

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS
ESCUELA DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Proyecto Final de Graduación presentado a la Escuela de Tecnología de Alimentos para
optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería de Alimentos

**Evaluación del efecto de un compuesto comercial, dos humos líquidos y
sorbato de potasio sobre las propiedades sensoriales, fisicoquímicas y
microbiológicas de queso fresco, durante su almacenamiento.**

Elaborado por:
Natalia Ovares Fallas
Carné: B24935

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio
Julio, 2022

TRIBUNAL EXAMINADOR

Proyecto Final de Graduación presentado a la Escuela de Tecnología de Alimentos para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería de Alimentos.

Elaborado por:
Natalia Ovares Fallas

Aprobado por:



Dr. Eric Wong González
Presidente de Tribunal



Licda. Diana Viquez Barrantes
Directora del Proyecto



Dra. Jessie Usaga Barrientos
Asesora del Proyecto



MDes. Pilar Fallas Rodríguez
Asesora del Proyecto



M.Sc. Alejandro Chacón Villalobos
Profesor designado

DERECHOS DE PROPIEDAD INTELECTUAL

El presente proyecto de graduación se mantiene bajo la modalidad de confidencialidad parcial. La confidencialidad representa una protección para la empresa interesada frente a posibles competidores. Por consiguiente, el documento se publica restringiendo y codificando información que represente un riesgo para la empresa.

DEDICATORIA

Este trabajo final de graduación se lo dedico a mi familia, por guiarme y apoyarme siempre.

AGRADECIMIENTOS

Le agradezco enormemente a mis papás Johnny y Marlene por ser los mejores padres, por brindarme siempre todo el apoyo, paciencia y confianza a lo largo de mi vida y carrera universitaria.

A mis hermanos Martín, Verónica y David, muchas gracias por todo el apoyo en este proceso, los consejos y motivación que me dieron cada uno por separado.

A la profesora Diana Víquez, gracias por ser una excelente directora de tesis, por la confianza brindada y por guiarme durante todo este proceso. A las profesoras Jessie Usaga y Pilar Fallas, les agradezco mucho por toda la ayuda y retroalimentación durante la realización de este proyecto. A Catalina, le agradezco mucho por todo el apoyo y confianza brindada.

Al profesor Eric Wong, gracias por su tiempo y gran disposición por ayudarme cuando se lo solicitaba.

A Mari, Kar y Daniel, les agradezco muchísimo por su buena disposición para ayudarme en las producciones de queso, por todo su tiempo y ayuda a pesar del cansancio.

Les agradezco a Mike y Aliz por ser los mejores amigos y compañeros de carrera, por siempre ayudarme cuando lo necesité y, sobre todo, por todo el tiempo compartido fuera y dentro de la U, los consejos y palabras de motivación.

A mis amigos de la universidad, Nico, Kar, Dani, Meli y Carlos, les agradezco tanto por todos los momentos juntos desde el primer año de U. A Ingrid y Sof por siempre todo el apoyo y confianza.

Les agradezco mucho por toda la ayuda a los funcionarios de la Escuela de Tecnología de Alimentos y del Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. A Alonso, por siempre haberme brindado su ayuda y tiempo en planta piloto. A Vanny, Leidy y Luis por su apoyo en los laboratorios.

Por último, Nahomy merece un especial agradecimiento por siempre acompañarme con todo su amor de principio a fin en este proceso. Gracias por todos los consejos, palabras de motivación y, sobre todo, por creer en mí y apoyarme incondicionalmente.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

TRIBUNAL EXAMINADOR.....	I
DERECHOS DE PROPIEDAD INTELECTUAL.....	II
DEDICATORIA.....	III
AGRADECIMIENTOS.....	IV
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS.....	V
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VIII
ÍNDICE DE CUADROS.....	IX
RESUMEN.....	XII
1. JUSTIFICACIÓN.....	1
2. OBJETIVOS.....	5
2.1. Objetivo general.....	5
2.2. Objetivos específicos.....	5
3. MARCO TEÓRICO.....	6
3.1. Queso fresco.....	6
3.1.1. Generalidades.....	6
3.1.2. Materias primas utilizadas en la elaboración del queso fresco.....	6
3.1.2.1. Leche.....	7
3.1.2.2. Cloruro de calcio.....	7
3.1.2.3. Cultivo iniciador.....	8
3.1.2.4. Cuajo.....	8
3.1.2.5. Cloruro de sodio.....	9
3.1.2.6. Sorbato de potasio.....	9
3.1.3. Proceso de elaboración de queso fresco.....	10
3.1.3.1. Recepción y análisis de la leche.....	10
3.1.3.2. Pasteurización.....	11
3.1.3.3. Enfriamiento.....	11
3.1.3.4. Adición de cloruro de calcio.....	11
3.1.3.5. Adición de cultivo iniciador.....	11
3.1.3.6. Adición del cuajo y coagulación.....	12
3.1.3.7. Corte, agitación y reposo.....	12
3.1.3.8. Desuerado.....	13
3.1.3.9. Adición de preservantes.....	13
3.1.3.10. Salado.....	14
3.1.3.11. Moldeado y prensado.....	14
3.1.3.12. Empaque y almacenamiento.....	14
3.2. Control de calidad en el queso fresco.....	15
3.2.1. Control de calidad físico y químico.....	15
3.2.1.1. Actividad de agua (a_w).....	16
3.2.1.2. pH.....	16
3.2.1.3. Sinéresis (desuerado).....	17
3.2.2. Control Microbiológico.....	17
3.2.2.1. Bacterias ácido lácticas (BAL).....	18

3.2.2.2.	Mohos y levaduras.....	19
3.2.2.3.	Bacterias psicrófilas.....	20
3.2.3.	Análisis sensorial.....	20
3.2.3.1.	Prueba sensorial de agrado general.....	21
3.3.	Bioconservantes.....	23
3.3.1.	Extractos naturales.....	23
3.3.2.	Humo líquido.....	24
4.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
4.1.	Localización del proyecto.....	25
4.2.	Materias primas.....	25
4.3.	Análisis de recepción de leche.....	26
4.4.	Proceso de elaboración de queso fresco.....	26
5.	METODOLOGÍA.....	28
5.1.	Pruebas preliminares.....	28
5.1.1.	Evaluación de agrado general sensorial.....	29
5.1.2.	Muestras evaluadas.....	29
5.1.3.	Preparación de muestras.....	31
5.1.4.	Análisis de datos.....	31
5.2.	Pruebas definitivas.....	32
5.2.1.	Muestras evaluadas.....	32
5.2.2.	Análisis sensorial.....	33
5.2.2.1.	Reclutamiento de participantes.....	33
5.2.2.2.	Preparación de las muestras.....	33
5.2.2.3.	Agrado general.....	34
5.2.2.4.	Análisis de datos.....	35
5.2.3.	Análisis fisicoquímico y microbiológico.....	35
5.2.3.1.	Medición de a_w	35
5.2.3.2.	Medición de sodio.....	36
5.2.3.3.	Medición de pH.....	36
5.2.3.4.	Medición de desuerado.....	36
5.2.3.5.	Recuento de bacterias ácido lácticas.....	37
5.2.3.6.	Recuento de mohos y levaduras.....	37
5.2.3.7.	Recuento de bacterias psicrófilas.....	37
5.2.3.8.	Análisis de datos.....	37
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	39
6.1.	Pruebas preliminares.....	39
6.1.1.	Determinación de la concentración y etapa de adición del compuesto comercial.....	39
6.1.2.	Determinación de la etapa de adición para los dos humos líquidos.....	40
6.2.	Pruebas definitivas.....	42
6.2.1.	Efecto de uso del compuesto comercial, dos humos líquidos y sorbato de potasio en queso fresco sobre el agrado sensorial.....	42

6.2.2.	Efecto de uso del compuesto comercial, dos humos líquidos y sorbato de potasio en queso fresco, sobre sus propiedades fisicoquímicas y microbiológicas.....	44
6.2.2.1.	Análisis fisicoquímico.....	44
6.2.2.2.	Análisis microbiológico.....	49
7.	CONCLUSIONES.....	56
8.	RECOMENDACIONES.....	57
9.	BIBLIOGRAFÍA.....	58
10.	ANEXOS.....	68

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de flujo para la elaboración de queso fresco con el compuesto comercial, humo líquido 1, humo líquido 2 o sorbato de potasio.....	27
Figura 2. Ejemplo de escala hedónica híbrida utilizada en las pruebas preliminares.....	29
Figura 3. Ejemplo de bandeja a presentar al panelista en la prueba de agrado general.....	34
Figura 4. Ejemplo escala hedónica de 9 puntos.....	34

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro I. Características fisicoquímicas que debe cumplir la leche, según el Reglamento Técnico Centroamericano.....	10
Cuadro II. Criterios microbiológicos para queso no madurado según el Reglamento Técnico Centroamericano.....	18
Cuadro III. Muestras evaluadas por los panelistas en la primera etapa del objetivo 1).....	30
Cuadro IV. Muestras evaluadas por los panelistas en la segunda etapa del objetivo 1).....	30
Cuadro V. Muestras evaluadas por los panelistas en la primera etapa del objetivo 2).....	30
Cuadro VI. Muestras evaluadas por los panelistas en la segunda etapa del objetivo 2).....	31
Cuadro VII. Muestras evaluadas en el análisis sensorial, fisicoquímico y microbiológico, durante su almacenamiento.....	32
Cuadro VIII. Nivel de agrado de los panelistas (n=7) para dos quesos frescos elaborados a escala laboratorio (primera etapa).....	39
Cuadro IX. Nivel de agrado de los panelistas (n=6) para tres quesos frescos elaborados a escala laboratorio (segunda etapa).....	39
Cuadro X. Nivel de agrado de los panelistas (n=7) para dos quesos frescos elaborados a escala laboratorio (primera etapa).....	40
Cuadro XI. Nivel de agrado de los panelistas (n=6) para dos quesos frescos elaborados a escala laboratorio (segunda etapa).....	41
Cuadro XII. Valores de probabilidad asociada a los factores simples: día de almacenamiento y tratamiento, contemplados en el ANDEVA del análisis sensorial de agrado general de queso fresco.	42

Cuadro XIII. Nivel de agrado general promedio de los panelistas para las cinco muestras de queso fresco.....	43
Cuadro XIV. Valor de probabilidad asociada al factor simple tratamiento, contemplado en el ANDEVA del análisis de actividad de agua en queso fresco.	44
Cuadro XV. Actividad de agua (a_w) promedio para las cinco muestras de queso fresco....	44
Cuadro XVI. Valores de probabilidad asociada a los factores simples: día de almacenamiento, tratamiento e interacción tratamiento*día de almacenamiento, contemplados en el ANDEVA del análisis de pH en queso fresco	45
Cuadro XVII. pH promedio de los quesos frescos en los tres tiempos de almacenamiento.....	46
Cuadro XVIII. pH promedio de las cinco muestras de queso fresco.....	46
Cuadro XIX. Valores de probabilidad asociada a los factores simples: día de almacenamiento, tratamiento e interacción tratamiento*día de almacenamiento, contemplados en el ANDEVA del análisis de desuerado en queso fresco.	47
Cuadro XX. Porcentaje promedio de pérdida de masa por suero (%) de los quesos frescos en los tres tiempos de almacenamiento.....	48
Cuadro XXI. Porcentaje promedio de pérdida de masa por suero (%) de las cinco muestras de queso fresco.....	48
Cuadro XXII. Valores de probabilidad asociada a los factores simples: día de almacenamiento, tratamiento e interacción tratamiento*día de almacenamiento, contemplados en el ANDEVA del análisis de bacterias ácido lácticas en queso fresco.....	49
Cuadro XXIII. Recuento promedio de bacterias ácido lácticas (log UFC/g) de los quesos frescos en los tres tiempos de almacenamiento.....	50
Cuadro XXIV. Recuento promedio de bacterias ácido lácticas (log UFC/g) para las cinco muestras de queso fresco.....	50

Cuadro XXV. Valores de probabilidad asociada a los factores simples: día de almacenamiento, tratamiento e interacción tratamiento*día de almacenamiento, contemplados en el ANDEVA del análisis de mohos y levaduras en queso fresco.....	51
Cuadro XXVI. Recuento promedio de mohos y levaduras (log UFC/g) de los quesos frescos en los tres tiempos de almacenamiento.....	51
Cuadro XXVII. Recuento promedio de mohos y levaduras (log UFC/g) para las cinco muestras de queso fresco.....	52
Cuadro XXVIII. Valores de probabilidad asociada a los factores simples: día de almacenamiento, tratamiento e interacción tratamiento*día de almacenamiento, contemplados en el ANDEVA del análisis de bacterias psicrófilas en queso fresco.....	53
Cuadro XXIX. Recuento promedio de bacterias psicrófilas (log UFC/g) de los quesos frescos en los tres tiempos de almacenamiento.....	54
Cuadro XXX. Recuento promedio de bacterias psicrófilas (log UFC/g) para las cinco muestras de queso fresco.....	54
Cuadro IA. Resultados de los análisis rutinarios de calidad de leche que se emplearon para tres lotes de queso fresco elaborados a escala piloto.....	68
Cuadro IIA. Resultados de la evaluación de agrado general mediante la escala hedónica híbrida de 10cm, que se aplicó en la primera prueba preliminar para cuatro muestras de queso fresco elaborados a nivel de laboratorio.....	68
Cuadro IIIA. Resultados de la evaluación de agrado general mediante la escala hedónica híbrida de 10cm, que se aplicó en la segunda prueba preliminar para cuatro muestras de queso fresco elaborados a nivel de laboratorio.....	69
Cuadro IVA. Resultados de la evaluación de agrado general para cinco muestras de queso fresco mediante la escala hedónica de 9 puntos, evaluados en el día 2 de almacenamiento.....	69
Cuadro VA. Resultados de la evaluación de agrado general para cinco muestras de queso fresco mediante la escala hedónica de 9 puntos, evaluados en el día 8 de almacenamiento.....	70

Cuadro VIA. Resultados de a_w para cinco muestras de queso fresco evaluados en el día 1 de almacenamiento.....	71
Cuadro VIIA. Resultados de pH para cinco muestras de queso fresco evaluados en el día 2,8, y 15 de almacenamiento.....	72
Cuadro VIIIA. Resultados del desuerado para cinco muestras de queso fresco evaluados en el día 2,8, y 15 de almacenamiento.....	73
Cuadro IXA. Recuento de bacterias ácido lácticas (log UFC/g) para cinco muestras de queso fresco evaluados en el día 2,8, y 15 de almacenamiento.....	74
Cuadro XA. Recuento de mohos y levaduras (log UFC/g) para cinco muestras de queso fresco evaluados en el día 2,8, y 15 de almacenamiento.....	74
Cuadro XIA. Recuento de bacterias psicrófilas (log UFC/g) para cinco muestras de queso fresco evaluados en el día 2,8, y 15 de almacenamiento.....	75

RESUMEN

Evaluación del efecto de un compuesto comercial, dos humos líquidos y sorbato de potasio sobre las propiedades sensoriales, fisicoquímicas y microbiológicas de queso fresco, durante su almacenamiento.

Tesis de Licenciatura de Ingeniería de Alimentos – San José, Costa Rica
Ovares-Fallas, N. 2022.
75 h; 4il; 114refs.

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto del uso de un compuesto comercial (bioconservante), dos humos líquidos y sorbato de potasio, sobre el agrado sensorial, características fisicoquímicas y microbiológicas, durante el almacenamiento del queso fresco. Para ello, se definió la dosis y etapa de adición adecuada para cada aditivo en estudio, a escala laboratorio, mediante una prueba sensorial informal de agrado general. Posteriormente, se realizaron tres lotes de producción diferentes, con cinco tratamientos de queso fresco (compuesto comercial (CC), humo líquido 1 (H1), humo líquido 2 (H2), sorbato de potasio (S) y control (C)), elaborados en la planta piloto del CITA, que fueron evaluados en dos tiempos de almacenamiento (día 2 y 8) para el análisis sensorial, y tres tiempos de almacenamiento (día 2, 8, y 15) para el análisis fisicoquímico y microbiológico.

Debido a la declaratoria de estado de emergencia nacional, producto del virus SARS-CoV-2 que causa la enfermedad COVID-19, se llevó a cabo la evaluación sensorial de manera informal, con 25 potenciales consumidores de queso fresco no entrenados. Se encontraban en edades entre 18 y 60 años, procedentes del Gran Área Metropolitana, con ausencia de intolerancia o alergia a la leche o productos lácteos, y con una frecuencia de consumo de queso fresco mínima de tres veces a la semana. Para los tiempos de almacenamiento, día 2 y día 8, se realizó la evaluación sensorial de agrado general mediante la escala hedónica de 9 puntos. De manera preliminar, se observa que la incorporación de cualquiera de los aditivos de origen natural (H1, H2 y CC) en la formulación de queso fresco, tiene diferencias en el nivel de agrado sensorial frente al queso fresco con sorbato de potasio (S). El mayor nivel de agrado sensorial corresponde al queso adicionado con sorbato de potasio. Para confirmar estos resultados, se requiere ejecutar una prueba sensorial con una mayor muestra de consumidores, de modo que sea más robusta y válida estadísticamente.

La caracterización de los quesos frescos, mediante análisis de contenido de sodio y determinación de la actividad de agua (a_w), se realizaron en el día 0 y día 1 de almacenamiento, respectivamente. Los análisis de pH y desuerado se realizaron en los días 2, 8 y 15 de almacenamiento de los quesos frescos. Se obtuvo valores esperados y aceptables de a_w y pH para un queso no madurado. También, se observó un desuerado del queso fresco significativamente menor al incorporar en la formulación cualquiera de los aditivos evaluados.

Como indicadores de la calidad microbiológica del queso fresco, se evaluó el crecimiento de bacterias ácido lácticas, mohos y levaduras y bacterias psicrófilas, durante los tres tiempos de almacenamiento definidos. De acuerdo con los resultados obtenidos, ninguno de los aditivos tiene un efecto inhibitorio sobre las bacterias ácido lácticas. Los indicadores microbiológicos de calidad que definen la vida útil de las muestras de queso evaluadas en este estudio fueron el crecimiento de mohos y levaduras, y de bacterias psicrófilas. De acuerdo con los resultados obtenidos, la vida útil de este producto se encuentra entre el día 2 y día 8 de almacenamiento, bajo condiciones de refrigeración ($T=0-5^{\circ}\text{C}$) y empacado al vacío.

QUESO FRESCO, BIOCONSERVACIÓN, CONSERVANTE NATURAL, CONSERVANTE QUÍMICO, ESTUDIO DE ALMACENAMIENTO, CONTROL DE CALIDAD.

Directora: Lic. Diana Víquez Barrantes

Escuela de Tecnología de Alimentos

1. JUSTIFICACIÓN

El sector lechero tiene una gran importancia por su contribución a la economía mundial, a la producción y exportación de productos de origen animal de alto valor nutricional, y a la seguridad alimentaria y nutricional de comunidades urbanas y rurales (FAO, 2011). En el caso de Costa Rica, la Cámara Nacional de Productores de Leche asegura un incremento en la producción de leche durante los últimos años, con una producción de 1,154 millones de litros de leche al año (Valerio, 2020). Actualmente, es el país del área centroamericana con mayor procesamiento industrial de leche fresca, y uno de los países con el mayor consumo per cápita de Latinoamérica, con 222 litros equivalentes de leche al año por persona (Valerio, 2020).

De acuerdo con datos de la Cámara Nacional de Productores de Leche, Costa Rica destina 466 millones de litros de leche anuales para la elaboración de quesos; alrededor de 100 tipos de quesos, en diferentes presentaciones y variedades y con sabores incorporados. Un 80% (355 millones de litros anuales) de la leche que llega a las pequeñas y medianas empresas (PYMES) procesadoras se utiliza para la elaboración de quesos. En el caso de las grandes industrias, se calcula que un 10% de la leche procesada (111 millones de litros anuales) se utiliza para la elaboración de este tipo de productos (Barquero, 2016).

En los últimos años, los consumidores costarricenses han mostrado un incremento de un 6,3% a un 7,2% en la adquisición de productos lácteos, siendo el yogurt, los quesos y los helados, los productos de preferencia. La Cámara Nacional de Productores de leche señaló que de la venta total de lácteos en el año 2015, los quesos representaron un 14% del monto total (Amador, 2015; Villalobos, 2017). En Costa Rica, el queso es el producto más conocido de los derivados lácteos y ocupa el segundo lugar en comercialización de lácteos en el país, lo que confirma la alta producción y consumo de este tipo de alimento (Barquero, 2016).

Tradicionalmente la producción de queso en Costa Rica, como en toda Centroamérica, se ha caracterizado por el dominio de los quesos frescos. Este tipo de queso es el que se elabora más comúnmente en las plantas artesanales debido a su sencillo proceso y a la gran aceptación que tiene por parte del consumidor (Granados y Álvarez, 2007). De acuerdo con el estudio realizado por el Consejo Nacional de Producción (2001), la infraestructura de las queserías artesanales y rurales es muy

variada, ya que depende del grado académico y de capacitación del pequeño productor de queso. Incluso, ciertas queserías artesanales mantienen el uso de leche cruda como materia prima para la producción del queso fresco, lo que no es ideal, por el riesgo microbiológico que conlleva (Arce, 2019).

Debido al importante consumo de queso fresco en el país, la industria ha buscado alternativas de conservación de este producto, que permitan controlar los microorganismos responsables del deterioro para asegurar un alimento de calidad, reducir el uso de conservantes químicos y lograr una posible prolongación de su vida útil. A partir de esto, surge la necesidad de utilizar aditivos de origen natural que ayuden al control de la microbiota de deterioro presente en los quesos (García *et al.*, 2010), sin ocasionar pérdidas sobre las propiedades nutricionales y sensoriales, ni efectos adversos en la salud del consumidor (Pisoschi *et al.*, 2017). También se busca que estos aditivos le den al fabricante un posicionamiento en el mercado local y global al complacer las tendencias actuales por tener productos con etiquetas más limpias (Arce, 2019).

Según Pisoschi *et al.* (2017), la bioconservación se basa en utilizar sustancias naturales que pueden ser metabolitos primarios y/o secundarios obtenidos a partir de microorganismos, frutas, verduras, semillas, aceites esenciales, extractos de varios tipos de plantas, productos animales como leche y huevos, o tejidos animales, entre otros. Son de interés para la industria alimentaria porque pueden minimizar la oxidación lipídica, inhibir la pérdida de color y, consecuentemente, prolongar la vida útil.

De acuerdo con Álvarez *et al.* (2014), delimitan la bioconservación al uso de microorganismos y/o sus metabolitos para extender la vida útil y la seguridad alimentaria. Lo más común es utilizar agentes con actividad antimicrobiana contra bacterias responsables del deterioro de alimentos y que pueden combatir patógenos alimentarios. Del mismo modo, es importante que estos agentes influyan negativamente sobre el propio microbioma intestinal del consumidor, lo que supone un desafío a la hora de seleccionar compuestos bioactivos de interés (Pisoschi *et al.*, 2017).

Para el presente trabajo de graduación, se utilizó un compuesto comercial (bioconservante) suministrado por una empresa que desarrolla y provee una amplia línea de ingredientes y sabores. La información del compuesto comercial se encuentra protegida, sin embargo, se conoce que el compuesto es de origen ácido. Se evaluó el efecto de dos humos líquidos en la estabilidad de queso fresco, ya que es un aditivo que

se emplea para proporcionar sabor y aroma a humo al producto, y presenta acción antimicrobiana contra *L. monocytogenes*, hongos y levaduras (Agustinelli, 2014). La acción antimicrobiana se debe a que el humo líquido contiene ácidos orgánicos derivados de humos naturales, que reducen el pH y ocasionan la acidificación del citoplasma bacteriano, además de la acción de moléculas del ácido orgánico no disociado (Hidalgo & Olmedo, 2017).

En Costa Rica, se utilizan aditivos antimicrobianos tradicionales como el ácido sórbico, el sorbato de calcio y el sorbato de potasio para ayudar a controlar la microbiota causante de deterioro en los quesos. El sorbato de potasio garantiza que los quesos posean una calidad uniforme y prolongada, evitando pérdidas por deterioro de mohos y levaduras (Chiriboga, 2018). De acuerdo con el *Codex Alimentarius* (2011), en quesos no madurados (incluyendo el fresco) el sorbato de potasio puede incorporarse, solo o mezclado, en un nivel máximo de 1000mg/kg de queso, expresado como ácido sórbico. Es de interés de la presente investigación, evaluar el efecto de un compuesto comercial y del humo líquido mencionados anteriormente, con respecto al sorbato de potasio.

Durante el desarrollo o mejora de un producto es importante estudiar sus características de calidad sensorial, ya que estas son determinantes para el producto en el mercado. Los consumidores no solo tienen en cuenta las propiedades nutricionales de los productos, sino también su aspecto y sabor, lo cual podría determinar la preferencia sobre otros (Oliver *et al.*, 2018).

En este caso resulta necesario evaluar el nivel de agrado general asociado a cada uno de los quesos frescos con el compuesto comercial y dos distintos humos líquidos. Con este experimento se determinará si la adición de estos aditivos de origen natural causa variaciones en el nivel de agrado en comparación con el conservante químico comúnmente utilizado en el mercado, sorbato de potasio.

Asimismo, resulta importante comparar los datos obtenidos con el análisis fisicoquímico, por medio de pruebas indicadoras para el aseguramiento de la calidad de queso fresco. La calidad de un queso fresco se ve afectada por factores como acidez, pH y actividad de agua, ligados a su formulación, condiciones de proceso, y almacenamiento (Ramírez & Vélez, 2012).

El a_w y contenido de sodio son criterios a evaluar, dado que pueden afectar el

crecimiento microbiológico. Del mismo modo, el pH afecta sobre todo las propiedades texturales del queso, debido al efecto sobre la red de proteínas (entre más cercano al punto isoeléctrico de las proteínas, más rígido será el queso). Además, existe una correlación directa con los fenómenos de la sinéresis (entre más iones H⁺ concentrados en el queso, mayor sinéresis y desuerado) (Ramírez & Vélez, 2012), en caso de posibles cambios en la acidez del queso.

Resulta importante comparar los datos obtenidos con los recuentos de los microorganismos indicadores de calidad en queso, ya que permiten analizar si el uso del compuesto comercial y ambos humos líquidos influyen en la estabilidad microbiológica del producto final y durante su almacenamiento. El grupo de microorganismos indicadores de alteración en queso fresco está integrado por mesófilos aerobios, psicrófilos, mohos y levaduras (González-Montiel & Franco-Fernández, 2015).

La presencia de microorganismos psicrófilos indica una contaminación post-fabricación, debido a que son fácilmente destruidos durante la pasteurización. La presencia de mohos y levaduras en queso fresco se debe a que el ambiente de trabajo, los equipos, utensilios y el almacenamiento presentan deficiencias higiénicas. Además, las levaduras actúan como contaminantes en productos lácteos, ya que están presentes en la leche y las condiciones de procesamiento favorecen su desarrollo (Castro-Castillo *et al.*, 2013), pudiendo causar alteraciones en los quesos. En el estudio de González-Montiel y Franco-Fernández (2015), la presencia de bacterias ácido lácticas (BAL), se atribuye principalmente a factores como el proceso de elaboración, forma de conservar, el transporte del queso y método de conservación en el punto de venta. En queso fresco, recuentos muy elevados de BAL podrían afectar la vida de anaquel del producto, provocando un sabor ácido (Clavel-Maqueda, 2006).

El desarrollo de este trabajo final de graduación es importante en razón de que, los resultados serán un gran aporte para la empresa vinculada, en caso de que el compuesto comercial y los dos humos líquidos presenten resultados favorables por encima o equivalente al sorbato de potasio. Podrían ofrecer a la industria láctea de Costa Rica una alternativa de conservación en quesos frescos de manera natural y sin tener que adicionar aditivos no deseados por el consumidor, complaciendo la tendencia actual por tener productos con etiquetas más limpias.

2. OBJETIVOS

2.1. General

- Evaluar el efecto de un compuesto comercial, dos humos líquidos y sorbato de potasio sobre el nivel de agrado sensorial, y las características fisicoquímicas y microbiológicas de queso fresco, durante su almacenamiento.

2. 2. Específicos

- Evaluar el efecto del uso de un compuesto comercial, dos humos líquidos y sorbato de potasio en queso fresco, sobre el nivel de agrado sensorial, en dos tiempos de almacenamiento.
- Comparar el efecto del compuesto comercial, dos humos líquidos y sorbato de potasio en queso fresco, sobre sus propiedades fisicoquímicas y microbiológicas, durante su almacenamiento.

3. MARCO TEÓRICO

3.1. Queso fresco

3.1.1. Generalidades

Por medio del *Codex Alimentarius*, la FAO y OMS (2018) definen al queso como el producto que se obtiene por coagulación total o parcial de la proteína de la leche, crema o leche de mantequilla, o de sus combinaciones. Seguido de un escurrimiento del suero generado por acción del cuajo u otros coagulantes, en el que la proporción entre las proteínas de suero y la caseína no es superior a la de la leche.

Desde el punto de vista fisicoquímico, el queso es un sistema tridimensional tipo gel, formado básicamente por la caseína integrada en un complejo caseinato fosfato cálcico que engloba glóbulos de grasa, agua, lactosa, albúminas, globulinas, minerales, vitaminas, y otras sustancias menores (Ramírez & Vélez, 2014).

El queso fresco se define como un producto sólido o semi-sólido de alta humedad (>50%) elaborado a partir de la leche de vaca entera o parcialmente descremada, producto de las proteínas de la leche, el posterior drenaje del suero, moldeado y prensado de la cuajada (Mayorga, 1992; Pacheco 2018). Por tener un alto contenido de humedad, su tiempo de vida útil de este queso resulta corto, debiendo ser consumido en pocos días después de su elaboración. Su transporte y conservación debe llevarse a cabo a temperaturas de 0-5°C (RTCR, 2008), manteniendo la cadena de frío, ya que son altamente perecederos (Villegas, 2009).

Según el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.70:14 (2014), se clasifica el queso fresco dentro de la categoría de queso no madurado, ya que la obtención del producto final no requiere de ningún tiempo de maduración y está listo para el consumo inmediato o poco después de su fabricación.

3.1.2. Materias primas utilizadas en la elaboración del queso fresco

Para la elaboración de queso fresco es importante tener en cuenta la materia prima que se va a utilizar:

3.1.2.1. Leche

De acuerdo con Poncelet (2010), la leche es la materia prima principal para la elaboración de los quesos, partiendo de leche entera, descremada total o parcialmente, o de una mezcla de algunos o de todos estos productos. Aunque la procedencia de la leche puede ser de diferentes especies animales, como oveja, cabra y búfalo, la mayor parte de los quesos que se consumen actualmente proceden de la leche de vaca.

La leche contiene lactosa como su carbohidrato característico. Contiene entre 22-38% de lípidos en base seca, de los cuales la mayoría son triacilgliceroles cuyos ácidos grasos poseen cadenas que van de 2 a 20 átomos de carbono y de 0 a 4 saturaciones, así como fosfolípidos, colesterol, ácidos grasos libres, monoglicéridos y diglicéridos. Contiene entre un 2,3% y un 4,4% de proteína, de la cual 4/5 corresponden a caseína, la cual es una proteína compuesta por cuatro subunidades como la α 1-, α 2-, β -, y la K-caseína, que en conjunto componen las micelas de caseína (Walstra *et al.*, 2014).

La leche de buena calidad asegura la obtención de quesos de buena calidad. Existen factores físico-químicos y microbiológicos que afectan la coagulación de la leche y que están ligados a su composición (cantidad de proteínas solubles, balance salino, pH, etc.). Por otro lado, la carga microbiana por razones obvias afecta la calidad sanitaria, la inocuidad del queso y la vida útil del mismo (Poncelet, 2010).

3.1.2.2. Cloruro de calcio

El cloruro de calcio es un compuesto químico que se agrega a la leche para mejorar y estabilizar su capacidad para formar un coágulo con el cuajo. La cantidad a agregar depende de la leche y sus condiciones (Arévalo, 2014). El contenido de calcio en esta materia prima depende de muchos factores, algunos de estos son la especie del animal de la que procede, su alimentación, y los tratamientos a los cuales haya sido sometida (Del Cid, 2017).

La capacidad de coagulación de la leche depende de su contenido de iones de calcio, si los niveles son bajos, el cuajo producido tendrá una textura poco firme y suelta, y al cortar la cuajada se formarán cantidades de polvo muy fino, ocasionando problemas en el desuerado y una reducción de materia grasa. Sin embargo, una dosis excesiva de cloruro de calcio produce un coágulo muy duro y con sabor a sustancias químicas ajeno al sabor característico del queso (Del Cid, 2017).

3.1.2.3. Cultivo iniciador

Los iniciadores lácteos son cultivos inofensivos de bacterias activas que crecen en la leche o en el suero e imparten ciertas características a varios productos lácteos. Generan la acidificación de la leche, inhibición del crecimiento de patógenos, segregación de enzimas proteolíticas y lipolíticas, desarrollo de gases como anhídrido carbónico y aparición de sustancias aromáticas típicas de los quesos (López, 2004).

Los principales grupos empleados como cultivos iniciadores en la industria láctea, son bacterias ácido lácticas (BAL) de las familias *Lactobacillaceae* (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. bulgaricus*, *L. helveticus*, *L. lactis*) y *Streptococcaceae* (*S. lactis subsp. cremoris*, *S. lactis subsp. diacetyllactis*, *S. thermophilus*, *S. lactis*.) entre otras. Actualmente, los cultivos iniciadores son distribuidos comercialmente liofilizados o congelados (Industria y Alimentos, 2016).

En la actualidad, la leche puede ser pasteurizada antes de su utilización en la producción de quesos. Este tratamiento térmico destruye la microflora, siendo necesaria la adición de bacterias lácticas si se desea lograr la acidificación de la leche antes de la adición del cuajo (López, 2004).

3.1.2.4. Cuajo

El cuajo es una sustancia presente en el abomaso de los mamíferos rumiantes, contiene principalmente la enzima llamada renina, también conocida como quimosina, utilizada en la fabricación de quesos. La renina separa la caseína (el 80% aproximadamente del total de proteínas) de su fase líquida (agua, proteínas del lacto-suero y carbohidratos) (Zea, 2010).

La quimosina es bien conocida por la industria láctea ya que, actúa directamente en un punto delimitado de la caseína con calcio. La alteración de dicha molécula inicia la formación de un gel o coágulo que atrapa la mayoría de los componentes sólidos de la leche; gracias a la acidificación previa de la leche por medio de bacterias ácido lácticas, el gel se contrae poco a poco y va expulsando suero (Sánchez, 2010).

Las dificultades a nivel mundial, de aprovisionamiento de cuajo, junto con el aumento de precio de las preparaciones comerciales de la enzima, han favorecido el desarrollo de otras enzimas coagulantes, tanto de origen animal (pepsinas bovinas y

porcinas), como de origen microbiano (proteasas fúngicas, etc.) o vegetal (flores de *Cynara cardunculus*, etc.) (Estrella, 2013).

3.1.2.5. Cloruro de sodio

El cloruro de sodio, componente primordial de la sal de mesa, es un compuesto químico conformado por dos elementos, el catión de sodio (Na^+) y el anión cloruro (Cl^-). La sal es un ingrediente importante en los alimentos, ya que determina en gran parte la calidad del producto y la aceptación del consumidor (Saint-Eve *et al.*, 2009; Ramírez *et al.*, 2017).

Se presume que el sabor característico de la sal reside en la fracción de Na^+ . Para cada variedad de queso existe un rango óptimo del contenido de sal, por ejemplo, en quesos frescos es entre 0,6% y 7,0% (Ramírez *et al.*, 2017).

3.1.2.6. Sorbato de potasio

El sorbato de potasio es un conservante de alimentos suave, también conocido como sal de potasio del ácido sórbico, que actúa principalmente contra mohos y levaduras. (Villada, 2010).

De acuerdo al pH de los quesos frescos cuando este se encuentre entre 5,0 y 6,0, el sorbato de potasio es el más apropiado con base a funcionalidad y costo, además de las siguientes características (López, 2004):

- Ácido graso monocarboxílico, siendo el ácido y la sal de potasio los más usados.
- Posee propiedades antifúngicas, inhibe el crecimiento de mohos y levaduras.
- Es menos activo contra bacterias.
- Rango de pH de efectividad óptima: hasta 6,5.
- La dosis de uso no puede exceder el 0,1% por peso en la mayoría de los alimentos.
- Es eliminado y metabolizado por el humano como cualquier otro ácido graso a través de reacciones de β oxidación, por lo que no es tóxico.
- Es considerado como GRAS (generalmente reconocido como seguro).

3.1.3. Proceso de elaboración de queso fresco

3.1.3.1. Recepción y análisis de la leche

La leche empleada en la elaboración de quesos debe ser de buena calidad, tanto desde el punto de vista químico como microbiológico. Los mismos niveles de higiene que se exigen para la leche líquida de consumo directo deben ser exigidos para la leche destinada a la fabricación de quesos (López, 2004).

Se entiende por leche de calidad a la proveniente del ordeño de vacas sanas, bien alimentadas, libre de olores, sedimentos, sustancias extrañas y con características adecuadas en cantidad y calidad de componentes sólidos (grasa, proteína, lactosa y minerales). La carga microbiana presente debe ser mínima, debe estar libre de bacterias causantes de enfermedad (brucelosis, tuberculosis, patógenos de mastitis y toxinas). Debe estar libre de residuos químicos y con un mínimo de células somáticas (Cárdenas & Murillo, 2018). Además, se debe evitar la presencia de antibióticos que inhiben el desarrollo de las bacterias lácticas que se adicionan a la leche en la quesería (López, 2004).

El Reglamento Técnico RTCR: 401-2006 Leche cruda y Leche Higienizada (2006), presenta las características y límites que debe cumplir cualquiera de los tipos de leche que se presentan a continuación en el Cuadro I.

Cuadro I. Características fisicoquímicas que debe cumplir la leche cruda, según el Reglamento Técnico de Costa Rica.

Parámetro	Entera	Semidescremada	Descremada
Grasa láctea (%)	≥ 3,0	≥ 1 y < 3	< 1
Sólidos totales (% mínimo)	11,0	10,0	8,0
Densidad a 15°C (g/mL)	1,032	1,030	1,029
Proteína (% mínimo)	3,0	3,0	3,0
Sólidos no grasos (% mínimo)	8,0	8,0	8,0
Cenizas (% máximo)	0,8	0,8	0,8
Punto de congelación (°C)	-0,513 ≤ Pto. ≤ -0,541		
Acidez, expresada como ácido láctico (%)	≥0,13 y ≤0,17		
Fosfatasa y sedimento (mg/kg)	Negativo		

Fuente: (RTCR, 2006)

3.1.3.2. Pasteurización

La pasteurización es el proceso térmico que tiene como objetivo la eliminación de los microorganismos patógenos y de deterioro (90-99%) que pueden estar presentes en la leche. El tratamiento térmico es una combinación de tiempo y temperatura y se determina según el pH de la matriz al cual va a ser aplicado. Para la elaboración de queso fresco, puede ser lento (63-65°C, 30 minutos) o rápido (75°C por 15 segundos) (Ramírez & Vélez, 2012).

Es recomendable que la operación térmica sea controlada para evitar que las proteínas termolábiles (albúmina y globulina) se desnaturalicen, lo que provocaría su precipitación, formando partículas consistentes que inciden negativamente sobre la sinéresis (Vargas, 2006).

3.1.3.3. Enfriamiento

El enfriamiento es una etapa importante, ya que su objetivo principal es acondicionar la leche a la temperatura óptima del cloruro de calcio, cultivo iniciador y cuajo, para mejorar el rendimiento, la actividad y formación de la cuajada (Del Cid, 2017). La leche pasteurizada se coloca en una marmita con recirculación de agua fría con agitación manual constante hasta una temperatura de alrededor de 40°C, ya que las etapas posteriores y coagulación se dan óptimamente a 38°C (Pacheco, 2018).

3.1.3.4. Adición de cloruro de calcio

Como se explica en el apartado 3.1.2.2. el contenido de CaCl_2 de la leche tiene influencia sobre las propiedades de la coagulación, aumentado ligeramente su firmeza. La presencia de calcio hace que mejore el desuerado, facilita la retención de las grasas y otros sólidos. Como es posible que en la pasteurización se pierda parte del calcio libre (iónico), se agrega sales de calcio (especialmente cloruro de calcio o fosfato mono cálcico) para compensar en un porcentaje de 10 a 30 g por cada 100 L de leche a 38°C (Sbodio & Revelli, 2012).

3.1.3.5. Adición de cultivo iniciador

La razón de la adición del cultivo iniciador se explica en el apartado 3.1.2.3. Uno de los cultivos iniciadores más utilizados en quesos frescos es el *Streptococcus thermophilus*, el cual es un microorganismo termófilo ácido láctico. Ha sido aislado de la leche

inicialmente, a diferencia de otras especies de las bacterias ácido lácticas (BAL) que han sido aisladas de materias primas no lácteas, por lo que se adapta muy bien a este tipo de matriz (Hutkins & Goh, 2014).

3.1.3.6. Adición del cuajo y coagulación

La coagulación enzimática se produce cuando se añade cuajo a la leche, debido a que la acción conjunta de la acidificación por las bacterias ácido lácticas (coagulación láctica) y de la actividad del cuajo (Estrella, 2013). Este proceso tiene lugar en dos fases distintas: la fase primaria o enzimática y la fase secundaria o de agregación.

La fase primaria corresponde a la hidrólisis específica de la k-caseína, localizada en la superficie de las micelas de caseína, por la acción de enzimas proteolíticas (quimosina principalmente). La acción enzimática produce una ruptura en el enlace proteico Fe105-Met106 de la k-caseína, generando dos péptidos con propiedades muy diferentes. El primer fragmento es el glicomacropéptido, que pasa a formar parte del lactosuero y está formado por los residuos de aminoácidos 106 a 169, es hidrofílico y soluble y representa un 4% de la caseína total. El otro fragmento, formado por los residuos de aminoácidos 1 a 105 de la k-caseína, se denomina para-k-caseína, es altamente hidrofóbico y permanece enlazado a las micelas (Coronado & Espitia, 2015). La fase secundaria se mide por medio del calcio y comprende el proceso de agregación y precipitación de las micelas de para-k-caseína. Con el tiempo van formando una red tridimensional, dentro de la cual se van acomodando los glóbulos grasos y el coágulo se va haciendo más firme por la continua formación de enlaces entre las micelas (Del Cid, 2017).

La efectividad del cuajo depende de la temperatura, la concentración del sustrato, concentración del calcio y la acidez. Las temperaturas usuales de coagulación pueden variar entre los 35°C y los 40°C, aunque lo más usual es una de 38°C (Lagunes *et al.*, 2017).

3.1.3.7. Corte, agitación y reposo

Cuando la coagulación ha concluido, se utilizan liras, que son una herramienta con estructura metálica (acero inoxidable) en forma de rectángulo cruzadas por alambres delgados en forma vertical y horizontal por separado, para cortar la cuajada. La lira vertical se introduce por una de las orillas de la tina que contiene la cuajada y con todo cuidado y movimientos precisos, se recorre a lo largo, se repite la operación con la lira horizontal y

con la vertical. Se repasa de extremo a extremo por lo ancho para formar cubos de cuajada de aproximadamente 1 cm³ (Estrella, 2013). Al cortar el gel en cubos, se logra separar entre un 50 y un 90% del contenido inicial del suero de la leche (Caballero, 2011).

Al terminar la operación de corte de la cuajada, los granos están muy blandos y con grietas en su membrana exterior, por lo que se procede a agitarlos suavemente para que alcancen una estructura más estable (López, 2010).

3.1.3.8. Desuerado

La agitación de la cuajada favorece a la sinéresis y la eliminación del suero (Del Cid, 2017). Cabe mencionar que en la elaboración de algunos tipos de queso puede elevarse la temperatura de forma simultánea a la agitación, lo que aumenta el desuerado y favorece la sinéresis, ya que los granos de cuajada se hidratan menos. Además, al elevar la temperatura las bacterias lácticas presentes activan su crecimiento y multiplicación, transformando más lactosa a ácido láctico, lo que se traduce en un descenso de pH que favorece también la eliminación del suero al aumentar la permeabilidad del gel debido a una disolución parcial de la armadura cálcica (López, 2010). Para la elaboración de queso fresco, no aplica este proceso de cocción durante la eliminación del suero.

3.1.3.9. Adición de preservantes

Se adicionan preservantes con el objetivo de retrasar el deterioro del queso fresco por la acción de microorganismos, empleando sustancias antimicrobianas para inhibir, retrasar o prevenir el desarrollo y la proliferación de bacterias, mohos y levaduras. Algunos antimicrobianos tienen un alto grado de especificidad contra cierto tipo de microorganismos, mientras que otros presentan un espectro de acción muy amplio y pueden inhibir una gran variedad de ellos (López, 2004).

López (2004) asegura que la efectividad de los antimicrobianos depende de varios factores a) la especificidad de acción y b) características del alimento: pH, la fuerza iónica, la acción acuosa, la disponibilidad de nutrientes para los microorganismos, entre otros. Además, es importante mencionar que la conservación no sólo debe recaer en estos aditivos, sino que se requiere de un manejo adecuado para evitar contaminaciones posteriores.

3.1.3.10. Salado

Durante el proceso de elaboración del queso, el cloruro de sodio es incorporado de forma directa por medio de inmersión en baño de salmuera o en la masa. En general, se reconoce que el cloruro de sodio se agrega a los quesos por su aporte nutricional y por su aporte en los siguientes procesos (Minetti *et al.*, 2002):

- 1) Completa el desuerado, modifica la hidratación de las proteínas, e interviene en la formación de la corteza.
- 2) Actúa sobre el desarrollo de microorganismos y la actividad enzimática.
- 3) Aporta su gusto característico y la propiedad de potenciar o enmascarar el sabor de determinadas sustancias que aparecen a lo largo del proceso.

3.1.3.11. Moldeado y prensado

Una vez concluido el salado, se coloca la cuajada en moldes de acero inoxidable con orificios. El moldeado busca formar el queso y ayudar a que los gránulos de la cuajada se aglomeren (Ramírez & Vélez, 2014). Existen varias formas y tamaños de los moldes, que son los que dan la apariencia final al queso. Cuando se coloca la cuajada en los moldes, inmediatamente se realiza el prensado.

El prensado busca eliminar el suero restante que haya quedado ocluido entre las partículas de cuajada, puede hacerse por la presión que ejerce su propia masa (autoprensado) o bien aplicando fuerza externa (prensas horizontales o verticales) (Coronado & Espitia, 2015). Esta operación varía en intensidad y duración en función a las características esperadas en el producto final. Si la elaboración ha sido correcta, al iniciar el prensado el suero sale por los orificios del molde rápidamente y es transparente. De lo contrario, si el desuerado es lento, la acidificación se hace excesiva o hay mucha desmineralización al final del prensado, lo que resulta un queso seco y poco flexible (Coronado & Espitia, 2015).

3.1.3.12. Empaque y almacenamiento

El empaque y almacenamiento son dos factores importantes en la calidad del queso fresco durante su vida útil. Se debe elegir un material de empaque que no permita el paso de humedad (Iličić *et al.*, 2016), evite la exposición del producto a la luz para prevenir una

pérdida en la calidad nutricional ocasionada por componentes fotosensibles (riboflavina), y proteger al producto del oxígeno para evitar la oxidación de grasa y la pérdida de aromas (Mortensen *et al.*, 2002; Nájera, 2019). El plástico es uno de los materiales de empaque más utilizados, debido a su resistencia, permeabilidad de gases y versatilidad de grosores, sin embargo, generalmente no protege de la luz. Iličić *et al.* (2016) recomiendan el uso de empaques de polipropileno y poliestireno.

Asimismo, para la conservación del queso no solo es importante el material de empaque sino también la forma en que se realiza. En Costa Rica, la mayoría de los quesos frescos son empacados al vacío. Es una forma de atmósfera modificada, en la cual el alimento es envasado en un empaque impermeable y es herméticamente sellado. Esto también permite remover la mayoría del oxígeno presente y, por lo tanto, prevenir reacciones de oxidación lipídica y de color, de deterioro por microorganismos y pérdida de humedad, resultando así en un aumento de la vida útil del producto (Rachtanapun & Rachtanapun, 2011).

El almacenamiento del queso fresco debe ser en refrigeración a una temperatura de 0-5°C (RTCR, 2008) para impedir el crecimiento acelerado de los microorganismos y para ayudar a que alcance su punto final de textura y presentación (Del Cid, 2017). Bajo estas condiciones de almacenamiento, la vida útil del queso fresco oscila entre 8 y 15 días (García *et al.*, 2011)

3.2. Control de calidad en el queso fresco

La calidad de los alimentos se define como el conjunto de propiedades que influyen en su aceptación por el consumidor y que diferencian a unos de otros. La calidad depende no solo de las condiciones iniciales, sino también de los cambios físicos, químicos, microbiológicos y propiedades sensoriales que se producen durante el procedimiento y el almacenamiento de los productos. Estos cambios están relacionados con la composición del alimento, los procesos a los que fue sometido el producto y las condiciones ambientales que lo rodean (Miranda, 2003).

3.2.1. Control de calidad físico y químico

La calidad de un queso fresco depende de características sensoriales como el color, sabor y textura. Estas características que se ven afectadas por factores como acidez, pH,

y actividad de agua, ligados a su formulación, condiciones de proceso y almacenamiento (Ramírez & Vélez, 2012).

3.2.1.1. Actividad de agua (a_w)

De acuerdo con Badui (2006), las propiedades coligativas, reológicas y de textura de un alimento dependen de su contenido de agua, aún cuando esta también influye en las reacciones físicas, químicas, enzimáticas y microbiológicas.

La actividad de agua de un alimento es la fracción de agua que está libre y disponible para el desarrollo de microorganismos y favorece diversas reacciones químicas que afectan a su estabilidad. La actividad de agua se mide en valores de 0 a 1, el agua tiene una a_w de 1 y la mayoría de los alimentos está dentro de un rango de actividad de agua de 0,2 a 0,99. Cuanto más bajo sea el valor a_w de un alimento, éste es considerado menos perecedero y se conserva mejor el producto (Arévalo, 2014).

De acuerdo con Fox (1993), el queso fresco presenta un valor de a_w de 0,99. Valores elevados de a_w son característicos de los quesos frescos en general y permiten el crecimiento de todas las bacterias, mohos y levaduras asociadas con el deterioro microbiológico de estos productos (Arévalo, 2014).

3.2.1.2. pH

El pH de un alimento es uno de los principales factores que determina la supervivencia y el crecimiento de los microorganismos durante el proceso, el almacenamiento y la distribución (Ramírez, 2006). El pH se calcula por la concentración de iones de hidrógeno (H^+), un factor que controla la regulación de muchas reacciones químicas, bioquímicas y microbiológicas. La escala de pH es de 0 a 14; la disolución neutra tiene un valor de 7, valores menores de 7 indican una disolución ácida y valores superiores a 7 indican una disolución alcalina (Arévalo, 2014).

El pH es uno de los parámetros que afecta las propiedades texturales del queso, debido al efecto sobre la red de proteínas. Un pH cercano al punto isoeléctrico provoca fuerzas iónicas e hidrófobas, que resultan en una red de caseína compacta típica de los quesos duros. En el caso de un pH más alto las caseínas presentan una carga negativa, lo que crea repulsión entre los agregados proteicos, generándose un queso con mayor humedad, más elástico y menos compacto (Lu *et al.*, 2008). En los quesos frescos, la

elevada humedad y el bajo pH son condiciones que afectan notoriamente la textura y sabor durante la conservación, de forma que una excesiva proteólisis podría ocasionar defectos como una textura excesivamente blanda y un sabor amargo (Ramírez & Vélez, 2012).

3.2.1.3. Sinéresis (desuerado)

La pérdida de masa de los quesos frescos durante su almacenamiento es consecuencia del fenómeno de la sinéresis. La acidez en el queso es un factor que no sólo tiene incidencia sobre el sabor, sino que también en los cambios que experimenta la red de proteína (cuajada) del queso. Esta cuajada tiene una correlación directa con los fenómenos de sinéresis (es decir; a mayor acidez, mayor sinéresis) y textura final (Pinho *et al.*, 2004; Ramírez & Vélez, 2012). Además de la acidez, la sinéresis está afectada también por circunstancias propias del proceso de elaboración y por la presencia de calcio libre, el cual provoca la unión de la caseína en la red proteica de la cuajada (Walstra *et al.*, 2006).

La sal tiene influencia en el sabor y en los procesos de conservación y desuerado de los quesos. En altas concentraciones disminuye la actividad enzimática proteolítica, aumentando la salida de agua presente en la red proteica de la cuajada, ocasionando menor humedad y por lo tanto mayor dureza en el queso (Pinho *et al.*, 2004; Ramírez & Vélez, 2012).

3.2.2. Control microbiológico

La caracterización microbiológica de quesos frescos permite analizar si la materia prima (microflora normal como microflora contaminante), el proceso de producción, las condiciones de almacenamiento y las prácticas de manufactura empleadas están influyendo en las propiedades sensoriales y en la inocuidad del producto final (Palacios, 2006).

El queso fresco elaborado en Costa Rica debe ajustarse a los criterios microbiológicos establecidos en el Cuadro II, presentado por el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:17 (2018).

Cuadro II. Criterios microbiológicos para queso no madurado según el Reglamento Técnico Centroamericano.

Microorganismo	n	c	m UFC/g	M UFC/g
<i>Escherichia coli</i>	5	1	10	10 ²
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	1	10 ²	10 ³
<i>Salmonella spp/25 g</i>	5	0	Ausencia	---
<i>Listeria monocytogenes/25g</i>	5	0	Ausencia	---

Nota: Donde n= Número de muestra a examinar, m= Índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad, M=Índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad y c= Número de muestras permisibles con resultados entre m y M. Fuente: (RTCA, 2018).

Asimismo, es importante también controlar los microorganismos indicadores de la calidad microbiológica, ya que pueden ser responsables de los defectos de textura y sabor de los quesos, afectando así la vida de anaquel del alimento. Los microorganismos indicadores de la calidad microbiológica del queso fresco son principalmente bacterias ácido lácticas, mohos, levaduras, y bacterias psicrófilas.

3.2.2.1. Bacterias ácido lácticas (BAL)

Las bacterias ácido lácticas son un grupo de microorganismos representado por varios géneros con características morfológicas, fisiológicas y metabólicas en común. En general, son cocos o bacilos Gram positivos, no esporulados, no móviles, anaeróbicos, microaerófilos o aerotolerantes (Ramírez *et al.*, 2011). Producen el ácido láctico como el principal producto de fermentación de la glucosa y son utilizados como cultivos iniciadores en la elaboración y conservación de productos lácteos. De acuerdo con Merchán *et al.* (2018), entre las BAL más frecuentes se encuentran los géneros *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* y *Lactococcus*, a las que se le atribuye la producción de sustancias inhibitorias (bacteriocinas) de patógenos transmitidos durante el proceso de fabricación del queso fresco.

Un defecto muy frecuente en los quesos es la hinchazón de los mismos por producción anormal de gas; dependiendo de la etapa de maduración en la que ocurre y los microorganismos responsables de esta hinchazón, se puede distinguir en temprana o tardía. De acuerdo con Olivera (2018), ocurren casos de hinchazón temprana por bacterias

ácido lácticas, principalmente cepas de *Lactobacillus* heterofermentativas capaces de metabolizar la galactosa residual y producir grandes cantidades de CO₂. También, ciertas cepas iniciadoras pertenecientes a *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* que fermentan citrato y *Streptococcus thermophilus* con actividad ureasa pueden generar CO₂ en exceso. Esta alteración puede ocurrir cuando se desarrollan desbalances entre especies o cepas en la preparación de los cultivos o durante las etapas iniciales de la elaboración de los quesos.

La presencia de este tipo de bacterias puede atribuirse al transporte y almacén del queso; la mayoría crecen bien en temperaturas de refrigeración (Axelsson, 1998; González-Montiel & Franco-Fernández, 2015). Recuentos muy elevados de bacterias ácido lácticas podrían afectar la calidad del queso fresco al producir compuestos que provocan sabor ácido (Clavel-Maqueda, 2006).

3.2.2.2. Mohos y levaduras

A menudo, se encuentra un amplio espectro de hongos (mohos y levaduras) en diversos productos alimenticios en los que pueden provocar graves daños, pérdidas económicas considerables, problemas de calidad y de salud a los consumidores (Tournas *et al.*, 2011). Los mohos son hongos filamentosos multicelulares, mientras que las levaduras están constituidas por una sola célula cuya morfología puede variar entre especies (Medina *et al.*, 2014).

Los mohos y sus esporas se transportan por el aire hasta la superficie de los quesos, que cuentan con características ideales para su proliferación. El desarrollo de estos microorganismos provoca cambios en la textura, aparición de manchas coloreadas y olores y sabores indeseables (Orihuel *et al.*, 2010). Estos hongos se consideran como alterantes en el queso fresco, ya que provocan los cambios mencionados, además de afectar su apariencia por la aparición de colonias visibles o mohos y de olores atípicos, amoniacales o afrutados (IDF, 1993; Palacios, 2006). Los agentes fúngicos prevalentes en los quesos corresponden al género *Aspergillus* y *Penicillium*.

Las levaduras también afectan la calidad de los quesos mediante la producción de fructificaciones, sabores levaduriformes indeseables y una textura desagradable (Medina *et al.*, 2014). La mayoría de las levaduras toleran un rango de pH entre 3 y 10, pero les resulta favorable un medio ligeramente ácido con un pH entre 4,5 a 6,5 (Suárez-Machín *et*

al., 2016). De igual manera, el buen perfil nutricional de la mayoría de los quesos es favorable para el crecimiento de las levaduras de degradación. La humedad de la superficie a menudo contiene ácido láctico, péptidos y aminoácidos, lo que favorece el crecimiento rápido. Muchas levaduras producen alcohol y CO₂, lo que resulta en el queso con sabor a levadura. Las levaduras contaminantes comunes de quesos incluyen *Candida* spp., *K. marxianus*, *G. candidum*, *D. hansenii*, y *Pichia* spp. (Ledenbach & Marshall, 2010).

3.2.2.3. Bacterias psicrófilas

Los microorganismos psicrófilos presentan temperaturas mínimas de crecimiento por debajo de los 0°C y máximas en torno a los 20°C (Ramírez *et al.* 2006). Según la clasificación más adoptada, dependiendo de la temperatura optima de crecimiento, los psicrófilos pueden clasificarse en psicrófilos obligados y facultativos o psicotolerantes. Los primeros tienen temperaturas óptimas que oscilan entre los 15-18°C, mientras que los segundos se encuentran en el rango de los 20 a 30°C, y temperaturas máximas de crecimiento de 35°C y mínimas de hasta -5°C (Willey *et al.* 2008; Rinardo, 2018). Son bacterias psicrófilas los miembros del género *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Bacillus* (Pinzon, 2006).

Muchas bacterias psicrófilas son destruidas en la pasteurización de la leche, sin embargo, algunas tienen el potencial para producir enzimas proteolíticas y lipolíticas capaces de soportar temperaturas de pasteurización. Estas enzimas pueden degradar las proteínas y las grasas en productos procesados, lo que reduce la vida útil del producto (Boor *et al.*, 1998; López 2004).

La correcta manipulación de la leche y de la cuajada es importante, al igual que la adición de agua, ya que se puede introducir microorganismos psicrófilos al producto. Microorganismos como *Pseudomonas* y *Flavobacterium* provocando una alteración del queso y la aparición de sabores y aromas desagradables (Merkazi, 2018), así como la manifestación de coloración verde o amarilla en la superficie del queso (ICMSF, 2000).

3.2.3. Análisis sensorial

El Instituto de Alimentos de EEUU (IFT), define la evaluación sensorial como la disciplina científica utilizada para evocar, medir, analizar e interpretar las reacciones a aquellas características de alimentos y otras sustancias, que son percibidas por los sentidos

de la vista, olfato, gusto, tacto y oído (Stone & Sidel, 2004; Mina, 2021). Esta disciplina comprende un conjunto de técnicas para la medida precisa de las respuestas humanas a los alimentos e intenta aislar las propiedades sensoriales y aportar información útil para el desarrollo de productos, control durante la elaboración, vigilancia durante el almacenamiento, entre otros (Ramírez, 2012).

Las pruebas de análisis sensorial se dividen en tres grupos principales, según su finalidad: descriptivas, discriminativas y afectivas (Lawless y Heymann, 2010). Las pruebas descriptivas, se usan para caracterizar y evaluar el alimento cualitativa o cuantitativamente; las pruebas discriminatorias permiten detectar la presencia de diferencias de atributos sensoriales entre dos o más productos, las afectivas o hedónicas se emplean para medir la aceptación o rechazo de una muestra con una población no menor a 30 jueces (Rodríguez *et al.*, 2015).

Tanto en las pruebas descriptivas como en las discriminativas se utilizan panelistas seleccionados, en el primer caso son altamente capacitados y en el segundo pueden ser jueces semientrenados. En cambio, las pruebas afectivas las llevan a cabo los consumidores habituales o potenciales y compradores del producto en cuestión, quienes manifiestan su reacción subjetiva ante el producto, indicando si lo acepta o rechaza, si le gusta o disgusta, o si lo prefiere a otro (López, 2020).

3.2.3.1. Prueba sensorial de agrado general

Las pruebas sensoriales afectivas más conocidas se clasifican en dos grandes grupos, las pruebas de aceptación (prueba de agrado general) y las pruebas de preferencia (Lawless y Heymann, 2010). Las pruebas de aceptación se conocen también como pruebas hedónicas y se centran en solicitar al consumidor que indique el nivel de agrado de un producto mediante el uso de una escala, por lo que son conocidas como pruebas de nivel de agrado (Jara, 2018).

Para la realización de una prueba sensorial de agrado general se pueden utilizar diferentes tipos de escalas hedónicas, siendo las más comunes las de nueve y siete puntos; no obstante, existen también las de 10, 15 y hasta 20 categorías (Clark *et al.*, 2009). La variación del número de categorías es aceptable siempre que no se utilicen menos de cinco (Pilgrim & Peryam, 1998; Jara, 2018).

La escala más utilizada para las pruebas de agrado sensoriales de alimentos es la escala hedónica de nueve puntos que fue desarrollada por el *U.S Army Food Container Institute* en 1950 (Meiselman & Schutz, 2002; Castañeda, 2013). Esta escala se caracteriza por ser bipolar, es decir, tiene un valor neutro con cuatro categorías de agrado y cuatro categorías de desagrado (Lim, 2011). Además, puede ser presentada de forma horizontal o vertical y puede mostrar primero el gusto o el disgusto, debido a que no se presentan diferencias en los resultados (Pilgrim & Peryam, 1998; Jara, 2018). Asimismo, con el uso de esta escala se permite asignar la misma categoría a más de una muestra (Ramírez, 2012).

Esta escala fue rápidamente adaptada por la industria de alimentos e investigación por su simplicidad de uso, sin embargo, existen algunas limitaciones, ya que evade las categorías de los extremos, lo que disminuye su poder discriminatorio y contribuye a que ocurra un error de tendencia central. Por otro lado, el análisis estadístico no es el adecuado para el tipo de información ordinal que recolecta, al no tener un punto cero y al ser una escala categórica. Las nueve categorías poseen intervalos igualmente espaciados, pero no son psicológicamente equivalentes, por lo tanto, las comparaciones que realiza no son válidas a través de grupos (Lim, 2011).

La forma de presentación de las muestras para evaluar agrado general con la escala hedónica de 9 puntos es monádica, es decir, se realiza en un producto a la vez; con el fin de obtener evaluaciones absolutas y eliminar el efecto de contexto. El objetivo es simular las condiciones de compra y consumo de productos, por lo que se prueba la compra y consumo de un producto y se compara con otro según a la memoria de los panelistas (Jara, 2018). Lo ideal es realizar la evaluación de los productos en días o semanas diferentes (Pimentel *et al.*, 2016).

Los panelistas evalúan muestras codificadas de varios productos e indican cuanto les agrada cada muestra, marcando una de las categorías en la escala, donde los rangos de los números van desde uno a nueve, siendo uno “disgusta extremadamente”, cinco “ni me gusta ni me disgusta” y nueve “gusta extremadamente” (Clark *et al.*, 2009; Ramírez, 2012).

En este tipo de pruebas hedónicas se necesita por lo general más 60 consumidores representativos, sin embargo, el resultado de este tipo de prueba no es indicativo de compra del consumidor (Ruíz & Herrero, 2021). Para evaluar la intención de compra se requiere un

mayor número de participantes, más de 100 consumidores (O'Sullivan, 2017; Ruíz & Herrero, 2021). Es recomendable trabajar con esta cantidad de panelistas, debido que la preferencia individual tiene una gran variabilidad, y para que los resultados sean válidos desde el punto de vista estadístico. La preferencia de los individuos puede diferir de muchas maneras, debido a antecedentes personales, experiencias, cultura, hábitos, intereses personales, dieta y salud. Igualmente, puede depender de la apariencia, textura, olor y sabor de un alimento, entre otros (Lawless & Heymann, 2010). Por lo tanto, para obtener suficiente sensibilidad y potencia estadística en una prueba afectiva, se debe aumentar el tamaño de muestra (Svensson, 2012).

3.3. Bioconservantes

3.3.1. Extractos naturales

Las plantas producen una gran variedad de metabolitos secundarios o fitoquímicos, dentro de cuales se encuentran los aceites esenciales. Los extractos obtenidos de fuentes vegetales pueden cumplir una serie de funciones como ser colorantes, antioxidantes, saborizantes o agentes antimicrobianos, por lo que son ingredientes alternativos que se pueden utilizar en diversos alimentos (Valenzuela & Pérez, 2016). Las propiedades antimicrobianas de los extractos de plantas han sido objeto de diversos estudios, por ejemplo, se ha demostrado que los aceites de naranja y de limón son inhibidores de una amplia gama de microorganismos de deterioro de alimentos, especialmente levaduras (Loor, 2017). Los aceites esenciales de los cítricos (naranja, limón) son inhibidores del desarrollo de *Aspergillus flavus*, eliminando la producción de aflatoxina (Rodríguez, 2011). Extractos cítricos contienen compuestos fenólicos, entre ellos flavonoides, como componentes bioactivos que ofrecen la funcionalidad antimicrobiana y conservante (Perricone *et al.*, 2015).

La aplicación de extractos de plantas como preservantes en la industria de alimentos puede verse limitada, ya que su actividad biológica puede ser reducida por algunos componentes de los alimentos (grasas, carbohidratos, proteínas, agua, sal, antioxidantes, conservantes, otros aditivos). Además, el pH, la temperatura, el tipo de procesamiento o empaquetado al que son expuestos los alimentos y la flora microbiana acompañante, juegan un papel importante en la modulación del efecto antimicrobiano de los aceites esenciales (Perricone *et al.*, 2015).

3.3.2. Humo líquido

El ahumado es uno de los métodos más antiguos de conservación de los alimentos y se utiliza ampliamente en la industria pesquera, cárnica y quesera. Debido a la preocupación expresada por consumidores y científicos en cuanto a los hidrocarburos aromáticos policíclicos y nitrosamina, ambos agentes cancerígenos (Narváez, 2010), nació la idea de obtener humo líquido en remplazo del humo tradicional.

El humo líquido es una solución acuosa obtenida a través de la condensación del humo natural producido por la combustión de maderas duras. Lo que produce compuestos ácidos, fenólicos y carbonílicos que juegan un papel sobre el color, el sabor y la conservación de los alimentos. Estos diferentes compuestos tienen propiedades bacteriostáticas y antioxidantes (Narváez, 2010), ya que presentan acción antimicrobiana contra *L. monocytogenes*, hongos y levaduras (Agustinelli, 2014). Cabe mencionar que los hidrocarburos, entre ellos el benzopireno, son eliminados durante el proceso de filtración debido a su nocividad (Lovo, 2018).

De acuerdo con Narváez (2010), los compuestos carbonilos están principalmente relacionados con el color en el producto en el que se aplican, y en menor grado con el sabor. Los fenoles se encuentran en mayor proporción que los carbonilos (alrededor de 20 tipos de fenoles han sido aislados e identificados del humo líquido) y aportan sabor y aroma característicos al ahumado. Además, añaden compuestos que generan un efecto antioxidante, entre los que se encuentran 3 o 4 metil guayacol, siringol. Los fenoles también proporcionan un efecto bacteriostático (Bhattarai, 2019). La efectividad del humo líquido se debe también al resultado de sus ácidos, el ácido propiónico (C_2H_5-COOH) y otros ácidos orgánicos que mantienen bajo el pH del alimento, destruyendo las paredes de las células bacterianas (Moreno, 2003).

El uso del humo líquido se ha extendido en los últimos años de la mano de una mayor conciencia ambiental, del ahorro de tiempos, energía y mano de obra en los procesos, mayores rendimientos, gran flexibilidad en la obtención de diferentes grados de color y sabor, fácil aplicación, uniformidad del producto y su efecto conservador (Lovo, 2018). Entre los métodos que se utilizan para la aplicación de humo líquido está la adición directa, inmersión, pulverización en túnel y pulverización en un ahumadero (Moreno, 2003).

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Localización del proyecto

Los productos evaluados para las pruebas preliminares fueron elaborados en el Laboratorio de Formulaciones de la Escuela de Tecnología de Alimentos, mientras que las pruebas definitivas fueron realizadas en la Planta Piloto del Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CITA), ambos ubicados en la sede Rodrigo Facio de la Universidad de Costa Rica, en San Pedro Montes de Oca.

Los análisis de composición fisicoquímica, pH y temperatura de la leche se llevaron a cabo en la Planta Piloto del CITA, y la prueba de antibióticos en el laboratorio de Química de la Escuela de Tecnología de Alimentos.

Los análisis fisicoquímicos (a_w , pH y desuerado) se realizaron en el laboratorio de Química de la Escuela de Tecnología de Alimentos. El análisis de contenido de sodio por absorción atómica se llevó a cabo en laboratorio de Química del CITA.

Los análisis microbiológicos se realizaron en el laboratorio de Microbiología del CITA y el análisis sensorial se llevó a cabo en el laboratorio de Análisis Sensorial y Reológico de la empresa.

4.2. Materia prima

Las materias primas empleadas en la elaboración de los quesos se enlistan a continuación:

- Leche
- Cloruro de calcio
- Cuajo
- Cultivo iniciador
- Compuesto comercial
- Humo líquido 1
- Humo líquido 2
- Sorbato de potasio
- Cloruro de sodio

4.3. Análisis de recepción de leche

La leche cruda utilizada para las pruebas preliminares y definitivas fue suministrada por una empresa ubicada en Oreamuno de Cartago. Una vez recibida la leche, como medida de control de calidad, se realizó el análisis de su composición fisicoquímica utilizando el analizador ultrasónico de la marca Ekomilk, modelo MILKANA KAM98-A, de manera que cumpliera con los parámetros descritos en el apartado 3.1.3.1 por el RTCR: 401:2006 Leche cruda y Leche Higienizada (2006).

Se midió el pH de la leche usando un pHmetro equipado con un electrodo de vidrio y la temperatura con un termómetro de espiga calibrado. De acuerdo con Negri (2005), para el recibo de leche cruda el pH debe estar entre 6,5 y 6,8 y a una temperatura óptima de refrigeración no mayor a 5°C.

Además, se realizó la prueba de presencia de antibióticos en leche mediante el uso de un Kit de detección y estufa de incubación modelo MIC-CO de la marca Chr. Hansen basado en técnicas microbiológicas, su resultado fue negativo.

Los resultados de los análisis de calidad de leche, anteriormente mencionados, se documentaron en el Cuadro IA del apartado Anexos.

4.4. Proceso de elaboración de queso fresco

Para la elaboración de las muestras de queso fresco a escala planta piloto, se siguió el flujo de proceso presentado en la Figura 1.

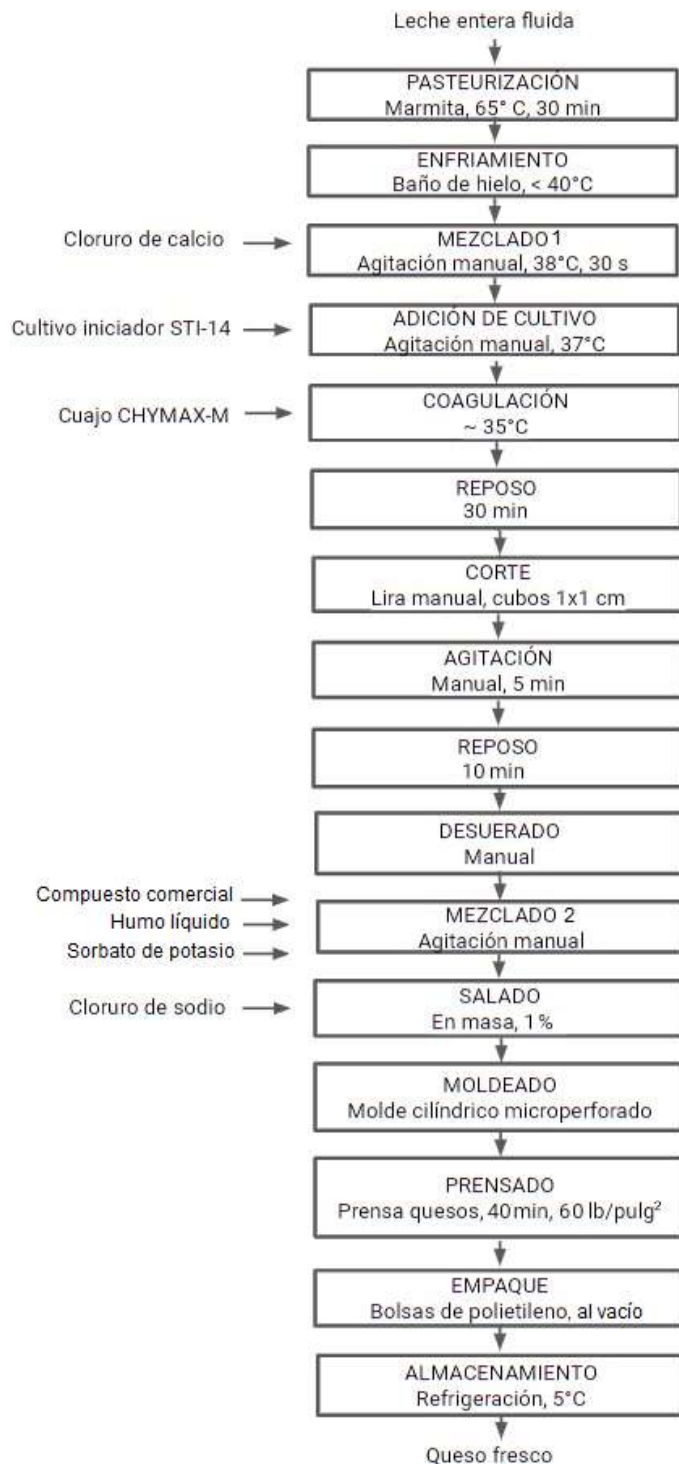


Figura 1. Diagrama de flujo para la elaboración de queso fresco con el compuesto comercial, humo líquido 1, humo líquido 2 o sorbato de potasio.

Nota: Queso control (sin preservante) no incluye mezclado 2.

5. METODOLOGÍA

5.1. Pruebas preliminares

Se realizaron pruebas preliminares con dos objetivos **1)** determinar la concentración y etapa de adición del compuesto comercial y **2)** determinar la etapa de adición para los dos humos líquidos. Ambos objetivos se abordaron en dos etapas.

1) Determinar la concentración y etapa de adición del compuesto comercial

Etapa 1: Se evaluó el nivel de agrado de dos tratamientos con compuesto comercial a diferente concentración, una muestra con la dosis máxima y otra muestra con la dosis media recomendada por el proveedor, con el fin de conocer la concentración de incorporación en los quesos frescos. Por interés de la empresa, en esta etapa se adicionó en ambas muestras el compuesto comercial antes de pasteurizar, ya que puede resistir temperaturas de hasta 120°C.

Etapa 2: Se evaluó el nivel de agrado de dos tratamientos con compuesto comercial en diferentes etapas de adición, una muestra con la adición del compuesto comercial antes de pasteurizar la leche y otra muestra con la adición del compuesto comercial después de desuerar la cuajada, con el fin de conocer la etapa de adición más favorable en los quesos frescos. Se utilizó la concentración mínima recomendada por el proveedor. Además, se incluyó a la evaluación sensorial el tratamiento con sorbato de potasio para tener un patrón de comparación.

2) Determinar la etapa de adición para los dos humos líquidos

Etapa 1: Se evaluó el nivel de agrado de dos tratamientos con humo líquido 1 en diferentes etapas de adición, a una concentración previamente establecida por la empresa. Se evaluó una muestra con la adición del humo líquido 1 antes de pasteurizar la leche y otra muestra con la adición del humo líquido 1 después de desuerar la cuajada, con el fin de conocer la etapa de adición más favorable para este aditivo en queso fresco. Por interés de la empresa, las muestras con humo líquido 1 se complementaron con un asperjado de vinagre al 0,3% en el empaque, ya que este humo es menos ácido en comparación al humo líquido 2.

Etapa 2: Debido a los resultados obtenidos en la primera etapa, se estableció que la etapa favorable para adicionar el humo líquido 1 es en la etapa posterior al

desuerado. Por lo tanto, se realizó una segunda evaluación de agrado general con humo líquido 2, evaluándolo también en la misma etapa de adición. En contraste con el tratamiento con humo líquido 1, al queso fresco con el humo líquido 2 no se le aplicó el asperjado de vinagre en el empaque. Asimismo, para esta segunda etapa, se incluyó el tratamiento con sorbato de potasio en la evaluación sensorial, para tener un patrón de comparación.

5.1.1. Evaluación de agrado general sensorial

Se realizó un panel sensorial informal de agrado general con 7 panelistas en la primera etapa de cada objetivo y 6 panelistas en la segunda etapa de cada objetivo. Los paneles se conformaron por el comité asesor del proyecto (directora y asesoras) y personas representantes de la empresa vinculada. Se utilizó una escala hedónica híbrida, la cual permitió determinar desde el máximo nivel de gusto (10) hasta el máximo nivel de disgusto (0) (Lawless & Heymann, 2010). La evaluación se realizó de forma monádica.

Código de muestra: _____



Figura 2. Ejemplo de escala hedónica híbrida utilizada en las pruebas preliminares.

5.1.2. Muestras evaluadas

En el Cuadro III, Cuadro IV, Cuadro V y Cuadro VI se presentan las muestras de queso fresco evaluadas en la primera y segunda etapa de los objetivos **1)** y **2)**.

Cuadro III. Muestras evaluadas por los panelistas en la primera etapa del objetivo 1).

Tratamiento	Concentración (%)	Etapas de adición	Identificación de la muestra
Compuesto comercial	Máxima	Antes de la pasteurizar	CC1
Compuesto comercial	Media	Antes de la pasteurizar	CC2

Nota: La empresa suministró la concentración máxima y media recomendada para el compuesto comercial, según la ficha técnica del proveedor; cuya información se encuentra protegida.

Cuadro IV. Muestras evaluadas por los panelistas en la segunda etapa del objetivo 1).

Tratamiento	Concentración (%)	Etapas de adición	Identificación de la muestra
Compuesto comercial	Mínima	Antes de la pasteurizar	CC3
Compuesto comercial	Mínima	Después de desuerar	CC
Sorbato de potasio	0,01	Después de desuerar	S

Nota: La empresa suministró la concentración mínima recomendada para el compuesto comercial, según la ficha técnica del proveedor; cuya información se encuentra protegida. El criterio para definir la concentración de sorbato de potasio fue utilizar 0,01% de ácido sórbico, ya que es la dosis más utilizada por los productores nacionales de queso fresco, según las etiquetas.

Cuadro V. Muestras evaluadas por los panelistas en la primera etapa del objetivo 2).

Tratamiento	Concentración (%)	Etapas de adición	Identificación de la muestra
Humo líquido 1	A	Antes de la pasteurizar	H
Humo líquido 1	A	Después de desuerar	H1

Nota: La empresa suministró la concentración recomendada para el humo líquido 1, según la ficha técnica del proveedor; cuya información se encuentra protegida.

Cuadro VI. Muestras evaluadas por los panelistas en la segunda etapa del objetivo 2).

Tratamiento	Concentración (%)	Etapas de adición	Identificación de la muestra
Humo líquido 2	B	Después de desuerar	H2
Sorbato de potasio	0,01	Después de desuerar	S

Nota: La empresa suministró la concentración recomendada para el humo líquido 2, según la ficha técnica del proveedor; cuya información se encuentra protegida. El criterio para definir la concentración de sorbato de potasio fue utilizar 0,01% de ácido sórbico, ya que es la dosis más utilizada por los productores nacionales de queso fresco, según las etiquetas.

5.1.3. Preparación de las muestras

Las muestras de queso fresco se prepararon a escala laboratorio y se mantuvieron en refrigeración hasta el momento de la prueba. Previo a cada evaluación sensorial, se realizó un análisis microbiológico de recuento de *Escherichia coli* para confirmar que las muestras estuvieran libres de contaminación de origen fecal, el cual debe ser de < 10 UFC/g según el Reglamento Técnico RTCR 407:2007 general para quesos. Se siguió el procedimiento P-SA-MM-008 Coliformes totales y *Escherichia coli* en Método Petrifilm del laboratorio de microbiología del Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CITA, 2018), según el método oficial AOAC 991.14 (2005).

Para todos los tratamientos de queso fresco se cortaron trozos de 15 g aproximadamente, los cuales se empacaron en recipientes plásticos desechables codificados con números de tres dígitos elegidos de forma aleatoria y balanceada. Una vez preparados todos los sets de muestras, estos se empacaron en una bolsa plástica debidamente rotulada para cada panelista, junto con la hoja de respuesta y sus respectivas instrucciones de la prueba, dos vasos plásticos para un enjuague con agua, servilletas y una cuchara plástica. Por último, las muestras en refrigeración se enviaron al sitio correspondiente, donde cada uno de los panelistas iba a realizar la evaluación sensorial de agrado general.

5.1.4. Análisis de datos

Para las dos etapas de los objetivos **1)** y **2)**, cada marca reportada en la escala hedónica híbrida por el panelista se transformó en valores numéricos por medio de la medición longitud de cada marca, desde el origen (cero) hasta la marca realizada. Al tratarse de una prueba informal, los resultados fueron evaluados tomando en cuenta el valor de agrado promedio para cada tratamiento.

Adicionalmente, en los casos donde se evaluaron dos muestras se realizó la prueba t de Student utilizando el programa JMP® 16 con un nivel de confianza de 95%. En el caso en el que se evaluaron tres muestras, se realizó el análisis de varianza (ANDEVA) utilizando un 5% de significancia; en caso de detectarse diferencias significativas, se aplicó una prueba de comparación de medias (Tukey HSD) utilizando el programa JMP® 16 con un nivel de confianza de 95%. Esto para visualizar de manera preliminar si existen o no diferencias significativas entre los niveles de agrado de los quesos frescos. Cabe mencionar que para darle validez a la prueba debe realizarse la evaluación sensorial con una mayor muestra panelistas, de más 100 consumidores.

5.2. Pruebas definitivas

5.2.1. Muestras evaluadas

A continuación, se presentan las muestras de queso fresco evaluadas mediante análisis sensorial, fisicoquímico y microbiológico, durante su almacenamiento (T= 0-5°C). El análisis sensorial se realizó en dos tiempos de muestreo (día 2 y día 8). El análisis fisicoquímico y microbiológico se evaluaron en el día 2, 8 y 15 de almacenamiento; los puntos de muestreo se seleccionaron de manera proporcional, a lo largo de los 15 días propuestos como tiempo aproximado de vida útil del queso fresco.

Cuadro VII. Muestras evaluadas mediante análisis sensorial, fisicoquímico y microbiológico, durante su almacenamiento.

Tratamiento	Concentración (%)	Etapa de adición	Identificación de la muestra
Compuesto comercial	Mínima	Después de desuerar	CC
Humo líquido 1	A	Después de desuerar	H1
Humo líquido 2	B	Después de desuerar	H2
Sorbato de potasio	0,01	Después de desuerar	S
Control	NA	NA	C

Nota: Tratamiento control es el tratamiento sin preservante. NA significa No Aplica.

5.2.2. Análisis sensorial

5.2.2.1. Reclutamiento de participantes

Debido a la declaratoria de estado de emergencia nacional, producto del virus SARS-CoV-2 que causa la enfermedad COVID-19, se decidió llevar a cabo el análisis de la prueba de agrado general de manera informal. En acatamiento a los lineamientos emitidos por el Ministerio de Salud en relación con la capacidad de aforo para un mismo espacio de trabajo, se reclutó un grupo de 25 potenciales consumidores de queso fresco no entrenados, quienes laboran en la empresa vinculada a este estudio y cumplieron con los siguientes criterios de selección: distribución equitativa de hombres y mujeres, con edades entre 18 y 60 años, procedentes del Gran Área Metropolitana, con ausencia de intolerancia o alergia a la leche o productos lácteos, y con una frecuencia de consumo de queso fresco mínima de tres veces a la semana.

La empresa aportó el espacio físico y las condiciones de seguridad necesarias para realizar la evaluación sensorial en los tiempos de muestreo definidos.

5.2.2.2. Preparación de las muestras

Los cinco tratamientos (CC, H1, H2, S y C) de queso fresco empacados al vacío y libres de contaminación de origen fecal (*E. coli*), se enviaron al Laboratorio de Sensorial de la empresa vinculada, al día siguiente de su producción a escala piloto (muestras del lote 2). Previo a cada evaluación sensorial, en el día 2 y el día 8, los quesos almacenados a una temperatura de refrigeración de 0-5°C, se sacaron una hora antes de la evaluación a temperatura ambiente, para que alcanzaran una temperatura cercana a 10°C, y se cortaron en cubos de aproximadamente 2 cm³. Posteriormente, se colocaron en recipientes plásticos desechables, codificados con números de tres dígitos, elegidos de forma aleatoria y balanceada.

Se preparó el set de muestras sobre una bandeja correspondiente, junto un vaso con agua y una muestra de galleta de soda, como se muestra en la siguiente figura:

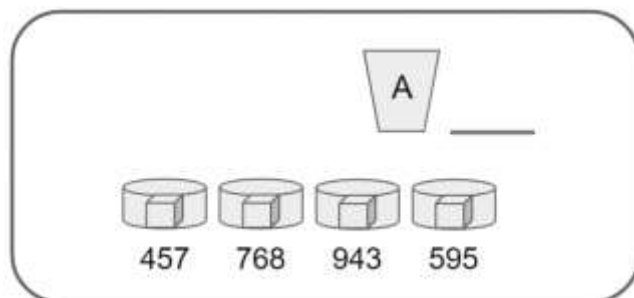


Figura 3. Ejemplo de bandeja presentada al panelista en la prueba de agrado general. Nota: A representa el vaso con agua, junto con la galleta de soda.

Cabe mencionar que únicamente se prepararon las muestras correspondientes al día 2 y día 8 de almacenamiento, debido que después del día 8 de almacenamiento, los quesos frescos no son aptos para su consumo, por tanto, las muestras fueron descartadas.

5.2.2.3. Agrado general

Las muestras se presentaron monádicamente en serie de forma aleatoria, y se le solicitó al panelista probar las muestras de izquierda a derecha. Para la medición del nivel de agrado general de cada uno de los quesos se empleó la escala hedónica de 9 puntos, caracterizada por poseer un valor central neutro con cuatro categorías positivas y cuatro negativas (Lim, 2011), como se muestra a continuación:

Puntaje	Categoría
9	Gusta muchísimo
8	Gusta mucho
7	Gusta moderadamente
6	Gusta ligeramente
5	Ni gusta / ni disgusta
4	Disgusta ligeramente
3	Disgusta moderadamente
2	Disgusta mucho
1	Disgusta muchísimo

Figura 4. Ejemplo escala hedónica de 9 puntos.

Una vez que el panelista finalizó la evaluación de agrado general de la primera muestra, se le pidió realizar un enjuague con agua a temperatura ambiente para continuar con la siguiente muestra, así hasta finalizar con la evaluación de todas las muestras.

5.2.2.4. Análisis de datos

Al tratarse de una prueba informal, los resultados obtenidos en el análisis sensorial fueron evaluados con el valor de agrado promedio para cada tratamiento. Adicionalmente, se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) utilizando un 5% de significancia. El tiempo de almacenamiento (día 2 y día 8) y el tratamiento (uso del compuesto comercial, humo líquido 1, humo líquido 2, sorbato de potasio y queso control) se evaluaron como variables nominales, mientras que la variable respuesta fue “agrado general”. En caso de detectarse diferencias significativas, se aplicó una prueba de comparación de medias (Tukey HSD), utilizando el programa JMP® 16 con un nivel de confianza de 95%.

Se interpretó estadísticamente si existen o no diferencias significativas entre el nivel de agrado (variable respuesta) de los quesos frescos. No obstante, debido a que no se cuenta con una muestra de panelistas lo suficientemente grande (> 100 consumidores) para darle validez a la prueba (O' Sullivan, 2017), el objetivo de aplicar el ANDEVA a los datos obtenidos fue únicamente visualizar de manera preliminar la tendencia en el agrado general. Posteriormente, la empresa deberá aplicar la prueba formal de manera más robusta, con una muestra de consumidores mayor.

5.2.3. Análisis fisicoquímico y microbiológico

Con el fin de asegurar la calidad del producto, las muestras de queso fresco elaboradas a escala planta piloto fueron analizadas fisicoquímico y microbiológicamente por medio de pruebas indicadoras. Las pruebas se realizaron en el día 2, 8 y 15 de almacenamiento. A solicitud de la empresa vinculada, se realizó el análisis de contenido de sodio y la determinación de la actividad de agua (a_w) para la caracterización de los quesos, en el día 0 y en el día 1 de almacenamiento respectivamente.

Se realizaron 3 repeticiones y cada una correspondió a un lote de queso fresco distinto. Todas las determinaciones de las variables respuesta correspondientes a los análisis fisicoquímicos se hicieron por triplicado. El análisis microbiológico se montó por duplicado, a excepción del análisis de mohos y levaduras, que se montó por triplicado.

5.2.3.1. Medición de a_w

Se midió la actividad de agua de las muestras de queso fresco utilizando el equipo Aqualab 4TE modelo CX-2 de la marca Decagon Devices Inc. En una cubeta de plástico se colocaron aproximadamente 5 g de queso fresco previamente triturado en una licuadora, y

se procedió a su lectura de a_w a temperatura ambiente. Previo a las mediciones, se calibró el equipo con dos estándares de verificación NaCl 6m y LiCl 13,4m, con una actividad de agua de $0,760 \pm 0,003$ y $0,250 \pm 0,003$ respectivamente.

5.2.3.2. Medición de sodio

Se midió el contenido de sodio a las muestras de queso fresco mediante absorción atómica, con el objetivo de medir la cantidad de sal que se retiene en el queso final en relación con la cantidad de sal añadida en la cuajada. Debido a que se adicionó el mismo porcentaje de sal (1%), se estandarizó y controló el proceso, se determinó el contenido de sodio en un único tratamiento (queso control) de un único lote (lote #1).

La muestra control se envió a analizar al laboratorio de Química del CITA, bajo el Método 985.35 AOAC: Espectrometría de Absorción Atómica de Llama (AOAC, 2012). Este consiste en diluir en HCl las cenizas obtenidas del queso, realizar un trasvase cuantitativo a balones de 50,00 mL y un segundo trasvase a 5,00 mL agregando la muestra y cloruro de cesio (CsCl) como supresor. Finalmente, se realizó la cuantificación de sodio a través del espectrofotómetro de absorción atómica.

5.2.3.3. Medición de pH

Se midió el pH a las muestras de queso fresco en los tiempos de almacenamiento definidos, mediante un pHmetro modelo HI10533 de la marca HANNA equipado con un electrodo de punta de vidrio cónico que permite la penetración en sólidos, semisólidos y emulsión, logrando así la medición directa del pH del queso fresco. Previo a las mediciones, se calibró el equipo con dos buffers, uno de pH 4 y otro de pH 7, a temperatura ambiente.

5.2.3.4. Medición de desuerado

Se midió el grado de desuerado a las muestras de queso fresco en los tiempos de almacenamiento definidos, en relación al porcentaje de pérdida de masa. Se prepararon muestras de 100 g aproximadamente, empacadas al vacío y almacenadas a una temperatura de refrigeración de 0-5°C. Se registró la masa inicial de cada uno de los quesos en el día cero y la variación del mismo al transcurrir el tiempo de almacenamiento, utilizando una balanza granataria.

El porcentaje de pérdida de masa durante el tiempo de almacenamiento se calculó de la siguiente manera (López, 2010):

$$\% \text{ Pérdida de masa} = 100 * \left(\frac{mf * 100}{mi} \right)$$

En donde:

m_i = Masa inicial de la muestra (tiempo 0).

m_f = Masa final de la muestra al transcurrir el tiempo.

5.2.3.5. Recuento de bacterias ácido lácticas

Se siguió el método oficial del *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (2001) descrito en el procedimiento P-SA-MM-006 Recuento de bacterias ácido lácticas del laboratorio de microbiología del Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CITA, 2019). El recuento de bacterias ácido lácticas se realizó en placas de Petri con agar Man, Rogosa y Sharpe (MRS) acidificado con ácido acético glacial, introducidas de forma invertida en una jarra anaeróbica en condiciones de capnofilia mediante incubación a $(35 \pm 1)^\circ\text{C}$ por $(72 \pm 3)\text{h}$.

5.2.3.6. Recuento de mohos y levaduras

Se siguió el método oficial de la Norma Oficial Mexicana (1994) con una modificación de la metodología por Da Silva *et al.* (2013), descrito en el procedimiento P-SA-MM-007 Recuento de mohos y levaduras del laboratorio de microbiología del Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CITA, 2017). El recuento de mohos y levaduras se realizó en placas de Petri con agar papa dextrosa (APD) acidificado a $\text{pH } 3,5 \pm 0,1$ con ácido tartárico estéril al 10%, mediante incubación a $22-25^\circ\text{C}$ por cinco días en oscuridad.

5.2.3.7. Recuento de bacterias psicrófilas

Se siguió el método oficial del *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (2001) descrito en el procedimiento P-SA-MM-015 Recuento de bacterias psicrófilas del laboratorio de microbiología del Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CITA, 2014). El recuento de bacterias psicrófilas se realizó en placas de Petri con agar estándar invertidas mediante incubación a $(7 \pm 1)^\circ\text{C}$ por diez días.

5.2.3.8. Análisis de datos

Los resultados obtenidos en el análisis fisicoquímico y microbiológico fueron evaluados con un análisis de varianza (ANDEVA) con un 5% de significancia. Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con un arreglo factorial 5×3 para un total de 15 tratamientos x 3 repeticiones correspondientes a diferentes lotes (factor bloque). Los 5

niveles corresponden al tratamiento (uso del compuesto comercial, humo líquido 1, humo líquido 2, sorbato de potasio y queso control) y los 3 niveles corresponden a los tiempos de almacenamiento (día 2, día 8 y día 15) como variables nominales. Las variables respuesta fueron “ a_w ” “pH”, “Desuerado”, “Recuento de bacterias ácido lácticas”, “Recuento de mohos y levaduras” y “Recuento de bacterias psicrófilas”.

En los casos en los que no se encontró diferencia significativa entre los tratamientos, se analizó la potencia de la prueba. En los casos en los que se detectaron diferencias significativas, se aplicó una prueba de comparación de medias (Tukey HSD), utilizando el programa JMP® 16 con un nivel de confianza de 95%.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Pruebas preliminares

6.1.1. Determinación de la concentración y etapa de adición del compuesto comercial

En el Cuadro VIII y Cuadro IX, se presentan los resultados de la evaluación sensorial de agrado general de primera y segunda etapa preliminar, respectivamente.

Cuadro VIII. Nivel de agrado de los panelistas (n=7) para dos quesos frescos elaborados a escala laboratorio (primera etapa).

Tratamiento	Nivel de agrado general
CC1	1,04 ^a
CC2	2,06 ^a

Nota: Valores representados por el promedio de 7 evaluaciones de cada tratamiento. Letras iguales muestran que no hay diferencias significativas entre los tratamientos de queso fresco, obtenidas de una prueba t de Student con un nivel de significancia de 0,05 (t=1,14; t crítico= 2,18; p=0,2752).

Cuadro IX. Nivel de agrado de los panelistas (n=6) para tres quesos frescos elaborados a escala laboratorio (segunda etapa).

Tratamiento	Nivel de agrado general
CC3	2,58 ^b
CC	4,78 ^b
S	8,52 ^a

Nota: Valores representados por el promedio de 6 evaluaciones de cada tratamiento. Letras diferentes muestran diferencias significativas entre los tratamientos de queso fresco, obtenidas de una prueba de Tukey con un nivel de significancia de 0,05.

Como se puede observar en el Cuadro VIII, en términos generales, el nivel de agrado para los quesos frescos con la concentración máxima (CC1) y concentración media (CC2) del compuesto comercial, se encontró por debajo del nivel intermedio de 5 (ni me gusta ni me disgusta) por parte de los panelistas. En ambos casos se percibió un sabor amargo fuerte característico de este aditivo, dando como resultado quesos frescos poco aceptados por los panelistas. Por lo tanto, en consenso con la empresa vinculada y el comité asesor, se decidió evaluar el compuesto comercial con la concentración mínima recomendada por el proveedor y en dos distintas etapas de adición del aditivo, con el

objetivo de descartar la posibilidad de que el sabor amargo del queso fresco con compuesto comercial se estuviera viendo afectado también por el tratamiento térmico aplicado.

En la segunda etapa, como se muestra en el Cuadro IX, si bien no se encontraron diferencias significativas entre la muestra CC3 y la muestra CC, el compuesto comercial se ve afectado durante la pasteurización, al haber un aumento en el sabor amargo en el producto final. Por lo tanto, la muestra CC presentó mejores características sensoriales al percibirse en menor medida el amargor, y se definió como uno de los tratamientos a evaluar en la presente investigación.

Por otra parte, el queso fresco con sorbato de potasio (0,01%) no generó sabor residual como los otros dos tratamientos, debido a que las concentraciones de sorbato que se usan en los alimentos normalmente no alteran el sabor ni el olor de los productos (Lück *et al.*, 2011), dando como resultado un queso fresco de mayor agrado general por parte de los panelistas.

6.1.2. Determinación de la etapa de adición para los dos humos líquidos

En el Cuadro X y Cuadro XI, se presentan los resultados de la evaluación sensorial de agrado general de la primera y segunda etapa preliminar respectivamente.

Cuadro X. Nivel de agrado de los panelistas (n=7) para dos quesos frescos elaborados a escala laboratorio (primera etapa).

Tratamiento	Nivel de agrado general
H	3,77 ^a
H1	6,06 ^b

Nota: Valores representados por el promedio de 7 evaluaciones de cada tratamiento. Letras diferentes muestran diferencias significativas entre los tratamientos de queso fresco, obtenidas de una prueba t de Student con un nivel de significancia de 0,05 (t=2,26; t crítico= 2,18; p=0,0428).

Cuadro XI. Nivel de agrado de los panelistas (n=6) para dos quesos frescos elaborados a escala laboratorio (segunda etapa).

Tratamiento	Nivel de agrado general
H2	7,48 ^a
S	8,52 ^a

Nota: Valores representados por el promedio de 6 evaluaciones de cada tratamiento. Letras iguales en la misma columna muestran que no hay diferencias significativas entre los tratamientos de queso fresco, obtenidas de una prueba t de Student con un nivel de significancia de 0,05 ($t=1,07$; t crítico=2,23; $p=0,3094$).

En la primera etapa preliminar, como se puede ver en el Cuadro X, adicionar el humo líquido 1 después de desuerar la cuajada (H1) resultó ser el tratamiento de mayor agrado por parte de los panelistas; siendo un queso fresco de buen color, olor y textura. En cambio, adicionar el humo líquido 1 antes de pasteurizar la leche (H) produjo un queso con una textura muy suave, inestable y de color café claro, siendo poco deseable a las características que busca un consumidor de queso fresco.

En un estudio realizado por Ismail *et al.*, (2015), la adición de humo líquido a la leche descremada alarga el tiempo de coagulación, disminuye la tensión de la cuajada y aumenta la sinéresis de la cuajada en la elaboración de queso Kareish (queso fresco). Esto puede explicarse porque el humo líquido tiene propiedades antimicrobianas que afectaron la actividad del cultivo iniciador *Streptococcus thermophilus* (Tateo *et al.*, 1995; Ismail *et al.*, 2015), debilitando la cuajada resultante. Es importante aclarar que todos los tratamientos tuvieron las mismas condiciones de proceso, por lo tanto, es posible que el tiempo de coagulación no fuera lo suficiente para el tratamiento H. Por otra parte, la formación del color café claro se debe por la reacción de Maillard, en la que los grupos amino de las proteínas del alimento reaccionan con los carbonilos del humo (Riha & Wendorff, 1993). Considerando lo mencionado anteriormente, se decidió eliminar de la investigación el tratamiento H y mantener la etapa de adición después de desuerar la cuajada tanto, para incorporar el humo líquido 1, como el humo líquido 2.

En la segunda etapa preliminar, tal como se observa en el Cuadro XI, no hay diferencias en el nivel de agrado entre el humo líquido 2 (H2) y el sorbato de potasio (S) por encima del nivel intermedio de 5, siendo este un resultado favorable para el tratamiento H2. Por lo tanto, podría inferirse que para la elaboración de queso fresco, la etapa de adición adecuada para el uso del humo líquido 1 y 2 es después de desuerar la cuajada. Este tipo

de adición (llamado fuera del ahumadero/adición interna) el producto tendrá sabor ahumado, pero no tendrá el característico color dorado superficial (Sánchez, 2017), siendo beneficioso para este tipo de producto lácteo. Además, es importante mencionar que el humo líquido 2 contiene menor cantidad de grupos carbonilos en comparación al humo líquido 1, por lo que no impacta tanto en el color (Lizama, 2012).

6.2. Pruebas definitivas

6.2.1. Efecto de uso del compuesto comercial, dos humos líquidos y sorbato de potasio en queso fresco sobre el agrado sensorial.

Los resultados de la prueba de agrado sensorial informal de cinco muestras de queso fresco, compuesto comercial (CC), humo líquido 1 (H1), humo líquido 2 (H2), sorbato de potasio (S) y tratamiento control (sin preservante) (C) evaluadas en el día 2 y día 8 de almacenamiento, se muestran en el Cuadro XII. Cada tratamiento se aplicó en la etapa posterior al desuerado de la cuajada.

Cuadro XII. Valores de probabilidad asociada a los factores simples: día de almacenamiento y tratamiento, contemplados en el ANDEVA del análisis sensorial de agrado general de queso fresco.

Fuente	Valor de p
Día	0,6824
Tratamiento	< 0,0001*

Nota: *Una probabilidad ($p < 0,05$) indica que existe una diferencia significativa entre las medias de los datos.

De manera preliminar, se observa que el factor "Día" no tiene un efecto significativo sobre el nivel de agrado general, es decir, para los panelistas, los quesos frescos no presentan variaciones en el nivel de agrado en el día 2 y el día 8 de almacenamiento. Por otro lado, sí se observan diferencias significativas entre los tratamientos de queso fresco sobre el nivel de agrado general de los panelistas ($p < 0,05$).

En el Cuadro XIII se muestran los resultados del análisis de comparación de medias para el factor "Tratamiento".

Cuadro XIII. Nivel de agrado general promedio de los panelistas para las cinco muestras de queso fresco.

Tratamiento	Nivel de agrado general
S	7,26 ^a
H1	6,28 ^b
H2	6,16 ^b
C	6,14 ^b
CC	5,38 ^b

Nota: Valores representados por el promedio de 50 evaluaciones de cada tratamiento. Letras diferentes muestran diferencias significativas entre los tratamientos de queso fresco, obtenidas de una prueba de Tukey con un nivel de significancia de 0,05.

De manera preliminar, según la comparación de medias, se encontró que existe una diferencia en el nivel de agrado general entre el tratamiento S y el resto de tratamientos. Con respecto al CC, esto puede deberse a que, algunos autores caracterizan el sabor del queso fresco como “insípido” (Ramírez *et al.*, 2017) y con un “leve sabor a leche” (Clark *et al.*, 2009), por consiguiente, la presencia de sabores ácidos o amargos resultan más evidentes para el consumidor de este tipo quesos. Por lo tanto, es posible notar que el consumidor de queso fresco prefiere un producto con un aditivo que no altera su sabor ni olor, como lo es el sorbato de potasio. El CC generó un sabor amargo poco aceptado en el queso, mientras que el H1 y H2 generaron un leve sabor residual (ácido y amargo). Si bien el tratamiento control (sin preservante) no genera un queso fresco con sabor residual, para los consumidores el queso con sorbato de potasio presentó mejores características sensoriales, ya que se percibió en mayor medida, un “sabor lácteo” en el producto final.

De acuerdo con los resultados obtenidos, la empresa podría ofrecer los aditivos de origen natural (CC, H1 y H2) al sector artesanal como una alternativa natural para la conservación de los quesos frescos, ya que parece no generar un rechazo por parte del consumidor, al no haber diferencias en el nivel de agrado general respecto al queso control. No obstante, es importante resaltar que, se debe hacer la evaluación sensorial con una muestra de consumidores mayor (> 100 consumidores de queso fresco) para darle validez estadística a este resultado (O' Sullivan, 2017) y poder tener certeza de si hay realmente o no diferencias significativas de los tratamientos CC, H1 y H2, con respecto al sorbato de potasio y queso control.

6.2.2. Efecto de uso del compuesto comercial, dos humos líquidos y sorbato de potasio en queso fresco, sobre sus propiedades fisicoquímicas y microbiológicas.

6.2.2.1. Análisis fisicoquímico

Se determinaron algunos de los parámetros fisicoquímicos principalmente utilizados para evaluar la calidad y estabilidad del queso fresco como producto final (Ramírez & Vélez, 2012).

Los resultados del análisis estadístico de la caracterización fisicoquímica de las muestras de queso fresco se muestran en el Cuadro XIV.

Cuadro XIV. Valor de probabilidad asociada al factor simple tratamiento, contemplado en el ANDEVA del análisis de actividad de agua en queso fresco.

Fuente	Valor de p
Tratamiento	0,0545

Nota: Una probabilidad ($p > 0,05$) indica que no existe una diferencia significativa entre las medias de los datos.

De acuerdo con análisis de varianza (ANDEVA), se observa que no hay diferencias significativas de actividad de agua (a_w) entre los tratamientos de queso fresco ($p > 0,05$; $1 - \beta = 1,0000$), resultado que queda evidenciado con la potencia de la prueba, debido que demuestra que el error tipo II (β) es cero. Es decir, se afirma el efecto no significativo de los tratamientos sobre la actividad de agua del producto final.

Los valores promedios de a_w para cada tratamiento se muestran en el Cuadro XV.

Cuadro XV. Actividad de agua (a_w) promedio para las cinco muestras de queso fresco.

Tratamiento	a_w
CC	0,9923 \pm 0,0011
H1	0,9917 \pm 0,0012
C	0,9914 \pm 0,0014
H2	0,9910 \pm 0,0016
S	0,9901 \pm 0,0021
Potencia (1- β)	1,0000

Nota: Valores representados por el promedio \pm desviación estándar.

Es posible observar que, en general, el valor promedio de a_w de las cinco muestras de queso se encuentran en el valor esperado para un queso no madurado, el cual se reporta un valor de 0,99 de actividad de agua (Fox, 1993; Arévalo, 2014). Estos valores altos de actividad de agua son característicos de los quesos frescos en general, e influyen directamente en el crecimiento microbiano, ya que bacterias, levaduras y mohos se desarrollan a $a_w > 0,85$, razón por el cual la vida útil de un queso fresco es corta (Arévalo, 2014).

De esta manera, se puede inferir, a partir de los resultados, que incorporar cualquiera de los aditivos en la formulación de queso fresco no afecta la actividad de agua (a_w) del producto final. Además, es importante mencionar que la concentración de cloruro de sodio para los cinco tratamientos de queso fue la misma (210 ± 28) mg/100 g, por lo tanto, era de esperar que la adición de este ingrediente influyera en la actividad de agua de todas las muestras por igual. Dado los valores de a_w , es indispensable el cumplimiento de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y control de la refrigeración ($T=0-5^\circ\text{C}$) (RTCR, 2008) en el transporte y el almacenamiento de los quesos frescos, como barrera de control del crecimiento microbiológico.

Los resultados del análisis de pH de las muestras de queso fresco, evaluadas durante el almacenamiento de 15 días ($T=0-5^\circ\text{C}$), se muestran en el Cuadro XVI.

Cuadro XVI. Valores de probabilidad asociada a los factores simples: día de almacenamiento, tratamiento e interacción tratamiento*día de almacenamiento, contemplados en el ANDEVA del análisis de pH en queso fresco.

Fuente	Valor de p
Día	< 0,0001*
Tratamiento	< 0,0001*
Tratamiento*Día	0,0886

Nota: *Una probabilidad ($p < 0,05$) indica que existe una diferencia significativa entre las medias de los datos.

En el Cuadro XVII y Cuadro XVIII, se muestran los resultados del análisis de comparación de medias para el factor “Día” y el factor “Tratamiento” respectivamente.

Cuadro XVII. pH promedio de los quesos frescos en los tres tiempos de almacenamiento.

Día	pH
2	6,42 ± 0,14 ^a
8	6,32 ± 0,20 ^b
15	6,28 ± 0,21 ^b

Nota: Valores representados por el promedio ± desviación estándar. Letras diferentes muestran que hay diferencias significativas entre los días de almacenamiento del queso fresco, obtenidas de una prueba de Tukey con un nivel de significancia de 0,05.

Cuadro XVIII. pH promedio de las cinco muestras de queso fresco.

Tratamiento	pH
H1	6,47 ± 0,07 ^a
C	6,45 ± 0,08 ^a
CC	6,40 ± 0,13 ^a
S	6,23 ± 0,26 ^b
H2	6,14 ± 0,10 ^c

Nota: Valores representados por el promedio ± desviación estándar. Letras diferentes muestran que hay diferencias significativas entre los tratamientos de queso fresco, obtenidas de una prueba de Tukey con un nivel de significancia de 0,05.

De acuerdo con los resultados del análisis de comparación de medias para el factor “Día” (Cuadro XVII), en general hay una variación en el pH del queso fresco del día 2 al día 15 de almacenamiento (T=0-5°C). Al día 15, el queso presentó un menor valor promedio de pH, sin embargo, no es significativamente diferente al día 8. El descenso de los valores de pH durante el almacenamiento del queso fresco es normal, debido a la producción de ácidos, resultado del metabolismo de los microorganismos presentes en el queso. Por ejemplo, ácidos orgánicos de cadena corta (fórmico, acético, láctico), tienen una acción bactericida para algunas bacterias (Arévalo, 2014). Además, se atribuye al crecimiento de bacterias ácido lácticas y a la evaporación de agua en la matriz del queso, lo que contribuye al incremento de la acidez (Osman *et al.*, 2008).

El Cuadro XVIII permite observar de acuerdo con los resultados del análisis de comparación de medias para el factor “Tratamiento” que hay una diferencia significativa entre los dos humos líquidos (H1 y H2) sobre el pH del queso fresco, cuyo resultado es el esperado, ya que según sus características ambos difieren en cuanto a acidez. De modo que la aplicación de H2 en la formulación de queso fresco genera un mayor valor promedio

de pH en el producto final, mientras que la aplicación de H1 genera menor valor promedio de pH.

Se puede observar que hay un efecto significativo con respecto al sorbato de potasio (S), al incorporar cualquiera de los aditivos evaluados (H1, CC y H2) sobre el pH. Sin embargo, a pesar de estas diferencias, los valores promedio se encuentran dentro del rango normal de pH establecido para queso fresco, el cual se ha reportado entre 5,60 y 6,40 (Ramírez & Vélez, 2012). Por lo tanto, adicionar cualquiera de los aditivos en la formulación de queso fresco no causa una variación considerable en el grado de acidez o alcalinidad del producto final, bajo condiciones de refrigeración ($T=0-5^{\circ}\text{C}$).

Los resultados del análisis de desuerado de las muestras de queso fresco, evaluadas durante el almacenamiento de 15 días ($T=0-5^{\circ}\text{C}$), se muestran en el Cuadro XIX.

Cuadro XIX. Valores de probabilidad asociada a los factores simples: día de almacenamiento, tratamiento e interacción tratamiento*día de almacenamiento, contemplados en el ANDEVA del análisis de desuerado en queso fresco.

Fuente	Valor de p
Día	< 0,0001*
Tratamiento	< 0,0001*
Tratamiento*Día	0,5461

Nota: *Una probabilidad ($p<0,05$) indica que existe una diferencia significativa entre las medias de los datos.

Asimismo, en el caso del análisis de desuerado, el análisis de varianza (ANDEVA) determinó que hay efecto significativo del tratamiento y del día de almacenamiento ($p<0,05$), pero no de la interacción tratamiento*día de almacenamiento ($p>0,05$).

En el Cuadro XX y Cuadro XXI, se muestran los resultados del análisis de comparación de medias para el factor "Día de almacenamiento" y el factor "Tratamiento", respectivamente.

Cuadro XX. Porcentaje promedio de pérdida de masa por suero (%) de los quesos frescos en los tres tiempos de almacenamiento.

Día	Porcentaje pérdida de suero (%)
2	2,70 ± 1,39 ^c
8	5,13 ± 2,27 ^b
15	8,19 ± 2,62 ^a

Nota: Valores representados por el promedio ± desviación estándar. Letras diferentes muestran que hay diferencias significativas entre los días de almacenamiento del queso fresco, obtenidas de una prueba de Tukey con un nivel de significancia de 0,05.

Cuadro XXI. Porcentaje promedio de pérdida de masa por suero (%) de las cinco muestras de queso fresco.

Tratamiento	Porcentaje pérdida de suero (%)
C	7,35 ± 3,14 ^a
H2	5,36 ± 3,31 ^b
CC	5,16 ± 3,15 ^b
H1	4,47 ± 2,33 ^b
S	4,36 ± 2,77 ^b

Nota: Valores representados por el promedio ± desviación estándar. Letras diferentes muestran que hay diferencias significativas entre los tratamientos de queso fresco, obtenidas de una prueba de Tukey con un nivel de significancia de 0,05.

En el Cuadro XX se observa que, en general, hay una variación de la pérdida de suero promedio del queso fresco del día 2 al día 15 de almacenamiento (T=0-5°C). Para este tipo de producto lácteo, dicho comportamiento era el esperado. En el estudio de Osman *et al.* (2008), señalaron que el incremento en la pérdida de peso durante el almacenamiento del queso blanco sudanés, posiblemente se debe al continuo movimiento del agua en la matriz de estos productos y al descenso de pH (entre más iones H⁺ concentrados en el queso, mayor sinéresis) (Ramírez & Vélez, 2012).

Por otro lado, de acuerdo con los resultados del análisis de comparación de medias para el factor "Tratamiento", en el Cuadro XXI es posible observar que no hay diferencias significativas en el porcentaje promedio de pérdida de masa por suero en el queso fresco, al incorporar en la formulación de este producto el H2, CC, H1 y S. De acuerdo con los valores de pH de los quesos frescos, era de esperar que los tratamientos con menores valores de pH (S y H2) mostraran mayores porcentajes de pérdida de suero, sin embargo,

el control (C) fue el tratamiento con mayor desuerado. En esta investigación, la relación directa entre pH y el desuerado de los quesos no se evidenció. No obstante, la aplicación de cualquiera de los aditivos evaluados propicia un desuerado significativamente menor en el producto final, respecto a un queso sin preservante (queso control).

6.2.2.2. Análisis microbiológico

A continuación, se muestran los resultados del análisis estadístico de tres diferentes análisis microbiológicos asociados al deterioro del queso fresco (recuento de bacterias ácido lácticas, recuento de mohos y levaduras, y recuento de bacterias psicrófilas) para cinco muestras de queso, evaluadas durante el almacenamiento de 15 días ($T=0-5^{\circ}\text{C}$).

Los resultados obtenidos del análisis de bacterias ácido lácticas se muestran en el Cuadro XXII.

Cuadro XXII. Valores de probabilidad asociada a los factores simples: día de almacenamiento, tratamiento e interacción tratamiento*día de almacenamiento, contemplados en el ANDEVA del análisis de bacterias ácido lácticas en queso fresco.

Fuente	Valor de p
Día	0,8960
Tratamiento	0,9003
Tratamiento*Día	0,4145

Nota: Una probabilidad ($p>0,05$) indica que no existe una diferencia significativa entre las medias de los datos.

De acuerdo con la potencia de la prueba ($1 - \beta=1,0000$), se demuestra que el error tipo II (β) es cero. Es decir, se afirma el efecto no significativo de los tres factores en cuestión sobre el recuento de bacterias ácido lácticas.

En el Cuadro XXIII y Cuadro XXIV, se muestran los recuentos promedio de bacterias ácido lácticas para cada "Día de almacenamiento" y "Tratamiento" respectivamente.

Cuadro XXIII. Recuento promedio de bacterias ácido lácticas (log UFC/g) de los quesos frescos en los tres tiempos de almacenamiento.

Día	Recuento (log UFC/g)
2	3,88 ± 0,51
8	3,66 ± 0,45
15	3,88 ± 0,72
Potencia (1- β)	1,0000

Nota: Valores representados por el promedio ± desviación estándar.

Cuadro XXIV. Recuento promedio de bacterias ácido lácticas (log UFC/g) para las cinco muestras de queso fresco.

Tratamiento	Recuento (log UFC/g)
H2	3,90 ± 0,48
S	3,83 ± 0,75
CC	3,79 ± 0,79
H1	3,78 ± 0,30
C	3,73 ± 0,50
Potencia (1- β)	1,0000

Nota: Valores representados por el promedio ± desviación estándar.

En el Cuadro XXIII se puede observar que hubo un efecto bacteriostático sobre las bacterias ácido lácticas (BAL) en el queso fresco, ya que del día 2 al día 15 de almacenamiento, las poblaciones permanecen constantes. El queso fresco es un queso no fermentado, por lo que no se espera tener un índice elevado de bacterias ácido lácticas (Clavel-Maqueda, 2006). Sin embargo, durante el almacenamiento, su desarrollo se atribuye a las condiciones de conservación, ya que son consideradas bacterias microaerófilas y psicrófilas (Ramírez *et al.*, 2011). Es decir, pueden desarrollarse en ambientes con muy poco contenido de oxígeno, como el que se pudo generar mediante el empacado al vacío, y en condiciones de refrigeración. No obstante, en este estudio los resultados obtenidos para el queso fresco sobre este microorganismo fueron favorables, ya que recuentos superiores a 6 log UFC/g se consideran niveles elevados de BAL (Clavel-Maqueda, 2006; González-Montiel & Franco-Fernández, 2015).

Debido a que el tratamiento control (C) (sin preservante) presentó el mismo comportamiento que el resto de tratamientos, se puede inferir que el efecto protector proviene principalmente de la adición del cultivo iniciador *Streptococcus thermophilus* y no

de los aditivos en cuestión. Por lo tanto, es importante resaltar que en este estudio las bacterias ácido lácticas no son el indicador microbiológico que define la vida útil de estos quesos frescos, porque independientemente del tiempo de almacenamiento y del tratamiento, no se llegan a alcanzar niveles inaceptables de BAL, superiores a los 6 log UFC/g.

Los resultados obtenidos del análisis de mohos y levaduras se muestran en el Cuadro XXV.

Cuadro XXV. Valores de probabilidad asociada a los factores simples: día de almacenamiento, tratamiento e interacción tratamiento*día de almacenamiento, contemplados en el ANDEVA del análisis de mohos y levaduras en queso fresco.

Fuente	Valor de p
Día	< 0,0001*
Tratamiento	0,4377
Tratamiento*Día	0,7647

Nota: *Una probabilidad ($p < 0,05$) indica que existe una diferencia significativa entre las medias de los datos.

El análisis de varianza (ANDEVA) mostró un efecto significativo del día de almacenamiento ($p < 0,05$), pero no así del tratamiento ($p > 0,05$, $1 - \beta = 1,0000$), ni de la interacción de tratamiento*día de almacenamiento ($p > 0,05$). Asimismo, con la potencia de la prueba se demuestra que el error tipo II (β) es cero, el efecto no significativo de los tratamientos sobre el recuento de mohos y levaduras se afirma.

En el Cuadro XXVI se muestran los resultados del análisis de comparación de medias para el factor "Día de almacenamiento".

Cuadro XXVI. Recuento promedio de mohos y levaduras (log UFC/g) de los quesos frescos en los tres tiempos de almacenamiento.

Día	Recuento (log UFC/g)
2	1,47 \pm 0,39 ^c
8	3,06 \pm 0,98 ^b
15	4,37 \pm 0,98 ^a

Nota: Valores representados por el promedio \pm desviación estándar. Letras diferentes muestran que hay diferencias significativas entre los días de almacenamiento de queso fresco, obtenidas de una prueba de Tukey con un nivel de significancia de 0,05.

En el Cuadro XXVII se muestran los recuentos promedio de mohos y levaduras para cada "Tratamiento".

Cuadro XXVII. Recuento promedio de mohos y levaduras (log UFC/g) para las cinco muestras de queso fresco.

Tratamiento	Recuento (log UFC/g)
C	3,39 ± 1,71
S	2,97 ± 1,33
CC	2,84 ± 1,32
H2	2,82 ± 1,45
H1	2,81 ± 1,66
Potencia (1- β)	1,0000

Nota: Valores representados por el promedio ± desviación estándar.

En el Cuadro XXVI se observa que los quesos frescos presentan variaciones en el crecimiento de mohos y levaduras en cada tiempo de almacenamiento (T=0-5°C). Tal como lo menciona Mohammed *et al.*, (2019), el recuento de mohos y levaduras de queso blando inferior a 3 log UFC/g es aceptable según lo prescrito por la Norma Internacional Microbiológica para la Inocuidad de los Alimentos. Sin embargo, los resultados obtenidos en esta investigación muestran que el queso fresco supera este límite máximo recomendable en el día 8 de almacenamiento, esto lleva a que el queso fresco ya no sea apto para su comercialización en este día. Asimismo, se puede observar en Cuadro XXVII que, incorporar cualquiera de los aditivos en la formulación de queso fresco no causa un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de mohos y levaduras, ya que superan los 3 log UFC/g.

Según estudios, el crecimiento de mohos y levaduras está relacionado con una disminución en la vida de anaquel del queso fresco. Estos microorganismos, pueden llegar a contaminar los alimentos por diversas vías durante su elaboración. Por ejemplo, se caracterizan por trasladarse en el aire a través del ambiente, por lo que llegan a atacar principalmente alimentos con alto contenido de humedad y ricos en nutrientes, como es el caso del queso fresco (Estrada & Bernabé, 2019). Además, el crecimiento de levaduras en queso se ve positivamente influenciado por la presencia de lactosa residual no fermentada por las bacterias ácido lácticas (Frank, 1997; Palacios, 2006).

En la literatura, no se encontraron estudios de almacenamiento que reporten el recuento de mohos y levaduras para un queso fresco con sorbato de potasio. La acción

antimicrobiana del sorbato de potasio se incrementa cuando el pH disminuye ($< 6,5$). Es más efectivo como conservante cuando el alimento tiene pH entre 5,5 y 6,0, sin embargo, su acción incrementa al encontrarse en niveles de acidez aún mayores (Orellana, 2002). Por esta razón, en este estudio de almacenamiento, valores de pH superiores a 6,0 en queso fresco explican la baja efectividad del sorbato de potasio contra el crecimiento de mohos y levaduras. El incremento de la actividad inhibidora del sorbato a bajos valores de pH es atribuido a su influencia en la no disociación del ácido presente en el sustrato, de tal manera que la mayor actividad antimicrobiana se encuentra en la forma no disociada (Méndez & Cobaleda, 2018).

Los resultados obtenidos del análisis de bacterias psicrófilas se muestran en el Cuadro XXVIII.

Cuadro XXVIII. Valores de probabilidad asociada a los factores simples: día de almacenamiento, tratamiento e interacción tratamiento*día de almacenamiento, contemplados en el ANDEVA del análisis de bacterias psicrófilas en queso fresco.

Fuente	Valor de p
Día	$< 0,0001^*$
Tratamiento	0,0184*
Tratamiento*Día	0,8120

Nota: *Una probabilidad ($p < 0,05$) indica que existe una diferencia significativa entre las medias de los datos.

Con respecto al análisis de bacterias psicrófilas, el análisis de varianza (ANDEVA) mostró un efecto significativo del día de almacenamiento y del tratamiento ($p < 0,05$), mientras que no hay efecto significativo de la interacción de tratamiento*día de almacenamiento ($p > 0,05$).

En el Cuadro XXIX y Cuadro XXX, se muestran los resultados del análisis de comparación de medias para el factor “Día de almacenamiento” y el factor “Tratamiento” respectivamente.

Cuadro XXIX. Recuento promedio de bacterias psicrófilas (log UFC/g) de los quesos frescos en los tres tiempos de almacenamiento.

Día	Recuento (log UFC/g)
2	1,40 ± 0,70 ^c
8	5,00 ± 1,39 ^b
15	7,06 ± 1,27 ^a

Nota: Valores representados por el promedio ± desviación estándar. Letras diferentes muestran que hay diferencias significativas entre los días de almacenamiento de queso fresco, obtenidas de una prueba de Tukey con un nivel de significancia de 0,05.

Cuadro XXX. Recuento promedio de bacterias psicrófilas (log UFC/g) para las cinco muestras de queso fresco.

Tratamiento	Recuento (log UFC/g)
C	5,06 ± 2,81 ^a
S	4,80 ± 2,79 ^{ab}
CC	4,68 ± 2,66 ^{ab}
H2	4,31 ± 2,66 ^{ab}
H1	3,58 ± 2,56 ^b

Nota: Valores representados por el promedio ± desviación estándar. Letras diferentes muestran que hay diferencias significativas entre los tratamientos de queso fresco, obtenidas de una prueba de Tukey con un nivel de significancia de 0,05.

En el Cuadro XXIX se indica que hay una variación general de las poblaciones de bacterias psicrófilas en el queso fresco en cada tiempo de almacenamiento (T=0-5°C), sin dependencia del aditivo utilizado. Cuando la población de bacterias psicrófilas alcanza de 10⁶-10⁷ UFC/mL en leche, puede haber implicaciones en la calidad de los productos elaborados con esta materia prima (Novoa & Restrepo, 2007). Esto se debe a que muchas bacterias psicrófilas son destruidas en la pasteurización de la leche, sin embargo, algunas tienen el potencial para producir enzimas proteolíticas y lipolíticas termoestables, por lo que permanecen activas. Es posible observar que el queso fresco alcanza un nivel inaceptable de bacterias psicrófilas antes del día 8 de almacenamiento, con un recuento promedio mayor a 6 log UFC/g.

Se puede observar en Cuadro XXX que ninguno de los tratamientos tuvo un efecto inhibitor sobre las bacterias psicrófilas, ya que todas las muestras de queso superaron los 6 log UFC/g aceptables. De acuerdo con los resultados del análisis de comparación de medias, el tratamiento H1 presentó una menor carga microbiana respecto a los demás

tratamientos. Sin embargo, este no muestra diferencias significativas con el tratamiento S, CC, y H2, pero sí muestra una diferencia significativa sobre el crecimiento de bacterias psicrófilas con el tratamiento control (C). La acción de los humos líquidos se puede explicar por la cantidad de grupos carbonilos presentes en cada uno, los cuales secuestran nutrientes, inactivando o inmovilizando enzimas bacterianas extracelulares para el metabolismo y modificando el sustrato, ya que las deja incapacitadas para su acción enzimática (Milly, 2003; Lizama, 2012). Además, los carbonilos penetran la pared de la célula, inactivando las enzimas localizadas en el citoplasma y membrana citoplasmática (Lizama, 2012).

Debido al comportamiento de los tratamientos evaluados sobre el crecimiento de mohos, levaduras y de bacterias psicrófilas, en este estudio se delimita la vida útil del queso fresco entre el día 2 y día 8 de almacenamiento ($T=0-5^{\circ}\text{C}$), aún cuando en el estudio las características fisicoquímicas estuvieran dentro de los parámetros aceptados para queso fresco.

6. CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos en esta investigación se concluye lo siguiente:

- Preliminarmente, incorporar cualquiera de los aditivos de origen natural (H1, H2 y CC) en la formulación de queso fresco tiene diferencias en el nivel de agrado general frente al queso fresco con sorbato de potasio (S); el queso S fue el tratamiento de mayor agrado general por parte de los consumidores.
- Preliminarmente, no se observa efecto del día de almacenamiento del queso fresco sobre el nivel de agrado.
- Adicionar cualquiera de los aditivos evaluados (CC, H1, H2 o S) en la formulación de queso fresco no afecta la actividad de agua (a_w) ni el pH del producto final, valores promedio de a_w y pH se encuentran dentro del valor esperado.
- La aplicación de cualquiera de los aditivos evaluados (CC, H1, H2 o S) produce un desuerado del queso fresco significativamente menor ($p < 0,05$) frente al tratamiento control (C).
- Ninguno de los aditivos evaluados tiene un efecto inhibitorio sobre las bacterias ácido lácticas.
- En este estudio, la vida útil del queso fresco se delimita con el crecimiento de mohos y levaduras y de bacterias psicrófilas; la vida útil de este producto se encuentra entre el día 2 y día 8 de almacenamiento ($T=0-5^{\circ}\text{C}$).

7. RECOMENDACIONES

- Se recomienda a la empresa vinculada aumentar el tamaño de muestra, a más de 100 consumidores de queso fresco, para aplicar la prueba sensorial de agrado general. Esto permitiría interpretar estadísticamente si existen diferencias significativas o no entre el nivel de agrado de los tratamientos de quesos frescos durante su almacenamiento, mediante el análisis de varianza (ANDEVA).
- Se recomienda a la empresa realizar un estudio de vida útil a los quesos frescos con los aditivos utilizados con mayor cantidad de muestreos entre el día 2 y día 8 de almacenamiento, para corroborar cuál es la fecha de vencimiento de los tratamientos. Esto para recomendar a los productores nacionales conservar el queso fresco en un tiempo establecido, bajo condiciones de refrigeración ($T=0-5^{\circ}\text{C}$) y empacado al vacío.
- Los resultados del efecto preservante de los aditivos estudiados se ven influenciados por muchos factores intrínsecos y extrínsecos en la fabricación del queso fresco. Por esta razón, se recomienda mantener bajo control los parámetros de proceso, desde la recepción de materias primas hasta el almacenamiento del producto terminado, puesto que el efecto inhibitor de los conservantes sobre microorganismos debe estar acompañado de las Buenas Prácticas de Manufactura.

8. BIBLIOGRAFÍA

- AGUSTINELLI, S. 2014. Estudio del proceso de ahumado frío de filetes de caballa (*Scomber japonicus*). Evaluación y modelado de parámetros tecnológicos. Trabajo final para optar por el grado académico de Doctor en Ingeniería. Argentina. Universidad Nacional de la Plata.
- ÁLVAREZ, O., HERMAN, C., CASTRO, M., CAYRÉ, M., & GARRO, O. 2014. Evaluación de la capacidad bioprotectora de *Lactobacillus sakei* en productos cárnicos cocidos. Investigaciones y avances en microbiología de los alimentos. Córdoba: Ministerio de Industria, Comercio, Minería y Desarrollo Científico Tecnológico. 4-12.
- AMADOR, A. 2015. Entendamos al consumidor de hoy: ¿Se ha visto impactada la industria por los ajustes en los hábitos de consumo del país?. 21° Congreso Nacional Lechero. Costa Rica.
- AXELSSON, L. T. 1998. Lactic acid bacteria: classification and physiology. In: SALMINEN, S.; VON WRIGHT, A. Lactic acid bacteria, microbiology and functional aspects. 2nd. ed. New York: Marcel Dekker.
- AOAC INTERNATIONAL OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS. 2005. Method 991.12 Coliform and *Escherichia coli* counts in foods.
- AOAC INTERNATIONAL. 2012. Método 985.35 AOAC: Determinación de sodio mediante absorción atómica de llama. 19 ed. Official Methods of Analysis.
- ARCE, D. 2019. Evaluación del efecto biopreservante de la bacteria *Lactobacillus curvatus* B-LC-48 en el queso fresco. Trabajo final de graduación para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería en Tecnología de Alimentos. Costa Rica. Universidad Técnica Nacional.
- ARÉVALO, M. 2014. Determinación de la actividad de agua y pH y su relación en la actividad de microbiológica de queso que se expende en el mercado central de Machala, 2014. Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Ingeniera de Alimentos. Ecuador. Universidad Técnica de Machala.
- BADUI, D. S. 2006. Química de los alimentos. PEARSON Educación.
- BARQUERO, M. 2016. Costa Rica produce cerca de 100 tipos de quesos. La Nación, Costa Rica. Recuperado el 9 de enero del 2020 en: <https://www.nacion.com/economia/agro/costa-rica-produce-cerca-de-100-tipos-de-quesos/TXV5CGYTKNFVZG3YHCWVJXCOMQ/story/>

- BHATTARAI, S. 2019. Liquid smoke: production assembly design modification, preparation and evaluation. Nepal. Tribhuvan University.
- BOOR, K. J., BROWN, D. P., MURPHY, S. C., KOZLOWSKI, S. M., & BLANDER, D. K. 1988. Microbiological and Chemical Quality of Raw Milk in New York State. *J. Dairy Sci.* 81(6):1743-1748.
- CABALLERO, R. 2011. Producción y comercialización de quesos frescos. Tesis presentada para obtener el título de Ingeniero Industrial. Bogotá. Universidad de los Andes.
- CÁRDENAS, C. & MURILLO, M. 2018. Calidad Bacteriológica de la leche cruda en ganaderías de la provincia del Azuay. Tesis previa a la obtención del Título de Médico Veterinario Zootecnista. Ecuador. Universidad de Cuenca.
- CASTAÑEDA, C. 2013. Comparación de la escala hedónica de nueve puntos con la escala hedónica general de magnitud (gLMS) utilizada por personas de dos regiones de América Latina. Tesis para optar al título de Licenciatura en Ingeniería en Agroindustria Alimentara. Honduras. Escuela Agrícola Panamericana.
- CASTRO-CASTILLO, G., MARTÍNEZ-CASTAÑEDA, F. E., MARTÍNEZ-CAMPOS, A. R., & ESPINOZA-ORTEGA, A. 2013. Caracterización de la microbiota nativa del queso Oaxaca tradicional en tres fases de elaboración. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología.* 33(1): 105-109.
- CITA. 2014. Recuento de bacterias psicrófilas. P-SA-MM-015. Universidad de Costa Rica, San José.
- CITA. 2017. Recuento de mohos y levaduras. P-SA-MM-007. Universidad de Costa Rica, San José.
- CITA. 2018. Coliformes totales y *Escherichia coli* en Método Petrifilm. P-SA-MM-008. Universidad de Costa Rica, San José.
- CITA. 2019. Recuento de bacterias ácido lácticas. P-SA-MM-006. Universidad de Costa Rica, San José.
- CHIRIBOGA, G. 2018. Evaluación de la calidad microbiológica de cuajada ácida refrigerada para su uso en la agroindustria láctea. Tesis previa a la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial. Ecuador. Universidad Técnica del Norte.
- CLARK, S., COSTELLO, M., DRAKE, M., & BODYFELT, F. 2009. The sensory evaluation of Dairy products. 2ed. Springer.
- CLAVEL-MAQUEDA, M. 2006. Condiciones microbiológicas y aislamiento de bacterias lácticas en quesos artesanales del estado de Hidalgo. Tesis para optar por el título de Químico en Alimentos. Universidad Autónoma de Hidalgo, México.

- CODEX ALIMENTARIUS. 2011. Leche y Productos Lácteos. FAO y OMS. Recuperado el 17 de marzo del 2020 en: <http://www.fao.org/3/a-i2085s.pdf>
- CORONADO, E., & ESPITIA, R. 2015. Estudio del efecto de una película antimicrobiana en la vida útil del queso costeño. Informe final presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero de Alimentos. Colombia. Universidad de Córdoba.
- DA SILVA, N., HIROMI, M., AMSTALDEN, V., DE ARRUDA, N., MIDORI, M., & ROMEIRO, R. 2013. Microbiological Examination Methods of food and water. Taylor & Francis Group, London, UK.
- DEL CID, A. 2017. Comparación de la vida útil de un queso fresco procesado sin conservadores y quesos frescos con recubrimientos comestibles de quitosano y aceites esenciales. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- ESTRADA, C., & BERNABÉ, R. 2019. Identificación de la calidad sanitaria de leche cruda y queso fresco en el municipio de Loma Bonita, Oaxaca, México. Temas de Ciencias y Tecnología. 23 (68): 23-31.
- ESTRELLA, G. 2013. Monitoreo de la calidad e inocuidad durante el almacenamiento de queso fresco elaborado artesanalmente en las parroquias rurales del cantón Riobamba. Tesis de grado previa la obtención del título de Bioquímico Farmacéutico. Ecuador. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- FALLAS, P. 2015. Caracterización sensorial del queso típico Turrialba fresco con sello de denominación de origen. Trabajo final de graduación para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería de Alimentos. Costa Rica. Universidad de Costa Rica.
- FAO. 2011. Situación de la Lechería en América Latina y el Caribe en 2011. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Recuperado el 9 de enero del 2020 en: http://www.fao.org/fileadmin/templates/est/COMM_MARKETS_MONITORING/Dairy/Documents/Paper_Lechería_AmLatina_2011.pdf
- FAO & OMS. 2018. Norma General del Codex para el queso. Norma Codex Standard 283-1978. Estados Unidos.
- FRANK, J. F. 1997. Milk and dairy products. Food Microbiology. Fundamentals and Properties. ASM Press. Washington.
- GARCÍA, P., RODRÍGUEZ, L., RODRÍGUEZ, A., MARTÍNEZ, B. 2010. Food biopreservation: promising strategies using bacteriocins, bacteriophages and endolysins. Trends in Food Sci & Technol. 21: 373-382.

- GARCÍA, M., CORTÉS, M., SOLANO, M., RODRÍGUEZ, V., SÁNCHEZ, L.A. 2011. Estudio técnico para la construcción y operación de una planta para el acopio, industrialización y comercialización de queso Palmito y derivados por Coopeagrovega R.L. Universidad de Costa Rica. Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CITA). Centro de Investigación en Economía Agrícola y Desarrollo Empresarial (CIEDA). San José.
- GONZÁLEZ-MONTIEL, L., & FRANCO-FERNÁNDEZ, M. 2015. Perfil microbiológico del queso de aro consumido en la Cañada Oaxaqueña. *Brazilian Journal of Food Technology*. 18 (3): 250-257.
- GRANADOS, L., & ÁLVAREZ, C. 2007. Estudio técnico de la denominación de origen del queso Turrialba para su inscripción en el Registro de la Propiedad Industrial Costarricense. Costa Rica.
- ICMSF. 2000. *Microorganisms in foods: microbial ecology of food commodities*. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland.
- IDF. 1993. Spoilage and pathogenic bacteria in milk based products. In recommendations for the hygienic manufacture of milk and milk-based products. Appendix1. *Bulletin*. 292(1): 28.29.
- INDUSTRIA Y ALIMENTOS. 2016. Cultivos Lácticos: Oportunidades para la Industria. *Revista Industria y Alimentos*. 70(1): 18-21.
- ISMAIL, M., EI-TAHRA, A., EI-METWALLY, R. 2015. Effect of adding liquid smoke or powder to skim milk on some properties of the resultant Kareish cheese. *Egyptian J. Dairy Sci.* (Supplement, presented in the 12th Egyptian Conference for Dairy Science & Technology). Cairo, Egypt. pp 141-156.
- ILICIC, M., MILANOVIC, S., CARIC, M., LAZIC, V., LONCAR, E., MALBASA, R., KANURIC, K., & HROMIS, N. 2016. Application of common packaging materials in the probiotic fresh cheese production. 66(2):91-98.
- HIDALGO, D & OLMEDO, M. 2017. Efecto de dos conservantes orgánicos (ácidos cítricos y acético) en las características fisicoquímicas de las carnes crudas de res y cerdo. Trabajo de Titulación en Ingeniería de Alimentos. Ecuador. Universidad Laica "Eloy Alfaro" de Manabí.
- HUTKINS, R., & GOH, Y.J. 2014. Streptococcus | Streptococcus Thermophilus. *Encyclopedia of Food Microbiology* 2(3). Elsevier.
- LAGUNES-OLIVARES, F., AVILA-BADILLO, F., GUERRERO-CASTILLO, J., & ESTRADA-GARCÍA, I. 2017. Propiedades Coagulantes de la Ortiga (*Cnidocolus Multilobus*) en productos lácteos. *Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias*. 4(10):10-12.

- LAWLESS, HT., & HEYMAN, H. 2010. Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices. 2a ed. Springer, Estados Unidos.
- LEDENBACH, L. H., & MARSHALL, R. T. 2010. Microbiological spoilage of dairy products. Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages. Springer New York.
- LIM, J. 2011. Hedonic scaling: A review of methods and theory. Food Quality and Preference. Department of Food science and technology.
- LIZAMA, L. 2012. Efecto del uso de dos humos líquidos en las características físicas, químicas, sensoriales y microbiológicas del chorizo Parrillero. Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero en Agroindustria Alimentaria en el Grado Académico de Licenciatura. Zamorano, Honduras.
- LOOR, J. 2017. Aplicación de un conservante natural elaborado a base de aceites esenciales para alargar la vida útil de nata y trufa utilizados como rellenos de pastelería. España. Universidad Autónoma de Barcelona.
- LÓPEZ, M. 2004. Mejoramiento de vida anaquel en queso tradicional ranchero y queso de pasta hilada (Oaxaca). Tesis para optar el grado de Maestra en Ciencia y Tecnología de los alimentos. México. Universidad Iberoamericana.
- LÓPEZ, I. 2010. Propiedades físico-químicas, texturales y sensoriales del queso elaborado en el municipio de Vega de Alatorre, Ver., y su relación con algunas características del queso de La Joya, Ver. Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias Alimentarias. México. Universidad Veracruzana.
- LÓPEZ, S. 2020. Aplicación de nuevas metodologías de análisis sensorial con imágenes. Trabajo final de Maestría en Calidad, Desarrollo e Innovación de Alimentos. España. Universidad de Valladolid
- LOVO, F. 2018. Procesamiento innovador de pescado ahumado para la exportación de la Cooperativa ACPETAMAR de R.L. de Sonsonate. El Salvador. Universidad de el Salvador.
- LU, N., SHIRASHOJI, N. & LUCEY, J. 2008. Effects of pH on the textural properties and meltability of pasteurized process cheese made with different types of emulsifying salts. Food Engineering and Physical Properties. 73(8): 363-369.
- LÜCK, E., JAGER, M., RACZEK, N. 2011. Sorbic acid. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, 7 Ed. John Wiley and Sons, Alemania.
- MAYORGA, R. 1992. Aspectos en la elaboración de queso fresco. Revista de Tecnología y Ciencia Alimentaria. 1(1):17-27.

- MEDINA, Z., LEÓN, Y., DELMONTE, M., FERNÁNDEZ, P., SILVA, R., & SALCEDO, A. 2014. Mohos y levaduras en queso artesanal semiduro expandido en la ciudad de Maracaibo, estado Zulia, Venezuela. *Ciencia*. 22(4): 197-204.
- MEISELMAN, H.L., & Schutz, H.G.2002. History of food acceptance research in the US Army. *Appetite*. 40(3):199-216.
- MERKAZI, M. 2018. Riesgos microbiológicos de los quesos artesanos de leche cruda. Trabajo final de grado Ingeniería Alimentaria. Barcelona. Universidad Politécnica de Catalunya.
- MILLY, P. 2003. Antimicrobial properties of liquid smoke fractions. A Thesis Submitted to the Graduate Faculty of The University of Georgia in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree Master of Science. Athens, Georgia.
- MIRANDA, G. 2003. Influencia de la temperatura, el envase y la atmosfera en la conservación de uvas pasas y de albaricoques deshidratados. Tesis previa a la obtención del grado de Doctor en Ciencias Química. España. Universidad de Valencia.
- MOHAMMED, S., ESHETU, M., TADESSE, Y., & HAILU, Y. 2019. Rheological Properties and Shelf Life of Soft Cheese Made from Camel Milk Using Camel Chymosin. *Dairy & Veterinary Science*. 10(4): 555794. DOI: 10.19080/JDVS.2019.10.555794
- MORENO, E. 2003. Método alternativo con humo líquido para la producción de pollo ahumado. Ecuador. Universidad de Guayaquil.
- MORTENSEN, G., SORENSEN, J., & STAPELDELDT, H. 2002. Effect of light and oxygen transmission characteristics of packaging materials on photo-oxidative quality changes in semi-hard Havarti cheeses. *Packaging Technology and Science*. 15(3): 121-127.
- NÁJERA, R. 2019. Evaluación del efecto de concentración de proteína en la materia prima para la elaboración de queso fresco sobre las características fisicoquímicas, la percepción sensorial de los consumidores y el rendimiento del producto final a nivel piloto e industrial. Trabajo final de graduación para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería de Alimentos. Costa Rica. Universidad de Costa Rica.
- NARVÁEZ, A. 2010. Investigación del humo líquido y su aplicación en la gastronomía de la Sierra Norte del Ecuador. Tesis de grado para el título de Administrador Gastronómico. Ecuador. Universidad Tecnológica Equinoccial.
- NEGRI, L. 2005. Manual de referencias técnicas para el logro de leche de calidad, 2 ed. INTA, Nicaragua.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. Modificado: se siembra en placas por técnica de esparcimiento y no de vaciado.

- NOVOA, C.F., & RESTREPO, L.P. 2007. Influencia de las bacterias psicrótrofas en la actividad proteolítica de la leche. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*. 54(1): 9-16.
- OLIVERA, J. 2018. Selección de bacterias ácido lácticas (LAB) y adjuntas (NSLAB) autóctonas de leche y queso, para el control de *Clostridium* spp. Responsables del defecto de “hinchazón tardía”. Tesis de Maestría en Biotecnología. Uruguay. Universidad de la República.
- OLIVER, P., CICERALE, S., PANG, E., & KEAST, R. 2018. Comparison of Quantitative Descriptive Analysis to the Napping methodology with and without product training. *Journal of Sensory Studies*.
- ORIHUEL, E., BERTÓ, R., & CANET, J. 2010. Control de la contaminación fúngica en cámaras de queserías. *ILE*. 1(1): 33: 39.
- OSMAN, A. O., EI OWNI, I. A., & HAMID, I.A. 2008. Effect of Storage Period on Weight Loss, Chemical Composition, Microbiological and Sensory Characteristics of Sudanese White Cheese (Gibna Bayda). *Pakistan Journal of Nutrition*, 7 (1): 75-80.
- O’SULLIVAN, M. 2017. Sensory Affective (Hedonic) Testing. In a Handbook for Sensory and Consumer-Driven New Product Development.
- PACHECO, M. 2018. Determinación de la concentración mínima de cloruro de sodio que se puede reducir en un queso fresco sin que sea perceptible para los consumidores utilizando un umbral de diferencia y su efecto sobre el desuerado y perfil de textura. Trabajo final de graduación para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería de Alimentos. Costa Rica. Universidad de Costa Rica.
- PALACIOS, S. 2006. Caracterización microbiológica de diversos tipos de quesos elaborados en el Valle de Tulancingo Hidalgo. Tesis para obtener el título de Ingeniero Agroindustrial. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México.
- PERRICONE, M., ARACE, E., CORBO, M., SINIGAGLIA, M., & BEVILCQUA, A. 2015. Bioactivity of essential oils: a review on their interaction with food components. *Frontiers in Microbiology*. 76 (6): 1-7.
- PINHO, O., MENDES, E., ALVES, M., & FERREIRA, I. 2004. Chemical, physical, and sensorial characteristics of “Terrincho” ewe cheese: Changes during ripening and intravarietal comparison. *Journal of Dairy Science*. 87(2):249-257
- PINZON, A. 2006. Determinación del índice de bacterias mesófilas aerobias presentes en la leche cruda versus leche pasteurizada que se comercializan en la zona de la ciudad de Popayán. UNAD, Popayán.

- PISOSCHI, A.M., POP, A., GEORGESCU, C., TURCUS, V., OLAH, N.K., & MATHE, E. 2017. An overview of natural antimicrobials role in food. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 143 (1): 922- 935.
- PONCELET.2010. La enciclopedia del queso: Elaboración del queso. Recuperado el 8 de febrero del 2021 en: <https://poncelet.es/enciclopedia-del-queso>
- RAMÍREZ, F. D. 2006. Manual del ingeniero en alimentos. Grupo Latino Ltda.
- RAMÍREZ, N., SERRANO, J., & SANDOVAL, T. 2006. Microorganismos extremófilos. Actinomicetos halófilos en México. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 37: 56-71.
- RAMÍREZ, J., ROSAS, P., VELÁZQUEZ, M., ULLOA, J., & ARCE, F. 2011. Bacterias lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la salud. *Revista Fuente Año 2*. 7(1): 1-16.
- RAMÍREZ, J. 2012. Análisis sensorial: pruebas orientadas al consumidor. Universidad del Valle, Colombia.
- RAMÍREZ, C., & VÉLEZ, J. 2012. Quesos Frescos: propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos* 6(2):131-148.
- RAMÍREZ, J., AGUIRRE, J., ARISTIZABAL, V., & CASTRO, S. 2017. La sal en el queso: diversas interacciones. *Agronomía Mesoamericana*, 28(1), 303.
- RIHA, W.E. & WENDORFF, W.L. 1993. Evaluation of Color in Smoked Cheese by Sensory and Objective Methods. *Journal of Dairy Science*. 76(6): 1491-1497.
- RINARDO, V. 2018. Microorganismos extremófilos. Psicrófilos y su mecanismo de adaptación. *Publicaciones Didácticas (E-Journal)*. 96(1): 622-650.
- RODRÍGUEZ, E. 2011. Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. *Ra Ximhai*. 7(1). 153-170.
- RODRÍGUEZ, S., GENEROSO, S., GUTIÉRREZ, D. & QUESTA, A. 2015. Aplicación del análisis sensorial en la evaluación de la calidad de productos frescos cortados. Application of sensory analysis in the evaluation of quality fresh-cut vegetables. *Simiente*, 85(3-4): 21-38.
- RTCA (Reglamento Técnico Centroamericano). 2014. Productos lácteos. Quesos. Especificaciones. RTCA 67.04.70:14. Recuperado el 8 de febrero del 2021 en: http://www.puntofocal.gov.ar/notific_otros_miembros/gtm85_t.pdf
- RTCA (Reglamento Técnico Centroamericano). 2018. Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de los alimentos. RTCA 67.04.50:17. Recuperado el 22 de febrero del 2022

- en: <http://infotrade.minec.gob.sv/ca/wp-content/uploads/sites/7/2019/03/ANEXO-RES-402-2018-RTCA-67045017-Criterios-Microbiologicos.pdf>
- RTCR (Reglamento Técnico, Costa Rica). 2006. Leche cruda y Leche Higienizada. RTCR: 401-2006. Recuperado el 25 de mayo del 2022 en: <http://www.mag.go.cr/legislacion/2007/de-33812.pdf>
- RTCR (Reglamento Técnico, Costa Rica). 2007. General para quesos. Norma RTCR: 407: 2007, N° 34922. Recuperado el 14 de mayo del 2020 en: <http://www.proleche.com/recursos/documentos/rtpl/RTCR%20General%20para%20Quesos.pdf>
- RTCR (Reglamento Técnico, Costa Rica). 2008. Quesos no madurados, incluidos los quesos frescos. RTCR 422:2008. Recuperado el 10 de marzo del 2022 en: https://members.wto.org/crnattachments/2008/sps/CRI/08_3993_00_s.pdf
- RUÍZ, C., & HERRERO, A. 2021. Sensory Analysis and Consumer Research in New Product Development. MDPI.
- SÁNCHEZ, L. 2010. Curso de elaboración de Quesos frescos y Madurados. Sopo Cundinamarca, FESALIMENTOS.
- SBODIO, O. & REVELLI, G. 2012. Coagulación de la leche. Desarrollo de un dispositivo para el "monitoreo online del proceso. Avances en la Argentina. RIA. 38(3):236-246.
- STONE, H. & SIDEL, J.L. 2004. Sensory Evaluation Practices. Academic Press Inc., Tragon Corporation, Redwood City.
- SUÁREZ-MACHÍN, C., GARRIDO-CARRELERO, N., & GUEVARA-RODRÍGUEZ, C. 2016. Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. Revisión Bibliográfica. ICIDCA sobre los derivados de la caña de azúcar. 50 (1): 20-28.
- SVENSSON, L. 2012. Design and Performance of Small Scale Sensory Consumer Tests. Swedish University of Agricultural Sciences.
- TATEO, F., CASEIRO, G., ORLANDI, A., & GIOVANDITTO, S. 1995. Food flavors: generation, analysis and process influence. London: Elsevier Science.
- TOURNAS, V., CALO, J., & MEMON, S. 2011. Comparison of the SimPlate yeast and mould color indicator to the BAM method for quantification of fungi in naturally-contaminated foods. Food Control. 22(5): 775-777.
- VALENZUELA, C., & PÉREZ, P. 2016. Actualización en el uso de antioxidantes naturales derivador de frutas t verduras para prolongar la vida útil de la carne y producto cárneos. Revista Chilena de Nutrición. 43(2): 188-195.

- VALERIO, M. 2020. Consumo de leche se ha mantenido constante en los ticos durante tiempos de Covid-19. SINART Costa Rica Medios. Recuperado el 13 de marzo del 2022 en: <https://costoricamedios.cr/2020/06/02/consumo-de-leche-se-ha-mantenido-constante-en-los-ticos-durante-tiempos-de-covid-19/>
- VARGAS, M. 2006. Tecnología de Productos Lácteos. ESPE. Ecuador
- VILLADA, J. 2010. Conservadores químicos utilizados en la industria alimentaria. Monografía presentada como requisito parcial para obtener el Título de Ingeniero en Ciencia y Tecnología de Alimentos. México. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- VILLEGAS, A. 2009. Tecnología de alimentos de origen animal: manual de prácticas. Editorial Trillas. México.
- WALSTRA P., WOUTERS J. y GEURTS, T. 2006. Dairy Science and Technology. CRC Press. Estados Unidos.
- WALSTRA P., WOUTERS J. y GEURTS, T. 2014. Milk: Part I. In Dairy Science and Technology. Taylor & Francis Group. 2 (21): 1-4.
- WILLEY, J., SHERWOOD, L., & WOOLVERTON, C. 2008. Microbiología de Prescott, Harley y Klein. Madrid: McGraw-Hill.
- ZEA, V. 2010. Utilización de varios tipos de leche vegetal en la elaboración de quesos para personas con intolerancia a la lactosa. Tesis de grado previo a la obtención del título de Licenciada en Gestión Gastronómica. Ecuador. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

9. ANEXOS

Cuadro IA. Resultados de los análisis rutinarios de calidad de leche que se emplearon para tres lotes de queso fresco elaborados a escala piloto.

Medición	Lote 1	Lote 2	Lote 3
Grasa (%)	4,45	4,17	4,47
Proteína (%)	3,27	3,28	3,28
Densidad (g/mL)	1,028	1,028	1,028
Punto de congelación (T°C)	-0,556	-0,558	-0,556
Sólidos no grasos	8,48	8,52	8,49
pH	6,70	6,57	6,70
Temperatura (°C)	10	10	8
Presencia de antibióticos	Negativo	Negativo	Negativo

Cuadro IIA. Resultados de la evaluación de agrado general mediante la escala hedónica híbrida de 10cm, que se aplicó en la primera prueba preliminar para cuatro muestras de queso fresco elaborados a nivel de laboratorio.

Panelista	CC1	CC2	H	H1
1	1	1	7	5
2	2	3	4	6
3	1	2	3	5
4	1	1	4	6
5	0,3	0,8	2,6	5,9
6	2	6,6	5,5	9,5
7	0	0	0,3	5

Cuadro IIIA. Resultados de la evaluación de agrado general mediante la escala hedónica híbrida de 10cm, que se aplicó en la segunda prueba preliminar para cuatro muestras de queso fresco elaborados a nivel de laboratorio.

Panelista	CC3	CC	H2	S
1	2	6	9	8,5
2	3,5	0,4	3,2	8
3	0	1,3	8,7	8,6
4	4	7	7	8
5	3	7	8	8
6	3	7	9	10

Cuadro IVA. Resultados de la evaluación de agrado general para cinco muestras de queso fresco mediante la escala hedónica de 9 puntos, evaluados en el día 2 de almacenamiento.

Panelista	CC	H1	H2	S	C
1	5	7	8	8	8
2	1	7	7	9	5
3	5	5	6	5	6
4	9	8	7	9	9
5	7	5	4	7	4
6	2	8	4	7	6
7	8	8	5	9	8
8	7	5	5	6	7
9	9	8	8	8	8
10	9	9	5	9	7
11	6	5	5	6	5
12	4	4	5	6	4
13	7	7	9	6	4
14	7	7	8	8	6
15	3	6	7	8	6
16	7	5	8	8	6
17	5	6	6	6	4
18	7	6	5	9	7

Continuación del **Cuadro IVA**. Resultados de la evaluación de agrado general para cinco muestras de queso fresco mediante la escala hedónica de 9 puntos, evaluados en el día 2 de almacenamiento.

Panelista	CC	H1	H2	S	C
19	4	4	7	9	2
20	4	4	6	7	7
21	3	5	5	8	5
22	7	7	6	8	8
23	4	5	5	4	1
24	4	7	6	5	7
25	5	6	6	8	6

Cuadro VA. Resultados de la evaluación de agrado general para cinco muestras de queso fresco mediante la escala hedónica de 9 puntos, evaluados en el día 8 de almacenamiento.

Panelista	CC	H1	H2	S	C
1	9	9	9	8	6
2	2	8	7	8	9
3	8	4	8	8	8
4	8	7	8	8	7
5	6	6	6	6	6
6	6	5	5	7	5
7	6	7	7	7	7
8	4	6	3	7	5
9	4	7	7	8	5
10	5	8	8	8	8
11	5	7	5	7	8
12	4	4	4	7	4
13	5	6	8	8	5
14	3	5	5	9	8
15	7	8	8	8	8
16	6	4	8	5	4
17	6	6	7	6	6

Continuación del **Cuadro VA**. Resultados de la evaluación de agrado general para cinco muestras de queso fresco mediante la escala hedónica de 9 puntos, evaluados en el día 8 de almacenamiento.

Panelista	CC	H1	H2	S	C
18	3	8	6	8	8
19	2	7	2	6	8
20	5	4	4	4	7
21	3	4	7	6	6
22	6	7	8	8	8
23	3	8	2	9	3
24	8	7	7	8	8
25	6	8	6	6	4

Cuadro VIA. Resultados de a_w para cinco muestras de queso fresco evaluados en el día 1 de almacenamiento.

Repetición	Réplica	CC	H1	H2	S	C
L1	1	0,9916	0,9902	0,9909	0,9927	0,9901
L1	2	0,9907	0,9907	0,9884	0,9932	0,9896
L1	3	0,9909	0,9907	0,9895	0,9907	0,9896
L2	1	0,9926	0,9914	0,9933	0,9905	0,9922
L2	2	0,9942	0,992	0,9926	0,9898	0,9922
L2	3	0,9918	0,9932	0,9896	0,9904	0,9926
L3	1	0,9927	0,9919	0,9919	0,9872	0,991
L3	2	0,9935	0,9939	0,9912	0,988	0,9916
L3	3	0,9923	0,9915	0,9919	0,988	0,9934

Cuadro VIIA. Resultados de pH para cinco muestras de queso fresco evaluados en el día 2, 8, y 15 de almacenamiento.

Tiempo de muestreo (día)	Repetición	Réplica	CC	H1	H2	S	C
2	L1	1	6,59	6,52	6,26	6,54	6,54
	L1	2	6,54	6,52	6,30	6,53	6,54
	L1	3	6,56	6,50	6,35	6,53	6,54
	L2	1	6,52	6,58	6,23	6,43	6,56
	L2	2	6,45	6,54	6,24	6,45	6,56
	L2	3	6,52	6,46	6,26	6,48	6,55
	L3	1	6,34	6,45	6,11	6,13	6,37
	L3	2	6,36	6,46	6,12	6,10	6,36
	L3	3	6,45	6,50	6,22	6,15	6,46
8	L1	1	6,55	6,55	6,24	6,54	6,53
	L1	2	6,57	6,54	6,22	6,52	6,52
	L1	3	6,57	6,56	6,17	6,51	6,51
	L2	1	6,25	6,34	5,97	6,13	6,42
	L2	2	6,23	6,40	6,00	6,08	6,26
	L2	3	6,27	6,49	6,10	6,23	6,43
	L3	1	6,32	6,50	6,09	5,94	6,43
	L3	2	6,27	6,50	5,99	5,9	6,40
	L3	3	6,27	6,49	6,11	5,97	6,41
15	L1	1	6,55	6,33	6,11	6,46	6,50
	L1	2	6,53	6,44	6,12	6,44	6,45
	L1	3	6,48	6,38	6,16	6,45	6,46
	L2	1	6,29	6,46	6,06	6,12	6,41
	L2	2	6,30	6,34	6,11	6,16	6,39
	L2	3	6,25	6,47	6,08	6,11	6,43
	L3	1	6,26	6,47	6,05	5,74	6,38
	L3	2	6,26	6,49	6,00	5,80	6,34
	L3	3	6,26	6,41	5,99	5,78	6,36

Cuadro VIII A. Resultados del desuerado para cinco muestras de queso fresco evaluados en el día 2,8, y 15 de almacenamiento.

Tiempo de muestreo (día)	Repetición	Réplica	CC	H1	H2	S	C
2	L1	1	1,57	2,77	4,29	3,86	3,56
	L1	2	0,71	1,97	1,19	1,4	3,17
	L1	3	1,27	2,09	4,28	2,26	3,68
	L2	1	4,28	4,34	0,7	0,97	2,87
	L2	2	1,03	1,69	0,77	1,11	5,87
	L2	3	3,14	2,8	3,27	2,06	3,8
	L3	1	3,46	1,89	4,21	2,09	4,71
	L3	2	3,72	0,71	3,56	2,64	2,89
	L3	3	1,63	2,19	1,92	2,55	6,43
8	L1	1	5,78	6,49	8,17	6,01	8,58
	L1	2	2,32	5,98	3,01	5,93	6,44
	L1	3	4,87	6,65	7,65	4,83	6,03
	L2	1	5,7	4,15	1,83	2,54	7,19
	L2	2	2,38	3,34	1,94	2,22	8,01
	L2	3	4,78	2,97	3,79	3	6,13
	L3	1	8,02	2,29	7,99	5,85	8,87
	L3	2	6,48	2,45	6,78	5,06	5,45
	L3	3	5,46	3,63	5,64	-0,81	9,12
15	L1	1	7,63	8,36	9,9	7,25	10,36
	L1	2	3,55	7,3	6,88	8,32	9,19
	L1	3	7,25	8,38	9,88	6,6	8,59
	L2	1	8,01	7,46	3,7	5,2	8,96
	L2	2	4,74	5,95	4,61	3,55	10,05
	L2	3	7,81	5,45	5,83	5,56	8,75
	L3	1	11,95	6,08	12,67	8,9	13,97
	L3	2	11,9	5,48	10,91	9,41	11,77
	L3	3	10,02	7,8	9,38	9,31	14,07

Cuadro IXA. Recuento de bacterias ácido lácticas (log UFC/g) para cinco muestras de queso fresco evaluados en el día 2,8, y 15 de almacenamiento.

Tiempo de muestreo (día)	Repetición	CC	H1	H2	S	C
2	L1	3,56	3,64	3,62	3,51	3,40
	L2	3,79	3,38	3,61	3,41	3,70
	L3	4,78	4,04	4,93	4,48	4,28
8	L1	2,60	3,45	3,48	3,15	3,34
	L2	3,90	3,79	3,90	3,61	3,46
	L3	4,23	3,59	4,26	4,26	3,96
15	L1	2,81	3,75	3,49	3,23	3,11
	L2	3,51	4,20	3,60	3,43	3,65
	L3	4,92	4,20	4,20	5,43	4,70

Cuadro XA. Recuento de mohos y levaduras (log UFC/g) para cinco muestras de queso fresco evaluados en el día 2,8, y 15 de almacenamiento.

Tiempo de muestreo (día)	Repetición	CC	H1	H2	S	C
2	L1	1,60	1,48	1,60	1,30	2,04
	L2	0,95	1,48	1,00	1,30	1,48
	L3	1,85	1,00	0,95	1,90	2,08
8	L1	2,67	2,56	3,86	3,89	5,40
	L2	2,78	2,88	3,72	3,66	3,00
	L3	3,08	1,30	1,78	2,34	3,04
15	L1	5,08	5,04	4,40	4,74	6,75
	L2	4,48	4,96	3,96	4,57	3,89
	L3	3,11	4,59	4,11	3,04	2,83

Cuadro XIA. Recuento de bacterias psicrófilas (log UFC/g) para cinco muestras de queso fresco evaluados en el día 2,8, y 15 de almacenamiento.

Tiempo de muestreo (día)	Repetición	CC	H1	H2	S	C
2	L1	1,00	0,95	0,95	0,95	1,30
	L2	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95
	L3	2,41	1,30	2,34	1,95	3,08
8	L1	5,36	2,59	2,53	5,79	5,97
	L2	4,60	2,79	5,36	4,86	4,20
	L3	6,38	5,40	6,40	6,34	6,40
15	L1	6,15	4,30	5,23	7,23	8,00
	L2	6,88	5,40	7,20	7,30	7,30
	L3	8,38	8,56	7,82	7,81	8,38