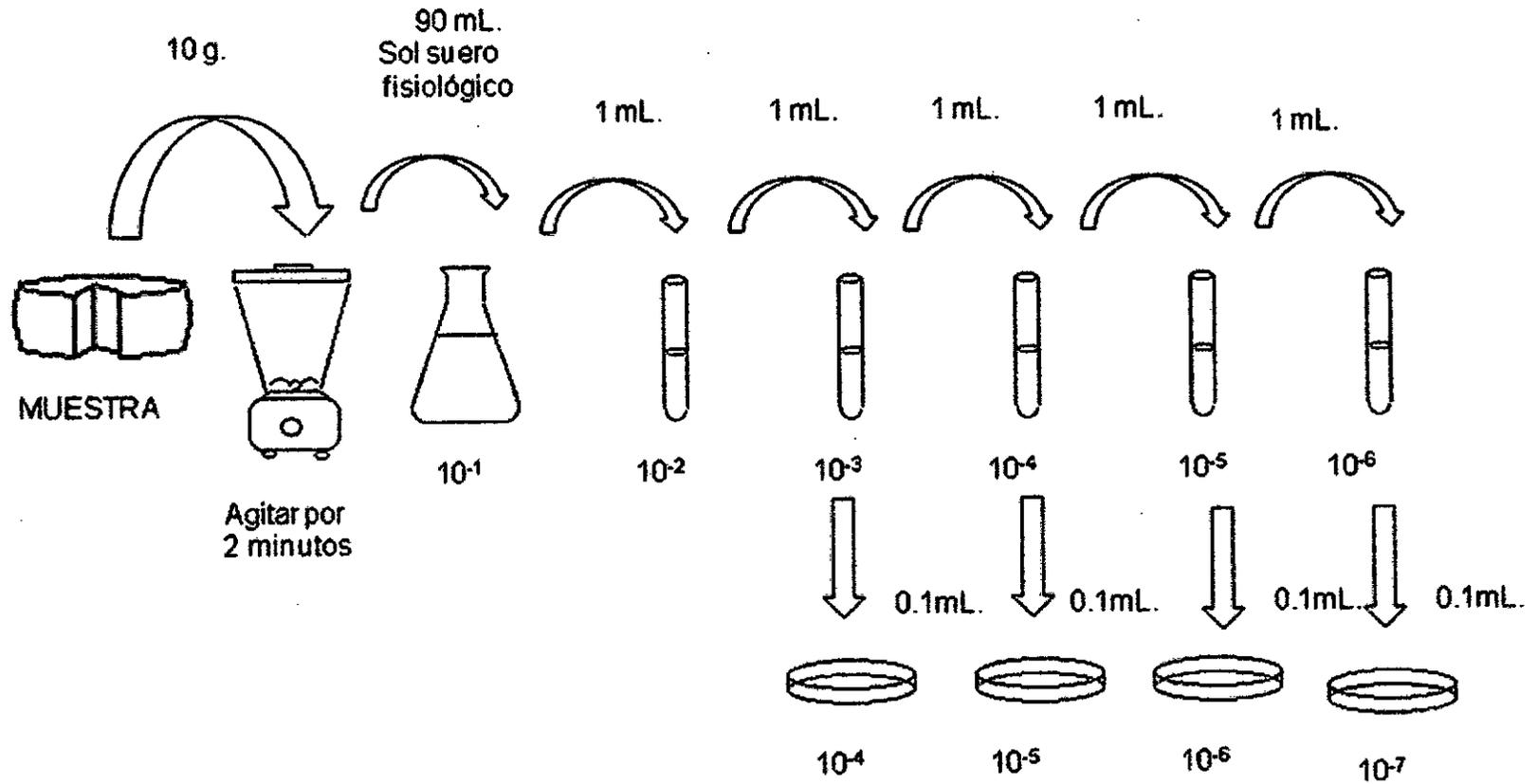
FRESCO

a) Examen Microbiológico del Queso Fresco

Preparación de los medio de cultivo y de la dilución para el recuento de los microorganismos probióticos. Para el recuento de *Lactobacillus acidophilus*: Se pesó 34,125 g de agar MRS se adicionó agua destilada hasta enrasar un matraz de 500 mL, se calentó agitando frecuentemente y llevó a ebullición durante 1 ó 2 minutos hasta su disolución total. Luego el matraz se llevó a la autoclave a presión 15 psi y temperatura de 121⁰C por un tiempo de 15 minutos. Se colocó 15 mL de este agar en tubos de 20 mL previamente esterilizados, posteriormente se cerraron las tapas y se dejaron enfriar los tubos.

Recuento Microbiológico del *Lactobacillus acidophilus*. El recuento microbiológico de las muestras de queso fresco con goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) y sin goma se realizó sembrando a profundidad en agar selectivo MRS haciendo las diluciones necesarias. Para la primera dilución se hizo pesando en un vaso de licuadora 10 g de muestra y diluyéndose en 90 mL de suero fisiológico agitando luego por 2 minutos a baja velocidad. A partir de esta preparación se fue transfiriendo 1mL a cada tubo que contenía 9 mL de suero fisiológico, de esta manera se logro obtener las diluciones.

DIAGRAMA N° 3.2: Diagrama de Trabajo Para el Análisis Microbiológico del Queso Fresco



FUENTE: (Pouch y Keith, 2008).

Hasta llegar a la 10^{-6} de las diluciones 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} . Se tomaron 0,1 mL para la siembra a profundidad en agar MRS y obtener así las siembras 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} como se ve en el Diagrama N° 3.2. Luego las placas fueron incubadas en condiciones de $38^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$; por un tiempo 48 ± 3 horas. Finalmente se realizó el conteo de las placas con ayuda del equipo cuenta colonias del CET. Para el recuento de microorganismos Aerobios y Coliformes totales se usaron placas Petrifilm™ para recuento de Aerobios y placas Petrifilm™ para el recuento de Coliformes totales, tomando la muestra de las diluciones según el nivel a analizar.

b) Exámenes Fisicoquímicos del Queso Fresco

Todas las muestras fueron preparadas previamente para su análisis según: NTP 202.148:1998 (Anexo N° 9) teniendo como referencia AOAC N° 955.30:1993.

- **Acidez:** Se determinó según: NTP 202.151:1998 (Anexo N°10) teniendo como referencia AOAC N° 920.124. En donde 1 mL a 0,1N de NaOH equivale a 0,0090 g de ácido láctico. Los resultados se expresaron como % de ácido láctico lo cual es igual a acidez (%). (Ecuación N°1).

ECUACION N°1:

$$Acidez(\%) = \frac{W_{\text{acidoLactico}}}{W_{\text{muestra}}} \times 100\% = \frac{V \times N_{\text{REAL (NaOH)}} \times P_{\text{meq}}}{W_{\text{muestra}}} \times 100\%$$

Donde:

$W_{\text{acido Lactico}}$ = Peso del acido láctico en gramos.

W_{muestra} = Peso de la muestra del queso en gramos.

V = Volumen gastado de la solución NaOH mL.

$N_{\text{REAL (NaOH)}}$ = Normalidad de la solución de NaOH.

P_{meq} = Numero de mili equivalente gramo de acido láctico.

La solución de NaOH se preparó y valoró según PRACTICA DE LABORATORIO QUIMICO/2 (Anexo N° 11).

- **Humedad:** Se determinó según: NTP 202.149:1998 (Anexo N° 12) teniendo como referencia AOAC N° 948.12. Se siguió la técnica gravimétrica, usando para el secado una estufa con aire forzado a 130°C durante 1,25 horas. Los resultados se expresaron como humedad (%).

- **Pruebas Sensoriales** Se evaluó textura, aroma y sabor mediante pruebas afectivas del tipo Hedónicas usando boletas de evaluación dadas en el Diagrama N° 3.3. En donde se le asignó un valor numérico según el grado de afecto.

CATEGORIA	PUNTAJE
ME GUSTA EXTREMADAMENTE	7
ME GUSTA MUCHO	6
ME GUSTA LIGERAMENTE	5
NO ME GUSTA NI ME DISGUSTA	4
ME DISGUSTA LEVEMENTE	3
ME DISGUSTA MUCHO	2
ME DISGUSTA EXTREMADAMENTE	1

Se realizó la prueba a 20 jueces consumidores (panelistas) de manera individual, se les entregó una boleta de evaluación con dos platos de color blanco rotulados con la letra "A" y letra "B" que contenían las muestras de queso con goma y sin goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) inoculados con *Lactobacillus acidophilus* de manera aleatoria, luego se les pidió cuantificar a los panelistas los atributos de: Apariencia (textura) con ayuda de un cuchillo, siguiendo luego con el de aroma y por último el sabor de cada queso (Watts *et al.*, 1992).

DIAGRAMA N° 3.3: Boleta de Evaluación

Pruebas afectivas de escalas

Nombre del degustador: _____

Fecha: _____

Tarea: Marque con una X la expresión que usted asocia con la muestra.

TEXTURA:	TIPO A	TIPO B
ME GUSTA EXTREMADAMENTE	_____	_____
ME GUSTA MUCHO	_____	_____
ME GUSTA LIGERAMENTE	_____	_____
NO MEGUSTA NI ME DISGUSTA	_____	_____
ME DISGUSTA LEVEMENTE	_____	_____
ME DISGUSTA MUCHO	_____	_____
ME DISGUSTA EXTREMADAMENTE	_____	_____

AROMA:	TIPO A	TIPO B
ME GUSTA EXTREMADAMENTE	_____	_____
ME GUSTA MUCHO	_____	_____
ME GUSTA LIGERAMENTE	_____	_____
NO MEGUSTA NI ME DISGUSTA	_____	_____
ME DISGUSTA LEVEMENTE	_____	_____
ME DISGUSTA MUCHO	_____	_____
ME DISGUSTA EXTREMADAMENTE	_____	_____

SABOR:	TIPO A	TIPO B
ME GUSTA EXTREMADAMENTE	_____	_____
ME GUSTA MUCHO	_____	_____
ME GUSTA LIGERAMENTE	_____	_____
NO MEGUSTA NI ME DISGUSTA	_____	_____
ME DISGUSTA LEVEMENTE	_____	_____
ME DISGUSTA MUCHO	_____	_____
ME DISGUSTA EXTREMADAMENTE	_____	_____

IV. RESULTADOS

4.1 EXÁMENES FISICOQUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DE LA LECHE

- a) **Exámenes Físicoquímicos de la Leche:** La Leche no pasteurizada y pasteurizada con goma y sin goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) fue analizada mediante el Lacto Scan (Milk Analyser) del laboratorio del CET obteniéndose los siguientes cuadros:

CUADRO N° 4.1: Propiedades físicoquímicas de la Leche

	PRIMERA EXPERIENCIA			UNIDADES
	LECHE SIN PASTEURIZAR	LECHE PASTEURIZADA CON GOMA	LECHE PASTEURIZADA SIN GOMA	
Grasa	3,80	3,70	3,79	%
Sólidos No Grasos	8,38	7,93	8,32	%
Densidad	1033,44	1033,08	1033,46	Kg/m ³
Lactosa	4,59	4,62	4,56	%
Sólidos (Sales)	0,81	0,68	0,78	%
Proteínas	2,98	2,63	2,97	%
Agua	87,82	88,37	87,89	%
Temperatura Muestra	20,03	20,23	20,20	°C
Punto de Congelación	-0,537	-0,539	-0,534	°C
pH	6,66	6,68	6,66	
Conductividad	4,41	4,50	4,53	mS/cm

Fuente: Elaboración propia.

	SEGUNDA EXPERIENCIA			
	LECHE SIN PASTEURIZAR	LECHE PASTEURIZADA CON GOMA	LECHE PASTEURIZADA SIN GOMA	UNIDADES
Grasa	3,75	3,62	3,74	%
Sólidos No Grasos	8,84	8,56	8,82	%
Densidad	1033,39	1033,06	1033,43	Kg/m ³
Lactosa	4,80	4,87	4,82	%
Sólidos (Sales)	0,89	0,63	0,90	%
Proteínas	3,15	3,06	3,10	%
Agua	87,42	87,82	87,44	%
Temperatura Muestra	19,93	19,97	19,87	°C
Punto de Congelación	-0,536	-0,548	-0,540	°C
pH	6,67	6,65	6,67	
Conductividad	4,50	4,51	4,55	mS/cm

Fuente: Elaboración propia.

	TERCERA EXPERIENCIA			
	LECHE SIN PASTEURIZAR	LECHE PASTEURIZADA CON GOMA	LECHE PASTEURIZADA SIN GOMA	UNIDADES
Grasa	3,62	3,53	3,66	%
Sólidos No Grasos	8,54	8,20	8,51	%
Densidad	1033,31	1033,74	1033,35	Kg/m ³
Lactosa	4,54	4,66	4,51	%
Sólidos (Sales)	0,81	0,68	0,80	%
Proteínas	3,19	2,86	3,20	%
Agua	87,84	88,27	87,83	%
Temperatura Muestra	20,20	20,10	20,00	°C
Punto de Congelación	-0,534	-0,539	-0,533	°C
pH	6,63	6,64	6,66	
Conductividad	4,53	4,70	4,52	mS/cm

Fuente: Elaboración propia.

b) **Exámenes Microbiológicos de la Leche:** Usando placas las Petrifilm™ para recuento de Aerobios y placas Petrifilm™ para el recuento de Coliformes totales se obtuvo el siguiente cuadro:

CUADRO N° 4.2: Exámenes Microbiológicos de la Leche

MICROORGANISMO	PRIMERA EXPERIENCIA			UNIDAD
	LECHE SIN PASTEURIZAR	LECHE PASTEURIZADA CON GOMA	LECHE PASTEURIZADA SIN GOMA	
Numeración de microorganismos Aerobios	<5x10 ⁴	<2 x10 ⁴	<2 x10 ⁴	UFC/mL
Numeración de Coliformes totales	<10	<1	<1	UFC/mL.
	SEGUNDA EXPERIENCIA			
Numeración de microorganismos Aerobios	<5x10 ⁴	<2 x10 ⁴	<2 x10 ⁴	UFC/mL.
Numeración de Coliformes totales	<10	<1	<1	UFC/mL.
	TERCERA EXPERIENCIA			
Numeración de microorganismos Aerobios	<5x10 ⁴	<2 x10 ⁴	<2 x10 ⁴	UFC/mL.
Numeración de Coliformes totales	<10	<1	<1	UFC/mL.

Fuente: Elaboración propia.

4.2 EXAMENES MICROBIOLÓGICOS Y FÍSICOQUÍMICO DEL QUESO FRESCO

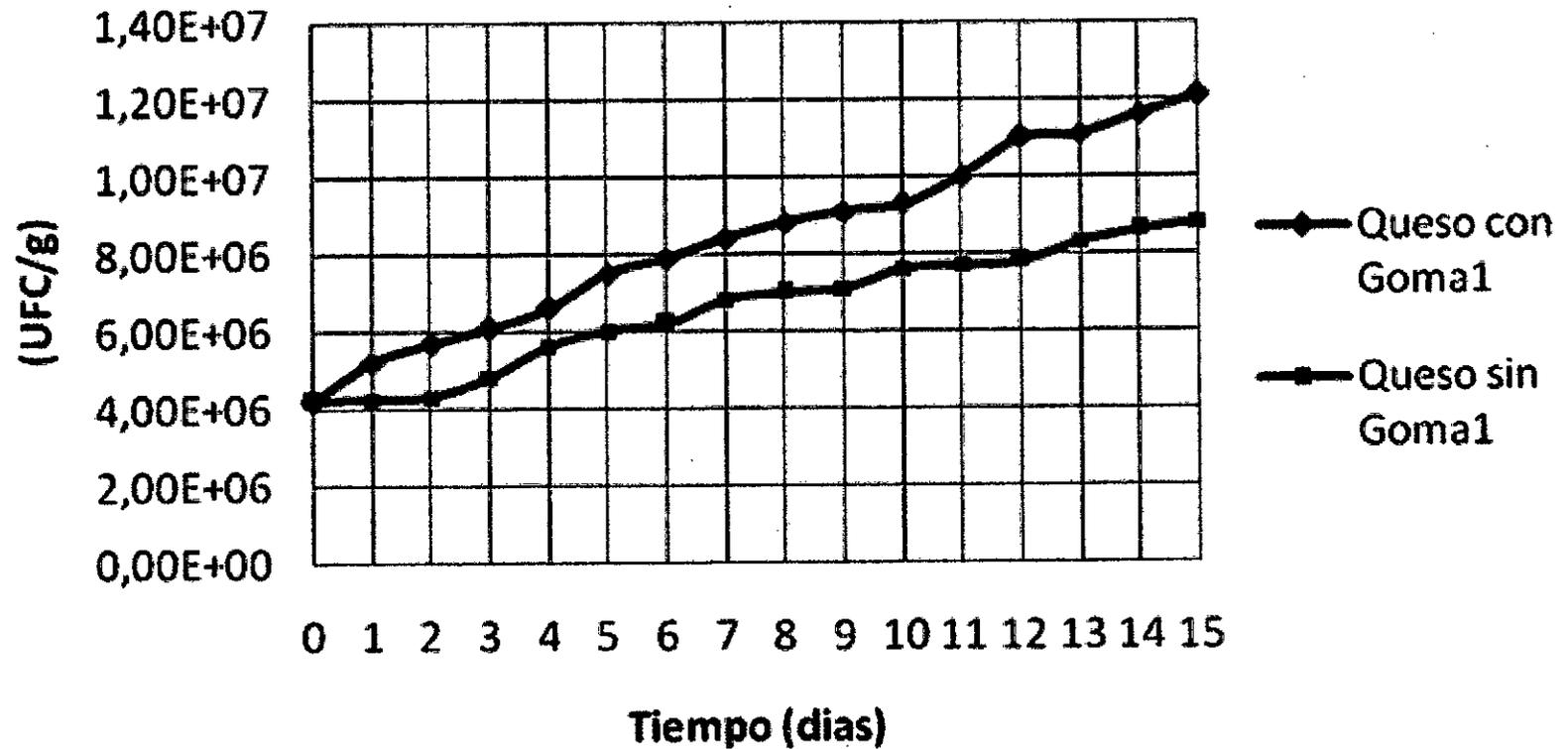
- a) **Examen Microbiológico de los Quesos:** De los datos experimentales con ayuda del equipo cuenta colonias del CET se determinó la viabilidad del *Lactobacillus acidophilus*, lo que fue mostrado en el Cuadro N° 4.3 y representado en el Grafico N° 4.1, Grafico N° 4.2 y Grafico N° 4.3.

CUADRO N° 4.3: Viabilidad de *Lactobacillus acidophilus* del Queso

DIAS	UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS POR GRAMO (UFC/g)					
	PRIMERA EXPERIENCIA		SEGUNDA EXPERIENCIA		TERCERA EXPERIENCIA	
	QUESO CON GOMA ₁	QUESO SIN GOMA ₁	QUESO CON GOMA ₂	QUESO SIN GOMA ₂	QUESO CON GOMA ₃	QUESO SIN GOMA ₃
0	4,20E+06	4,20E+06	4,00E+06	4,00E+06	4,40E+06	4,40E+06
1	5,20E+06	4,25E+06	5,10E+06	4,30E+06	4,90E+06	4,30E+06
2	5,70E+06	4,30E+06	6,10E+06	4,40E+06	5,70E+06	4,40E+06
3	6,10E+06	4,80E+06	6,30E+06	4,70E+06	6,00E+06	4,90E+06
4	6,60E+06	5,60E+06	6,70E+06	4,70E+06	6,70E+06	5,20E+06
5	7,50E+06	6,00E+06	7,60E+06	5,30E+06	7,50E+06	5,60E+06
6	7,90E+06	6,20E+06	8,20E+06	5,90E+06	7,90E+06	6,30E+06
7	8,40E+06	6,80E+06	8,80E+06	6,40E+06	8,40E+06	6,90E+06
8	8,80E+06	7,00E+06	9,20E+06	7,10E+06	8,60E+06	7,10E+06
9	9,10E+06	7,10E+06	9,30E+06	7,20E+06	9,00E+06	7,30E+06
10	9,30E+06	7,60E+06	9,30E+06	7,70E+06	9,50E+06	7,70E+06
11	1,00E+07	7,70E+06	1,03E+07	7,80E+06	1,05E+07	8,00E+06
12	1,10E+07	7,80E+06	1,15E+07	8,40E+06	1,15E+07	8,40E+06
13	1,11E+07	8,30E+06	1,10E+07	8,90E+06	1,21E+07	9,00E+06
14	1,16E+07	8,60E+06	1,17E+07	9,10E+06	1,22E+07	9,10E+06
15	1,21E+07	8,80E+06	1,23E+07	9,30E+06	1,29E+07	9,30E+06

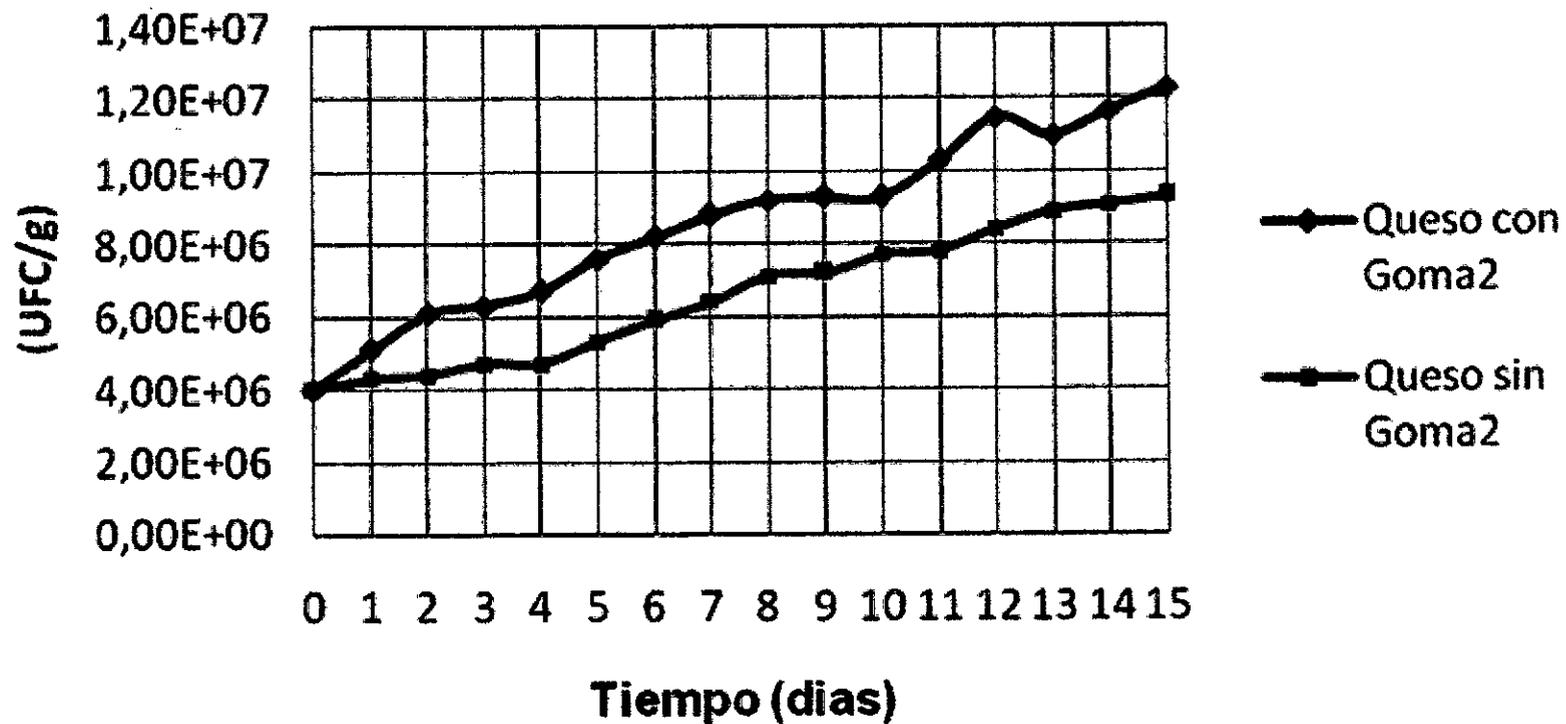
Fuente: Elaboración propia.

GRAFICO N° 4.1: UFC/g. Vs Tiempo en la primera Experiencia



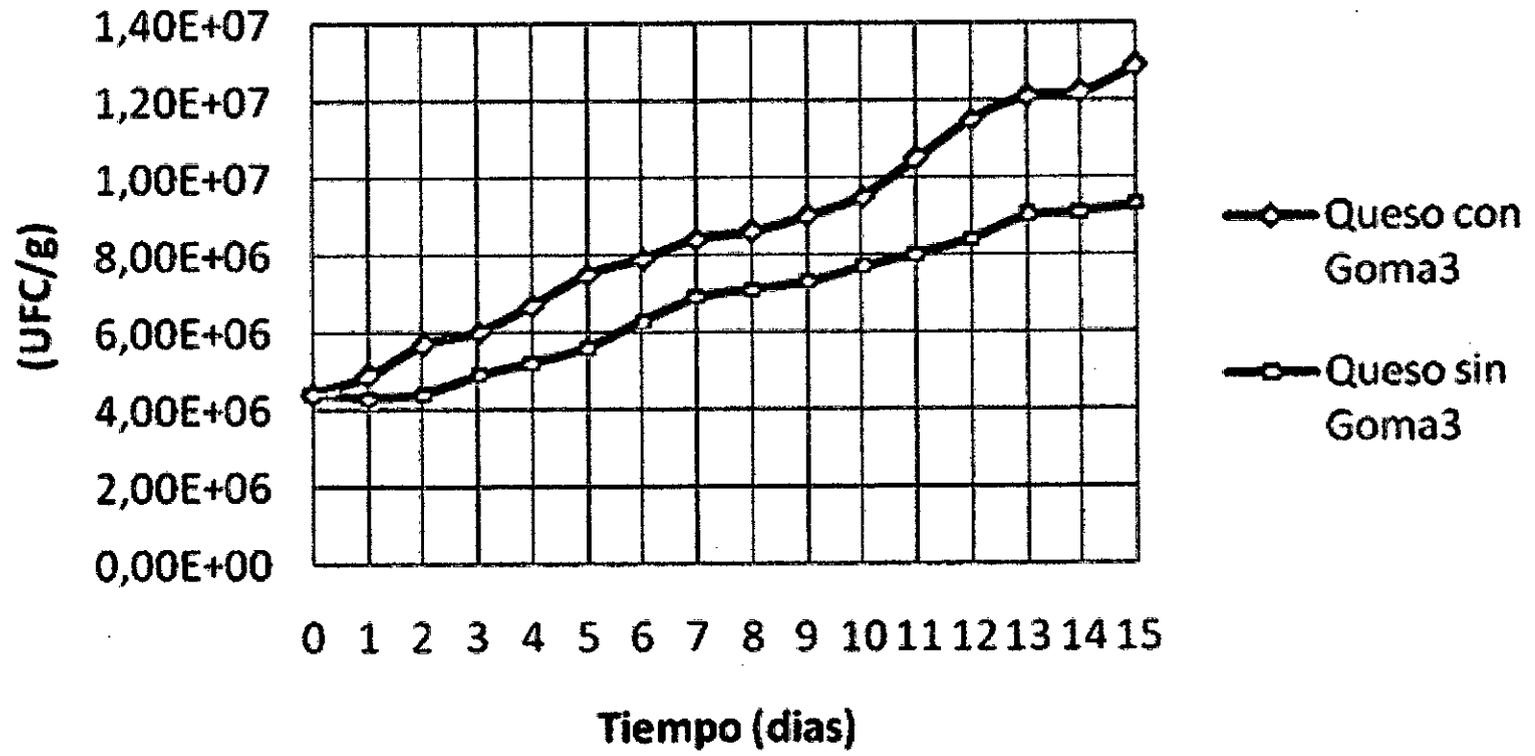
Fuente: Elaboración propia.

GRAFICO N° 4.2: UFC/g. Vs Tiempo en la Segunda Experiencia



Fuente: Elaboración propia.

GRAFICO N° 4.3: UFC/g. Vs Tiempo en la Tercera Experiencia



Fuente: Elaboración propia.

Usando placas Petrifilm™ para recuento de Aerobios y placas Petrifilm™ para el recuento de Coliformes totales. Los valores determinados se muestran el siguiente cuadro:

CUADRO N° 4.4: Examen Microbiológico del Queso

MICROORGANISMOS	PRIMERA EXPERIENCIA		
	QUESO CON GOMA	QUESO SIN GOMA	UNIDAD
Numeración de microorganismos Aerobios	$<2 \times 10^4$	$<2 \times 10^4$	UFC/g
Numeración de Coliformes totales	<1	<1	UFC/g
	SEGUNDA EXPERIENCIA		
	QUESO CON GOMA	QUESO SIN GOMA	UNIDAD
Numeración de microorganismos Aerobios	$<3 \times 10^4$	$<3 \times 10^4$	UFC/g
Numeración de Coliformes totales	<1	<1	UFC/g
	TERCERA EXPERIENCIA		
	QUESO CON GOMA	QUESO SIN GOMA	UNIDAD
Numeración de microorganismos Aerobios	$<2 \times 10^4$	$<3 \times 10^4$	UFC/g
Numeración de Coliformes totales	<1	<1	UFC/g

Fuente: Elaboración propia.

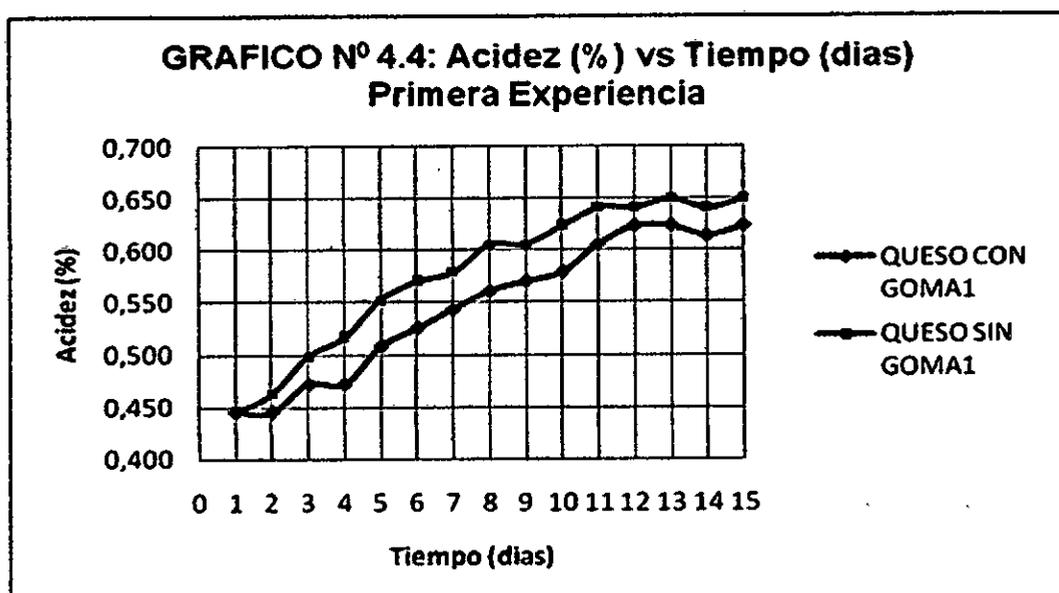
b) EXÁMENES FISICOQUÍMICOS DE LOS QUESOS

➤ **Acidez:** La acidez (%) se muestra en el Cuadro N° 4.5 y fue representada en el Grafico N° 4.4, Grafico N° 4.5 y Grafico N° 4.6.

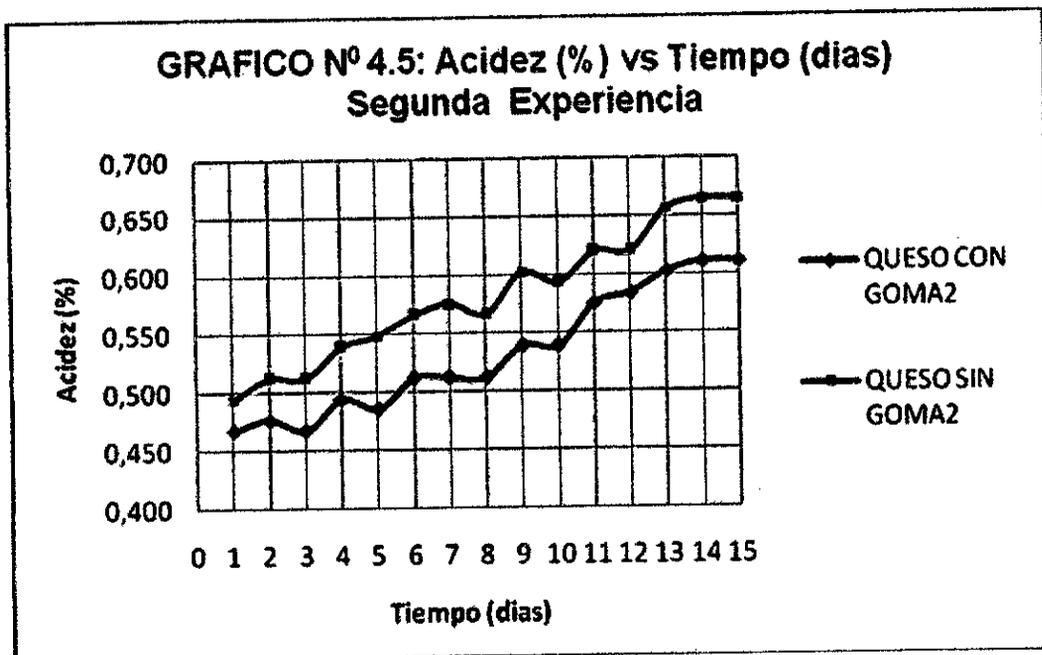
CUADRO N° 4.5: Acidez (%) de los Quesos

DIA	ACIDEZ (%)					
	PRIMERA EXPERIENCIA		SEGUNDA EXPERIENCIA		TERCERA EXPERIENCIA	
	QUESO CON GOMA ₁	QUESO SIN GOMA ₁	QUESO CON GOMA ₂	QUESO SIN GOMA ₂	QUESO CON GOMA ₃	QUESO SIN GOMA ₃
1	0,445	0,445	0,467	0,494	0,436	0,445
2	0,445	0,463	0,476	0,512	0,454	0,472
3	0,472	0,499	0,467	0,512	0,454	0,481
4	0,472	0,516	0,494	0,539	0,472	0,499
5	0,508	0,552	0,485	0,548	0,481	0,508
6	0,525	0,570	0,512	0,566	0,481	0,508
7	0,543	0,579	0,512	0,575	0,516	0,534
8	0,561	0,605	0,512	0,566	0,534	0,552
9	0,570	0,605	0,539	0,602	0,534	0,552
10	0,579	0,623	0,539	0,593	0,534	0,561
11	0,605	0,641	0,575	0,620	0,570	0,588
12	0,623	0,641	0,584	0,620	0,570	0,588
13	0,623	0,650	0,602	0,656	0,579	0,606
14	0,614	0,641	0,611	0,665	0,588	0,623
15	0,623	0,650	0,611	0,665	0,588	0,623

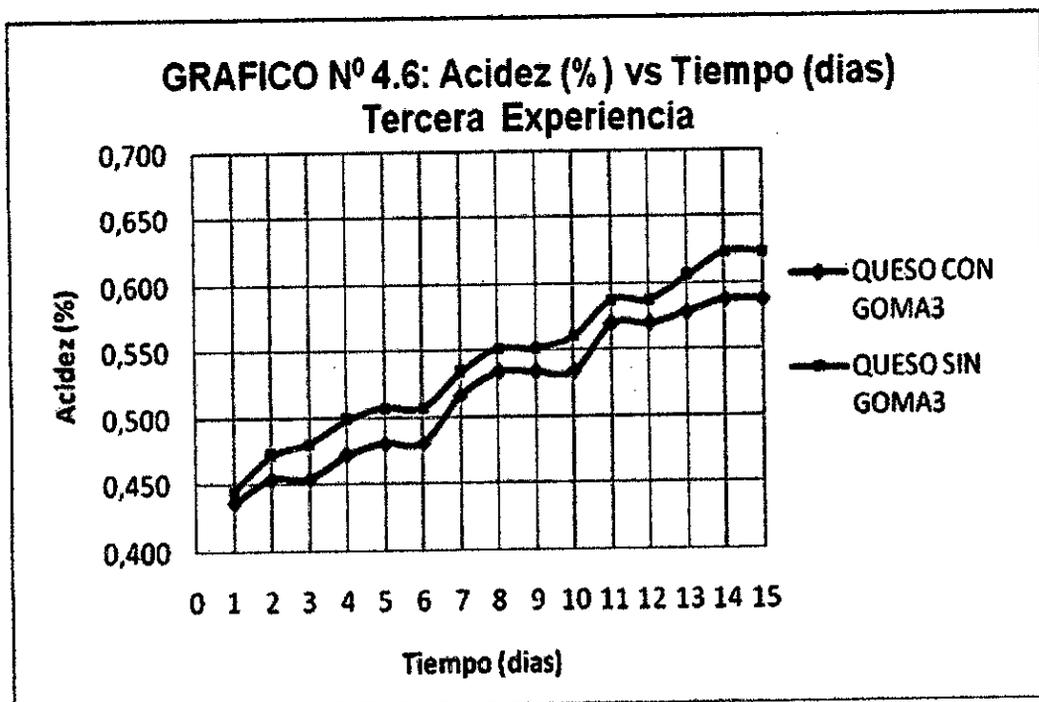
Fuente: Elaboración propia.



Fuente: Elaboración propia.



Fuente: Elaboración propia.



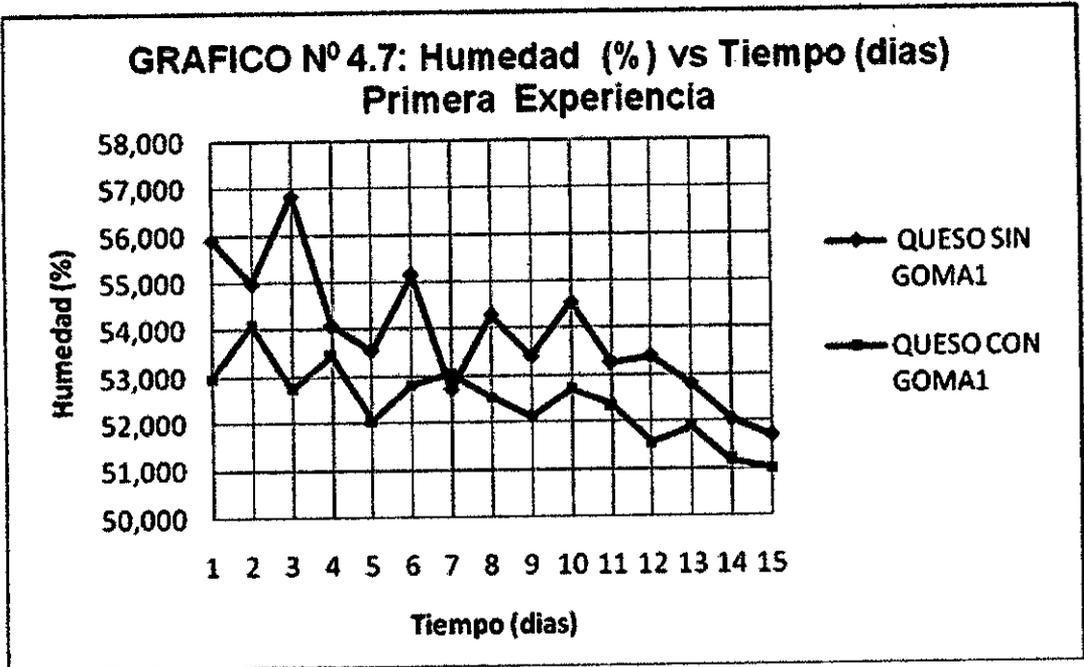
Fuente: Elaboración propia.

➤ **Humedad:** La humedad (%) se muestra en el Cuadro N° 4.6 y fue representada en el Grafico N° 4.7, Grafico N° 4.8 y Grafico N° 4.9.

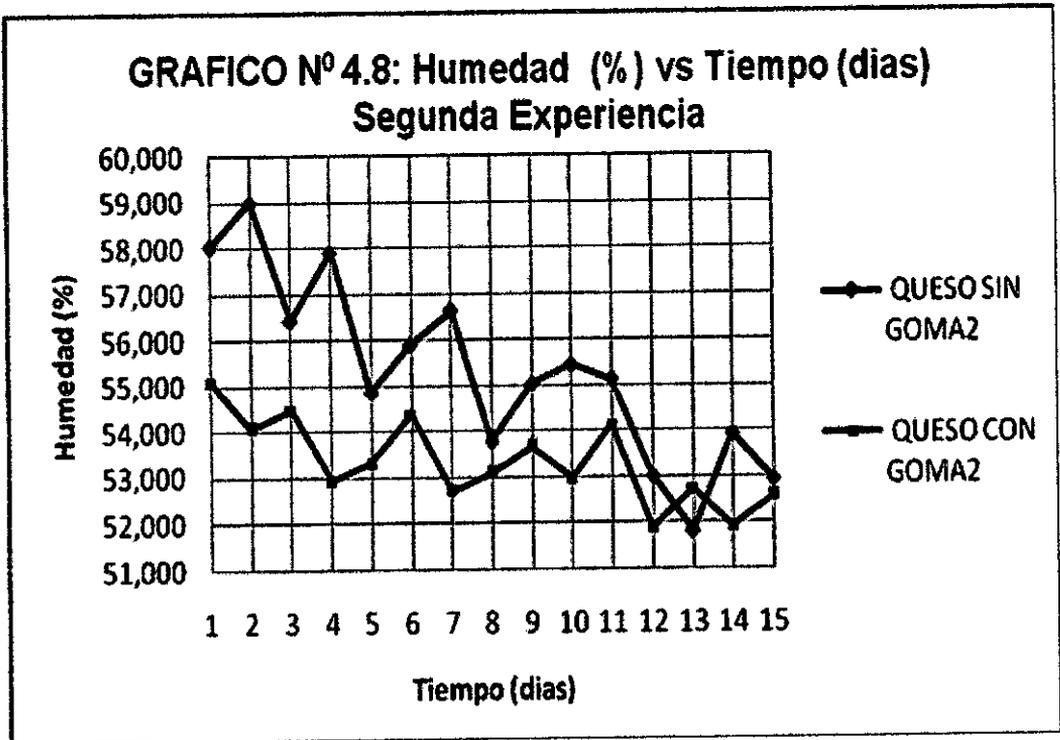
CUADRO N° 4.6: Humedad (%) de los Quesos

DIA	HUMEDAD (%)					
	PRIMERA EXPERIENCIA		SEGUNDA EXPERIENCIA		TERCERA EXPERIENCIA	
	QUESO SIN GOMA ₁	QUESO CON GOMA ₁	QUESO SIN GOMA ₂	QUESO CON GOMA ₂	QUESO SIN GOMA ₃	QUESO CON GOMA ₃
1	55,918	52,971	58,026	55,112	56,114	54,965
2	54,989	54,104	59,004	54,064	56,942	53,246
3	56,835	52,749	56,437	54,482	54,104	54,618
4	54,090	53,460	57,919	52,935	55,048	54,046
5	53,552	52,041	54,854	53,325	55,447	52,199
6	55,153	52,813	55,915	54,368	54,001	53,477
7	52,717	53,057	56,635	52,713	53,041	53,849
8	54,287	52,547	53,768	53,090	54,951	53,581
9	53,411	52,129	55,033	53,648	53,340	52,595
10	54,555	52,718	55,449	52,960	54,030	52,439
11	53,271	52,350	55,129	54,127	52,105	53,359
12	53,399	51,547	52,996	51,885	52,457	53,215
13	52,812	51,885	51,819	52,719	51,194	52,156
14	52,040	51,165	53,909	51,922	52,002	52,784
15	51,693	51,004	52,928	52,565	50,712	52,369

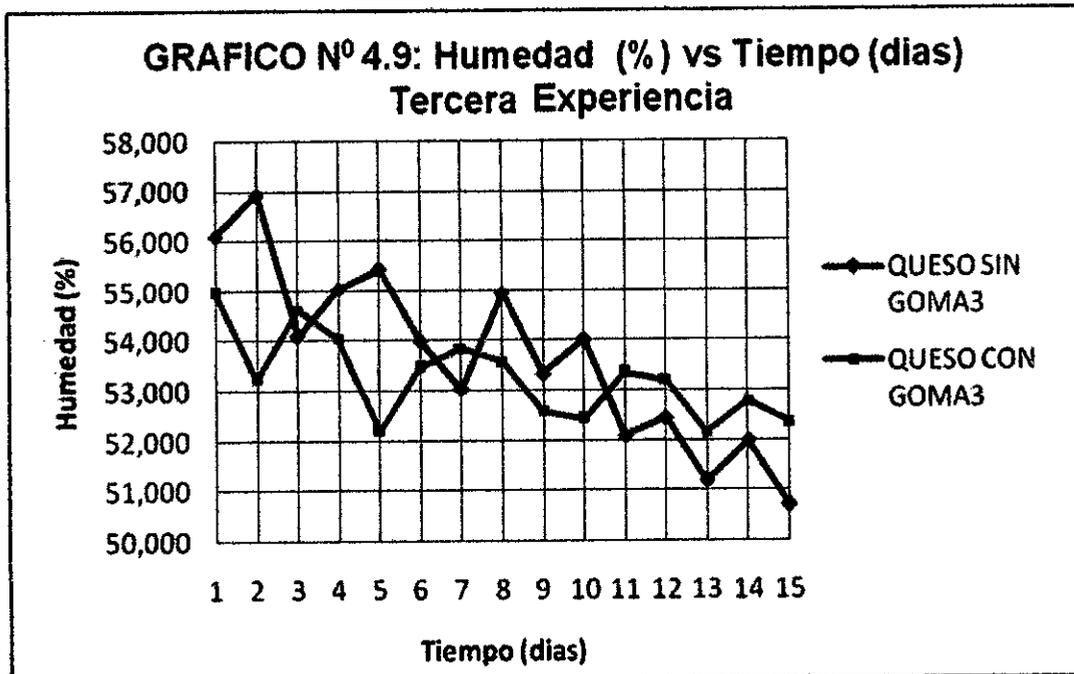
Fuente: Elaboración propia.



Fuente: Elaboración propia.



Fuente: Elaboración propia.



Fuente: Elaboración propia

- **Pruebas Sensoriales:** Los datos obtenidos de las boletas de evaluación en el día 15 se muestran en el Cuadro N° 4.7; Cuadro N° 4.8 y Cuadro N° 4.9. y la evaluación sensorial promedio de las tres experiencias durante los 15 días se muestran en el Grafico 4.10 ,Grafico 4.11 y Grafico 4.12

CUADRO N° 4.7: Reporte del panel evaluador para la textura de los quesos en el día 15.

PANELISTA	REPORTE DE TEXTURA PARA LOS QUESOS					
	PRIMERA EXPERIENCIA		SEGUNDA EXPERIENCIA		TERCERA EXPERIENCIA	
	QUESO SIN GOMA ₁	QUESO CON GOMA ₁	QUESO SIN GOMA ₂	QUESO CON GOMA ₂	QUESO SIN GOMA ₃	QUESO CON GOMA ₃
1	5	5	4	6	5	5
2	4	5	5	5	6	6
3	5	4	4	5	5	7
4	3	5	4	6	4	6
5	4	6	5	5	4	5
6	5	5	5	4	5	5
7	3	5	4	4	4	5
8	4	6	5	7	4	4
9	5	4	5	5	4	6
10	6	6	4	7	5	5
11	5	5	5	6	4	5
12	3	5	5	6	4	6
13	4	4	5	5	5	5
14	3	5	4	7	5	6
15	4	7	4	5	4	6
16	5	5	4	5	5	6
17	5	5	5	5	5	5
18	4	5	5	6	4	6
19	3	5	4	6	4	5
20	4	5	4	5	4	6

Fuente: Elaboración propia

CUADRO N° 4.8: Reporte del panel evaluador para el aroma de los quesos en el día 15.

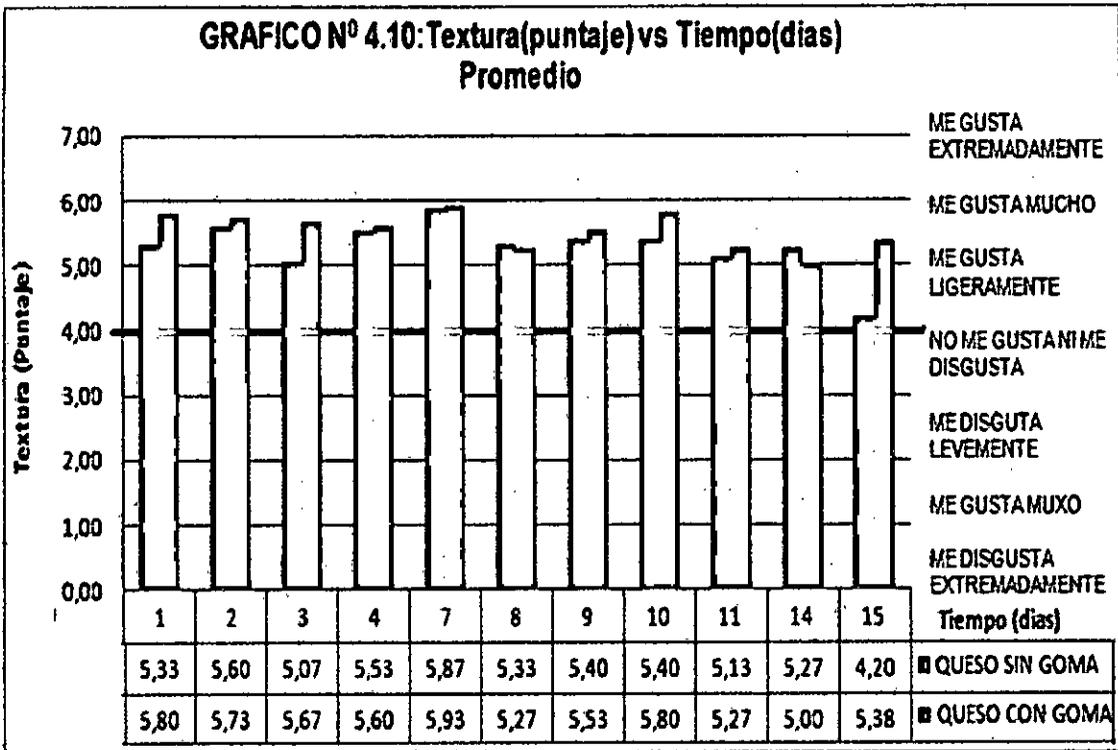
PANELISTA	REPORTE DE AROMA PARA LOS QUESOS					
	PRIMERA EXPERIENCIA		SEGUNDA EXPERIENCIA		TERCERA EXPERIENCIA	
	QUESO SIN GOMA ₁	QUESO CON GOMA ₁	QUESO SIN GOMA ₂	QUESO CON GOMA ₂	QUESO SIN GOMA ₃	QUESO CON GOMA ₃
1	7	6	5	4	4	5
2	6	4	3	7	5	6
3	6	6	4	6	6	5
4	5	5	6	5	4	7
5	4	6	4	5	4	7
6	6	5	4	6	3	5
7	4	6	5	6	6	7
8	6	7	5	5	5	6
9	6	5	4	5	4	6
10	5	6	6	3	3	3
11	5	6	4	6	5	4
12	7	6	6	5	7	7
13	3	5	4	6	4	6
14	4	6	3	3	5	7
15	4	4	5	7	5	4
16	4	5	4	5	4	6
17	3	6	3	5	4	7
18	3	6	4	5	4	6
19	4	5	3	5	4	4
20	3	6	4	5	4	5

Fuente: Elaboración propia.

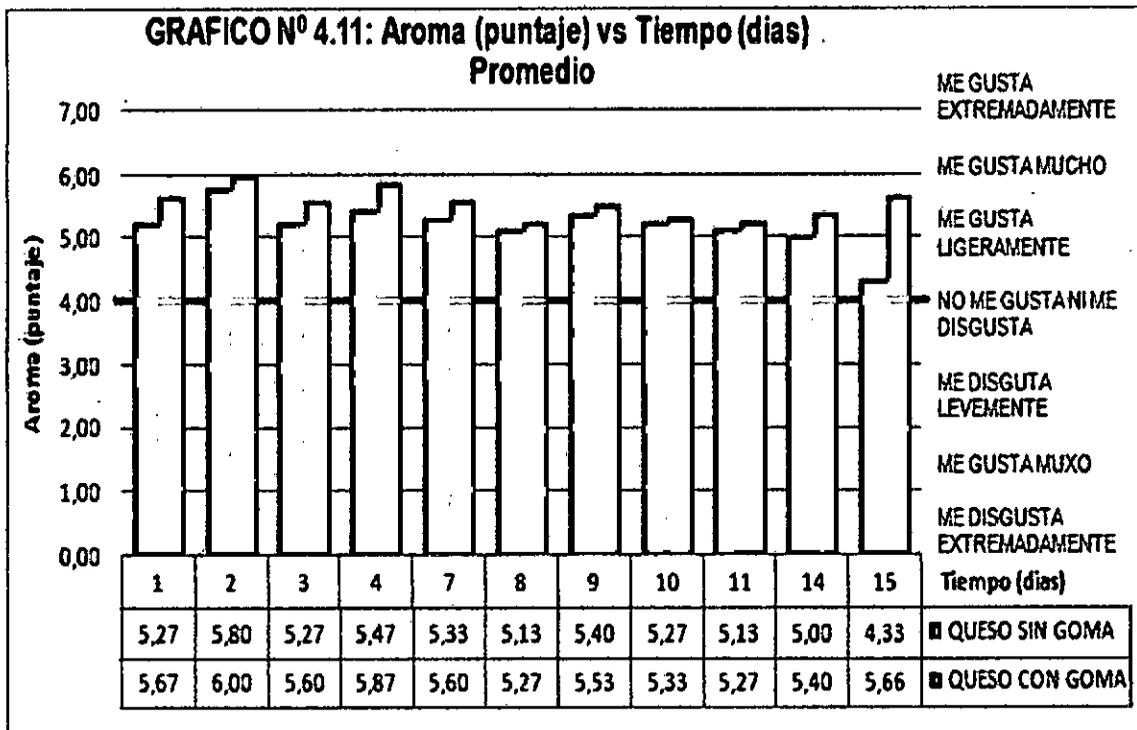
CUADRO N° 4.9: Reporte del panel evaluador para el sabor de los quesos en el día 15.

PANELISTA	REPORTE DE SABOR PARA LOS QUESOS					
	PRIMERA EXPERIENCIA		SEGUNDA EXPERIENCIA		TERCERA EXPERIENCIA	
	QUESO SIN GOMA ₁	QUESO CON GOMA ₁	QUESO SIN GOMA ₂	QUESO CON GOMA ₂	QUESO SIN GOMA ₃	QUESO CON GOMA ₃
1	4	4	4	5	4	5
2	4	6	5	5	4	4
3	5	7	6	5	4	6
4	4	6	4	4	6	5
5	5	6	7	5	6	6
6	6	5	4	6	6	4
7	4	4	6	6	5	5
8	3	7	4	5	5	7
9	6	6	3	7	6	6
10	5	6	4	6	4	6
11	5	5	4	6	5	6
12	3	5	4	4	6	5
13	5	6	7	6	4	6
14	4	4	5	6	5	7
15	5	4	5	5	5	5
16	5	5	5	6	4	6
17	6	6	5	6	5	6
18	5	4	5	5	6	6
19	4	6	4	4	5	5
20	3	6	5	6	5	5

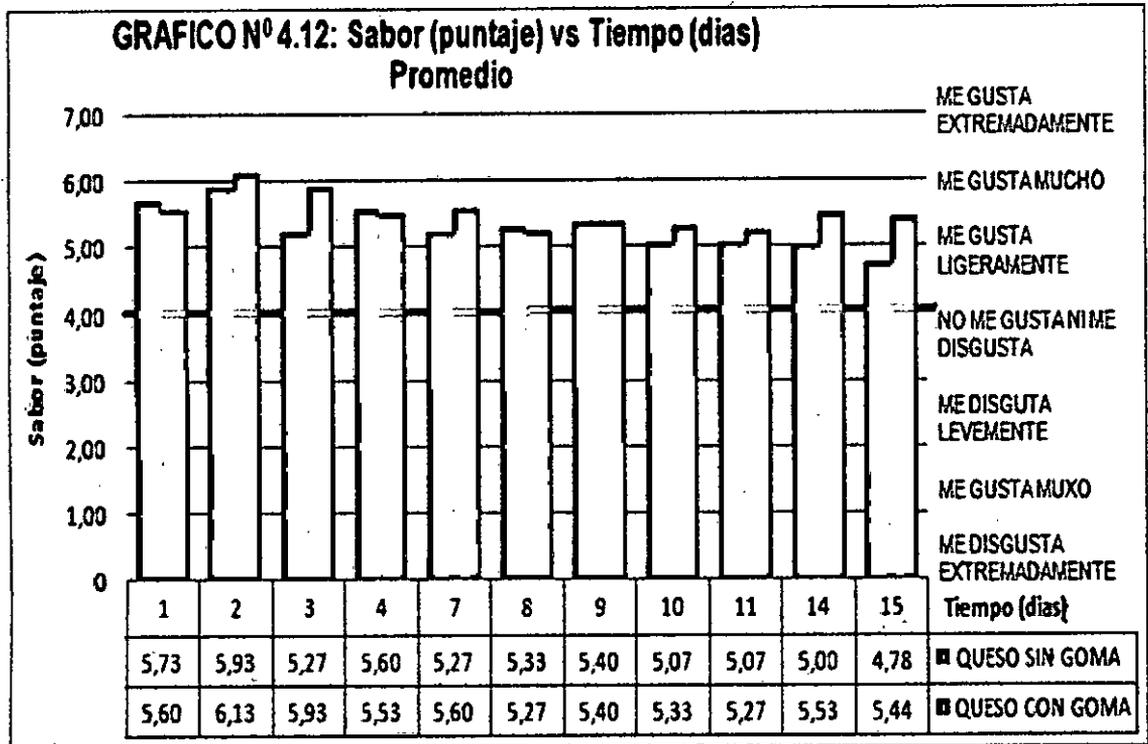
Fuente: Elaboración propia.



Fuente: Elaboración propia.



Fuente: Elaboración propia.



Fuente: Elaboración propia.

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los valores promedio en las tres experiencias para las propiedades fisicoquímicas de la leche se ven en el Cuadro N° 5.1. En donde con respecto a la NTP 2002.001 (Anexo N° 3) los valores de grasa (%) cumplen por ser mayor al 3,2%; Los valores para los sólidos no grasos (%) cumplen por ser mayor al 8,2% estos son la suma de Lactosa (%), sales (%) y proteínas (%). La densidades a 20°C cumplen por estar dentro del rango (1029,6 a 1034,0 Kg/m³); Los puntos de congelación (Índice crioscópico) cumplen por ser menores a -0,54°C. Los valores de pH cumplen por estar dentro del rango (6,6 a 6,8). Los valores de conductividad cumplen por ser menores a 4,6 mS/cm. Del Cuadro N° 4.4 los resultados microbiológicos cumplieron con la resolución ministerial RM-591-2008-MInsa (Anexo N° 3) en las tres experiencias por dar resultados menores 10 UFC/mL para conteo de Coliformes totales y 10⁴ UFC/mL para el conteo de microorganismos Aerobios.

El análisis estadístico (ANOVA) con (p=0,05) demostró que existieron diferencias significativas entre las UFC/g. del *Lactobacillus acidophilus* obtenidas entre los quesos frescos con goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) y los quesos sin goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) analizados durante los 15 días; y mediante el test de rango múltiple de Duncan se demostró que hay homogeneidad entre los quesos con goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) y homogeneidad entre los quesos sin goma

de Algarroba (*Prosopis pallida*); además que los quesos con goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) tienen valores mayores de UFC/g de *Lactobacillus acidophilus* que los quesos sin goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) Apéndice N°3.

CUADRO N° 5.1: Propiedades Fisicoquímicas de la Leche

PROPIEDADES FISICOQUIMICAS	LECHE SIN PASTEURIZAR	LECHE PASTEURIZADA CON GOMA	LECHE PASTEURIZADA SIN GOMA	UNIDADES
Grasa	3,72	3,62	3,73	%
Sólidos no Grasos	8,58	8,23	8,55	%
Densidad	1033,38	1033,3	1033,41	Kg/m ³
Lactosa	4,64	4,72	4,63	%
Sólidos (Sales)	0,83	0,66	0,83	%
Proteínas	3,11	2,85	3,09	%
Agua	87,69	88,15	87,72	%
Temperatura de Muestra	20,06	20,1	20,02	°C
Punto de Congelación	-0,539	-0,542	-0,535	°C
pH	6,65	6,66	6,66	
Conductividad	4,48	4,57	4,53	mS/cm

Fuente: Elaboración propia.

A continuación en el Cuadro N° 5.2 se presentan los datos promedio de las tres repeticiones, determinadas de la tasa de crecimiento microbiano (UFC/g vs tiempo) del *Lactobacillus acidophilus* entre un queso fresco con goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) y un queso fresco sin goma obtenidos durante 15 días. Esto fue representado en el Grafico N° 5.1 donde las líneas de tendencias demostraron con ayuda de las pendientes

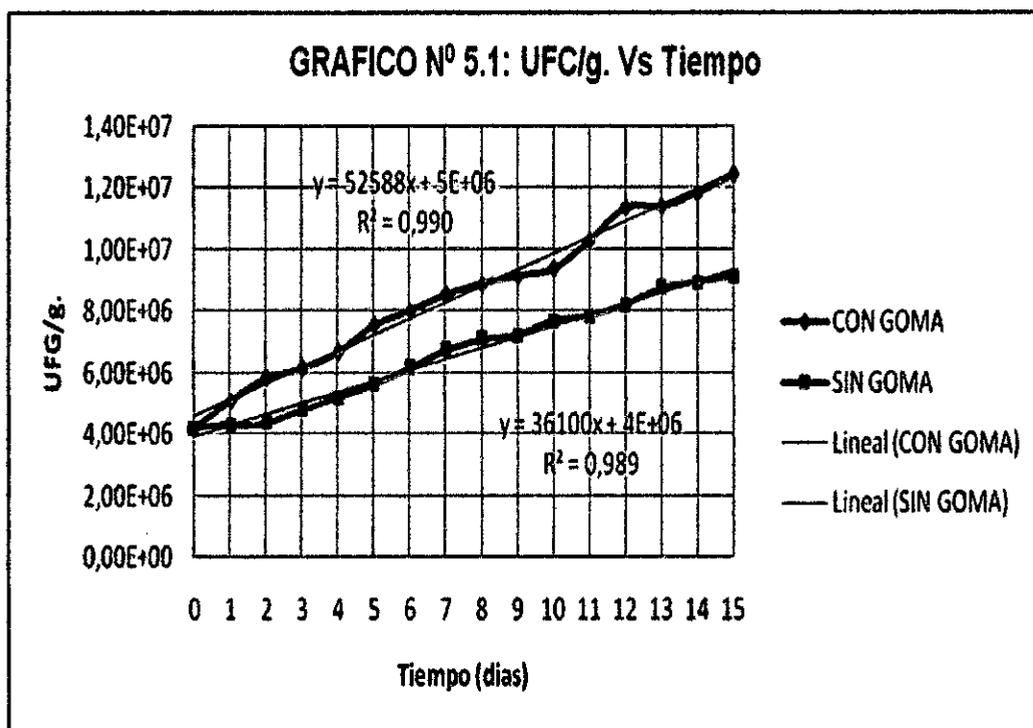
que la viabilidad en los quesos frescos con goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) es mayor a la de un queso fresco sin goma. Y que estos se mantienen por encima de 10^6 UFC/g Apéndice N^o4.

Según (Rodríguez *et al.*, 2006) Determinaron para quesos frescos mexicanos un aumento de UFC/g de *Lactobacillus acidophilus*, manteniéndose este por encima de 10^6 UFC/g durante 15 días refrigerados a 4^oC pero luego una disminución UFC/g al llegar al día 30.

CUADRO N^o 5.2: Viabilidad del *Lactobacillus acidophilus* del Queso Fresco

DIAS	UNIDAD FORMADORA DE COLONIA POR GRAMO DE MUESTRA (UFC/g)	
	QUESO CON GOMA DE ALGARROBA	QUESO SIN GOMA DE ALGARROBA
0	4,20E+06	4,20E+06
1	5,07E+06	4,28E+06
2	5,83E+06	4,37E+06
3	6,13E+06	4,80E+06
4	6,67E+06	5,17E+06
5	7,53E+06	5,63E+06
6	8,00E+06	6,13E+06
7	8,53E+06	6,70E+06
8	8,87E+06	7,07E+06
9	9,13E+06	7,20E+06
10	9,37E+06	7,67E+06
11	1,03E+07	7,83E+06
12	1,13E+07	8,20E+06
13	1,14E+07	8,73E+06
14	1,18E+07	8,93E+06
15	1,24E+07	9,13E+06

Fuente: Elaboración propia.



Fuente: Elaboración propia.

En el Cuadro N° 5.3 se presentan los datos promedio de las tres repeticiones, obtenidas de la acidez (%) entre un queso fresco con goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) y un queso fresco sin goma inoculados con *Lactobacillus acidophilus*, obtenidos durante 15 días. Representándose en el Grafico N° 5.2, donde las líneas de tendencias demostraron por medio de las pendientes, que la acidez (%) en los quesos frescos con goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) es menor a la del queso fresco sin goma. Y ambos quesos cumplen con NTP 202.195:2004 al estar en un rango de 0,4 a 0,7 % de ácido láctico.

Con respecto a la acidez, se observa que al pasar los días de almacenamiento refrigerado aumenta levemente, esto se puede deber a

que las bacterias lácticas se estabilizan entre los 10 y 15 días de desde la incubación (De Penna *et al.*, 2003). Este aumento también es debido al hecho que aún bajo condiciones de refrigeración continúa los cultivos siguen fermentando la lactosa presente (Xanthopoulos *et al.*, 2001).

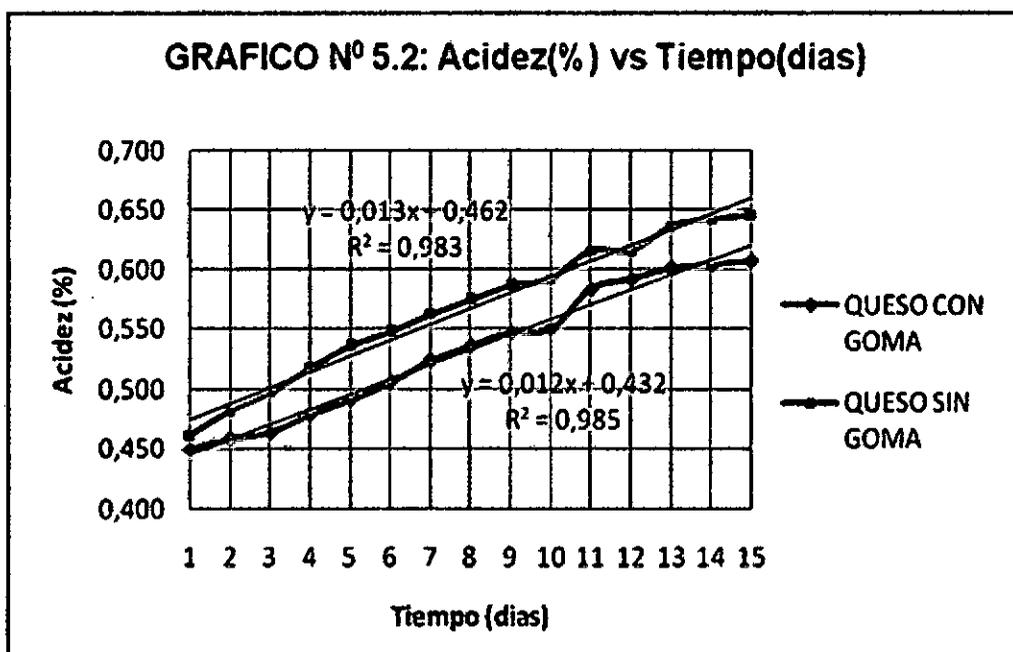
Del Cuadro N° 4.6 se determinaron que los valores de humedad (%) de los quesos frescos con goma de algarroba (*Prosopis pallida*) inoculados con *Lactobacillus acidophilus* están en un rango de 54,618 a 51,004% y en los quesos frescos sin goma en un rango de 59,004 a 50,712%, obtenidos durante 15 días. Decayendo estos y siendo mayores a 46% en ambos casos cumpliendo de esta manera con la NTP 202.195:2004. (Anexo N° 13).

Según (Hernandez *et al.*, 2003) el queso fresco al adicionarle la goma de algarrobo (*Prosopis Sp.*) se mantuvo la humedad estable, lo mismo sucedió al adicionar la goma de guar en comparación con otro queso sin goma.

CUADRO N° 5.3: Acidez (%) del Queso Fresco

DIA	ACIDEZ (%)	
	QUESO CON GOMA DE ALGARROBA	QUESO SIN GOMA DE ALGARROBA
1	0,450	0,462
2	0,459	0,482
3	0,464	0,497
4	0,479	0,518
5	0,491	0,536
6	0,506	0,548
7	0,524	0,563
8	0,536	0,575
9	0,548	0,587
10	0,551	0,592
11	0,583	0,616
12	0,592	0,616
13	0,601	0,637
14	0,604	0,643
15	0,607	0,646

Fuente: Elaboración propia.



Fuente: Elaboración propia.

Del Grafico N° 4.10; Grafico N° 4.11 y Grafico N° 4.12 las pruebas hedónicas demostraron que ambos quesos mantuvieron los atributos de textura, sabor y aroma aceptables hasta el día 15 en los tres tratamientos cumpliendo con la NTP 202.195:20004. Siendo el grado de afecto "NO ME GUSTA NI ME DISGUSTA" punto crítico para considerarse como aceptable. El queso sin goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) dio valores cercanos al punto crítico para los atributos de textura y aroma. Razón por lo cual se detuvieron las pruebas en este día.

En el atributo textura en el día 15 el análisis estadístico (ANOVA) con ($p=0,05$) demostró que existieron diferencias entre los puntajes entregados para los quesos frescos con goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) y los quesos sin goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) inoculados con *Lactobacillus acidophilus*; y mediante el test de rango múltiple de Duncan se demostró que se dio el puntaje mayor al queso con goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) dando el grado de afecto "ME GUSTA LIGERAMENTE". Y el puntaje menor al queso sin goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) dándole el grado de afecto "NO ME GUSTA NI ME DISGUSTA" Apéndice N° 5.

En el atributo aroma en el día 15 el análisis estadístico (ANOVA) con ($p=0,05$) demostró que existieron diferencias entre los puntajes

entregados para los quesos frescos con goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) y los quesos sin goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) inoculados con *Lactobacillus acidophilus*; y mediante el test de rango múltiple de Duncan se demostró que se dio el puntaje mayor al queso con goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) dando el grado de afecto "ME GUSTA MUCHO". Y el puntaje menor al queso sin goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) dando el grado de afecto "NO ME GUSTA NI ME DISGUSTA" Apéndice N° 6.

En el atributo sabor en el día 15 el análisis estadístico (ANOVA) con ($p=0,05$) demostró que no existió diferencia entre los puntajes entregados para los quesos frescos con goma y sin goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) inoculados con *Lactobacillus acidophilus*; y mediante el test de rango múltiple de Duncan se demostró que se dio el grado de afecto "ME GUSTA LIGERAMENTE" a los quesos con goma y sin goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) Apéndice N° 7.

Las pruebas sensoriales en los atributos de textura, aroma y sabor Cuadro N° 5.4. Demostraron que las propiedades organolépticas se mantienen aceptables durante los 15 días para los quesos frescos con goma y sin goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) inoculados con *Lactobacillus acidophilus*, cumpliendo con la NTP 202.195:2004.

CUADRO N° 5.4: Resultado de las Pruebas Sensoriales del Queso**Fresco**

ATRIBUTO	GRADO DE AFECTO	
	QUESO CON GOMA DE ALGARROBA	QUESO SIN GOMA DE ALGARROBA
Textura	Me Gusta Ligeramente	No Me Gusta Ni Me Disgusta
Aroma	Me Gusta Mucho	No Me Gusta Ni Me Disgusta
Sabor	Me Gusta Ligeramente	Me Gusta Ligeramente

Fuente: Elaboración propia.

VI. CONCLUSIONES

- A. La viabilidad del *Lactobacillus acidophilus* en el queso fresco con goma de Algarroba (*Prosopis pallida*), se mantuvo por encima de 10^6 UFC/g durante 15 días refrigerado a 8°C por lo que puede ser considerado como un alimento probiótico.
- B. Las propiedades fisicoquímicas entre el queso fresco con goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) y el queso fresco sin goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) inoculados con *Lactobacillus acidophilus*, cumplieron con la norma NTP 202.195:2004 al mantener su humedad mayor al 46% y la acidez entre (0,4-0,7%).
- C. Las evaluaciones sensoriales mostraron diferencias significativas, entre el queso fresco con de Algarroba (*Prosopis pallida*) y el queso fresco sin goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) inoculados con *Lactobacillus acidophilus*, manteniéndose en ambos tratamientos los atributos de textura, aroma y sabor aceptables hasta llegar al día 15 días.
- D. En la elaboración de los quesos frescos con goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) y los quesos frescos sin goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) inoculados con *Lactobacillus acidophilus*, la Leche utilizada cumplió con la NTP 2002.001 y la resolución ministerial RM-591-2008-Minsa.

VII. RECOMENDACIONES

- A. Debe realizarse una inoculación homogénea del *Lactobacillus acidophilus* en los quesos frescos con goma de Algarroba y sin goma de Algarroba (*Prosopis pallida*).

- B. Se debe realizar pruebas fisicoquímicas a la leche utilizada en la elaboración de los quesos frescos con goma y los quesos frescos sin goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) inoculados con *Lactobacillus acidophilus*.

- C. El panel evaluador utilizado en las pruebas sensoriales debe ser compuesto por las mismas personas en las tres experiencias, deben ser un grupo compuesto por un número de 30 panelistas no entrenados y mayor a 20 para panelistas semientrenados (Sancho, 2002).

VIII. REFERENCIAS

- ALAIS, CHARLES. **Ciencia de la Leche: "Principio de Técnica Lechera"**, España, Editorial Continental, 1985.
- BELLO GUTIERRES, JOSE. **Ciencia Bromatologica: Principio General de los Alimentos**, Ediciones Diaz de Santos S.A, Madrid, Primera edicion, pág. 94 y 284, 2000.
- BERGAMINI, C.V.; HYNES, E.R.; QUIBERONI, A.; SUÁREZ, V. B.; ZALAZAR, C.A., **Probiotic Bacteria as Adjunct Starters: Influence of Addition Methodology on Their Survival In a Semi-Hard Argentinean Cheese.** Food Research International, N°38, Págs. 597- 604, 2005.
- CARVAJAL CUELLAR, DULCE MARIA. **Estudio del comportamiento Fisicoquimico y Reologico de un Queso Untable**, Tesis para obtener el Titulo de Maestria en Ciencias Alimentarias , Departamento de Ingenieria Quimica y Alimentos, Universidad de las Americas de Puebla. Puebla-Mexico, pág. 50, 2004.
- CESPEDES ROSSEL, ROLANDO. **Extraccion de Goma a partir de Semilla de Algarroba**, Tesis para obtener el Titulo de Ing. Industria Alimentaria , Departamento de Tecnologia de Alimentos y productos Agropecuarios, Universidad Nacional Agraria de la Molina. Lima-Peru, pág. 79, 1985.

- CHAMORRO, CONCEPCION M. y LOSANO, MANUEL. **Coleccion Tecnologica de los Alimentos: "El Analisis Sensorial de los Quesos"**, Editorial mundi prensa-libros, Primera edicion, 2002.
- COLLINS, D. y GIBSON, G. **Probiotics, Prebiotics and Simbiotics: Approaches for Modulating the Microbial Ecology of the Gut**, American Journal Clinical Nutrition, N°69, Vol.5, págs. 1052-1057, 1999.
- CRUZ, GASTON. **Production and Characterisation of Prosopis seed Galactomannan**, Tesis para obtener el titulo Doctoral en Ciencias Técnicas, Instituto Federal Tecnológico Suizo, Suiza, pág. 113, 1999.
- CUBERO, NURIA; MONFERRER, ALBERT y VILLALTA, JORDI. **Aditivos Alimentarios**, Editorial Mundi-Prensa Libros, pág. 133, 2002.
- DE PENNA, E.; AVEDAÑO, P.; SOTO, D.; BUNGER A. **Caracterizacion Fisicoquimica y Sensorial de Biscochuelos Enriquecidos con Fibra Dietetica y Micronutrientes para el Anciano**, Editorial Arch.Latin. Nutr, N° 53, Vol. 1, págs. 74-83, 2003.
- DINAKAR, P. y MISTRY, V. V. **Growth Viability of Bifidobacterium Bifidum in Cheddar Cheese**. Journal of Dairy Science, N° 77, págs. 2854-2863, 1994.
- FAO (ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN) Y OMS (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD). **Codex Alimentarius: Requisitos Generales**, Roma, Segunda Edicion (Revisada 1999), Vol. 1A. A. Pág. 103, 2000.

- FRAGOSO SOUSA, LIEN; SUÁREZ-SOLÍS PÉREZ, VLADIMIR; CARDOSO CASTAÑEDA, FLORENCIO; NÚÑEZ DE VILLAVICENCIO, MARGARITA; FERNÁNDEZ, M. **Queso Fresco Probiótico**, Revista de Tecnología e Higiene de los Alimentos, ISSN 0300-5755, N° 333, Págs. 83-86, 2000.
- FRASIER, W. C. **Microbiología de los Alimentos**, Zaragoza, Editorial Acribia, Segunda edición, 1972.
- FREZ, C. **Composición Química de la Goma de semilla de Algarrobo (Prosopis Chilensis) y proporción de Galactomananos**. Tesis para obtener el título de Químico Farmacéutico, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso, Chile, pág. 56, 2001.
- GIBSON, G. R. y ROBERFROID, M. B. **Dietary Modulation of the Human Colonia Microbiotic. Introducing the Concept of Prebiotic**, Journal Nutritional, N° 125, págs. 1401-1411, 1995.
- GOMES, A. y MALCATA, X. **Bifidobacterium spp. And Lactobacillus Acidophilus: Biological, Biochemical, Technological and Therapeutical Properies relevant for use as Probiotics**, Revista Trends in Foods & Technology, N° 10, págs. 139-157, 1999.
- GRADOS, NORA y CRUZ, GASTÓN. **New Approaches to Industrialization of Algarrobo (Prosopis Pallida Pallida) Pods in Peru**, Lima, 1996.
- GRADOS, N.; BRAVO, L. y SAURA-CALIXTO. **Estudio comparativo entre Algarroba Peruana (Prosopis Pallida) y Mediterranea**

- (*Ceratonia Siliqua*), Boletín de la Sociedad Química del Perú, Lima, N° 2 , Vol. 60, 1994.
- HERNÁNDEZ, ARACELI; SALAZAR, ALFREDO y RAMOS, GLORIA. Efecto de la concetracion de Goma de Semillas de Mezquite y Proteinas de Soya en la Microestructura de Coagulos Obtenidos de Leche, Revista digital Científica y Tecnológica e-Gnosis, Guadalajara, Mexico, Art. 13 , Vol. 1, 2003.
 - HERRERA, CARLOS H.; BOLAÑOS, NURIA V. y LUTZ, GUISELLE C. **Química de los Alimentos. Manual de laboratorio**, Universidad de Costa Rica, Primera edición, 2003.
 - JONES, FARO. "**Lactobacillus Acidophilus**", Madison Department of Bacteriology, University of Wisconsin, Wisconsin, 1999.
 - LABORATORIOS BRISTHAR C.A. **Bristhar Laboratorios**, <http://www.bristhar.com.ve/algarrobo>, 29 de Abril de 2011.
 - MOLLIN, G. **Probiotics In Foods Not Containing Milk Or Milk Constituens**, American Journal Clinical Nutrition, N° 73, págs. 380-385, 2001.
 - MORIÑIGO, MIGUEL. **Probioticos**, Encuentros en la Biología, España : Facultad de Ciencias Universidad de Malaga, N° 71, 2001.
 - OLIVA, M; ALFARO, C. y PALAPE, L. **Evaluacion del Potencial Tecnológico de Galactomanos del Endospermo de Semillas de**

Prosopis S.P. para el uso de la Industria de Alimentos, Agriscientia, Chile, N° 2, Vol. 26, págs. 107-113, 2010.

- **PERALTA REVILLA, JOSE MANUEL. Sistema de Producción Lechera Mixta Bovina y Ovina: Estudio de Caso en un Predio de la VII Región para la Elaboración de Quesos, Informe de Residencia presentado como parte de los requisitos para optar al título de Ingeniero Agrónomo, Departamento de Zootecnia, Pontificia universidad catolica de Chile, Chile, pág. 99, 2003.**
- **POUCH, DOWNES Y KEITH, ITO. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, American Public Health Association, 4th Edition, 2008.**
- **PROFECO, Queso Fresco, <http://www.profeco.gob.mx/tecnologias/lacteo/qfresco.asp> , 1 julio 2010.**
- **REINHEIMER, JORGE y SALAZAR, CARLOS. Medios de Cultivo y Metodos Moleculares para la Enumeracion y Control de Bacterias Probioticas en la Elaboracion y Maduracion de Quesos, Avances en Microbiologia Bioquimica y Tecnologia de quesos, Santa Fe, Editorial Ivana Tosti, Primera edicion, 2006.**
- **RODRIGUEZ CERVANTES, I. Sobrevivencia de dos Bacterias Probioticas en dos Quesos Frescos Mexicanos Deslactosados: Panela y Oxaca, Informe de Investigacion y Posgrado en alimentos para optar al título de Ingeniero, Facultad de Quimica, Universidad Autonoma de Queretaro CU, Cerro de las Campanas, 2006.**

- ROSADO LORIA, JORGE y ONDARZA BENÉITEZ, MAURICIO. **Prebióticos y Probióticos: Efectos e implicaciones en la Fisiología de la Nutrición**, Nutran, 2003.
- ROY, D. **Media for the Isolation and Enumeration of Bifidobacteria in dairy Products**, International Journal of Food Microbiology, N° 3 , Vol. 69, págs. 167-182, 2 de Setiembre de 2001
- SAARELA, M. ; MOGENSEN, G. ; FONDEN, R. ; MATTO, J. ; MATTILA-SANDHOLM, T. **Probiotic Bacteria: Safety, Functional and Technology Properties** Journal of Biotechnology, N° 84, págs. 197-215, 2000.
- SANCHO, J. BOTA, E. DE CASTRO, J.J. **Introducción al análisis sensorial de los alimentos**, Editorial Alfa omega, México, 2002.
- SCHREZENMEIR, J. y DE VRESE, M. **Probiotics, Prebiotics, and Symbiotics – Approaching a Definition**, Journal Clinical of Nutrition, N° 73, Vol. 2, págs. 361-364, 2001.
- SHAH, N. **Funcional Food from Probiotics and Prebiotics**, Food Technology, N° 55 , Vol. 11, págs. 46-52, 2001.
- SUAREZ, C. **Utilización de dos Métodos en la Extracción Humeda de Mucielago de Algarroba (Prosopis Chilensis (Mol) Sluntz)**, informe para optar al título de Ingeniero Agronomo, Universidad de Chile, Santiago de Chile, Facultad de Ciencias Agronomicas, 2003.

- TARANTO, M. P.; MÉDICI M. y FRONT DE VALDEZ, G. **Alimentos Funcionales Probióticos**, Revista Química Viva, N°1, Vol. 4, págs. 26-34, 2005.
- TORRICELLA MORALES, RAUL; ZAMORA UTSET, ESPERANZA; PULIDO ALVARES, HORACIO. **Evaluación Sensorial Aplicada a la Investigación, Desarrollo y Control de Calidad en La industria Alimentaria**, Editorial universitaria, 2 ed. ISBN978-959-16-0577-1, Pág. 7, 2007.
- VINDEROLA, C. **Viability of Probiotic (Bifidobacterium, Lactobacillus Acidophilus and Lactobacillus Casei) and Nonprobiotic Microflora in Argentinian Fresh Cheese**, Journal of Dairy Science, N° 83, Vol. 9, págs. 1905-1911, 2000.
- VIVENTE VELA, MARIA CINTA; ALVAREZ BLANCO, SILVIA y ZARASOGA CARBONEL, JOSE LUIS. **Química Industrial Orgánica**, Universidd Nacional de Valencia, pág. 32, 2006.
- XANTHOPOULUS, V.; PEDRITIS, N. y TZANETAKIS, N. **Clasificación of Streptococcus thermophilus and Lactobacillus subsp. bulgaricus Strains Isolated from Traditional Grek, Yogures**, J. Food Sci, N° 66, Vol. 5, págs. 747-752, 2001.
- WATTS, B. M.; YLIMAKI, G. L.; JEFERY, L. E.; ELIAS, L. G. **Métodos Sensoriales Basicos para la Evaluación de Alimentos**, editado por International Development Research, pág. 81, 1992.

APENCICES

**APENDICE N° 1: Valores experimentales de la titulación de ácido
láctico**

DIA	Volumen gastado de NaOH en los Quesos					
	PRIMERA EXPERIENCIA		SEGUNDA EXPERIENCIA		TERCERA EXPERIENCIA	
	QUESO CON GOMA ₁	QUESO SIN GOMA ₁	QUESO CON GOMA ₂	QUESO SIN GOMA ₂	QUESO CON GOMA ₃	QUESO SIN GOMA ₃
1	5	5	5,2	5,5	4,9	5
2	5	5,2	5,3	5,7	5,1	5,3
3	5,3	5,6	5,2	5,7	5,1	5,4
4	5,3	5,8	5,5	6	5,3	5,6
5	5,7	6,2	5,4	6,1	5,4	5,7
6	5,9	6,4	5,7	6,3	5,4	5,7
7	6,1	6,5	5,7	6,4	5,8	6
8	6,3	6,8	5,7	6,3	6	6,2
9	6,4	6,8	6	6,7	6	6,2
10	6,5	7	6	6,6	6	6,3
11	6,8	7,2	6,4	6,9	6,4	6,6
12	7	7,2	6,5	6,9	6,4	6,6
13	7	7,3	6,7	7,3	6,5	6,8
14	6,9	7,2	6,8	7,4	6,6	7
15	7	7,3	6,8	7,4	6,6	7

Fuente: elaboración propia.

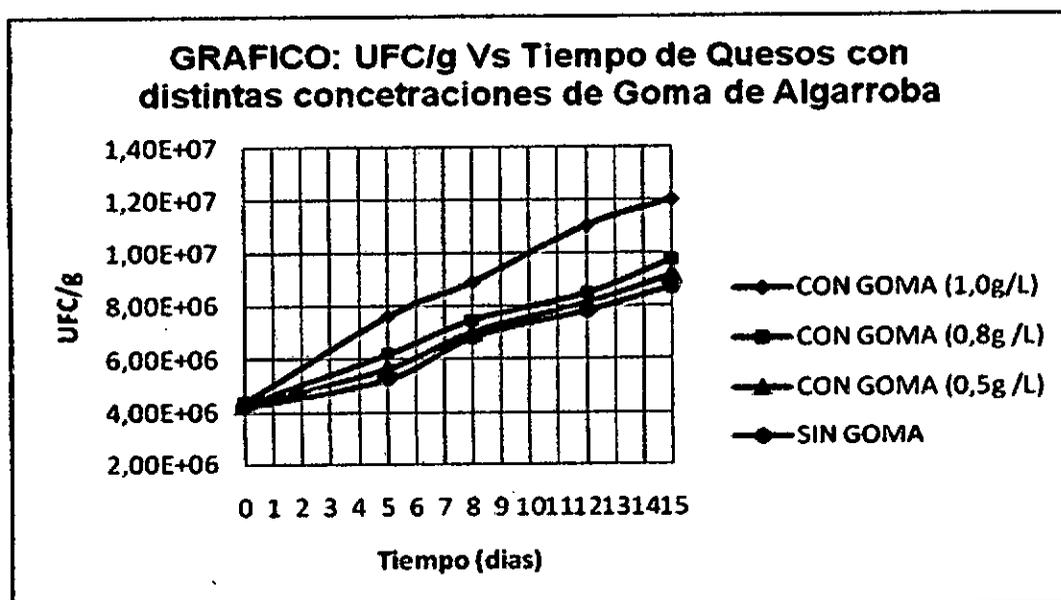
Normalidad de la solución de NaOH $N_{REAL(NaOH)}$		
PRIMERA EXPERIENCIA	SEGUNDA EXPERIENCIA	TERCERA EXPERIENCIA
0,9893	0,9982	0,9894

Fuente: elaboración propia.

APENDICE N° 2: Viabilidad de *Lactobacillus acidophilus* con distintas concentraciones de goma de Algarroba (*Prosopis pallida*) del queso fresco.

DIA	UNIDAD FORMADORA DE COLONIA POR GRAMO DE MUESTRA (UFC/g.)			
	CON GOMA (1,0g/L)	CON GOMA (0,8g /L)	CON GOMA (0,5g /L)	SIN GOMA
0	4,40E+06	4,30E+06	4,30E+06	4,20E+06
5	7,60E+06	6,20E+06	5,65E+06	5,24E+06
8	8,90E+06	7,46E+06	7,01E+06	6,81E+06
12	1,10E+07	8,48E+06	8,10E+06	7,80E+06
15	1,20E+07	9,74E+06	9,16E+06	8,70E+06

Fuente: elaboración propia.



Fuente: elaboración propia.

APENDICE N° 3: Análisis estadístico de la viabilidad de *Lactobacillus acidophilus*

ANOVA

VIABILIDAD

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	8,820E13	5	1,764E13	3,756	,004
Intra-grupos	4,227E14	90	4,696E12		
Total	5,109E14	95			

Pruebas post hoc

Subconjuntos homogéneos

Duncan^a

QUESO	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
QUESO SIN GOMA1	16	6,5656E6	
QUESO SIN GOMA2	16	6,5750E6	
QUESO SIN GOMA3	16	6,7438E6	
QUESO CON GOMA1	16		8,4125E6
QUESO CON GOMA2	16		8,5875E6
QUESO CON GOMA3	16		8,6125E6
Sig.		,829	,808

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 16,000.

APENDICE N° 4: Análisis estadístico de la hipótesis

Estadísticos para queso con Goma

	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
queso con goma	16	8,5331E6	2,50871E6	6,27178E5

Prueba t-student para queso con goma

	Valor de prueba = 4×10^6					
	95% Intervalo de confianza para la diferencia					
	t	Inferior	Superior	Diferencia de medias	Inferior	Superior
queso con goma	7,228	3,1963E6	5,8699E6	4,53313E6	3,1963E6	5,8699E6

Estadísticos para queso sin goma

	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
queso sin goma	16	6,6275E6	1,72676E6	4,31689E5

Prueba t-student

	Valor de prueba = 4×10^6					
	95% Intervalo de confianza para la diferencia					
	t	Inferior	Superior	Diferencia de medias	Inferior	Superior
queso sin goma	6,087	1,7074E6	3,5476E6	2,62750E6	1,7074E6	3,5476E6

APENDICE N° 5: Análisis estadístico atributo textura en el día 15

ANOVA

TEXTURA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	23,033	5	4,607	7,292	,001
Intra-grupos	53,067	84	,632		
Total	76,100	89			

Pruebas post hoc

Subconjuntos homogéneos

Duncan^a

QUESO	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
SIN GOMA 1	20	4,2000		
SIN GOMA 2	20	4,5333	4,5333	
SIN GOMA 3	20	4,5333	4,5333	
CON GOMA 1	20		5,1333	5,1333
CON GOMA 3	20			5,4667
CON GOMA 2	20			5,5333
Sig.		,284	,053	,198

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 20,000.

APENDICE N° 6: Análisis estadístico del atributo aroma en el día 15

ANOVA

AROMA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	15,656	5	3,131	2,494	,037
Intra-grupos	105,467	84	1,256		
Total	121,122	89			

Pruebas post hoc

Subconjuntos homogéneos

Duncan^a

QUESOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
SIN GOMA 2	20	4,3333		
SIN GOMA 3	20	4,5667	4,5667	
SIN GOMA 1	20	4,7500	4,7500	
CON GOMA 2	20	5,2667	5,2667	5,2667
CON GOMA 1	20		5,5333	5,5333
CON GOMA 3	20			5,6667
Sig.		,105	,055	,306

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 20,000.

APENDICE N° 7: Análisis estadístico del atributo sabor en el día 15

ANOVA

SABOR

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	11,822	5	2,364	2,512	,036
Intra-grupos	79,067	84	,941		
Total	90,889	89			

Pruebas post hoc

Subconjuntos homogéneos

Duncan^a

QUESO	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
SIN GOMA 1	20	4,5333	
SIN GOMA 2	20	4,8000	4,8000
SIN GOMA 3	20	5,0000	5,0000
CON GOMA 1	20		5,4000
CON GOMA 2	20		5,4000
CON GOMA 3	20		5,5333
Sig.		,219	,067

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 20,000.

ANEXOS

ANEXO N° 1: Constancia de realización de tesis en el C.E.T.



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO
Vicerrectorado de Investigación



"AÑO DEL CENTENARIO DE MACHU PICCHU PARA EL MUNDO"
"AÑO DE LA CONSOLIDACIÓN PARA LA ACREDITACIÓN"

CONSTANCIA N° 0093-11-CET/VRI

Bellavista, julio 01 de 2011

EL DIRECTOR DEL CENTRO EXPERIMENTAL TECNOLÓGICO
DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO, QUE SUSCRIBE HACE:

CONSTAR

Que, el señor **JULIO DAVID GONZALES BALLADARES**, egresado de la Escuela Profesional de Ingeniería Química, de la Facultad de Ingeniería Química, de la Universidad Nacional del Callao, Código N°.000827-C y DNI. N°.41283097, **ha desarrollado su trabajo de tesis "Viabilidad de *Lactobacillus Acidophilus* en queso fresco con goma de algarroba (*Prosopis Pallida*), durante el periodo de diciembre 2009 hasta agosto de 2010, tal como consta en el libro de registro-control, utilizando la cepa liofilizada *Lactobacillus Acidophilus* LMB 042 certificado con el lote 603284, Cat. N° 46-03007 ATCC 4356 (derived), almacenado a temperatura menor a 4°C.**

Se expide el presente documento a solicitud del interesado, para los fines que estime conveniente.

Atentamente,

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO
Centro Experimental Tecnológico

Ing. Víctor A. Higinio Rubio
DIRECTOR

copy T.
Cl. file
0093CST010711CET/VRI

Av. Juan Pablo II 306 / 308
Bellavista - Callao
Telf: 465-2328 / 429-9740 - 316
cet@unac.edu.pe

ANEXO N° 2: CODEX del queso fresco

NORMA DE GRUPO DEL CODEX PARA EL QUESO NO MADURADO, INCLUIDO EL QUESO FRESCO

CODEX STANDARD 221-2001

1. Ámbito De Aplicación

La presente Norma se aplica al queso no madurado, incluido el queso fresco, destinado al consumo directo o a ulterior elaboración, que se ajusta a la descripción que figura en la sección 2 de esta norma. A reserva de las disposiciones de la presente norma, las normas del CODEX para las distintas variedades de queso no madurado podrán contener disposiciones mas específicas que así que figuran en esta norma, y en dicho caso se aplican tales disposiciones específicas.

2. Descripción

Se entiende por queso no madurado, incluido los quesos frescos, los productos que se ajustan a la Norma General del Codex para el Queso y que están listos para el consumo poco después de su fabricación.

3. Factores esenciales de Composición y Calidad

Materias primas

Leche y/o productos obtenidos de la leche

Ingredientes autorizados

- Cultivos de fermentos de bacterias inocuas productoras de acido láctico y/o aromas y cultivos de otros microorganismos inocuos.
- Cuajo u otras enzimas coagulantes inocuas e idóneas;
- Cloruro de sodio
- Agua potable
- Gelatina y almidones. No obstante las disposiciones de al Norma General del Codex para el Queso (CODEX ATAN283-1978) estas sustancias pueden utilizarse con los mismos fines que los estabilizadores, a condición de que se añadan únicamente en las condiciones funcionales necesarias, conforme a las buenas prácticas de fabricación y teniendo en cuenta cualquier utilización de los estabilizadores/espesantes que se enumeran en la sección 4.
- Vinagre
- Harinas y almidones de arroz, maíz y papa

4. Aditivos Alimentarios

Solo podrán utilizarse los aditivos que se indican a continuación, y únicamente en las dosis establecidas. Los aditivos que no se enumeren a continuación pero que figuran en las normas individuales del Codex para variedades de quesos no madurados podrán utilizarse también para tipos de quesos análogos conforme a las dosis que se especifiquen en esta norma.

N SIN	Nombre del aditivo Alimentario	Dosis Máxima
Ácidos		
260	Acido acetico glacial	Limitada por BPF
270	Acido Lactico (L;Dy DL)	
296	Acido malico (DL)	
330	Acido Citrico	
338	Acido Ortofosforico	2g/Kg Expresado como P2O5
507	Acido Clorhidrico	Limitada por BPF
Reguladores de la Acidez		
170	Carbonatos de calcio	Limitada por BPF
500	Carbonatos de sodio	
501	Carbonato de potasio	
575	Glucono delta-lactona	
Estabilizadores/espesantes		
331	Citratos de sodio	Limitada por BPF
332	Citratos de potasio	
333	Citratos de calcio	
339	Fosfatos de Sodio	3,5g/Kg solo mezclados, expresados como P2O5
340	Fosfatos de potasio	
341	Fosfatos de calcio	
450(i)	Difosfatos disodico	
450(ii)	difosfato Trisodico	
541	Fosfatos de aluminio y calcio	Limitada por BPF
400	acido alginico	
401	Alginato de sodio	
402	Alginato de potasio	
403	Alginato de amonio	
404	Alginato de calcio	
405	Alginato de polieglicol	
406	Agar	limitado por las BPF
407	Carragenina y sus sales de sodio, potasio y amonio (incluye furcelleran)	
410	goma de semilla de algarrobo	
412	goma guar	limitado por las BPF
413	goma tragacanto	
415	goma xantan	
416	goma karaya	
417	goma tara	
440	pectinas	
460	celulosa	
466	carboximetilcelulosa sodica	
576	glucanato de sodio	

N SIN	Nombre del aditivo Alimentario	Dosis Máxima
Almidones modificados, según se indica a continuación		
1400	Dextrinas, almidón tostado blanco y amarillo	limitada por BPF
1401	almidones tratados con ácidos	
1402	almidones tratados con álcalis	
1403	almidón blanqueado	
1404	almidón oxidado	
1405	almidones tratados con enzimas	
1410	fosfato de monoalmidón	
1412	fosfato de almidón, esterificado con trimetafosfato de sodio, esterificado con oxocloruro de fósforo	
1413	fosfato de dialmidón fosfatado	
1414	fosfato de dialmidón acetilado	
1420	acetato de almidón esterificado con anhídrido acético	
1421	acetato de almidón esterificado con acetato de vinilo	
1422	adipato de dialmidón acetilado	
1440	almidón hidroxipropilado	
1442	fosfato de dialmidón hidroxipropilado	
Colorantes		
101	riboflavinas	Limitada por BPF
140	clorofila	Limitada por BPF
141	clorofilas de cobre	15mg/kg solas o mezcladas
160a(i)	beta-caroteno (sintético)	25mg/kg
160a(ii)	carotenos (extractos naturales)	600mg/kg
160b(ii)	extractos de anatto, base de norbixina	25mg/kg
160e	beta-apo-carotenal	35mg/kg
160f	éster metílico o etílico del ácido beta-apo-8 carotenoico	35mg/kg
162	rojo de remolacha	Limitada por BPF
171	dioxido de titanio	Limitada por BPF
Conservantes		
200	ácido sorbico	1g/kg de queso, solo o mezclado, expresado como ácido sorbico
202	sorbato de potasio	
203	sorbato de calcio	
234	nisina	12,5mg/kg
280	ácido propiónico	Limitada por BPF
281	propionato de sodio	
282	propionato de calcio	
283	propionato de potasio	

Espumantes		
290	dioxido de carbono	Limitada por BPF
941	nitrogeno	
Solo para productos rebanados, cortados, desmenuzados, rallados (tratamientos de superficie)		
Antiglutinantes		
460	celulosa	Limitada por BPF
551	dioxido de silicio amorfo	10g/kg. Solo o mezclados Silicatos calculados como dioxido de silicio
552	silicato de calcio	
553	silicatos de magnesio	
554	silicato de aluminio y sodio	
556	silicato de aluminio y calcio	
559	silicato de aluminio	
560	silicato de potasio	
conservantes		
200	acido sorbico	1g/kg de queso, solo o mezclado, expresado como acido sorbico
202	sorbato de potasio	
203	sorbato de calcio	
280	acido propionico	Limitada por BPF
281	propianato de sodio	
282	propianato de calcio	
283	propianato de potasio	
235	priamcina (natamicina)	20mg/kg aplicada a al superficie y añadidad durante lso procesos de amasado y estirado

ANEXO N° 3: NTP 2002.001- Norma oficial de la leche

REQUISITOS FISICOS Y QUIMICOS DE LA LECHE DE VACA	
Materia Grasa (g/100g)	Min. 3,2
Sólidos no graso (g/100g)	Min. 8,2
Sólidos totales (g/100g)	Min. 11,4
Impurezas macroscópicas, expresadas en mg de impurezas por 500 cm ³ de leche	Max. 0,5 mg (grado 2)
Acidez, expresada en g de ácido láctico por 100 g de leche	Min. 0,14 % Máx. 0,18 %
Densidad a 20° C (g/cm ³)	Min. 1,0296 Máx. 1,0340
Índice de refracción del suero, 20°C (Lectura refracto métrica 37.5)	Min. 1,34179
Ceniza total (g/100g)	Máx. 0,7
Alcalinidad de la ceniza total ml HCL 0.1 N/100 g	Máx. 0,7 cm ³
Índice crioscópico	Máx. -0,540°C
Sustancias conservadoras y cualquier otra sustancia extraña a su naturaleza	Ausencia
Prueba de alcohol (74% V/V Mínimo)	No coagulable
Prueba de la reductasa con azul de metileno	Min. 4h

REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS	
Conteo de células somáticas	Máx. 500,000 unidades por ml
Numeración de microorganismos mesófilos, Aerobios y facultativos viables, por ml.	Máx. 1, 000,000 UFC.
Numeración de coliformes, por ml	Máx. 1,000 UFC.

Fuente: INDECOPI

NTS N°071-MINSA/DIGESA-V.01 "Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano": REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS LECHE PASTEURIZADA. Aprobado por resolución ministerial N°591-2008MINSA	
Numeración Aerobios mesófilo, por mL	2x10 ⁴ UFC.
Numeración de coliformes, por mL	1UFC.

Fuente: RM 591-2008 MINSA

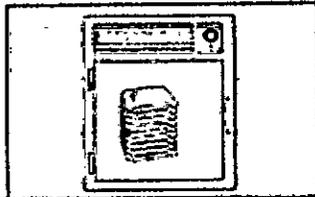
ANEXO N° 4: Guía de uso de placas PETRIFILM™ para el recuento de Aerobios

3M Placas Petrifilm™ para el Recuento de Aerobios

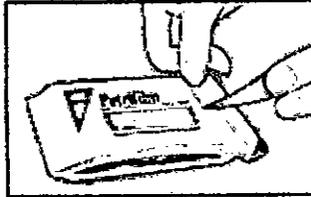
Recomendaciones de uso

Para detallar información sobre PRECAUCIONES, COMPENSACIONES POR GARANTÍA / GARANTÍA LIMITADA, LIMITACIONES POR RESPONSABILIDAD DE 3M, ALMACENAMIENTO Y ELIMINACIÓN, o INSTRUCCIONES DE USO, remítase al inserto de producto en el paquete.

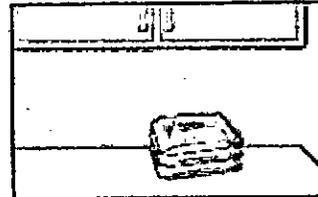
Almacenamiento



1 Almacene los paquetes cerrados a una temperatura 5 a 8 °C (41-48 °F). Las placas deben usarse antes de su fecha de caducidad. En áreas de alta humedad, donde la condensación puede ser un inconveniente, es recomendable que los paquetes se atemperen al ambiente del lugar de trabajo antes de abrirlos. Las Placas Petrifilm tienen un tiempo de vida útil de 18 meses desde su fecha de elaboración. Observe la fecha de caducidad en la parte superior de la placa.



2 Para cerrar un paquete abierto, doble el extremo y sellelo con cinta adhesiva para evitar el ingreso de humedad y, por lo tanto, la alteración de las placas.



3 Mantenga los paquetes cerrados (según se indica en el punto 2) a temperatura 5 a 25 °C (41-77 °F) y una humedad relativa ≤50%. No refrigere los paquetes que ya hayan sido abiertos. Utilice las Placas Petrifilm máximo 1 mes después de abrirlo el paquete. Para almacenamiento prolongado de paquetes abiertos, una vez cerrados (según punto 2) colóquelos en un contenedor sellable (tipo funda con cierre) y almacénelos en congelación. Para usar las placas, saque el paquete del congelador, retire el número de placas necesarias y guarde el resto en las mismas condiciones antes de usarlas hasta su fecha de caducidad.

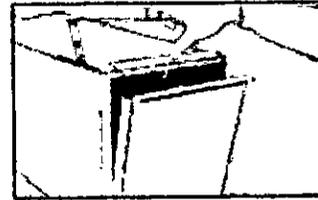
Preparación de la muestra



4 Prepare al menos una dilución de 1:10 de la muestra. Pese o pípetee la muestra en una funda o bolsa de Stomacher, botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril apropiado.



5 Adicione la cantidad apropiada de uno de los siguientes diluyentes estériles: tampón Bufferfield (tampón IDP líquido, 0.0425 g/L de KH₂PO₄ y con pH ajustado a 7.2); agua de peptona al 0.1%; diluyente de sal peptonada (método ISO 6367); buffer de agua de peptona (método ISO 6578); solución salina (0.85 a 0.90%); caldo tryptic libre de bisulfato o agua destilada.

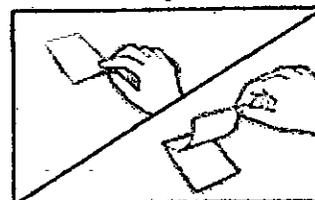


6 Mezcle u homogenice la muestra mediante los métodos usuales.

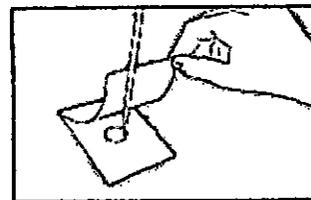
Ajuste el pH de la muestra diluida entre 6.0 y 7.2. Para productos ácidos: use solución 1N de NaOH. Para productos básicos: use solución 1N de HCl.

No utilice buffers que contengan citrato, bisulfato o bisulfato de sodio, porque pueden inhibir el crecimiento.

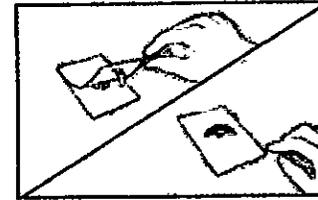
Inoculación



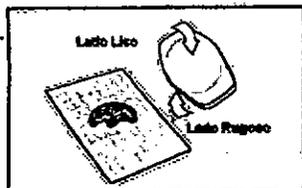
7 Coloque la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Levante la lámina semitransparente superior.



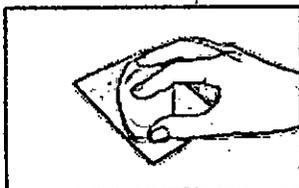
8 Con la pipeta perpendicular a la Placa Petrifilm, coloque 1 ml de la muestra en el centro de la película cuadrícula inferior.



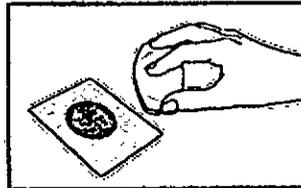
9 Libere la película superior dejando que caiga sobre la dilución. No la deslice hacia abajo.



10 Con el lado rugoso hacia abajo, coloque el dispensador o esparcidor sobre la película superior, cubriendo totalmente la muestra.

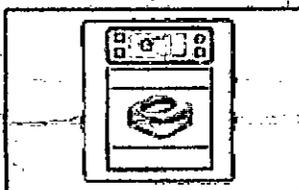


11 Presione suavemente el dispensador o esparcidor para distribuir la muestra sobre el área circular. No gire ni deslice el dispensador. Recuerde distribuir la muestra antes de inocular una siguiente placa.



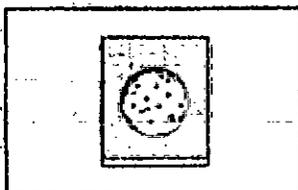
12 Levante el dispensador o esparcidor. Espere por lo menos 1 minuto a que se solidifique el gel y proceda a la incubación.

Incubación

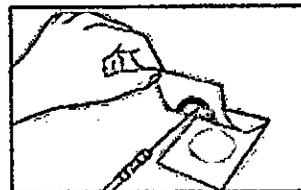


13 Incube las placas cara arriba en grupos de no más de 20 piezas. Puede ser necesario humectar el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente con agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad.

Interpretación



14 Las Placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo de lupas con luz. Consulte la Guía de Interpretación para leer los resultados.



15 Las colonias pueden ser aisladas para su identificación posterior. Levante la película superior y recoja la colonia del gel.

El tiempo de incubación y la temperatura varían según el método. Los métodos aprobados más conocidos son:

- AOAC método oficial 986.33 (leche y productos lácteos)
Incubar 48 hrs. (± 3 hrs.) a 32 °C (± 1 °C).
- AOAC método oficial 990.12
Incubar 48 hrs. (± 3 hrs.) a 26 °C (± 1 °C).
- APHIS método validado 384 01/1-03/80
Incubar 72 hrs. (± 6 hrs.) a 30 °C.
- Método MNCL 146.1983
Incubar 72 hrs. (± 6 hrs.) a 30 °C.

Comentarios adicionales

* Si tiene dudas o preguntas, llame al 1-851-733-7582 o al Representante de Ventas 3M más cercano a usted.



Microbiology Products
3M Center Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1800-228-3957
microbiology@mm.com
www.3M.com/microbiology

3M México
Av. Santa Fe 55
Col. Santa Fe, CP 01210
México, D.F.
Tel. (55) 5270-0454
microbiologiamx@mm.com
www.3M.com/microbiologymx

3M Argentina
Los Árboles 842
Hurlingham
Buenos Aires, Argentina
Tel. (11) 4469-8200
microbiologia-ar@mm.com

Petrifilm es una marca registrada de 3M.
Impreso en México.
Revisión: 2004.
Referencia: 70-2008-6102-0.

ANEXO N° 5: Guía de uso de placas PETRIFILM™ para el recuento de Coliformes totales

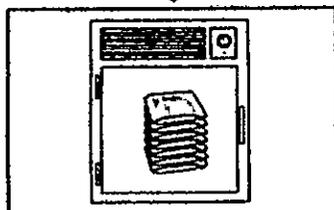
3M™ Petrifilm™ Placas Alta Sensibilidad para Recuento de Coliformes

Para Advertencias, Precauciones, Responsabilidad del Usuario, Garantía Limitada, Almacenamiento y Eliminación, e Instrucciones de Uso, ver el folleto del producto.

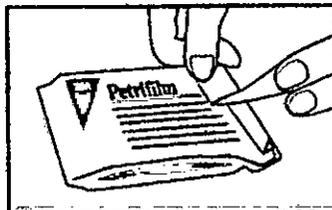
Instrucciones
de uso



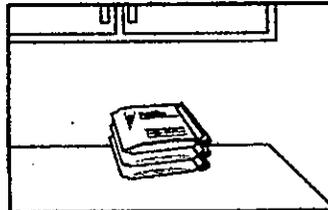
Almacenamiento



1 Conservar las bolsas cerradas a $\leq 8^{\circ}\text{C}$. Usar antes de la fecha de caducidad impresa en la bolsa. En zonas con alta humedad donde puede haber condensación, es mejor dejar que las bolsas alcancen la temperatura ambiente antes de abrirlas.



2 Para cerrar las bolsas que se están utilizando, doblar los extremos y cerrarlos con celo.

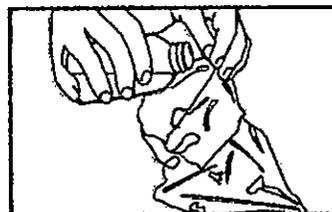


3 Mantener las bolsas una vez cerradas a $\leq 25^{\circ}\text{C}$, a HR $\leq 50\%$. No refrigerar las bolsas abiertas. Usar las placas Petrifilm en un mes desde su apertura.

Preparación de la muestra

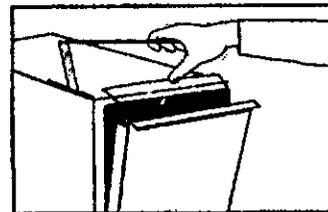


4 Pesar o pipetear el producto alimenticio en un contenedor estéril adecuado, como una bolsa tipo Stomacher, frasco de dilución, bolsa Whirl-Pak®, o cualquier otro contenedor estéril.



5 Si es necesario, utilizar diluyentes estériles apropiados: agua peptona sal (o Diluyente de Máxima Recuperación) (método ISO 6887), tampón fosfato de Butterfield (tampón fosfato DF, KH_2PO_4 a 0.0425g/l, ajustar pH a 7.2), agua peptonada al 0.1%, agua peptonada tamponada (método ISO 6579), solución edina (0.85 - 0.90%), caldo lacteen sin bisulfito, o agua destilada.

No usar tampones que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato, ya que pueden inhibir el crecimiento.

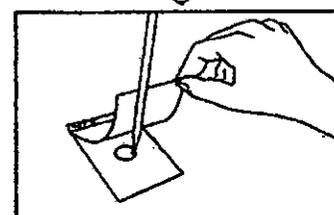


6 Mezclar u homogeneizar la muestra según el procedimiento habitual.

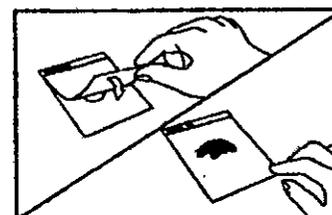
Ajustar el pH de la muestra diluida entre 6.5 y 7.5:

- para productos ácidos, usar NaOH 1N,
- para productos alcalinos, usar HCl 1N.

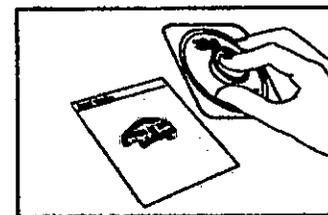
Inoculación



7 Colocar la placa Petrifilm en una superficie plana. Levantar el film superior. Con una pipeta colocada de forma perpendicular a la placa Petrifilm, colocar 5 ml. de la muestra en el centro del film inferior.

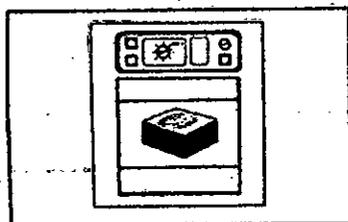


8 Bajar el film superior con cuidado evitando introducir burbujas de aire. No dejarlo caer.



9 Colocar el aplicador para Alta Sensibilidad en el film superior sobre el inoculo. Distribuir la muestra ejerciendo una ligera presión sobre el mango del aplicador. No girar ni deslizar el aplicador. Levantar el aplicador. Esperar de 2 a 6 minutos a que solidifique el gel.

Incubación



10 Incubar las placas cara arriba en pilas de hasta 10 placas. El tiempo de incubación y la temperatura varía según el método*.

Métodos más usuales utilizados en Europa

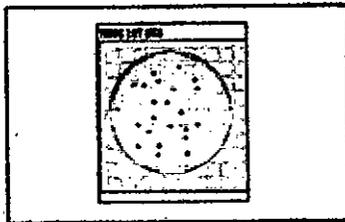
- Método validado AFNOR 3M 01/7-03/99:
incubar $24h \pm 2h$ a $30^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$,
ó $35^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$ ó $37^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$,
para coliformes totales.
- incubar $24h \pm 2h$ a $44^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$,
para coliformes termotolerantes
Para esta alta temperatura, es necesario una humidificación del incubador.

Métodos más usuales utilizados en Estados Unidos

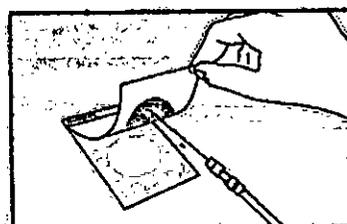
- incubar $24h \pm 2h$ a $32^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$
(productos lácteos)
- incubar $24h \pm 2h$ a $35^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$
(todos los alimentos, excepto
productos lácteos)

*Ver el folleto del producto.

Interpretación



11 Las placas Petrifilm pueden leerse con un contador de colonias standard u otra lente de aumento iluminada. Para leer los resultados, consultar la Guía de Interpretación.



12 Las colonias pueden aislarse para una posterior identificación. Levantar el film superior y seleccionar la colonia del gel.

Diluciones

Diluciones recomendadas

- Para yogurta, mantequilla y productos lácteos deshidratados, se recomienda una dilución 1 : 10. Esto da una sensibilidad de 2 coliformes por gramo.
- Para nata, helados, leche con chocolate y nata fermentada, se recomienda una dilución 1 : 5. Esto da una sensibilidad de 1 coliforme por gramo.
- Leche cruda, pasteurizada entera y descremada, se puede sembrar directamente.

Ref. documento

Fecha	Version
Mayo 1999	1.0

3M

3M España, S.A.

Juan Ignacio Luca de Tena, 19-25
Madrid 28027, Spain
Tel. : 34-1-321-60-00
Fax : 34-1-321-60-02

For Europe, please contact :
Laboratorios 3M Benid
Tel. : (33) 1 30 51 85 71
Fax : (33) 1 30 51 85 78



FPF10002127

ANEXO N° 6: Ficha técnica del cuajo

CHR HANSEN

Improving food & health

3 Mufecas® Verde

Certificate of Analysis

Product Data

Material : 146326
Batch : 2981169
Date of Production : 19.10.2010
Best Before Date : 18.10.2012
Cert. Print Date : 09.02.2011

Customer Information

Sales Order : 4000018806
Customer Name : INSULAC & MAS EIRL
Customer Code :
Purchase Order : OC -0020 - 2011
Delivery No. : 81408136
Delivery Date : 09.02.2011

Laboratory Analysis

Test Name	Unit	Specification	Result
REMCAT activity	IMCU/Seck	> = 3000	3248
Enzymatic composition	%	100 % chymosin	100
Total count / Flora totale	cfu/g	< 1000	< 1000
Yeast and mould	---	Negative in 1 g	Negative
Clostridia	cfu/g	< 10	< 10
Coliform bacteria	---	Negative in 0.5 g	Negative
Escherichia coli	---	Negative in 25 g	Negative
Salmonella	---	Negative in 25 g	Negative
Listeria	---	Negative in 25 g	Negative
Staphylococcus aureus	---	Negative in 1 g	Negative
Total heavy metals	mg/kg	< = 30	Conforms
Lead	mg/kg	< = 5	Conforms
Amylase	---	Below detection	Conforms

Comments:

FUENTE: INSULAC&MAS EIRL - CHR HANSEN

ANEXO N° 7: Ficha técnica del Agar M.R.S

Britania[▲]

REF B0220505 REF B0220506

M.R.S. Agar

IVD

USO

Medio de cultivo apropiado para el aislamiento y recuento de lactobacilos y otras bacterias ácido lácticas a partir de muestras clínicas y alimentos (especialmente productos lácteos).

FUNDAMENTO

El Agar M.R.S. fue desarrollado por Man, Rogosa y Sharpe, y por su formulación permite el adecuado desarrollo de los lactobacilos y otras bacterias ácido lácticas.

La proteosa peptona, el extracto de carne, el extracto de levadura y la glucosa constituyen la fuente nutritiva ya que aportan nitrógeno, carbono, vitaminas y minerales. El monoato de sorbitán, los sales de sodio, magnesio y manganeso proveen cofactores para el crecimiento bacteriano y pueden inhibir el desarrollo de algunos microorganismos. El citrato de amonio actúa como agente inhibidor del crecimiento de bacterias Gram negativas. El agar es el agente solidificante.

CONTENIDO Y COMPOSICIÓN

Código B0220505: envase x 100 g.
Código B0220506: envase x 500 g.

FÓRMULA (en gramos por litro)

PROTEOSA PEPTONA N° 3	100
EXTRACTO DE CARNE	100
EXTRACTO DE LEVADURA	5.0
GLUCOSA	20.0
MONOATO DE SORBITÁN	1 ml
FOSFATO DIPOTÁSICO	2.0
ACEVATO DE SODIO	5.0
CITRATO DE AMONIO	2.0
SULFATO DE MAGNESIO	0.2
SULFATO DE MANGANESO	0.05
AGAR	13.0

pH FINAL: 6.4 ± 0.2

INSTRUCCIONES

Suspender 68,25 g del polvo en 1 litro de agua purificada. Reposar 5 minutos. Calentar agitando frecuentemente y llevar a ebullición durante 1 ó 2 minutos para disolución total. Distribuir en recipientes apropiados y esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos. Enfriar y distribuir en placas de Petri estériles.

CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO

Medio de cultivo deshidratado: color beige, homogéneo, libre deslizamiento.

Medio de cultivo preparado: color ámbar oscuro.

ALMACENAMIENTO

Medio de cultivo deshidratado a 2-8 °C.

Medio de cultivo preparado a 2-8 °C.

PROCEDIMIENTO

Siembra

Por inoculación directa del material en estudio, estriando la superficie del medio de cultivo.

Incubación

En atmósfera con 5% de CO₂, a 35-37 °C durante 24-72 horas.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Observar la morfología y el color de las colonias.

CONTROL DE CALIDAD

MICROORGANISMOS	CRECIMIENTO
Lactobacillus fermentum ATCC 8338	Satisfactorio
Lactobacillus casei ATCC 393	Satisfactorio
Escherichia coli ATCC 26922	Inhibido

CONTROL DE ESTERILIDAD

CONTROL DE ESTERILIDAD	RESULTADO
Medio sin inocular	Sin cambios

MATERIALES NECESARIOS NO PROVISTOS

Equipos y material de laboratorio, microorganismos para control de calidad, reactivos y medios de cultivo adicionales según requerimiento.

Britania[^]

M.R.S. Agar

PRECAUCIONES

- Solamente para uso diagnóstico in vitro. Uso profesional exclusivo.
- No utilizar el producto si el recibio su envase está abierto o dañado.
- No utilizar el producto si existen signos de contaminación o deterioro, así como tampoco si ha expirado su fecha de vencimiento.
- Utilizar guantes y ropa protectora cuando se manipule el producto.
- Considerar las muestras como potencialmente infecciosas y manipularlas apropiadamente siguiendo las normas de bioseguridad establecidas por el laboratorio.
- Las características del producto pueden alterarse si no se conserva apropiadamente.
- Descartar el producto que no ha sido utilizado y los desechos del

mismo según reglamentaciones vigentes.

REFERENCIAS

- De Man, J.C., Rogosa, M. and Sharpe, M.E. (1960). A Medium for the Cultivation of Lactobacilli. *J. Appl. Bacteriol.*, 23 (1), 130.
- MacFaddin. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore, Md.
- Corry, J.E.L., Curtis, G.D.W., Beard, R.M. 2003. Handbook of Culture Media for Food Microbiology, volume 37, Elsevier Science.

INDICACIONES AL CONSUMIDOR

- Utilizar el producto hasta su fecha de vencimiento.
- Conservar el producto según las indicaciones del rótulo.

SÍMBOLOS UTILIZADOS



HOM-9 DE 2

LABORATORIO BRITANIA S.A.
CALLE BELLA VISTA 1000
TEL. (02) 200 1100

www.britanialab.com info@britanialab.com

ANEXO Nº 8: Ficha técnica caldo M.R.S



REF Bn220505 REF B0220508

M.R.S. Caldo.

El Caldo M.R.S. fue desarrollado por Man, Rogosa y Sharpe para proveer un medio que pudiera evidenciar un buen crecimiento de lactobacilos y de otras bacterias ácido lácticas.

Es utilizado para el cultivo y enriquecimiento de lactobacilos a partir de muestras clínicas y alimentos, especialmente lácteos.

FUNDAMENTO

El medio de cultivo permite un abundante desarrollo de todas las especies de lactobacilos. La peptona y glucosa constituyen la fuente de nitrógeno, carbono y otros elementos necesarios para el crecimiento bacteriano. El monooleato de sorbitán, magnesio, manganeso y acetato, aportan cofactores y pueden inhibir el desarrollo algunos microorganismos. El citrato de amonio actúa como agente inhibitorio del crecimiento de bacterias Gram negativas.

INSTRUCCIONES

Suspender 51 g del medio en un litro de agua destilada. Reposar 5 minutos y mezclar calentado a ebullición durante 1 ó 2 minutos. Esterilizar en autoclave durante 15 minutos a 121 °C.

FÓRMULA (en gramos por litro)

Proteosa peptona Nº3.....	10.0.
Extracto de carne.....	8.0.
Extracto de levadura.....	4.0.
Glucosa	20.0.
Monooleato de sorbitán.....	1 ml
Fosfato dipotásico	2.0.
Acetato de sodio.....	5.0.
Citrato de amonio	2.0.
Sulfato de magnesio	0.2.
Sulfato de manganeso	0.05.

pH final : 6.4 ± 0.2

Características del medio

Medio preparado: amarillo.

Almacenamiento:

Medio deshidratado: a 2-8 °C.

Medio preparado: a 2-8 °C.

Resultados

Microorganismos	Crecimiento
Lactobacillus fermentum ATCC 9338	Bueno
Lactobacillus gasseri ATCC 33323	Bueno

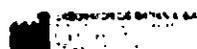
Siembra

Por inoculación directa del material a analizar.

Incubación

En atmósfera aeróbica, a 35-37 °C hasta 3 días ó a 30 °C hasta 5 días.

SÍMBOLOS UTILIZADOS



www.britanialab.com info@britanialab.com

ANEXO N° 9: NTP202.148:1998 "Preparación de Muestras para Análisis en Quesos"

Procedimiento: Corte la muestra en forma de cuña en tiras y pase 3 veces a través de un mezclador de alimento (método preferible) o corte, o fragmente muy finamente y mezcle completamente la muestra.

Basado en el AOC 955.30:1993.

ANEXO N° 10: NTP 202.151:1998 "Determinación de Acidez en Quesos"

Método Titulo métrico: Para 10g de muestra prepare la muestra según AOC 955.30:1993, añada H₂O a 40°C a volumen de 105mL bata vigorosamente y filtre. Titule 25mL de la porción filtrada, la cual representa 2,5g de muestra, con solución estándar de NaOH preferiblemente 0,1N usando Fenolftaleína. Exprese los resultados como Acido Láctico 1mL 0,1N NaOH = 0.0090g Acido Láctico. Muchos resultados también son expresados %acido láctico como mL 0,1N NaOH/100g de muestra.

Basada en el AOAC 920.124: 1993.

ANEXO N° 11: Preparación y Valoración de Solución de NaOH

La valoración de la disolución 0,1N preparada se efectúa con la sustancia patrón, Biftalato de potasio, cuyo peso equivalente (Peq) coincide con su peso molecular que es de 204,23 g/mol si se utiliza una bureta de 50 mL se pesa en un vidrio de reloj limpio y seco, una cantidad exactamente medida hasta el mg,

que esté comprendida en el intervalo de 0,8 a 0,9 g en una balanza de precisión. Si la bureta es de 25 mL se pesa la mitad, es decir entre 0,40 y 0,45 g la cantidad pesada se introduce cuidadosamente en un frasco erlenmeyer y se disuelve en unos 20 a 25 mL aproximadamente de agua destilada, añadiendo a continuación 2 ó 3 gotas de solución de fenolftaleína 1% en Etanol como indicador. La bureta bien limpia y seca se enjuaga primero con el reactivo a emplear (en este caso disolución de NaOH 0,1 N) y se carga con la NaOH 0,1 N enrasándose a cero y teniendo cuidado que no queden burbujas de aire en el interior de la llave o en el cuerpo de la bureta.

La valoración se empieza, calculando en primer lugar el volumen teórico que debe consumir la sosa preparada. A continuación se vierte, sobre el erlenmeyer, que contiene la sustancia patrón disuelta, un volumen próximo, por defecto, al volumen teórico. La valoración se continúa añadiendo gota a gota, sobre el erlenmeyer, el reactivo valorante (NaOH 0,1N), y agitando continuamente hasta que la disolución toma una coloración rosa, que debe persistir durante 15 o 20 segundos. Anotar el volumen de NaOH 0,1N consumido, éste es el correspondiente a los mL prácticos (volumen práctico).

Cálculos

$$V_{TEORICOS} = \frac{\frac{W_{\text{bifalato potasio}}}{pe_{\text{bifalato potasio}}}}{N_{TEORICA}} \times 1000 \quad (\text{Ecuación A})$$

Donde:

$V_{TEORICO}$ = Volumen de gasto de NaOH teórico en mL.

$W_{\text{bifalato de Potasio}}$ = peso de bifalato de potasio en gramos.

$Pe_{\text{Bifalato de Potasio}}$ = peso equivalente gramo (204,23 gramos/mol).

$N_{TEORICA}$ = Normalidad teórica (0,1N)

El factor de corrección F se obtiene de la siguiente relación:

$$Factor = \frac{V_{teorico}}{V_{practico}} \quad (\text{Ecuación B})$$

Donde:

$V_{PRACTICO}$ = Volumen de gasto de NaOH práctico en mL.

Una vez obtenido el factor de corrección, la normalidad real de la disolución de NaOH preparada, resulta de multiplicar la normalidad teórica por dicho factor:

$$N_{REAL} = N_{TEORICA} \cdot FACTOR \quad (\text{Ecuación C})$$

DONDE:

N_{REAL} = Normalidad Real de trabajo.

$N_{TEORICA}$ = Normalidad teórica (0,1N).

ANEXO N° 12: NTP 202.149:1998 “Determinación de la humedad en Quesos”

Pesar entre 2,0 a 3,0 g de muestras preparadas en recipiente de secado con tapa hermética. Secar parcialmente sin tapa dentro de baño de vapor. Colocar posteriormente en un horno con aire forzado a $130\text{C} \pm 10\text{C}$ por 1,25 horas, tapar y sacar del horno, dejar enfriar y pesar.

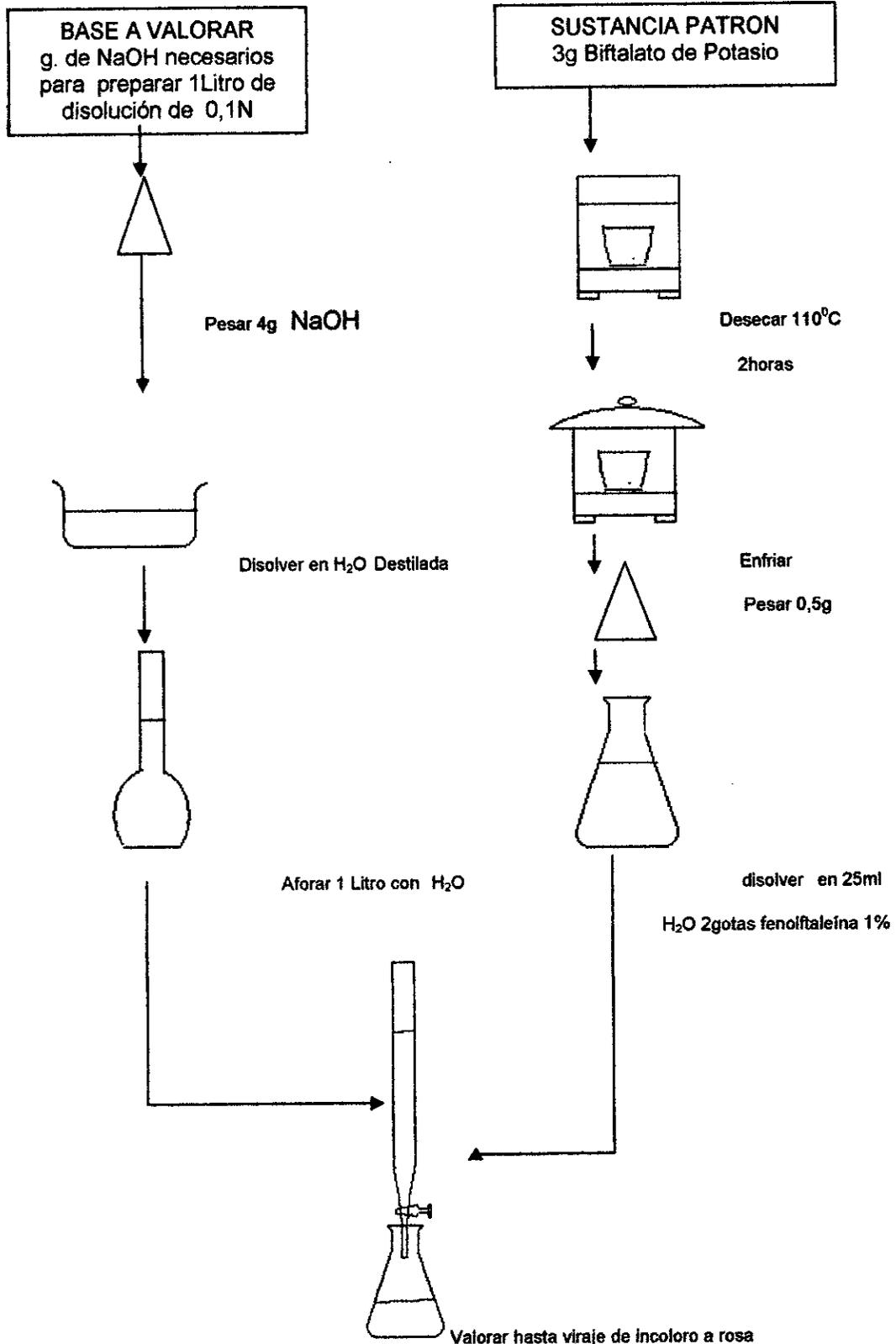
Basado en el AOAC N° 948.12.

ANEXO N° 13: NTP202.195:2004 “Requisito que debe cumplir el Queso fresco”

Realizado a partir de leche pasteurizada y condiciones altamente sanitarias; Su apariencia, textura, color olor y sabor deben ser característicos; no tener corteza; Tener una textura suave y fácil de cortar; la grasa y proteína láctica no sustituible; humedad (%) mayor o igual a 46%; la Acidez entre (0,4-0,7%) y ser refrigerada entre 2 a 8°C hasta su consumo.

DIAGRAMA N°2

DIAGRAMA DE BLOQUES PARA AL PREPARACION Y VALORACION DE NaOH



Fuente: José M. casa Sabata PRACTICA DE LABORATORIO QUIMICO/2

ANEXO N° 14: NORMA GENERAL DEL CODEX PARA PREPARADOS A BASE DE QUESO FUNDIDO

CODEX STAN A-8c-1978

1. DEFINICIÓN

Los preparados a base de queso fundido se obtienen por molturación, mezcla, fusión y emulsión con tratamiento térmico y agentes emulsionantes de una o más variedades de queso, con cualquiera de los ingredientes o aditivos mencionados en los párrafos 2 y 3 infra.

2. INGREDIENTES FACULTATIVOS

2.1 Nata (crema), mantequilla, grasa de mantequilla y otros productos lácteos.

2.2 Sal (cloruro de sodio)

2.3 Vinagre.

2.4 Especies y otros aderezos vegetales en cantidad suficiente para caracterizar el producto.

2.5 Para los fines de aromatizar el producto, podrán añadirse alimentos convenientemente cocinados o preparados de otra forma en cantidad suficiente para caracterizar el producto, a condición de que estas adiciones, calculadas con relación al extracto seco, no excedan de 1/6 del peso de los sólidos totales del producto terminado.

2.6 Azúcares (cualquier materia edulcorante carbohidrato).

2.7 Cultivos de bacterias inocuas y enzimas.

3. ADITIVOS ALIMENTARIOS

EMULSIONANTES	Dosis máxima en el producto final
Sales de sodio, potasio y calcio de los ácidos mono-, di- y polifosfóricos	40 g/kg solos o mezclados, calculados como sustancias anhidras pero sin que los compuestos de fósforo añadidos excedan de 9 g/kg calculados como fósforo.
Sales de sodio, potasio o calcio del ácido cítrico	
Acido cítrico y/o ácido fosfórico con bicarbonato sódico	
carbonato cálcico	

ACIDIFICANTES/REGULADORES DE PH	
acido citrico	40 g/kg, solos o mezclados, calculados como sustancias anhidras pero sin que los compuestos de fósforo añadidos excedan de 9 g/kg calculados como fósforo.
acido fosforico	
acido acetico	
acido lactico	
hidroencarbonato sodico y/o carbonato calcico	
COLORES	
bija	600mg/kg solos o mezclados
beta-caroteno	
clorofila, incluida clorofila de cobre	limitada por BPF
riboflavina	
Oleoresina de pprika	
Curcumina	
SUSTANCIAS CONSERVADORAS	
Acido sórbico y sus sales de sodio y potasio	3 g/kg solos o mezclados, expresados como ácidos
Acido propiónico y sus sales de sodio y calcio	
Nisina	12,5mg de nisina pura por kg
ACENTUADORES DEL SABOR	
Glutamato de sodio	Limitada las BPF
OTROS ADITIVOS	
Goma arábica	0,8g/L de leche solo o mezclados
Goma de algarrobo	
Goma karaya1	
Goma guar	
Goma de avena	
Goma de tragacanto	
Agar agar	
Carragenano	
Goma xanthan	
Carboximetilcelulosa sdica (goma de celulosa)	
Alginatos de sodio, potasio, calcio y amonio	
Alginato de propilenglicol	
Pectina	
Gelatina	