UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

CENTRO UNIVERSITARIO DE SUR OCCIDENTE

INGENIERÍA EN ALIMENTOS

COMPARACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DE UN QUESO FRESCO PROCESADO SIN CONSERVADORES Y QUESOS FRESCOS CON RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES DE QUITOSANO Y ACEITES ESENCIALES.

Presentado a las autoridades del

Centro Universitario de Sur Occidente -CUNSUROC-

Universidad de San Carlos de Guatemala

Por:

Alba Regina Del Cid Juárez
201146260

MAZATENANGO, SUCHITEPÉQUEZ, OCTUBRE DE 2017.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

CENTRO UNIVERSITARIO DE SUR OCCIDENTE

AUTORIDADES

Dr. Carlos Guillermo Alvarado Cerezo	Rector
Dr. Carlos Enrique Camey Rodas	Secretario General

MIEMBROS DEL CONSEJO DIRECTIVO CUNSUROC

Dr. Guillermo Vinicio Tello Cano	Presidente

REPRESENTANTES DOCENTES

MSc. José Norberto Thomas Villatoro	Secretario
Dra. Mirna Nineth Hernández Palma	Vocal

REPRESENTANTE GRADUANDOS CUNSUROC

Lic. Ángel Estuardo López Mejilla	Vocal

REPRESENTANTES ESTUDIANTILES CUNSUROC

Lcda. Elisa Raquel Martínez Gonzáles	Vocal
Br. Irrael Estuardo Arriaza López	Vocal

AUTORIDADES DE COORDINACIÒN ACADÉMICA

MSc. Bernardino Alfonso Hernández Escobar
Coordinador Académico

MSc. Álvaro Estuardo Gutiérrez Gamboa
Coordinador de la carrera de Administración de Empresas

Lic. Mauricio Cajas Loarca
Coordinador de las carreras de Pedagogía y Administración Educativa

Lic. Luis Carlos Muñoz López
Coordinador de la carrera de Trabajo Social

PhD. Marco Antonio Del Cid Flores
Coordinador de la carrera de Ingeniería en Alimentos

Ing. Agr. Edgar Guillermo Ruiz Recinos
Coordinador de la carrera de Agronomía tropical

Lic. José Felipe Martínez Domínguez
Coordinador de Área

MSc. Tania María Cabrera Ovalle
Encargado de la carrera de Ciencias Jurídicas y Sociales

Ing. Agr. Iris Yvonnee Cárdenas Sagastume
Encargado de la carrera de Ingeniería en Gestión Ambiental Local

CARRERAS PLAN FIN DE SEMANA

MSc. Tania Elvira Marroquín Vázquez
Encargado de las carreras de Pedagogía

MSc. Paola Marisol Rabanales
Encargado de la carrera de Periodista Profesional y Ciencias de la Comunicación

INDICE

CONTENIDO **PÁGINA**

1. Introducción 1
2. Planteamiento del problema 3
3. Justificación 5
4. Marco Teórico 6
   4.1. Antecedentes 6
   4.2. Queso Fresco 9
      4.2.1. Generalidades 9
      4.2.2. Materias primas utilizadas en la elaboración del queso fresco 9
         4.2.2.1. Leche 10
         4.2.2.2. Cloruro de calcio 10
         4.2.2.3. Sal 11
         4.2.2.4. Enzimas coagulantes 11
      4.2.3. Principios tecnológicos en la elaboración del queso 12
         4.2.3.1. Filtración 12
         4.2.3.2. Estandarización 12
         4.2.3.3. Homogenización 13
         4.2.3.4. Pasteurización o tratamiento térmico 13
         4.2.3.5. Enfriamiento 14
      4.2.4. Descripción del proceso 15
         4.2.4.1. Recepción de materia prima 15
         4.2.4.2. Filtrado 15
         4.2.4.3. Pasteurizado 15
         4.2.4.4. Enfriado 16
         4.2.4.5. Coagulado 16
         4.2.4.6. Cortado y batido 16
         4.2.4.7. Desuerado 17
         4.2.4.8. Salado 17

4.2.4.9. Moldeado 17
4.2.4.10. Almacenamiento 17
4.2.5. Parámetros de calidad e inocuidad a evaluar en queso fresco 17
4.3. Recubrimientos comestibles 19
4.3.1. Generalidades 19
4.3.2. Formación de recubrimientos 19
4.3.3. Técnicas de aplicación de recubrimientos 19
4.4. Quitosano 20
4.4.1. Generalidades 20
4.4.2. Proceso de obtención 20
4.4.3. Usos del quitosano en la industria alimentaria 21
4.5. Aceites esenciales 22
4.5.1. Generalidades 22
4.5.2. Métodos de extracción de los aceites esenciales 23
4.5.3. Usos de los aceites esenciales en la industria alimentaria 25
4.5.4. Hierba de té de limón 26
4.5.4.1. Propiedades del aceite esencial de hierba de té de limón 26
4.5.5. Semillas de apio 27
4.5.5.1. Propiedades del aceite esencial de semillas de apio 28
4.6. Vida Útil 28
4.7. Análisis de varianza con distribución completamente al azar 30
4.7.1. Características de diseño 30
4.7.2. Descripción del método 30
5. Objetivos 31
5.1. General 31
5.2. Específicos 31
6. Hipótesis 32
7. Materiales y métodos 33
7.1. Recursos 33
7.1.1. Recursos humanos 33
7.1.2. Recursos físicos 33

7.1.3. Recursos institucionales 33
7.1.4. Recursos económicos 33
7.2. Materiales y equipo 33
7.2.1. Para la elaboración de queso fresco 33
7.2.2. Para la elaboración de los recubrimientos 34
7.2.3. Para análisis fisicoquímicos 34
8. Marco Operativo 36
8.1. Elaboración de los quesos 36
8.1.1. Formulación 37
8.1.2. Diagrama de flujo 38
8.2. Segunda etapa 39
8.2.1. Elaboración de los recubrimientos 39
8.2.2. Recubrimiento de los quesos 39
8.3. Tercera etapa 40
8.3.1. Determinaciones fisicoquímicas 40
8.3.2. Análisis microbiológicos 40
8.3.3. Vida útil 40
8.4. Análisis de datos obtenidos 40
9. Resultados y discusión de resultados 42
9.1. Elaboración de los quesos 42
9.2. Preparación y aplicación de los recubrimientos 42
9.3. Análisis de laboratorio 43
9.3.1. Determinaciones fisicoquímicas 44
9.3.1.1. Resultados obtenidos de la determinación de grasa 44
9.3.1.2. Resultados obtenidos de la determinación de pH 46
9.3.1.3. Resultados obtenidos de la determinación de humedad 48
9.3.2. Determinaciones microbiológicas 50
9.3.2.1. *Escherichia coli* 51
9.3.2.2. *Staphylococcus aureus* 53
9.3.2.3. *Listeria monocytogenes* 54
9.3.2.4. *Salmonella spp* 55

9.3.3. Vida útil 56
10. Conclusiones 58
11. Recomendaciones 59
12. Referencias Bibliográficas 60
13. Anexos 65
13.1. Metodología para análisis fisicoquímicos 65
13.2. Descripción del método estadístico 68
13.3. Resultados de análisis microbiológicos 70
14. Apéndices 78
14.1. Análisis de varianza 78
15. Glosario 89

INDICE DE TABLAS

No. DE TABA	CONTENIDO	PÁGINA
01	Parámetros fisicoquímicos para quesos no madurados	18
02	Parámetros microbiológicos para quesos no madurados	18
03	Parámetros sensoriales para quesos no madurados	18
04	Formulación del queso	37
05	Formulaciones de los recubrimientos	39
06	Porcentaje de grasa	45
07	Valores de pH	47
08	Valores experimentales en la determinación de la humedad	82

INDICE DE IMAGENES

No. DE IMAGEN	CONTENIDO	PÁGINA
01	Procedimiento para la obtención del quitosano	21
02	Planta de hierba de té de limón	26
03	Semillas de apio	28
04	Preparación y aplicación de los recubrimientos	43
05	Determinación de grasa	44
06	Determinación de pH	46
07	Determinación de humedad	48

INDICE DE GRÁFICAS

No. DE GRÁFICA	CONTENIDO	PÁGINA
01	Resultados de la determinación de grasa	45
02	Resultados de la determinación de pH	47
03	Resultados de la determinación de humedad	49

INDICE DE FIGURAS

No. DE FIGURA	CONTENIDO	PÁGINA
01	Diagrama de flujo	38

RESUMEN

La industria láctea representa en Guatemala una de las ramas de la industria alimentaria más importante y la que más problemas presentan, esto debido a una serie de defectos que se presentan en los diferentes tipos de quesos, en su mayoría los elaborados de pastas frescas.

El avance la industria y el uso de las actuales tecnologías de conservación se combinó para desarrollar la investigación enfocada a determinar la vida de útil del queso fresco, adicionando aceites esenciales de semillas de apio (*Apium graveolens*) y de hierba de té de limón (*Cymbopogon citrus*) en diferentes concentraciones (0, 1%, 0, 3% y 0, 5%) a recubrimientos elaborados con quitosano. Se emplearon 24 quesos frescos y se tomaron muestras de 150 gramos para 6 tratamientos y 4 repeticiones, a los cuales se les realizó los siguientes análisis fisicoquímicos: grasa total, pH, humedad y microbiológicos: *Staphylococos aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp* y *Listeria monocytogenes*, de acuerdo a los criterios establecidos por el reglamento RTCA 67.04.70:14, para quesos no madurados.

Los resultados obtenidos evidencian el crecimiento de *Escherichia coli* y *Stphylococos aureus* en todas las muestras tomadas del control y recubrimiento con semilla de apio. En el recubrimiento con hierba limón únicamente existió crecimiento de *Escherichia coli* en la concentración al 0.5%. En los datos evaluados de los análisis fisicoquímicos, se observó la estabilidad de la grasa, y variaciones de la humedad que variaron entre el 25 y el 75% y el pH oscilo entre 6.397 y 4.637 durante el periodo de evaluación.

En el análisis estadístico se utilizó análisis de varianza de bloques completamente al azar con repeticiones para las pruebas fisicoquímicas considerando como Factor A: los quesos frescos con recubrimientos de semillas de apio en diferentes concentraciones, factor B: los quesos frescos con recubrimientos de hierba de té de limón en diferentes concentraciones y C: quesos control. En la evaluación de los tratamientos se concluyó que no existió diferencia significativa entre los tratamientos evaluados. Sin embargo se observó que la concentración al 0, 1% y 0, 3% de hierba te limón no presentó crecimiento de ningún microorganismo evaluado.

ABSTRACT

The dairy industry represents in Guatemala one of the most important branches of the food industry and the one that presents the most problems, due to a serious defects that occur in the different types of cheeses, mostly those made from fresh pastas.

Advancing the industry and using current conservation technologies combined to develop research focused on determining the useful life of fresh cheese by adding essential oils from celery (*Apium graveolens*) and lemon tea grass (*Cymbopogon citrus*) at different concentrations (0, 1%, 0, 3% and 0, 5%) to coatings made with chitosan. Twenty-four fresh cheeses were used and samples of 150 grams were taken for 6 treatments and 4 replicates. The following physicochemical analyzes were carried out: total fat, pH, humidity and microbiological*: Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Salmonella spp* and *Lysteria monocytogenes*, according to the criteria established by regulation RTCA 67.04.70: 14, for cheeses not matured.

The results obtained evidenced the growth of *Escherichia coli* and *Stphylococcus aureus* in all samples taken from control and coating with celery seed. In the coating with lemon grass only growth of *Escherichia coli* in the concentration to 0.5% existed. In the evaluated data of the physicochemical analyzes, the stability of the grease was observed, and variations of the humidity that varied between 25 and 75% and the pH oscillate between 6,397 and 4,637 during the period of evaluation.

In the statistical analysis, a completely randomized block variance analysis was used with repetitions for the physicochemical tests, considering as Factor A: fresh cheeses with coatings of celery seeds in different concentrations, factor B: fresh cheeses with tea grass of lemon in different concentrations and C: Cheese control. In the evaluation of the treatments it was concluded that there was no significant difference between the evaluated treatments. However, it was observed that the concentration at 0, 1% and 0, 3% of lemon grass did not present growth of any microorganism evaluated.

1. INTRODUCCIÓN

Los nuevos retos y desafíos que enfrenta la industria de alimentos en Guatemala conllevan al productor a buscar nuevas alternativas o soluciones para el desarrollo o modificación de los métodos que mejoren la utilidad e incrementen la resistencia a factores adversos en el procesamiento de productos alimenticios.

Los cambios actuales en el estilo de vida de los consumidores y avances de la ingeniería en alimentos, han repercutido en la demanda de productos naturales, además de nuevas técnicas de conservación y aumento de la vida útil del producto.

Los lácteos y sus derivados constituyen una de las industrias más importantes en el sector artesanal de Guatemala, siendo de todos estos la industria quesera la principal, en la que se presentan una serie de problemas en los diferentes tipos de quesos que se deben principalmente a la contaminación bacteriana o por hongos; como la putrefacción e hinchazón, que se dan debido a la degradación del ácido láctico $(C_3H_6O_3)$, produciendo así dióxido de carbono (CO_2) e hidrógeno (H_2) como producto final de esta reacción, dando formación a una gran cantidad de gas que logra ocupar espacios variables, produciendo defectos indeseables, además de pérdidas económicas.

Por esta razón se ha visto la necesidad en la industria quesera de buscar alternativas que mejoren o reduzcan dichos problemas utilizando para ello agentes microbianos sintéticos que si bien actúan de manera adecuada, los costos y la disponibilidad en el mercado muchas veces es limitada, lo que hace que muchos productores de queso los obvien. Es por eso que en la actualidad se están utilizando nuevos métodos o sustancias alternativas como los recubrimientos comestibles o aceites esenciales de diferentes plantas que ayuden a la mitigación de dichos problemas.

El presente trabajo comparó a nivel piloto el efecto que tienen dos diferentes aceites esenciales, uno de semillas de apio (*Apium graveolens*) y otro de hierba de té de limón (*Cymbopogon citrus*) adicionados a recubrimientos comestibles elaborados a base de quitosano sobre la vida útil de un queso fresco contra un queso fresco procesado sin conservadores.

Éste se desarrolló en tres etapas, siendo la primera la elaboración de los quesos, seguidamente la etapa de elaboración de los recubrimientos y recubrimiento de las muestras experimentales, por último la etapa de la realización de las determinaciones fisicoquímicas y microbiológicas establecidas para la investigación, para el análisis de todos los datos obtenidos se utilizó el método estadístico de bloques completamente al azar.

De todas las determinaciones realizadas durante la parte experimental de la investigación se obtuvieron datos importantes, que demostraron en conjunto con los análisis estadísticos, que no existe diferencia significativa entre las muestras experimentales y el control, es decir que los recubrimientos elaborados a base de quitosano y aceite esencial de semillas de apio y quitosano y aceite esencial de hierba de té de limón no aumentó significativamente la vida de anaquel de los quesos frescos y no disminuyó la actividad fisicoquímica y microbiológica de las unidades experimentales analizadas.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El queso fresco se dice que es, por mucho, el queso más popular y de mayor consumo en Guatemala y el mundo, pertenece a la categoría de quesos frescos, porque no se somete a ningún proceso de maduración, es un queso obtenido por la coagulación con cuajo, es elaborado a partir de leche descremada o semidescremada. Tiene un ligero sabor lácteo, con notas saladas. En su proceso de elaboración, la cuajada se suele moler finamente antes de la salazón, lo que hace que el queso sea desmenuzable. Este tipo de queso contiene una humedad entre (46–57) %, del (18 - 29) % de grasa, del (17-21) % de proteína, y cantidades de sal de (1-3) % y un pH> 6, 1. (Hwang y Gunasekaran, 2001; Path, 1991)

El queso fresco durante su proceso de elaboración y comercialización presenta defectos indeseables como: coloración amarillenta, hinchazón temprana y tardía, costra coriácea, sabores y texturas desagradables; problemas críticos de la industria quesera que inciden principalmente en la vida útil del producto.

Estos defectos se deben a diferentes causas entre las cuales están: fermentaciones anormales originadas por contaminación de microorganismos en la leche o que se desarrollan durante su procesamiento; errores en el manejo de las variables durante el proceso de elaboración como el control de la temperatura y tiempo durante la pasteurización, así como las condiciones de almacenamiento inadecuadas, entre otras, generándose con estos grandes pérdidas económicas en la industria quesera.

Para que el queso fresco logre mayor aceptación en el mercado debe cumplir con las características sensoriales y de mejoramiento en el proceso de elaboración tomando en cuenta los riesgos que implican el ambiente y las condiciones de manejo de materia prima para prolongar la vida útil de conservación y obtener un producto de calidad.

Para evitar estos problemas en la fabricación del queso, las industrias han adicionado en la leche a procesar natamisina o pimarisina (anti fúngicos de uso común) y han elaborado un recubrimiento plástico a base de acetato de polivinilo (derivado del petróleo), estos de origen sintético.

En la actualidad existen alternativas para alargar la vida útil de los productos lácteos, las cuales implementan el uso de sustancias naturales que reemplazan el uso de aditivos

sintéticos, como los aceites esenciales, recubrimientos comestibles de origen natural, entre otros.

Por lo anterior descrito, se plantea la siguiente interrogante de investigación:

¿Aumentará la vida útil del queso fresco con un recubrimiento comestible elaborado con quitosano y aceite esencial de semillas de apio (*Apium graveolens*) y quitosano y aceite esencial de hierba de té de limón (*Cymbopogon citrus*) en comparación con un queso fresco procesado sin conservadores?

3. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad la industria alimentaria se ha preocupado por obtener productos saludables y benéficos para el ser humano. Además se han implementado tratamientos para ayudar a obtener alimentos sanos, amigables al medio ambiente, inocuos y puedan resistir ataques microbiológicos alargando así la vida útil de los alimentos.

La vida útil de un alimento se define como el período en el que un alimento puede mantenerse en condiciones especificadas de almacenamiento sin que este pierda su seguridad y calidad óptimas. Esta empieza desde el momento en que se elabora y depende de muchos factores como el proceso de fabricación, el tipo de envasado, las condiciones de almacenamiento y los ingredientes. (Disponible en línea: http://www.eufic.org/article/es/artid/La_vida_util_de_los_alimentos_y_su_importancia_para_los_consumidores/). (Consulta: Agosto 2016).

El propósito de determinar la vida útil de un producto es ayudar a los consumidores a tomar decisiones seguras e informadas sobre los alimentos, la creciente demanda en el consumo de quesos y su consecuente elaboración ha incrementado el interés de obtener más información acerca de su estabilidad, calidad e inocuidad.

Aunque muchos de los estudios sobre la calidad de los quesos de pasta fresca y semifresca ya están publicados aún falta mucha investigación acerca de ellos como por ejemplo, las nuevas técnicas de conservación (elaboración de films o recubrimientos comestibles y adición de sustancias naturales como aceites esenciales para la conservación y extensión de la vida útil de estos productos (Scott y col, 2002).

El fin primordial de esta investigación fué buscar una alternativa para el uso de productos naturales como lo son los aceites esenciales de semillas de apio (*Apium graveolens*) y hierba de té de limón (*Cymbopogon citrus*) así como el quitosano, debido a que poseen características conservantes, antioxidantes, antisépticas, anti fúngicas, entre otras. Con lo cual se percibió la elaboración de un recubrimiento comestible a base de quitosano adicionándoles los dos diferentes aceites esenciales anteriormente mencionados, con el objetivo de prolongar la vida útil del queso fresco y observar si es un producto microbiológicamente bueno.

4. MARCO TEÓRICO

4.1 Antecedentes

Existen una amplia línea de investigaciones respecto a los recubrimientos o películas comestibles aplicados a diferentes alimentos como: frutas, hortalizas, productos de panadería, productos cárnicos, productos hidrobiológicos y productos lácteos, en los cuales se han demostrado las diferentes propiedades y funciones que tiene sobre ellos estos recubrimientos. Los estudios efectuados en la línea del uso de aceites esenciales y diferentes sustancias naturales usados como materias primas para películas comestibles en la industria alimenticia se pueden mencionar los siguientes:

(Bosquez, 2003) en su tesis de doctorado en México demostró que una película comestible formulado con goma de mezquite y cera de candelilla reducía la cinética de deterioro en fresco del limón persa, ya que realizando una emulsión entre la formulación de goma de mezquite, cera de candelilla y aceite mineral obtuvo una película comestible con una excelente barrera contra la pérdida de humedad.

En películas elaboradas a partir de quitosano con el agregado de aceites esenciales de tomillo y romero, el autor observó que su transparencia se redujo a medida que se les incorporaron aceites esenciales, cabe mencionar que al realizar una película este tipo de evaluación se hace directamente a la película elaborada la cual no está en ningún alimento sino que se elabora en forma de un film despegable. (Arce, 2011)

(Ac, M. y Albizú, H, 2011) realizó el desarrollo de un recubrimiento comestible a base de proteína de suero de leche para queso Cheddar como proyecto especial de graduación del programa de Ingeniería en Agroindustria Alimentaria en la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras, donde concluyó que el recubrimiento comestible a base de proteína de suero de leche no tuvo efecto en las características sensoriales de apariencia, aroma, textura, sabor, acidez y aceptación general del queso Cheddar (la calificación sensorial fue en el rango

de me gusta poco a me gusta moderadamente); también que la interacción temperatura y proteína del suero tuvo un efecto significativo en el aumento del brillo.

(Ovalle, 2012), realizó en su tesis de grado la Determinación de la vida de anaquel del fruto de papause blanco (*Annona diversifolia*) tratado con quitosano, donde los frutos en estudio se recubrieron con películas de quitosano a diferentes concentraciones (1- 2) % y se dejaron en observación durante 21 días, al final los frutos tratados con la película de quitosano al 2% redujeron su cantidad de pérdida de masa y el crecimiento de mohos y levaduras.

(Martínez, 2012), desarrolló el Diseño y aplicación de un recubrimiento comestible de quitosano para alargar la vida de anaquel del queso Oaxaca en la Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro". La investigación llegó a las principales conclusiones: el quitosano reduce la pérdida de humedad, inhibe el crecimiento microbiano, da mayor luminosidad, da cambios en la percepción sensorial y por último, alarga la vida útil del queso Oaxaca.

(Van Beest, 2013) en la Universidad Autónoma de Valencia, desarrolló en su tesis de maestría la incorporación de aceites esenciales de tomillo y de orégano en películas de metilcelulosa o quitosano, para la preservación de filetes de salmón, la cual dio como resultados que en las películas de quitosano, la adición de aceites esenciales supuso un aumento de la rigidez, dureza y elasticidad sin cambios en el brillo, que la permeabilidad al oxígeno fue significativamente menor y mostraron un mayor carácter antioxidante que las de metilcelulosa, por último las películas de quitosano dieron lugar a recuentos menores de microorganismos en las muestras almacenadas en congelación, y la adición de aceites esenciales no supuso una mejora en la calidad microbiológica; para ambas matrices, la adición de aceites supuso un aumento de la opacidad de las películas y no mejoró las propiedades de barrera al vapor de agua.

En Orihuela, España, se realizó para optar al título de Doctor en Procesamiento de alimentos la tesis titulada: Caracterización de aceites esenciales de plantas aromáticas mediterráneas y su aplicación a films de quitosano para la conservación de productos cárnicos, donde se concluyó, que la adición de los aceites esenciales muestran diferentes

respuestas de acuerdo a las concentraciones y tipos de aceites, donde se ve una efectiva y alta inhibición microbiológica cuando se utiliza aceite de Thymus piperella, además, todos los aceites esenciales analizados presentan un alto contenido en fenoles totales, así como una importante actividad antioxidante. (Ruiz, 2014)

(Hernández, 2014), estudiante de la Universidad veracruzana desarrolló como tesis de grado la elaboración y caracterización de película comestible a base de quitosano y aceite esencial de limón, donde evaluó tres diferentes tipos de concentraciones de quitosano-aceite esencial, ella concluyó: que la concentración que tenía las mejores propiedades de permeabilidad, resistencia al vapor de agua y mayor capacidad inhibitoria bacteriana era la formulada al 1%.

Con los antecedentes mencionados se demuestra que existe mucha información respecto a la técnica para la elaboración de recubrimientos comestibles donde cabe mencionar que esta no es universal para todos los productos y es por eso que en los últimos años se ha convertido en uno de los temas a investigar con más auge.

Los resultados obtenidos en los estudios muestran diferentes respuestas las cuales dependen de las materias primas utilizadas en la elaboración de los recubrimientos comestibles y el tipo de alimento.

Una de las principales materias primas en la elaboración de estos es el quitosano, ya que posee todas las características requeridas y por ello es el más utilizado, el cual al ser mezclado con otras materias primas como aceites esenciales, aumentan sus propiedades funcionales.

4.2 Queso fresco

4.2.1 Generalidades

El queso es una de las formas de transformación de la leche, que permite conservar su valor nutritivo y mejorar sus características organolépticas y aumentar su vida útil.

Según el CODEX alimentario se entiende por queso fresco el producto blando o semiduro, no madurado que puede estar recubierto y que está listo para el consumo poco después de su fabricación, obtenido mediante: coagulación total o parcial de la proteína de la leche, leche desnatada/descremada, leche parcialmente desnatada/descremada, nata (crema), nata (crema) de suero o leche de mantequilla, o de cualquier combinación de estos materiales, por acción del cuajo u otros coagulantes idóneos, y por escurrimiento parcial del suero que se desprende como consecuencia de dicha coagulación.

Este se clasifica dentro de los quesos de pasta fresca por que no se somete a ningún proceso de maduración, además de su elevado índice de humedad.

"Investigaciones revelan que el queso fresco puede alcanzar una vida útil de aproximadamente dos semanas, dependiendo de su proceso de elaboración y condiciones de almacenamiento, siendo esta vida útil delimitada para productos industriales a los cuales se le han añadido aditivos y conservantes, por el contrario un producto artesanal al cual no se le añaden conservantes su vida útil se delimita a una semana" (Amiott, 1995).

Según lo referido por el Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá –INCAP-, el 69% de la población guatemalteca incluye dentro de su plan de alimentación el queso.

4.2.2 Materias Primas primarias utilizadas en la elaboración del queso

Las materias primas necesarias para la elaboración del queso se pueden describir de la siguiente manera:

4.2.2.1 Leche

La materia principal y necesaria para la elaboración del queso es la leche proveniente de diferentes mamíferos como la vaca, cabra, oveja y búfala, pero la más importante y la que más se utiliza por su composición química, física, y nutricional, es la leche de vaca.

Como ya se sabe la leche es un líquido complejo en donde sus diferentes componentes se encuentran en estado de dispersión, de los cuales dependen sus propiedades y efectos causados por la interacción que existe entre estos; Revilla (1982) define a la leche como el producto integro no alterado ni adulterado, del ordeño higiénico, regular, completo e ininterrumpido, de vacas sanas y bien alimentadas, sin calostro exento de color, sabor y consistencia anormales.

4.2.2.2 Cloruro de calcio

El contenido de calcio en la leche depende de muchos factores, algunos de estos son la especie del animal, su alimentación, y los tratamientos a los cuales haya sido sometida.

La capacidad de coagulación de la leche depende de la cantidad de iones de calcio, si tiene un bajo contenido, el cuajo producido tendrá una textura poco firme y suelta y al cortar la cuajada se formará cantidades de polvo muy fino, presentando problemas en el desuerado reducción de gran cantidad de materia grasa, pero, una dosis excesiva de cloruro de calcio producen un coágulo muy duro y con sabor a sustancias químicas ajeno al sabor característico del queso.

Por lo anterior es necesario que el cloruro de calcio que se le adicione a la leche sea en una cantidad de (10 – 20) g por cada 100 litros de leche aproximadamente, dicha cantidad debe ser disuelta previamente en agua, aproximadamente media hora antes para lograr una buena ionización del calcio (Ponce, Karen. Aditivos utilizados en la industria láctea. 2014 Párr. 09).

4.2.2.3 Sal

La adición de sal en la elaboración del queso tiene como función principal en su conservación pues ayuda a la inhibición del crecimiento de bacterias contaminantes, además tiene una gran influencia en la formación del cuerpo del queso teniendo en cuenta los siguientes aspectos: la adición de sal en el suero produce una mayor cantidad de agua en el queso ya que el intercambio de los iones de calcio de la caseína por los iones de sodio es mayor, ocasionado un queso más suave y flexible porque los iones de sodio aumentan la absorción del agua. Pero, cuando se adiciona cantidades excesivas de sal ocurre el caso contrario, se disminuye la absorción del agua y da como resultado un queso con textura quebradiza (Ponce, Karen. Aditivos utilizados en la industria láctea. 2014. Párr. 09).

4.2.2.4 Enzimas coagulantes

La coagulación enzimática es una de las técnicas de mayor uso en la fabricación de los quesos. Para lograr dicha coagulación, tradicionalmente se ha utilizado el cuajo animal cuya enzima principal es la Quimosina, sin embargo debido a la dificultad de obtener el cuajo de terneros jóvenes, los fabricantes hoy en día utilizan enzimas obtenidas de otras materias primas como la pepsina, enzimas vegetales y microbianas, que han tenido grandes ventajas tecnológicas porque se adaptan mejor a los tratamientos térmicos acelerando el proceso de coagulación de la leche.

Se debe tener en cuenta que a pesar de que muchas enzimas pueden causar el efecto de coagulación no todas son aptas para el uso en quesería, puesto que si tienen una actividad proteolítica excesiva causan sabores amargos y efectos no deseables en la textura del queso.

Por lo anterior los sustitutos del cuajo animal que se garantizan por su inocuidad, seguridad y capacidad como coagulante son:

- Pepsina de cerdo
- Proteasa de Mucor miehei

- Proteasa de mucor pusillus
- Proteasa de Endothia parasítica
- Quimosina genética

"La cantidad a adicionar de estas enzimas difiere según el país donde se elabore el queso" (Hansen, 2008).

4.2.3 Principios tecnológicos en la elaboración de quesos

Antes de la elaboración del queso como tal, la leche cruda debe ser sometida a las operaciones de: filtración, estandarización, homogenización, pasteurización y enfriamiento.

4.2.3.1 Filtración

Esta operación consiste en pasar la leche por unos filtros, en el momento de traspasar la leche que viene de su centro de acopio (granja) al tanque de balanza donde se realiza la eliminación inicial de las macropartículas o elementos extraños que trae la leche cruda. Normalmente se realiza un segundo filtrado al precalentar la leche en el intercambiador de calor que generalmente está provisto de filtros a presión.

4.2.3.2 Estandarización

La estandarización de la leche tiene dos funciones principales:

- Lograr que el queso a elaborar cumpla con las normas nacionales e internacionales o del productor con relación a su contenido de materia grasa en la materia seca del producto final
- Hacer un uso más racional de los componentes de la leche teniendo en cuenta el rendimiento económico por una parte y por otra parte la aceptación del consumidor con respecto a su contenido de: grasa, agua, proteína, cuerpo o textura, aroma y sabor del queso.

La operación de estandarización consiste en adecuar la composición de la leche para tener una relación constante entre materia grasa y materia seca del producto terminado.

4.2.3.3 Homogenización

Esta operación se realiza a la leche con el fin de reducir el tamaño de los glóbulos grasos de la leche y para evitar la aparición de la grasa en la superficie al separarse la fase hídrica de la materia grasa.

El procedimiento consiste en someter la leche a unas presiones entre (250 -350) kg/cm² cuando se conduce a través de un tubo cerrado por el orificio externo o salida de la leche con un tapón cónico de acero, donde choca con gran fuerza lográndose el rompimiento de los glóbulos grasos de la leche hasta obtener un tamaño entre (1 – 2) micras. La salida de la leche por la abertura del tapón produciéndose una reducción rápida de la presión de la leche ocasionando el estallido del glóbulo graso. La operación de homogenización se puede realizar antes o después de la pasteurización y es importante analizar la ventaja de uno y otro proceso desde el punto de vista microbiológico.

Cuando la pasteurización se realiza antes de la homogenización, las bacterias contenidas en leche se agrupan en forma de racimos y solo se eliminan durante el tratamiento térmico las bacterias de las superficies y sobreviven las del centro, por el contrario cuando se realiza primero la homogenización y después la pasteurización, las agrupaciones de bacterias mencionadas, se separan y se convierten en cocos aislados, los cuales se destruyen más fácilmente por acción del calor.

La temperatura de homogenización aconsejable es de (65-70) ºC; al aumentar la temperatura de la pasteurización se destruyen las proteínas presentes en la leche dando defectos desfavorables en los subproductos.

4.2.3.4 Pasteurización o tratamiento térmico

Cualquiera que sea el tipo de leche, productos o subproductos a obtener se requiere someter la leche a un tratamiento térmico previo. Este tratamiento tiene varios objetivos:

- Destruir todos los agentes patógenos causantes de enfermedades al hombre.
- Reducir los microorganismos saprofitos (son los que tienen que ver con la higiene y lugar de procedencia del animal) que son los que generalmente afectan la calidad de la leche y sus productos.
- Aumentar el período de conservación de la leche y sus productos.

El nombre de pasteurización se debe al químico francés Louis Pasteur quien a mediados del siglo XIX descubrió a través de sus investigaciones la manera de eliminar las levaduras indeseables en la fermentación del vino y de la cerveza, mediante la aplicación de calor a una temperatura aproximada de 65°C por 30 minutos. A fines del mismo siglo el procedimiento realizado por Pasteur se aplicó a la leche obteniéndose los resultados favorables con respecto a la conservación de la calidad microbiológica de la leche, sin alterar su calidad organoléptica. Hoy en día se realiza este tratamiento en la elaboración de muchos productos que pertenecen a otros grupos de alimentos, como frutas, hortalizas entre otros.

La pasteurización es entonces un tratamiento térmico por debajo del punto de ebullición del agua y en un tiempo mínimo que permita la destrucción total de los microorganismos patógenos. El equipo más utilizado hoy en día para la pasteurización de la leche es el intercambiador de calor de placas.

4.2.3.5 Enfriamiento

La leche que no vaya a ser procesada en un corto tiempo después de recibirse en la planta, debe ser enfriada a temperaturas entre (4-5) ºC para almacenarla hasta que inicie su procesamiento. Sin embargo si la leche va a ser utilizada para la producción de quesos se debe mantener a una temperatura de 10 ºC, ya que temperaturas más bajas afectan las propiedades del Caseinato de Calcio, componente básico para la producción de queso.

El enfriamiento de la leche se efectúa en un Intercambiador de calor de placas, que consiste en un equipo provisto de placas en acero inoxidable colocadas paralelamente unas de otras y separadas por empaques de goma, su disposición en forma alterna permite que circule dos corrientes de flujo: el de la leche y el de agua helada, que se encuentra a una temperatura entre (2-2,5) ºC, encargándose de absorber el calor de la leche y enfriarla a las temperaturas óptimas para su almacenamiento, estas oscilando entre (4-5) ºC.

4.2.4 Descripción del proceso

Para el proceso productivo de los quesos frescos intervienen etapas, las cuales se describen a continuación:

4.2.4.1 Recepción de la materia prima

La leche empleada en la elaboración de quesos debe ser de buena calidad química como microbiológica, incluso los niveles de higiene exigidos para la leche de consumo directo, deben ser exigidos para la leche destinada a la elaboración de quesos. La leche debe de tener la acidez requerida y debe estar libre de impurezas, siendo necesaria su filtración para eliminar cuerpos extraños en la misma.

4.2.4.2 Filtrado

El objetivo principal de la filtración es extraer de la leche todas aquellas partículas que esta pueda traer como piedras, arena, tierras, insectos, se realiza al pasar la leche por tamices que extraen todo este material.

4.2.4.3 Pasteurizado

La pasteurización puede definirse como un proceso higienizante destinado a eliminar completamente la microflora patógena de la leche, disminuir considerablemente la microflora banal. No obstante el calentamiento de la leche origina la pérdida de su capacidad de coagulación por el cuajo. Sin embargo, tecnológicamente está pérdida puede ser reversible mediante adición de Cloruro de calcio. En este caso se utilizará la

pasteurización lenta, la cual consiste en elevar la temperatura a 65°C durante 30 minutos, ya que suele ser más eficiente.

4.2.4.4 Enfriado

El objetivo principal de esta etapa es acondicionar la leche (temperatura, corrección de calcio) para que permita mejorar el rendimiento, la actividad y formación del cuajo.

4.2.4.5 Coagulado

La coagulación de la caseína es el proceso fundamental de la fabricación del queso, y es consecuencia de la desestabilización proteica y puede llevarse a cabo mediante la acción de proteinasas ácidas como la quimosina (coagulación enzimática). La coagulación enzimática tiene lugar en dos fases distintas, una fase proteolítica en la que las micelas de la caseína se desestabilizan por hidrolisis de la k-caseína, formándose micelas de para-k-caseína y una fase secundaria, medida por el calcio, en la que las micelas de para-k-caseína se agregan y precipitan. Con el tiempo van formando una red de poros, 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. Esta última fase requiere condiciones de reposo y una temperatura por encima de 20°C. La temperatura óptima de acción del cuajo esta alrededor de los 40°C pero se utiliza menores para evitar la dureza del coagulo.

4.2.4.6 Cortado y batido

El corte de la cuaja inicial favorece la síntesis. Durante el corte debe evitarse la ruptura del coagulo y la correspondiente pérdida de materia grasa y un deficiente sinéresis. Se debe cortar en cubos de (1-2) cm de arista, en lo posible de forma homogénea que permita la salida de la mayor cantidad de suero posible por aumento de la superficie. La agitación o batido de la cuajada, manteniendo la temperatura entre (38-40) °C, favorece a la sinéresis y la eliminación del suero.

4.2.4.7 Desuerado

Consiste en la separación de suero de la cuajada, ya sea por filtración o decantación, pudiéndose separar hasta el 90% de lactosuero. Se realizan dos desuerados, en el primero se elimina el (35-50)% de lactosuero, el suero restante permite la homogenización de la sal añadida de manera directa, se elimina después del salado de la cuajada.

4.2.4.8 Salado

El salado es un procedimiento que se aplica en todo tipo de quesos. Debe realizarse para lograr el sabor adecuado del queso, además facilita el desuerado de la cuajada y tiene un papel de conservante al inhibir el crecimiento de bacterias no deseables, cuando este se encuentra en concentraciones elevadas.

4.2.4.9 Moldeado

El moldeado permite que los coágulos se unan y formen masa continua, determinando así la textura del queso y la forma definitiva. Los orificios del molde permiten la salida del suero retenido en el interior de la cuajada.

4.2.4.10 Almacenamiento

El almacenamiento en refrigeración se debe realizar a una temperatura de 4-7°C, para impedir el crecimiento acelerado de los microorganismos y para ayudar a que el queso alcance su punto final de textura y presentación

4.2.5 Parámetros de calidad e inocuidad a evaluar en los quesos frescos

Para el aseguramiento de la calidad e inocuidad en la elaboración de quesos de pasta fresca (queso fresco), las industrias lácteas se rigen a la legislación correspondiente a su tipo de procesamiento y mercado a dirigir, para Centroamérica, los criterios a evaluar son regidos por el Reglamento Técnico Centroamericano – RTCA- .

- **Tabla No. 01:** Parámetros fisicoquímicos para quesos no madurados

Parámetro (%)	Queso fresco
Humedad	57 – 78
Grasa	3 – 6
Proteína	17 – 21
pH	5 – 6, 4
Sal	1 – 3

Fuente: Reglamento Técnico Centroamericano –RTCA-

- **Tabla No. 02:** Parámetros microbiológicos para quesos no madurados.

Parámetro	Límite máximo permitido
Escherichia coli	< 10 UFC/g
Staphylococcus aureus	10^3 UFC/g
Listeria monocytogenes/25 g	Ausencia
Salmonella ssp/25 g	Ausencia

Fuente: Reglamento Técnico Centroamericano –RTCA-

- **Tabla No. 03:** Parámetros sensoriales para quesos no madurados.

Parámetro	Queso fresco
Color	Blanco-amarillento
Olor	Característica a leche
Sabor	Característico a leche- notas saladas
Textura	Lisa

Fuente: Reglamento Técnico Centroamericano –RTCA-

4.3 Recubrimientos comestibles

4.3.1 Generalidades

Existe en la actualidad un incremento de interés en el desarrollo de materiales que prolonguen la vida útil de los alimentos y que también mejoren las cualidades microbiológicas de los mismos.

> Los recubrimientos comestibles se definen como una capa fina y continua de un material comestible, que se dispone sobre la superficie de un alimento para mejorar la calidad y aumentar la vida útil del mismo. Los recubrimientos comestibles están formados principalmente de polímeros biodegradables con resistencia cohesiva alta (Fernández-Pan y Maté-Caballero, 2011).

4.3.2 Formación de recubrimientos

En la formulación de recubrimientos comestibles debe presentarse al menos un componente capaz de formar una matriz estructural estable, como los hidrocoloides clasificados en proteínas (colágeno, gelatina, zeina, gluten de trigo, proteína de soja, proteínas lácteas, etc.) o carbohidratos (derivados de celulosa, almidones, extractos de algas, pectinas, gomas o quitosano) (Morillon et al., 2002; Ponce et al., 2008), "también se forman de otros componentes como Aditivos (Benzoatos y Sorbatos), Plastificantes Lípidos (Aceites, Lecitina, ceras, ácidos grasos y actualmente Aceites esenciales) ente otros" (Kester y Fennema, 1986).

4.3.3 Técnicas de aplicación de recubrimientos

"La técnica de aplicación de un recubrimiento comestible depende del tipo de producto que se vaya a recubrir, la aplicación directa de la solución sobre el alimento se puede llevar a cabo por diferentes métodos como:" (Soliva y Martin, 2001)

- Inmersión: es la técnica más antigua y la más utilizada en el recubrimiento de alimentos como: frutas, hortalizas, productos cárnicos e hidrobiológicos. Este tipo de técnica se utiliza si se requiere una capa uniforme en una superficie irregular, su forma de aplicación no es más que la inmersión del producto en la solución durante un

minuto, para después pasar por un posterior secado del recubrimiento. (Tharanathan, 2003).

- Frotación: el método de frotación se aplica mediante aire comprimido en las líneas de empaque que poseen rodillos, el exceso de la solución se remueva con cepillos que están en los rodillos en movimiento, seguidamente el alimento pasa por un proceso de secado. (Tharanathan, 2003).
- Aspersión: para la aplicación de este tipo de método se realiza con alta presión, mediante el cual se dispersa la solución en el aire y se adhiere al alimento, es el método más convencional debido a que tiene un menor gasto de la solución formadora del recubrimiento comestible. (Tharanathan, 2003).

4.4 Quitosano

4.4.1 Generalidades

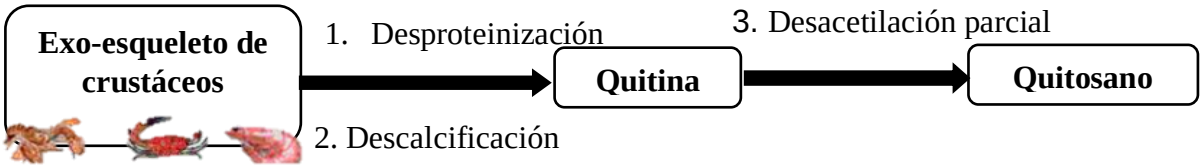
El quitosano es un polisacárido lineal obtenido por desacetilación alcalina de la quitina, proveniente de los caparazones de crustáceos (camarón y cangrejo principalmente).

"Sus propiedades avizoran una mayor efectividad económica y práctica que otros agentes tradicionales, debido a su excelente capacidad de formación de recubrimientos comestibles, unidos a que no produce contaminantes, es biocompatible, no presenta toxicidad y es naturalmente abundante y renovable" (Zhang y Quantick, 1998)

4.4.2 Proceso de obtención

El proceso de obtención del quitosano se produce por acetilación de la quitina, y se puede realizar mediante procesos químicos o enzimáticos, sin embargo, las condiciones de reacción dependerán directamente de los diferentes factores presentados en la reacción como: material de partida, tratamiento previo y grado de acetilación. Las principales etapas para la obtención del quitosano son:

Imagen No. 01: Procedimiento para la obtención del quitosano.



Fuente: Knaul y Col. 1998.

4.4.3 Usos del quitosano en la industria alimentaria

En el ámbito de la industria alimentaria la quitina y el quitosano deben hacer frente a dos casuísticas: en algunos casos, relacionada con la necesidad de más investigación, y en otros, debida a las limitaciones legales, ya que aunque el uso alimentario del quitosano está permitido en países como Japón, Corea, Nueva Zelanda o EEUU, en Europa su uso sólo está permitido en el ámbito dietético (como "atrapador" de grasa) y su aplicación como aditivo alimentario está pendiente de aprobación oficial.

A pesar de estas limitaciones legales existe un considerable progreso en la investigación relacionada con las aplicaciones de la quitina y el quitosano en alimentación. Las posibilidades de utilización en la industria alimentaria son amplias:

- Como agente quelante y floculante para tratamiento de aguas y efluentes resultantes del procesado alimentario, para clarificación de bebidas (vinos, zumos).

- Por sus propiedades espesantes, gelificantes y emulsificantes pueden tenerse en cuenta para la mejora de las texturas de los alimentos.

- Como compuestos prometedores en el campo de la alimentación funcional, pudiendo actuar como liberadores de ingredientes funcionales Pero sin duda la que mayor expectativa genera es la de la utilización para la mejora de la conservación de los alimentos.

- Por sus propiedades antimicrobianas, está ampliamente difundidas en la literatura científica, lo que ha generado grandes expectativas en la aplicación de este compuesto como conservante natural de alimentos. La efectividad antimicrobiana del quitosano se observa en una amplia variedad de microorganismos, desde bacterias hasta mohos y levaduras. Así, existen estudios de efectividad en este sentido en productos tan variados como el zumo de manzana, ensaladas o salchichas de cerdo

- También tiene propiedades formadoras de film, por lo que se puede utilizar como recubrimiento comestible o film para la conservación de alimentos.

  Los films de quitosano son resistentes, duraderos, flexibles y muy difíciles de romper, con propiedades mecánicas similares a algunos polímeros sintéticos, pudiéndose utilizar para incluir aditivos o ingredientes funcionales en los recubrimientos y films que mejoren sus propiedades sensoriales y nutricionales.

  "De este modo, el desarrollo de recubrimientos y films antimicrobianos a base de quitosano es una prometedora alternativa para extender la vida útil y mantener la calidad y seguridad de los alimentos" (Quitosano, conservante natural para la industria alimentaria. s.f. 2106.)

4.5 Aceites esenciales

4.5.1 Generalidades

El crecimiento de microorganismos causantes de deterioro reduce la vida útil del alimento, mientras que el crecimiento de microorganismos patógenos pone en peligro la salud.

Muchos compuestos naturales que se encuentran en diferentes plantas comestibles y medicinales, han demostrado tener actividad antimicrobiana y, por tanto, potencial como fuente de agentes antimicrobianos frente a patógenos y bacterias de deterioro, tanto en alimentos procesados como sin procesar, reduciendo así la velocidad del crecimiento microbiano o su viabilidad.

Los aceites esenciales son líquidos aromáticos aceitosos que se obtienen de diferentes partes de las plantas como flores, brotes, semillas, hojas, corteza, hierbas, madera, frutos, raíces, etc. Son volátiles, solubles en lípidos y disolventes orgánicos y generalmente de menor densidad que el agua, son mezclas de sustancias que presentan como característica principal su compleja composición química y su carácter fuertemente aromático (¿Qué son los aceites esenciales? .s.f. Párr.1).

Uno de los factores a tener en cuenta en la aplicabilidad de estos compuestos es su impacto sobre las propiedades organolépticas de los alimentos. Por este motivo, es importante determinar cuál es la concentración mínima del aceite esencial para que sea efectiva, pero que altere lo menos posible las propiedades organolépticas del producto.

Además del efecto sobre las propiedades organolépticas, se tienen que evaluar otra serie de aspectos como el rango de actividad frente al organismo objetivo sobre el que se quiere actuar en cada producto, al igual que el efecto de la composición del alimento sobre la actividad antimicrobiana.

Los aceites esenciales se pueden incorporar en el material de envasado (envase activo) o mediante un recubrimiento, de tal forma los compuestos antimicrobianos estarán en contacto con la superficie de los alimentos, que es donde ocurre principalmente la contaminación microbiana debida a la manipulación después del procesado, reduciendo de esta manera la interferencia de los constituyentes del alimento. Los productos con mayor potencial para la aplicación de filmes y recubrimientos antimicrobianos incluyen la carne, pescado, aves, pan, queso, frutas, verduras y bebidas. En el caso de las verduras y frutas, se pueden aplicar los aceites esenciales y otros extractos en disoluciones de lavado.

4.5. 2 Métodos de extracción de aceites esenciales

Los aceites esenciales son muy inestables: volátiles, frágiles, y alterables con la luz. Para obtenerlos se utilizan diferentes métodos:

- Destilación en corriente de vapor (o por arrastre de vapor): la extracción funciona gracias a que, cuando el vapor entra en contacto con el material vegetal, hace que los compuestos aromáticos, que generalmente poseen un punto de ebullición más bajo que

el agua, se vaporicen y sean arrastrados junto con el vapor hasta el condensador, donde se condensan junto con el vapor de agua. También la temperatura del vapor hace que las células y las estructuras vegetales se rompan y liberen más compuestos esenciales.

Esta técnica funciona para extraer aceites esenciales en general, pero no para aislar un compuesto determinado. Además pueden encontrarse algunos compuestos que puedan degradarse con la temperatura del vapor. Así que a medida que la industria de los aceites esenciales su fue especializando, el arrastre con vapor ha sido dejado de lado a favor de tecnologías que funcionen a menor temperatura y pueda extraerse la mayor cantidad de compuestos esenciales.

- Extracción: puede ser por presión en frío (exprimiendo sin calentar), por *enfleurage* (maceración), entre otros.
- También se pueden extraer aceites esenciales mediante su disolución en aceites vegetales.
- Hidrodestilación: es un método de extracción de aceites esenciales en donde el material vegetal está en contacto directo con el agua a temperaturas altas, obteniendo en conjunto un subproducto que contiene los fitoactivos que fueron solubles en ella y que son conocidos como hidrolatos.
- También se pueden sintetizar en forma artificial, que es la manera más habitual de obtenerlos, debido a que la gran demanda de estos productos no llega a ser abastecida por las fuentes naturales.

"Los aceites esenciales son muy concentrados, por lo que sólo se necesitan pequeñas cantidades para lograr el efecto deseado (del orden de los miligramos)" (Métodos de extracción de aceites esenciales. s.f. Párr.4).

4.5.3 Usos de los aceites esenciales en la industria alimentaria

Los aceites esenciales se han utilizado extensamente desde la edad media en aplicaciones como bactericidas, fungicidas, antiparasitarios, insecticidas, medicinales y en cosmética.

Actualmente se conocen aproximadamente 3000 aceites esenciales, 300 de los cuales son importantes comercialmente en las industrias farmacéutica, alimentaria, sanitaria, cosmética, perfumería y en la agricultura.

En concreto en la industria alimentaria, tanto los aceites esenciales como sus componentes se han utilizado extensamente como ingredientes saborizantes o como condimento en una gran variedad de alimentos, bebidas y productos de confitería.

Muchos de los aceites esenciales se clasifican como substancias GRAS (Generally Recognized As Safe) e incluso algunos de sus componentes están legalmente registrados como condimentos en Europa y USA, lo que facilita su posible utilización como agentes antimicrobianos en alimentación.

La composición, estructura, así como los grupos funcionales de los aceites juegan un papel importante en la determinación de su actividad antimicrobiana. Entre los aceites esenciales de especias y hierbas que más efectividad han demostrado frente a los microorganismos se encuentran los de clavo, canela, mostaza, orégano, romero, tomillo, salvia y albahaca.

La industria alimentaria es una de las que más aceites esenciales requiere. Se encuentran en productos como aceites, vinagres, encurtidos y embutidos. En la confitería se utilizan para saborizar y aromatizar productos como caramelos y chocolates. También se emplean mucho en las industrias cárnicas y charcuteras, como condimento, aromatizantes y conservantes.

4.5.4 Hierba de té de limón (*Cymbopogon citratus*)

La planta Cymbopogon citratus, conocida comúnmente como “Limonaria”, “Limoncillo”, o “Hierba de té de limón”, es una hierba perenne, vivaz que crece hasta 1 m. Posee un tallo redondo, corto y ramificado, que origina numerosas macollas; presenta hojas lanceoladas, pubescentes, de color verde y superficie áspera y cortante, que emanan un olor característico a lima o limón.

Cymbopogon citratus es una planta aromática de clima tropical o subtropical, que necesita de lluvias abundantes, humedad relativamente alta y plena exposición solar; responde a cualquier tipo de suelo, siempre y cuando no sean muy compactos o estén mal drenados y crece en alturas de hasta 1700 msnm. Su propagación se realiza de forma vegetativa por división de plantas.

Imagen No. 02: Planta de Hierba de té de limón.

Fuente: https://es.wikipedia.org/wiki/Cymbopogon, 2016.

4.5.4.1 Propiedades del aceite esencial de hierba de té de limón

La composición química de los metabolitos secundarios volátiles y semivolátiles presentes en las hojas de la hierba de té de limón, ha sido estudiada utilizando diversas técnicas de extracción, entre ellas, se encuentran: extracción con solvente y sonificación, extracción con fluido supercrítico (SFE), extracción con solvente acelerado (ASE), destilación–extracción con solvente simultánea (SDE), destilación por arrastre con vapor seco

(SD), hidrodestilación (HD) e hidrodestilación asistida por la radiación de microondas (MWHD).

El aceite esencial obtenido a partir de las hojas de *C. citratus* posee un elevado contenido de citral, que representa entre el (50-75) % del total de la esencia, debido a su alto contenido, presenta una efectiva actividad antibacterial y antifúngica frente a un amplio espectro de microorganismos, entre ellos, Aspergilus niger, A. ochraceus, Fusarium culmorun, Staphylococcus aureus, Beneckea natriegens, Salmonella pullorum, Citrobacter freundii y Clostridium perfringens, entre otros.

También se ha evaluado la capacidad antioxidante del aceite esencial de *C. citratus* en diversos ensayos; obteniéndose resultados interesantes en las pruebas de luminol-fotoquimiluminiscencia, PCL, y en los tests de decoloración del β-caroteno y del radical 1,1-difenil-2- picrilhidrazilo, DPPH**.**

4.5.5 Semillas de apio (*Apium graveolens*)

El apio (*Apium graveolens*) es una especie vegetal perteneciente a la familia de las Apiáceas, antiguamente conocidas como umbelíferas, natural de Europa y Extremo Oriente, aparece como planta silvestre en muchos lugares húmedos y pantanosos.

Una de las ventajas del apio es que tanto las hojas y el tallo como las semillas y las raíces se pueden utilizar. Las semillas de esta planta se caracterizan por poseer 5 costillas que la recorren a lo largo, contienen un compuesto llamado ftalida, caracterizado por su poder sedante. (Méndez, 2013. Párr. 2)

Imagen No. 03: Semillas de Apio

Fuente: http://www.mis-remedios-caseros.com/apio.htm

4.5.5.1 Propiedades del aceite esencial de las semillas de apio

El aceite esencial de las semillas de apio se obtiene principalmente por destilación al vapor de las semillas enteras, se caracteriza por ser una liquido amarillo-naranja, con olor dulce, el aceite esencial de las semillas de apio tiene propiedades antibacterianas con lo que, al mismo tiempo aumenta la micción y ayuda a combatir las infecciones por virus o bacterias, además es antiséptico, antioxidante, antirreumático, depurativo, aperitivo, antiespasmódico, carminativo, hepático, tónico nervioso, tónico digestivo y estimulante uterino. (Pérez. s.f. Párr. 6).

4.6 Vida Útil

La vida útil de un alimento es el periodo de tiempo durante el cual mantiene una calidad adecuada siempre que se garanticen las condiciones de conservación que se indican en el etiquetado. La vida útil depende tanto de las propias características de los alimentos como de las técnicas de conservación de los mismos. Los estudios de vida útil aportan datos sobre cuánto tiempo un producto puede conservar inalteradas sus propiedades y es capaz de mantener su calidad desde el momento en el que el consumidor abre el envase.

En este sentido, la normativa establece la realización de estudios de vida útil para asegurar la ausencia de riesgos microbiológicos e identificar los cambios sensoriales en determinados alimentos.

Los métodos más utilizados para estimar la vida útil de un producto de alimentación son:

- Oxitest: Es un sistema de última generación que permite conocer el nivel de oxidación de los alimentos con alto contenido en grasa (frutos secos, bollería y galletas, pasta..). La autoxidación de los ácidos grasos es uno de los factores que influyen y condicionan la vida útil de los alimentos, causando su deterioro.

  La estabilidad oxidativa permite conocer la resistencia del alimento ante la presencia de agentes oxidantes, los cuales deterioran las grasas provocando un sabor rancio. Conocer la estabilidad de las grasas puede dar una idea aproximada del tiempo durante el cual el alimento mantiene la calidad y frescura, al tiempo que resulta seguro.

- Estudios acelerados de vida útil: Los estudios acelerados de vida útil permiten predecir el comportamiento de los productos y anticiparse por lo tanto a su evolución en las condiciones habituales de almacenamiento y distribución.

  Mientras que para los productos de una corta vida útil es factible determinar su vida comercial durante el proceso de desarrollo, la introducción al mercado de nuevos productos de larga vida útil presenta el hándicap de requerir información sobre su evolución a lo largo del tiempo completo de almacenamiento.

  Este tipo de estudios ayudan a minimizar los costes, es decir, se reduce el retorno de producto alterado, pérdida de la imagen de la compañía, etc, y permite, también, saber con antelación qué puntos débiles presenta el producto y poder modificarlo para alargar su vida comercial, comúnmente para estos se utilizan pruebas microbiológicas.

- Método de supervivencia: Uno de los métodos que se utiliza para estimar la vida útil sensorial de los alimentos es el método de supervivencia que se basa en la opinión del consumidor para estimar la vida útil sensorial de los alimentos.

Este método se basa fundamentalmente, en conocer la actitud del consumidor hacia el producto, haciendo un test sensorial sobre si consumiría o no el producto. Para ello, sólo se requiere disponer de muestras almacenadas a lo largo del tiempo y muestras recién fabricadas de un mismo producto.

Con estos estudios sensoriales las empresas aseguran que la vida útil estimada está acorde con los parámetros de calidad percibidos por el consumidor como claves en los productos, evitando posibles rechazos y cumpliendo con lo que el consumir espera encontrar en el punto de venta.

4.7 Análisis de varianza con distribución completamente al azar

El diseño completamente al azar es una prueba basada en el análisis de varianza, en donde la varianza total se descompone en la "varianza de los tratamientos" y la "varianza del error".

El objetivo es determinar si existe un diferencia significativa entre los tratamientos, para lo cual se compara si la "varianza del tratamiento" contra la "varianza del error" y se determina si la primera es lo suficientemente alta según la distribución F.

4.7.1 Características del diseño

Se definen los *t* tratamientos que se van a aplicar a las n unidades experimentales, de tal forma que a *r* unidades experimentales les va a corresponder un tipo de tratamiento. Las unidades experimentales se sortean para la asignación a cada tratamiento. Se define la variable a medir.

4.7.2 Descripción del método: ver anexo No. 13.2, pág. 68.

5. OBJETIVOS

5.1 General

5.1.1 Comparar la vida útil del queso fresco procesado sin conservadores y queso fresco con recubrimiento comestible de quitosano y aceite esencial de semillas de apio (*Apium graveolens*) y quitosano y aceite esencial de hierba de té limón (*Cymbopogon citrus*) a nivel de planta piloto.

5.2 Específicos

5.2.1 Determinar la concentración adecuada de aceites esenciales a adicionar en un recubrimiento comestible de quitosano.

5.2.2 Analizar la calidad e inocuidad inicial y final del queso fresco mediante análisis microbiológicos, fisicoquímicos.

6. HIPÓTESIS

El empleo de una mezcla de quitosano y aceites esenciales de semillas de apio (Apium graveolens) y hierba de té de limón (Cymbopogon citrus) en un recubrimiento comestible no aumentan la vida útil del queso fresco

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Recursos

7.1.1 Recursos humanos

- Estudiante tesista: T.U. Alba Regina Del Cid Juárez.
- Asesor Titular: Msc. Edgar Roberto Del Cid Chacón.
- Asesor Adjunto: Ing.A Silvia Guzmán Téllez.

7.1.2 Recursos físicos

- Planta piloto de la carrera de Ingeniería en alimentos del Centro Universitario de Sur-Occidente.
- Laboratorios de Áreas Básicas, Centro Universitario del Sur Occidente, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Laboratorio Clínico DUBÓN, Análisis Industriales del Sur, Retalhuleu, Guatemala.

7.1.3 Recursos institucionales

- Centro Universitario de Sur-Occidente, CUNSUROC, Mazatenango, Suchitepéquez.

7.1.4 Recursos económicos: los gastos durante la investigación serán sufragados por la estudiante tesista.

7.2 Materiales y equipo

7.2.1 Para elaboración de queso fresco

- Leche
- Cuajo
- Cloruro de calcio
- Sal
- Tina para cuajar
- Liras de corte de cuajada
- Moldes para queso

- Mantas finas
- Balanza analítica
- Recipientes plásticos
- Molino
- Refrigeradora

7.2.2 Para elaboración de los recubrimientos

- Quesos frescos sin recubrimiento.
- Quitosano. Se utilizará quitosano de mediano peso molecular de 75% - 80% desacetilado obtenido de cáscara de camarón producto con número CAS 9012-76-4.
- Aceite esencial de semillas de apio.
- Aceite esencial de hierba de té de limón**.**
- Ácido cítrico al 1,5%
- Tween 80
- Termómetro con escala (0 a 100 ˚C)
- Agitador electromagnético
- Balanza analítica
- Erlen Meyer de 500 ml.
- Matraz aforado de 250 ml
- Calculadora

7.2.3 Para análisis fisicoquímicos

- Quesos frescos con recubrimiento y sin recubrimiento.
- Potenciómetro
- Cámara refrigerada
- Baño María
- Botella de babcock
- Pipetas de 25 ml
- Centrifuga
- Mortero
- Agitador

- Crisol con tapa
- Desecador
- Balanza analítica.
- Agua destilada

- Hidróxido de sodio (NaOH) 0,1 N
- Ácido sulfúrico concentrado
- Sulfato de cobre pentahidratado
- Sulfato de potasio
- Ácido Clorhídrico 0,1N
- Rojo de metilo al 1%
- Soda caustica al 36%

8. MARCO OPERATIVO

La investigación se desarrollará en tres etapas:

8.1 Elaboración de los quesos: la elaboración del queso fresco se realizó en las instalaciones de la casa de habitación de la estudiante tesista, la metodología a emplear fue la siguiente:

- Recepción de la materia prima: en esta etapa se verificó cada una de las materias primas a utilizar verificando el estado de cada una de ellas así como las fechas de vencimiento para las que así lo requieran
- Filtrado: la leche cruda destinada a la elaboración de los quesos debe estar libre de partículas extrañas como piedras, arena, tierras, insectos, se realizó al pasar la leche por finas mantas que extrajeron todo el material que pudiese contener.
- Pasteurizado**:** esta etapa se realizó mediante tratamiento térmico lento a una temperatura de 65°C durante 30 minutos, controlando el tiempo y la temperatura para evitar la caramelización de los azucares de la leche y la correcta pasteurización.
- Enfriado: se realizó un enfriado por agitación constante a temperatura ambiente hasta llegar a 40°C, seguidamente se le adicionó el cloruro de calcio y se agitó nuevamente disolviéndolo en su totalidad hasta llegar a una temperatura de 38°C.
- Coagulado: en esta etapa se adicionó el material coagulante en la proporción anteriormente formulada (Ver tabla No. 05, Página 38), se reposó en las tinas de cuajo durante 30 minutos a una temperatura no mayor 38°C.
- Cortado**:** se cortó la cuajada en cubos y se dejó drenar todo el lactosuero.
- Desuerado: esta etapa consistió en separar el lactosuero de la cuajada, se realizó mediante filtración en finas mantas. Se realizaron dos desuerados, en el primero se eliminó alrededor de la mitad del lactosuero contenido en la cuajada, el segundo se realizó después del salado, eliminando así el restante de lactosuero contenido aun en la cuajada.
- Salado: el salado del queso se realizó de forma directa, añadiendo la sal a la cuajada en la cantidad ya establecida.

- Molido: el molido de la cuajada se realizó en molino eléctrico.
- Moldeado: la cuajada ya salada y molida se sometió a un proceso de moldeado utilizando moldes cuadrados.
- Almacenado: se almacenaron los quesos ya elaborados a temperatura de 7°C para su posterior uso.

8.1.1 Formulación

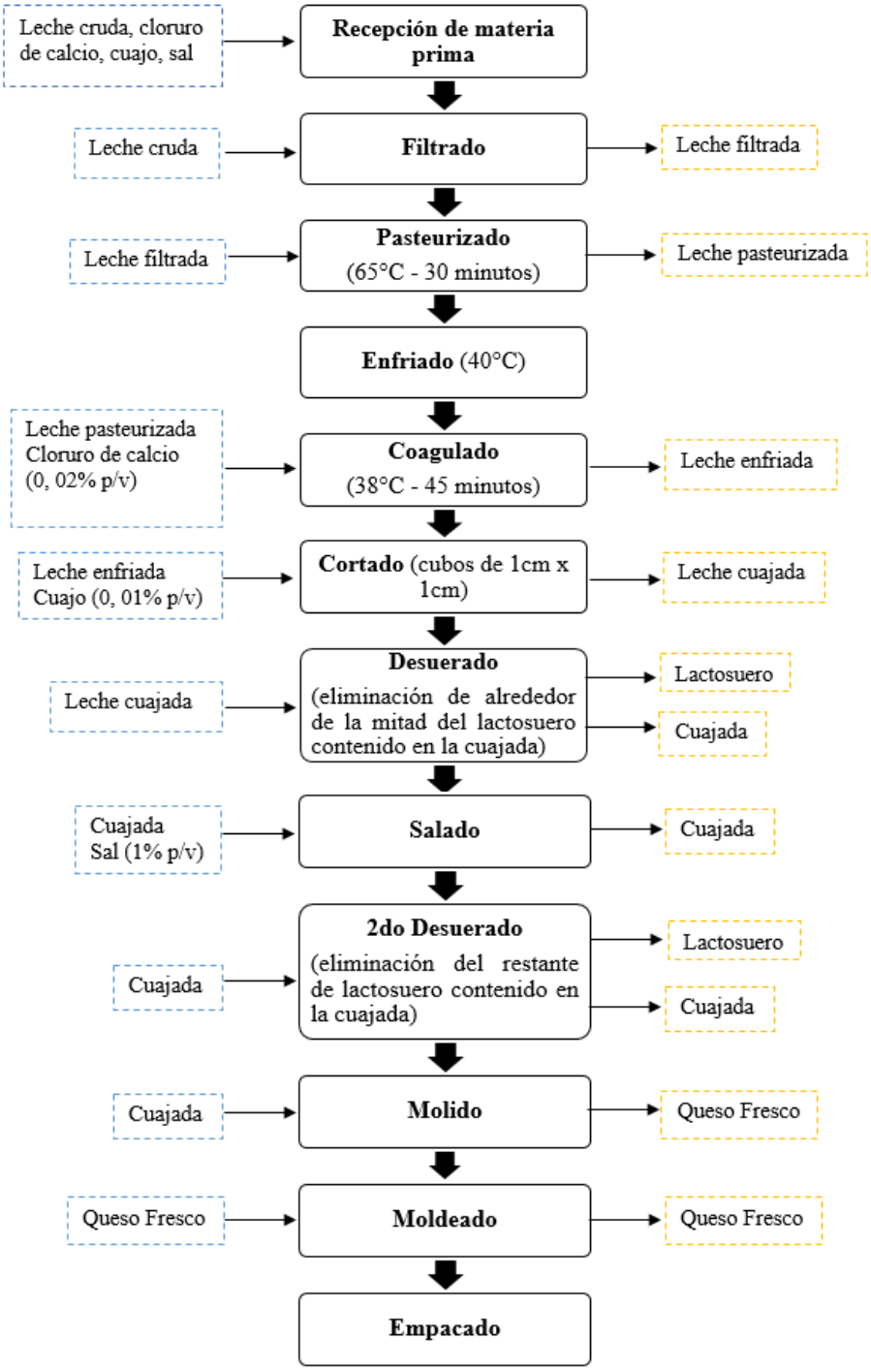
Tabla No. 04: formulación de queso

Componente	Porcentaje (%)
Leche	98, 97
Sal	1
Cloruro de calcio	0, 02
Cuajo	0, 01

Fuente: Adaptada de tabla de formulación de procesados lácteos, FAO, 2016.

8.1.2 Diagrama de flujo

Figura No. 01: diagrama de flujo para la elaboración del queso fresco



Fuente: Adaptada de tabla de formulación de procesados lácteos, FAO, 2016.

8.2 Segunda etapa: esta etapa se realizará en el laboratorio donde se elaborará y aplicará el recubrimiento a los quesos destinados para este fin, siendo tres tratamientos (dos con recubrimientos y uno sin recubrimiento)

8.2.1 Elaboración de los recubrimientos

La elaboración de los recubrimientos se realizará en la casa de habitación de la estudiante tesista, la metodología empleada para su elaboración fue la siguiente:

a) Colocar agua destilada en un vaso de precipitado de 1L en una parrilla de agitación y calentamiento hasta alcanzar una temperatura de 40ºC.

b) Alcanzada la temperatura adicionar ácido cítrico y mantener agitación constante hasta su dilución, posteriormente adicionar el quitosano.

c) Agitar durante 1 h, transcurrido el tiempo adicionar el aceite esencial y el Tween 80 y agitar hasta su dilución.

NOTA: cada materia prima utilizada en la preparación de los recubrimientos fue debidamente pesado en las proporciones establecidas en su formulación.

Tabla No. 05: Formulaciones de los recubrimientos

Materia Prima	Formulación 1	Formulación 2	Formulación 3
Agua destilada	98, 29%	98, 27%	98, 25%
Ácido cítrico	0, 50%	0, 50%	0, 50%
Quitosano	1%	1%	1%
Aceite esencial	0, 01%	0, 03%	0, 05%
Tween 80	0, 20%	0, 20%	0, 20%

Fuente: elaboración propia, 2016.

8.2.2 Recubrimiento de los quesos

Una vez elaborado el recubrimiento se dejó enfriar y se aplicó por inmersión durante 1 minuto a cada pieza de queso fresco, ya recubiertos se dejaron secar a temperatura ambiente durante 45 minutos, seguidamente se empacaron y se conservaron en refrigeración para su posterior análisis.

8.3 Tercera etapa: la tercera y última etapa consistió en la realización de todos los análisis que están implicados en la investigación, estos se realizaron durante el lapso delimitado para la evaluación de los tratamientos (15 días).

8.3.1 Determinaciones Fisicoquímicas: las mediciones se realizaron a temperatura y condiciones ambientales normales dentro de las instalaciones del laboratorio del Centro Universitario de Sur-Occidente, estas se realizaron cada 5 días, iniciando desde el día 0, en el tiempo total establecido (15 días), las técnicas que se utilizaron fueron:

Grasa (Ver anexo 13.1.1, pág. 65)

PH (Ver anexo 13.1.2, pág. 66)

Humedad (Ver anexo 13.1.3, pág. 66)

8.3.2 Análisis microbiológicos: para evaluar la actividad microbiológicas del queso con y sin recubrimiento, se tomarán las muestras a determinar de cada uno de los tratamientos y se llevarán a un laboratorio externo de la Universidad, esto se realizó al inicio y final de los tratamientos en el tiempo establecido (15 días), esto se realizó solamente en el día inicial y final por cuestiones de costos, pues estos eran muy elevados y no podían costearse.

8.3.3 Vida Útil: para poder comparar la vida útil de los quesos con recubrimientos se utilizó una prueba acelerada de comparación utilizando los resultados de las determinaciones microbiológicas.

8.4 Análisis de datos obtenidos: los resultados obtenidos se analizaron mediante el análisis de varianza con un nivel de significación del 5% ($p \leq 0,05$). Las diferencias entre muestras se analizaron mediante bloques completamente al azar.

<u>Datos:</u>

- Producto: queso fresco

- Tamaño de muestra: se realizaron tres tamaños de muestra (concentraciones de aceite esencial) están serán del 0.1, 0.3, 0.5%
- Tiempo de evaluación: 15 días
- Intervalos de tiempo entre determinaciones

  Fisicoquímicos: cada 5 días (día 0, día 5, día 10, día 15)

  Microbiológicos: Día inicial y final (día 0 y día 15)

Entonces:

Número de tratamientos: 1 x 3 x 2 = 6 tratamientos (a cada tratamiento se le practicaron 4 corridas)

Número de corridas: 6 tratamientos x 4 corridas = 24 corridas o repeticiones

Al obtener el porcentaje de cada repetición, es decir el valor en cada repetición de la variable respuesta, se procedió a realizar el análisis de varianza, esto para cada variable a evaluar (fisicoquímicas y microbiológicas).

NOTA: Se realizaron 4 muestras control para evaluar en cada una de las corridas o repeticiones.

9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

9.1. Elaboración de los quesos

Los quesos se elaboraron de acuerdo a la metodología establecida, utilizando y respetando la fórmula y parámetros de tiempos y temperaturas, después de moldeado los quesos se dejaron drenar durante 10 minutos para eliminar el lacto suero que aun pudiesen contener.

Seguidamente con los recubrimientos ya elaborados se recubrieron. Las condiciones de almacenamiento tanto antes como después de la aplicación de los tratamientos con quitosano fueron las siguientes:

- Temperatura de refrigeración: 7 ºC se utilizó esta temperatura de refrigeración para mantener bajo control este parámetro que influye directamente en la calidad de los quesos y que no es objeto de estudio, así también no se empleó una temperatura tan baja para evitar daños por frío en los quesos**.**

Después de recubiertos los quesos se empacaron y almacenaron en las condiciones ya mencionadas hasta sus posteriores evaluaciones.

9.2. Preparación y aplicación de los recubrimientos

Se realizaron las diferentes soluciones para recubrimiento según las fórmulas establecidas en la "Tabla No. 05: formulaciones de los recubrimientos", cabe mencionar que se realizaron para cada aceite esencial utilizado (Semillas de apio y Hierba de té de limón) en los porcentajes establecidos para la evaluación (0, 1%, 0, 3%, 0, 5%)

Luego de la preparación de las soluciones se procedió a la aplicación a las unidades experimentales sumergiéndolos durante un minuto en lotes de 4 unidades

experimentales por tipo de aceite y concentración del mismo en la solución hasta completar el número de unidades por tratamiento en cada solución, posterior a ello, se colocaron en bandejas para eliminar el exceso del recubrimiento y se dejaron durante 45 minutos hasta secar la solución en los quesos.

Imagen No. 04: Preparación y aplicación de los recubrimientos

Fuente: elaboración propia, 2017

9.3. Análisis de laboratorio

Con las soluciones aplicadas a las unidades experimentales, se mantuvieron en refrigeración hasta los análisis, para un mejor control las muestras se codificaron como a continuación se indican

<u>Datos</u>

Semillas de Apio
- **0.1% S.A =** queso con recubrimiento de quitosano y A.E al 0.1%
- **0.3% S.A =** queso con recubrimiento de quitosano y A.E al 0.3%
- **0.5% S.A =** queso con recubrimiento de quitosano y A.E al 0.5%

Hierba de té de limón
- **0.1% H.L =** queso con recubrimiento de quitosano y A.E al 0.1%
- **0.3% H.L =** queso con recubrimiento de quitosano y A.E al 0.3%
- **0.5% H.L =** queso con recubrimiento de quitosano y A.E al 0.5%

Control = queso sin recubrimiento

Los resultados obtenidos en los análisis fisicoquímicos y microbiológicos fueron los siguientes:

9.3.1. Determinaciones fisicoquímicas

9.3.1.1. Resultados obtenidos de la determinación de grasa

El contenido de grasa se determinó en cada una de las muestras en los días establecidos (día 0, 5, 10 y 15) y con la metodología establecida para su determinación.

Imagen No. 05: determinación de grasa

Fuente: elaboración propia, 2017

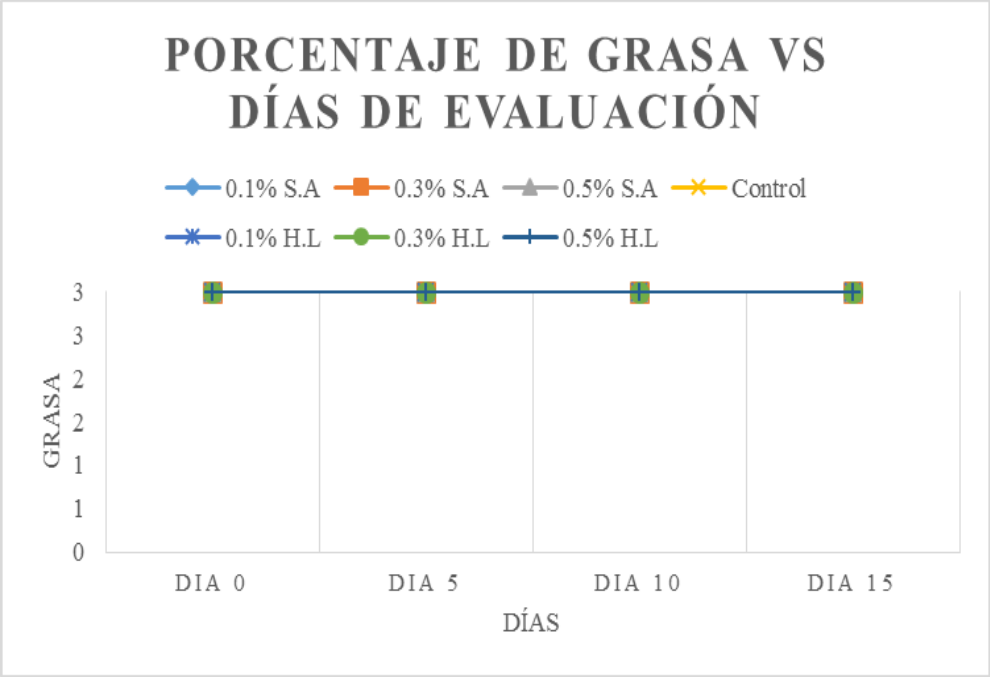
Tabla No. 06: porcentaje de grasa

Tratamiento	DIA 0	DIA 5	DIA 10	DIA 15
0.1% S.A	3, 0	3, 0	3, 0	3, 0
0.3% S.A	3, 0	3, 0	3, 0	3, 0
0.5% S.A	3, 0	3, 0	3, 0	3, 0
0.1% H.L	3, 0	3, 0	3, 0	3, 0
0.3% H.L	3, 0	3, 0	3, 0	3, 0
0.5% H.L	3, 0	3, 0	3, 0	3, 0
Control	3, 0	3, 0	3, 0	3, 0

Fuente: elaboración propia, 2017

Los resultados obtenidos demostraron que durante los días en los que se determinó esta se encontraba dentro de los parámetros aceptables por el Reglamento Técnico Centroamericano –RTCA-, siendo el resultado 3% de grasa para cada una de las muestras analizadas, no se presentaron variaciones en el porcentaje de grasa, manteniéndose estable durante el periodo de evaluación.

Gráfica No. 01: resultados de la determinación de grasa a todas las muestras



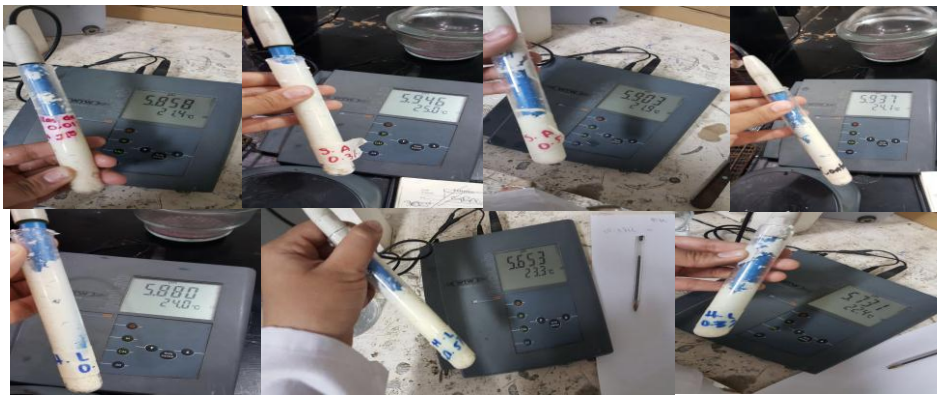
Fuente: elaboración propia, 2017

En los análisis de datos realizados mediante la prueba estadística se obtuvo como resultado que no se encontraron diferencias significativas con respecto al control (Ver Apéndice 14.1.1 Pág. 78)

9.3.1.2. Resultados obtenidos de la determinación de pH

El contenido de pH se determinó en cada una de las muestras en los días establecidos (día 0, 5, 10 y 15) y con la metodología establecida para su determinación.

Imagen No. 06: determinación de pH



Fuente: elaboración propia, 2017.

Tabla No. 07: valores de pH

Tratamiento	DIA 0	DIA 5	DIA 10	DIA 15
0.1% S.A	6, 028	5, 970	5, 765	4, 634
0.3% S.A	6, 042	5, 946	5, 889	5, 858
0.5% S.A	6, 224	5, 903	5, 843	5, 759
0.1% H.L	6, 126	5, 880	5, 872	5, 761
0.3% H.L	6, 034	5, 816	5, 731	5, 562
0.5% H.L	6, 397	5, 922	5, 653	5, 490
Control	6, 381	6, 040	5, 843	5, 779

Fuente: elaboración propia, 2017

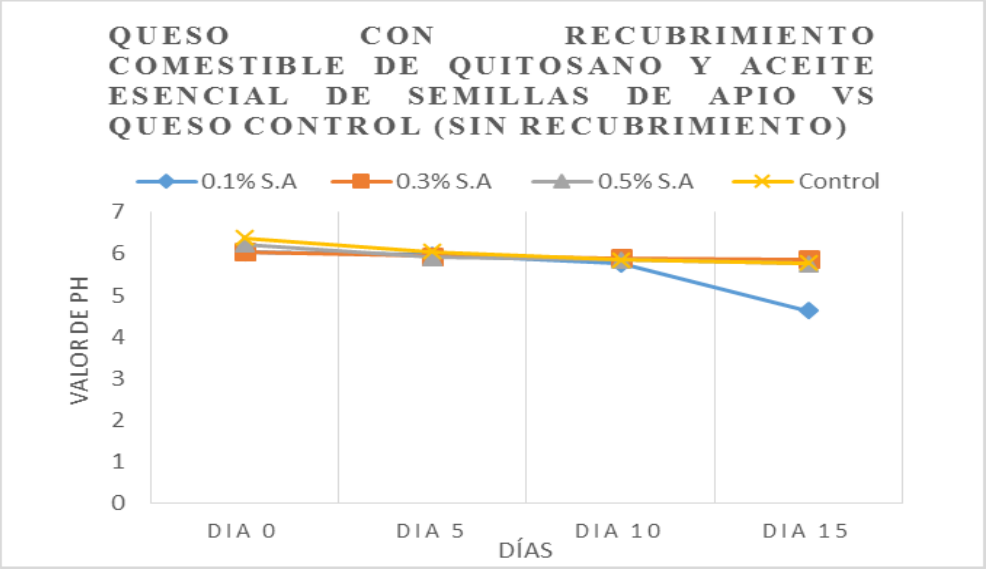
El pH de los quesos osciló entre 6.397 y 4.634 durante el periodo de evaluación, demostrando que durante los días en los que se determinó el pH, este se encontraba dentro de los parámetros aceptables por el Reglamento

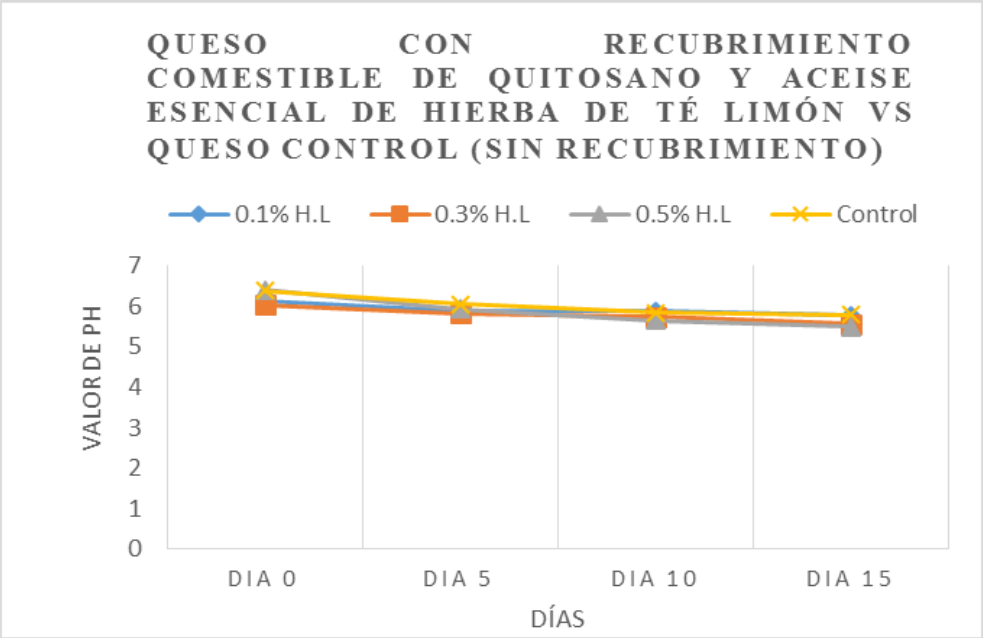
Técnico Centroamericano –RTCA- para las muestras de queso con recubrimiento comestible de quitosano y Hierba de té de limón y en el análisis estadístico no se encontraron diferencias significativas con respecto al control (los resultados se muestran en el apéndice 14.1.2, pág. 80)

Para las muestras de queso con recubrimiento comestible de quitosano y aceite esencial de Hierba de té de limón sucedió lo mismo para las muestras de concentraciones 0.3%, 0,5% y control, por el contrario para la muestra 0.1% se pudo observar que el pH final no se encontraba dentro de los parámetros aceptables y este empezaba a acidificarse.

A continuación se presenta la tendencia de las muestras respecto a la determinación de pH en los días establecidos (0, 5, 10 y 15):

Gráfica No. 02: resultados de la determinación de pH





Fuente: elaboración propia, 2017

9.3.1.3. Resultados obtenidos de la determinación de humedad

El contenido de humedad se determinó en cada una de las muestras en los días establecidos (día 0, 5, 10 y 15) y con la metodología establecida para su determinación.

Imagen No. 07: determinación de humedad

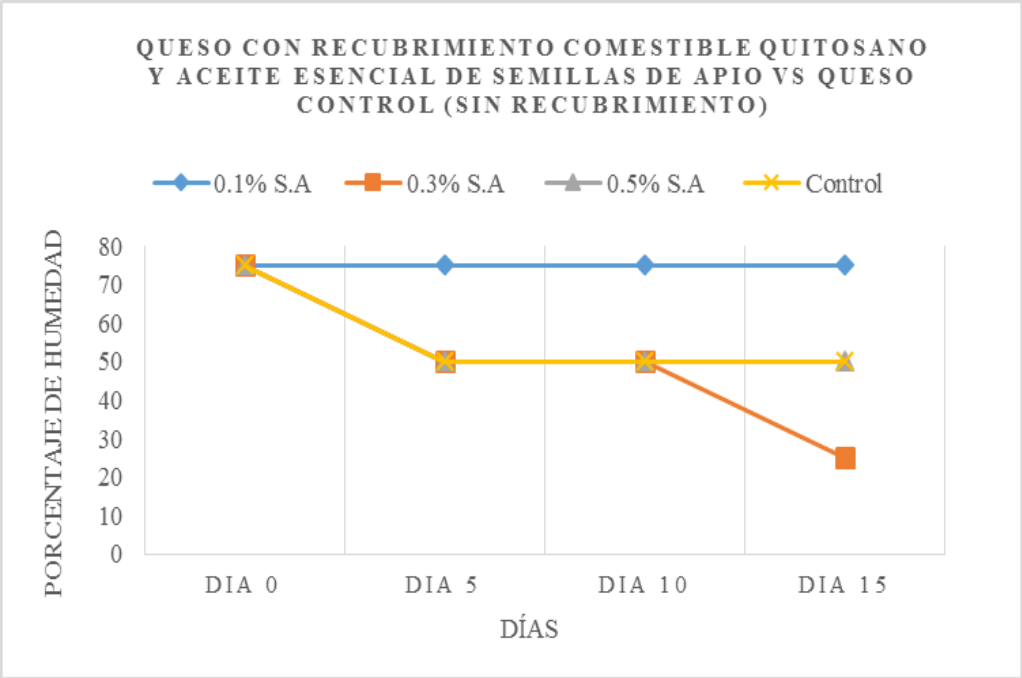
Fuente: elaboración propia, 2017

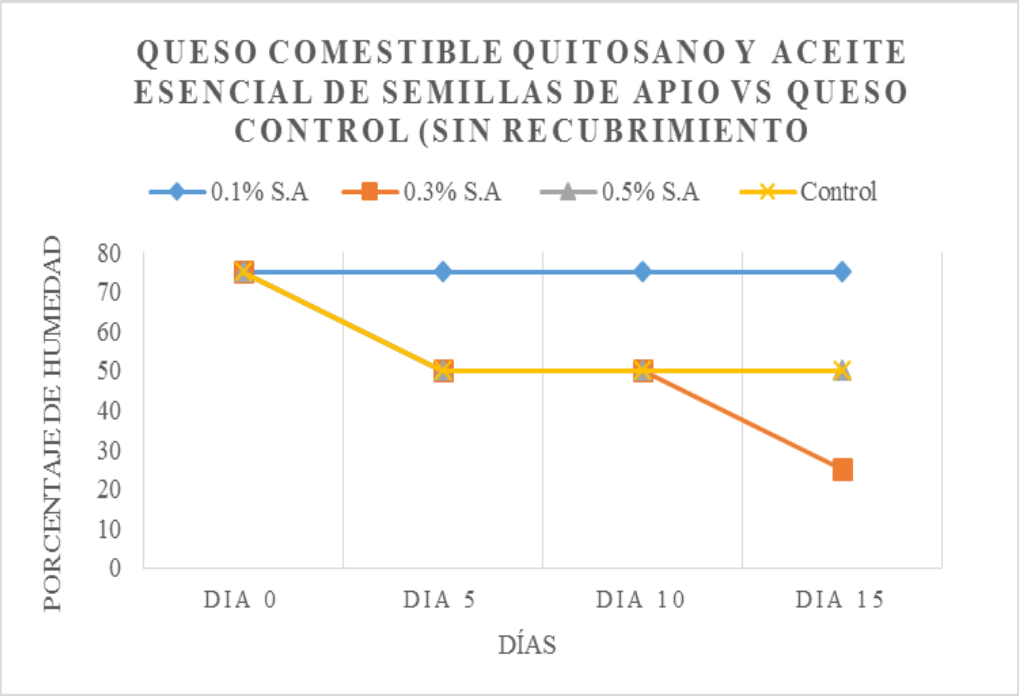
Los resultados de las determinaciones demuestran la pérdida de humedad que cada uno de las muestras tuvo, proyectando para algunos tratamientos más pérdidas que en otros, por ejemplo:

- Los recubrimientos de quitosano y aceite esencial de semillas de apio al 0.1% presenta mayor retención de agua en comparación con las demás concentraciones del aceite esencial de semillas de apio los cuales estaban iguales que el control.

- Asimismo pasa con el recubrimiento de quitosano y aceite esencial de hierba de té de limón al 0.3%.

Grafica No. 03: resultados de la determinación de húmedad





Fuente: elaboración propia

La secuencia de resultados experimentales se pueden observar en la "Tabla No. 08: Valores experimentales de la determinación de humedad", (Ver Apéndice 14.1.3.1, Pág. 82). En los análisis de datos realizados mediante la prueba estadística se obtuvo como resultado que no se encontraron diferencia significativa con respecto al control (Ver Apéndice 14.1.3.2, Pág. 83)

9.3.2. Análisis microbiológicos

La actividad microbiológica de los recubrimientos de quitosano y aceites esenciales de semilla de apio y hierba de té de limón fueron evaluadas en la combinación de ambos aceites con quitosano. Para tal efecto se emplearon las siguientes concentraciones (0,1%, 0,3% y 0,5% y el grupo control) con el objetivo de observar cómo varía la actividad antibacteriana en función de la concentración, los cuales se discuten de acuerdo a la duración de la experimentación.

9.3.2.1 *Escherichia Coli* (día 0 y día 15)

Día 0: en esta etapa se evaluó tomando muestras iniciales en el grupo control y en las diferentes concentraciones para poder tener referencia de la inocuidad inicial del queso testigo y quesos con recubrimientos de quitosano y aceites esenciales de semilla de apio y hierba de limón. Las muestras fueron analizadas con la metodología APHA-AOAC, por período de 72 horas, de donde se obtuvieron los siguientes resultados. (Ver anexo 13.3.1.1, pág. 70)

Los resultados obtenidos fueron comparados con los límites máximos permitidos por el Reglamento Técnico Centroamericano –RTCA-, para *Escherichia coli,* el cual debe ser de < 10 UFC/g. De acuerdo a los resultados obtenidos únicamente la concentración de 0, 5% de quitosano y aceite esencial de semilla de apio, sobrepaso el límite permisible de crecimiento bacteriano, exigido por RTCA. Esto puede explicarse que existen diversas formas en las cuales una de las muestras puede tener mayor crecimiento bacteriano, entre estas causas podría deberse deficiencia en la manipulación de la muestra, o bien que cuanto mayor sea el rendimiento del sustrato consumido, mayor será la tasa de crecimiento, por deficiencia de oxigeno libre en su medio. Estadísticamente, aunque exista un crecimiento bacteriano mayor a lo permisible no representa significancia estadística entre los tratamientos, por lo que la carga bacteriana continuara su crecimiento por el tiempo de experimentación y posiblemente a fermentaciones que puedan ocurrir por la lactosa presente en el queso fresco. (Ver Apéndice 14.1.4.1, pág. 85).

Día 15: en esta etapa también se evaluó tomando muestras finales en el grupo control y en las diferentes concentraciones para poder tener referencia de la inocuidad final del queso testigo y quesos con recubrimientos de quitosano y aceites esenciales de semilla de apio y hierba de té de limón. Las muestras

también analizadas con la metodología APHA-AOAC, de donde se obtuvieron los resultados obtenidos en el anexo 13.3.1.2, Pág. 71.

Los resultados fueron comparados con los límites máximos permitidos por el RTCA. De acuerdo a los resultados obtenidos únicamente la concentración de 0, 1% y 0, 3% de quitosano y aceite esencial de hierba de té de limón, se encontraron dentro del límite permisible de crecimiento bacteriano exigido por RTCA. Esto puede explicarse a los múltiples beneficios que el aceite esencial de hierba de la hierba de limón posee, este tienen carácter bactericida, fungicida y antiséptica para eliminar diferentes tipos de bacterias como *Escherichia coli, Salmonella spp.*

Asimismo, el grupo control, manifestó un crecimiento bacteriano progresivo mayor al exigido por el RTCA, siguiéndole en orden de contaminación las concentraciones de 0, 1%, 0, 3% y 0, 5% de quitosano y aceite esencial de semilla de apio.

Lo anterior es debido a que el grupo control no tuvo ningún recubrimiento bacteriano por lo cual las bacterias iniciales debido a la fermentación que se da en el queso, se multipliquen ya que encuentran mayor concentración de lactosa en el queso. En cuanto a las concentraciones de quitosano y aceite esencial de semillas de apio puede explicarse que este aceite esencial no tiene capacidad de inhibir el crecimiento de *Escherichia coli,* únicamente tiene control bacteriano sobre *Salmonella spp*, sin embargo si se puede observar menor crecimiento que el grupo control, que posiblemente sea a la acción del quitosano que disminuya el crecimiento de *Escherichia coli.* Estadísticamente, aunque exista un crecimiento bacteriano mayor en el grupo control y concentraciones de 0, 1% y 0, 3% y 0, 5% de quitosano con aceite esencial de semilla de apio a lo permisible por RTCA, no representa significancia estadística entre los

tratamientos, por lo que la carga bacteriana continuara su crecimiento aún por mayor tiempo. (Ver Apéndice 14.1.4.1, pág. 85).

9.3.2.2 *Staphylococcus aureus* (día 0 y día 15)

Día 0: los recuentos bacterianos obtenidos en el muestreo inicial para determinar el crecimiento de *Staphylococcus aureus* en quesos con recubrimiento de quitosano y aceites esenciales de semilla de apio y hierba de té de limón mostraron un crecimiento menor a los límites permisibles por el RTCA.

Es de indicar que esta bacteria puede infectar la ubre de las vacas lecheras, por lo que los resultados obtenidos indican que la leche para la elaboración de quesos para el presente estudio, fue de vacas libres de mastitis o infección de la ubre. A nivel humano el estudio de la presencia de esta bacteria en quesos es requerido debido a que puede causar intoxicaciones alimentarias por presencia de entero toxinas y provocar hasta shock tóxico que puede ser mortal.

Puede observarse en el anexo 13.3.2.1, pág. 72, que las concentraciones de quitosano con hierba limón son los que tienen una mejor actividad antimicrobiana para esta bacteria, debido a que la hierba de limón, en el presente caso tiene un efecto bacteriostático, es decir que aunque no produzca la muerte bacteriana, impide su reproducción. El resultado indica que la concentración de 0,1% tiene mejor actividad en el control bacteriostático del *Staphyloccus aureus.*

De acuerdo al análisis estadístico, tampoco existió diferencia estadística entre los tratamientos evaluados. (Ver Apéndice 14.1.4.2, pág. 87).

Día 15: en el anexo 13.3.2.2, pág. 73, puede observarse el resumen de los datos obtenidos en los quince días de evaluación de los recubrimientos de quitosano con aceites esenciales de semilla de apio y hierba de té de limón estudiadas en diferentes concentraciones aplicadas al queso fresco.

Se encontraron valores bajos en el crecimiento bacteriano en los recubrimientos que contenían quitosano y hierba de té de limón, menores a los exigidos por el RTCA. Aunque se encuentran diferencias en este tipo de bacteria al utilizar recubrimientos de quitosano y aceite de semilla de apio al 0, 5% muestran un efecto sobre esta bacteria.

Se puede observar que la actividad antibacteriana de los recubrimientos con quitosano y aceite esencial de semilla de apio ejerce su actividad antibacteriana en las mayores concentraciones, pero que necesitan mayor tiempo para ejercer dicha función.

Estadísticamente no existió diferencia significativa en cuanto al grupo control, para el uso de dichos recubrimientos, aunque si demuestran que baja la carga bacteriana. (Ver Apéndice 14.1.4.2, pág. 87).

9.3.2.3 *Listeria Monocytogenes* (día 0 y día 15)

Los recuentos microbiológicos obtenidos en el producto inicial y final para determinación de *Listeria monocytogenes*, de acuerdo al RTCA, debe de indicarse de la siguiente manera: AUSENCIA O PRESENCIA de dichas bacterias en el alimento.

De acuerdo a los anexos 13.3.3.1 y 13.3.3.2, págs. 74 - 75, no existió presencia de dicha bacteria en el queso fresco control y los tratamientos con las diferentes

concentraciones de quitosano y aceites esenciales de semilla de apio y hierba de té de limón.

Esto se puede explicar, en cuanto a la importancia de la ausencia de estas bacterias en el queso fresco que si no se tiene un adecuado control pueden provocar serios daños a la salud. En el presente estudio se interpreta que la leche proviene de vacas sanas, puesto que la listeria puede formar parte de la flora microbiana de la ubre y muchas veces provoca mastitis lo cual ocasiona la contaminación de la leche y provocar el crecimiento de esta bacteria sobre todo en quesos frescos artesanales que no pasteurizan la leche.

En los análisis de datos realizados mediante la prueba estadística se obtuvo como resultado que no se encontraron diferencias significativas con respecto al control. (Ver Apéndice 14.1.4.3, pág. 88).

9.3.2.4 S*almonella spp* (día 0 y día 15)

Los recuentos microbiológicos obtenidos en el producto inicial y final para determinación de *Salmonella spp*, de acuerdo al RTCA, debe de indicarse de la siguiente manera: AUSENCIA O PRESENCIA de dichas bacterias en el alimento.

De acuerdo a los anexos 13.3.4.1 y 13.3.4.2, págs. 76 - 77, no existió presencia de dicha bacteria en el queso fresco control y los tratamientos con las diferentes concentraciones de quitosano y aceites esenciales de semilla de apio y hierba de té de limón.

La *Salmonella spp* es un microorganismo fecal que puede estar presente por acción del humano, como lo es un ordeño en malas condiciones higiénicas como también la falta de buenas prácticas pecuarias en los productores de

leche. En el presente caso se interpreta que la leche para la elaboración de queso fresco para ser sometido a investigación provenía de proveedores que manejan las buenas prácticas de higiene en los trabajadores y la salud de las vacas en producción. La importancia de la ausencia de esta bacteria en queso fresco es porque es una bacteria que puede ocasionar serios daños a la salud del humano siendo una de las principales bacterias causante de enfermedades transmitidas por alimentos.

En los análisis de datos realizados mediante la prueba estadística se obtuvo como resultado que no se encontraron diferencias significativas con respecto al control. (Ver Apéndice 14.1.4.3, pág. 88).

El motivo de que no se encontrasen diferencias estadísticamente significativas se debe al pequeño número de observaciones con las que se realizó la comparación y lapso de tiempo evaluado. Por lo que en futuras investigaciones deberán comprobarse llevando a cabo experimentos con un mayor número de observaciones.

9.3.3 Vida útil

La comparación de la vida útil del presente estudio se llevó a cabo a través de los resultados microbiológicos obtenidos de las diferentes concentraciones de quitosano y aceites esenciales de semillas de apio y hierba de té de limón.

A pesar de no existir diferencia estadística sobre el uso de los recubrimientos en los quesos cabe destacar que los recuentos de los microorganismos con recubrimientos se observó un lento crecimiento bacteriano en el uso de quitosano y aceites esenciales.

Es destacable indicar que de acuerdo a la microbiología reportada el crecimiento bacteriano en general se mantuvo por debajo de las 10 UFC/g que

exige el RTCA, en donde se observó que a medida de que el tiempo del experimento progresó, las cargas bacterianas disminuyeron en el día 15 sobre todo en la concentraciones de 0, 1% y 0, 3% de aceite esencial de hierba de té de limón; proporcionaron un buen control de las cargas bacterianas para *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, resultando estos valores por debajo de lo considerado para calcular el deterioro de queso fresco que sin recubrimiento aumentó su crecimiento para ambas bacterias.

Sin embargo aunque no exista significancia estadística en el presente estudio sobre el uso de recubrimientos de quitosano y aceites esenciales de semilla de apio y hierba de té de limón si se puede observar la actividad antibacteriana de dichos recubrimientos.

Para determinar un período de vida de anaquel habrá que realizar un estudio se análisis sensorial para poder correlacionarlo con los resultados obtenidos de los análisis microbiológicos, para poder establecer incluso si existen mejoras en la calidad del queso fresco con recubrimientos de quitosano y aceites esenciales de semilla de apio y hierba de té de limón.

10. CONCLUSIONES

10.1 La hipótesis planteada se acepta, debido a que el uso de recubrimientos comestibles de quitosano y aceites esenciales no aumentó significativamente la vida de anaquel de los quesos frescos.

10.2 Las determinaciones realizadas, demostraron la efectividad que los aceites esenciales tienen, demostrando que el queso con el recubrimiento comestible elaborado a partir de una solución de quitosano y aceite esencial de semillas de apio al 0.5% y quitosano y aceite esencial de hierba té de limón al 0.3% son los más efectivos para evitar el deterioro fisicoquímico de los quesos como: pérdida de agua contenida en los quesos, disminución o aumento de pH y grasa

10.3 En la evaluación de los criterios microbiológicos existió mayor efectividad del aceite esencial de hierba de té limón al 0,3% para la inhibición de microorganismos principalmente de *Escherichia coli*, además disminuye de manera más efectiva el *Staphylococcus aureus*, por el contrario el aceite esencial de semillas de apio no es efectivo para inhibir el crecimiento de los microorganismos evaluados en la investigación en comparación con el control.

11. RECOMENDACIONES

11.1. Elaborar recubrimientos comestibles con adición de aceites esenciales de plantas o especias nativas, con el fin de evitar el uso de sustancias químicas o aditivos para aumentar la vida de anaquel del queso fresco.

11.2. Evaluar por mayor tiempo y en concentraciones mayores al 0.5% el aceite esencial de semillas de apio para verificar la efectividad que este tiene.

11.3. Evaluar por mayor tiempo y en concentraciones menores al 0.3% el aceite esencial de hierba de té de limón para verificar la efectividad que este tiene.

11.4. Realizar la caracterización molecular de los aceites esenciales a adicionar en la elaboración de un recubrimiento comestible para conocer el genotipo que estos poseen y su efectividad ante los diferentes microorganismos.

11.5. Realizar evaluación sensorial para determinar la aceptabilidad que tiene el queso fresco con recubrimiento.

11.6. Elaborar análisis de costos de elaboración de recubrimientos para determinar la factibilidad de su utilización en el proceso de elaboración de queso fresco

12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

12.1 Alfonso, Arce, Christian Camilo, (2011). *Caracterización de películas comestibles de quitosano y la afectación de las propiedades por la aplicación de aceites esenciales*. Trabajo de graduación. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. (En línea) col. Consultado el: 03 de Septiembre de 2016. Disponible en: www.bdigital.unal.edu.co/4362/1/107460.2011.pdf

12.2 Amiott J. (1995). *Ciencia y Tecnología de la leche. Principios y aplicaciones*. Editorial Acribia Zaragoza, España.

12.3 Ac Pangán, Marlos Fernando; Albizú Portillo, Helen Catalina. (2011). *Desarrollo de un recubrimiento comestible a base de proteína de suero de leche para queso Cheddar*. Proyecto especial de graduación. Escuela Agrícola Panamericana ZAMORANO. Honduras, Tegucigalpa. (En línea) hn. Consultado el: 03 de Septiembre de 2016. Disponible en: www.bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/48/1/AGI-2011-T002.pdf

12.4 Bosquez Molina, Elsa. (2003). *Elaboración de recubrimientos comestibles formulados con goma de mezquite y cera de candelilla para reducir la cinética de deterioro en fresco del limón persa (Citrus latifolia Tanaka).* Tesis Doctoral. Universidad Autónoma Metropolitana. México D.F. (En línea) mx. Consultado el: 03 de Septiembre de 2016. Disponible en: www.innovacion.gob.sv/inventa/attachments/article/2597/UAMI10845.pdf

12.5 Fernández-Pan, I., Maté-Caballero, J.G. (2011). *Recubrimientos comestibles antimicrobianos para el aumento de la seguridad y vida comercial de productos cárnicos*. Eurocarne, 197, 46-55.

12.6 Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (2016) *Manual de fichas técnicas de procesados lácteos.* México D.F (En línea) mx. Consultado el 04 de Septiembre de 2016. Disponible en: http://www.fao.org/3/a-au170s.pdf

12.7 Gutiérrez. P, Humberto. (2004). *Análisis* y *Diseño de experimentos*. Editorial McGraw Hill

12.8 Han, J. H. (2000). *Envasado de Alimentos antimicrobiana*. Tecnología de los Alimentos, 54, 55-65.

12.9 Hansen Chr. (2008) m. *Enzimas Coagulantes*. Artículo de adaptación del Foro FEPALE. México. (En linea) mx. Consultado el 05 de Octubre de 2016. Disponible en: http://www.industriaalimenticia.com/articles/83036-enzimas-coagulantes

12.10 Hernández Jiménez, Cecilia. (2014). *Elaboración y caracterización de película comestible a base de quitosano y aceite esencial de limón*. Trabajo de graduación. Universidad Veracruzana. Xalapa, Veracruz, México. (En línea) mx. Consultado el: 03 de Septiembre de 2016. Disponible en: https://core.ac.uk/download/files/605/33657626.pdf

12.11 Hwnag, C.H. y Gunasekarann, S, 2001. *Measuring crumbliness of some commercial Queso Fresco-type Latin American cheese*s. Michwissenschaft. 56: 446-450

12.12 Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá -INCAP-. *Base de Datos Tablas de Composición Nutricional de Alimentos: Queso Fresco de vaca.* (En línea) gt. Consultado el 29 de Septiembre de 2016. Disponible en: www.incap.int/index.php/es/.../80-tabla-de-composicion-de-alimentos-de-centroamerica

12.13 Kalemba, D., Kunickaa. (2003). *Las propiedades antibacterianas y antifúngicas de aceites esenciales*. Current Medical Chemistry, 10, 813-829.

12.14 Kester, J. J. y Fennema, O.R. (1986). *Las películas y recubrimientos comestibles*. Una revisión. Tecnología de los Alimentos. 40: 47-59

12.15 Kuehl, Roberto. (2001). *Diseño de experimentos. Principios Estadísticos de Diseño y Análisis de Investigaciones*. Editorial Internacional Thomson

12.16 Knaul, Z, M: R. Kasaai, V.T. Bui, and K. A. M. Creber. (1998). *Characterization of deacetylated chitosan and chitosan molecular weight review*. Can. J. Chem. 76(11); 1699 – 1706.

12.17 Magariños H, (2000). *Producción higiénica para la leche cruda, una guía para la pequeña y mediana empresa*. (En línea) Consultado el 24 de Septiembre de 2016. Disponible en:http://www.science.oas.org/OEA_GTZ/LIBROS/LA_LECHE/le_html/cap11_leche.htm

12.18 Martínez Hernández, Erick Diego. (2012). *Diseño y aplicación de un recubrimiento comestible de quitosano para alargar la vida de anaquel del queso Oaxaca.* Trabajo de graduación. Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro". Coahuila, México. (En línea) mx. Consultado el: 03 de Septiembre de 2016. Disponible en: http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/handle/123456789/513

12.19 Méndez, Andreina. (2013). *Propiedades y beneficios del apio*. (En línea) col. Consultado el 12 de Octubre de 2016. Disponible en: http://www.mis-remedios-caseros.com/apio.htm

12.20 *Métodos de extracción de aceites esenciales: arrastre de vapor*. s.f. Párr.4. . (En línea) Consultado el 22 de Septiembre de 2016. Disponible en: http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3(1)-Peredo-Luna-et-al-2009.pdf.

12.21 Morillon, V., Debeaufort, F., Bond, G., Capelle, M., & Volley, A. (2002). *Factores que afectan a la permeabilidad a la humedad de las películas comestibles a base de lípidos*: una revisión. Opiniones críticas en ciencias de alimentos y nutrición 42, 67-89. (Versión en español).

12.22 Ovalle Aguilar, Juan Carlos. (2012). *Determinación de la vida de anaquel del papause (Anona diversifolia) tratado con quitosano*. Trabajo de graduación. Centro Universitario de Sur-Occidente (CUNSUROC-USAC). Mazatenango, Suchitepéquez, Guatemala. (En línea) gt. Consultado el: 03 de Septiembre de 2016. Disponible en: www.biblioteca.usac.edu.gt/tesis/22/22_0195.pdf

12.23 Pérez, Christian. *Aceite esencial de semillas de apio*. s.f. (En Línea) gt. Consultado el 12 de Octubre de 2016. Disponible en: http://www.naturalternativa.net/aceite-esencial-de-apio/

12.24 Ponce, Karen. *Aditivos utilizados en la industria láctea*. (2014). Presentación Power Point. Universidad de Nariño. Nariño, Colombia. (En línea). Co. Consultado en línea el 02 de Octubre de 2016. Disponible en: http://es.slideshare.net/Karencita2105/aditivos-utilizados-en-la-industria-lactea-karen-ponce

12.25 Ponce, A. G., S. I. Roura, C. E. del Valle, M. R. Moreira. (2008). *Las actividades antimicrobianas y antioxidantes de recubrimientos comestibles enriquecidos con extractos naturales de plantas: in vitro e in vivo*. Biología y Tecnología de Postcosecha, (49), 294-300.

12.26 *Quitosano, aditivo natural para la industria alimentaria*. s.f. (En línea). gt. Consultado el 12 de Octubre de 2016. Disponible en: http://www.alimentatec.com/quitosano-conservante-natural-para-la-industria-alimentaria/?print=pdf.

12.27 *¿Qué son los aceites esenciales?* Publicado en Naturisima el 28/12/2015. México. D.F. (En Línea). Consultado el 02 de Septiembre de 2016. Disponible en: www.naturisima.org/que-son-los-aceites-esenciales/

12.28 *Reglamento Técnico Centroamericano: Quesos no madurados, incluido el queso fresco*. Resolución Nº 243-2009. Publicado en La Gaceta Nº 228 el 24.11.2009.San José, Costa Rica. (En Línea). cr. Consultado el 17 de Septiembre de 2016. Disponible en: www.mineco.gob.gt/sites/default/files/productos_lacteos_quesos.pdf

12.29 Revilla, Aurelio. (1982). *Tecnología de la leche: procesamiento, manufactura y análisis*. 2da Edición. San José, Costa Rica.

12.30 Ruiz Navajas, Yolanda. (2014). *Caracterización de aceites esenciales de plantas aromáticas mediterráneas y su aplicación a films de quitosano para la conservación de productos cárnicos*. Tesis doctoral. Universidad Miguel Hernández Escuela Politécnica Superior de Orihuela. Orihuela, España. (En línea) es. Consultado el: 03 de Septiembre de 2016. Disponible en: http://www.triptolemos.org/catalogo/tesis/caracterizaci%C3%B3n-de-aceites-esenciales-de-plantas-arom%C3%A1ticas-mediterr%C3%A1neas-y-su-aplicacion-film

12.31 Soliva, R. y Martin, O. (2001). *Envasado de alimentos mediante recubrimientos comestibles*. Alimentaria, Septiembre.

12.32 Tharanathan, RN (2003). *Películas Biodegradables y Revestimientos Compuestos: pasado, presente y futuro*. Tendencias en Ciencia y Tecnología de Alimentos, 14, 71-78.

12.33 *Tecnología de Lácteos*: Curso didáctico. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. (En línea). Consultado el 25 de Septiembre de 2016. Disponible en: http://datateca.unad.edu.co/contenidos/301105/Archivos-2013-2/Modulo-linea/index.html

12.34 Van Beest, Iris. (2013*). Recubrimientos comestibles de biopolímeros y aceites esenciales: Aplicación a Salmon*. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Valencia. Valencia, España. (En línea) es. Consultado el: 03 de Septiembre de 2016. Disponible en: https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/33911/Tesis%20Iris%20van%20Beest.pdf?sequence=1

12.35 Zhang, D., Quantick, P.C. (1998). *Antifungal effects of chitosan coating on fresh strawberries and raspberries during storage*. J. Hort. Sci. Biotechnol. 73, 763- 767.

CENTRO UNIVERSITARIO DE SUR-OCCIDENTE
BIBLIOTECA
U.S.A.C. Mazatenango

Vo. Bo. Licda. Ana Teresa Cap Yes de González
Bibliotecaria

13. ANEXOS

13.1 Anexo No. 1: Metodología para análisis fisicoquímicos

13.1.1 Determinación de grasa: Método de Babcock

La determinación de grasa tiene como objetivo cuantificar los ácidos grasos presentes en el queso fresco. Esta determinación se hará por el método de Babcock utilizando centrifugación, El procedimiento operatorio es el siguiente:

a) Se muele el queso. Se calienta la muestra en Baño de María hasta aproximadamente 38°C, se continua mezclando hasta homogenizar la muestra.
b) Con la pipeta se transfieren 18g de muestra a la botella de Babcock.
c) Después de aproximadamente 10 segundos de haberse vaciado libremente la pipeta, se sopla la misma para que caiga la muestra adherida a la punta.
d) Se agrega lentamente aproximadamente, 17.5 ml de ácido sulfúrico concentrado, llevado previamente a una temperatura de 15 a 20°C. Se agitan hasta que hayan desaparecido todos los coágulos; se coloca la botella en la centrifugadora calentada previamente, se equilibra mediante un peso similar colocado en la taza opuesta, y después de alcanzar la velocidad apropiada, se deja girar durante 5 minutos.
e) Se agrega agua a una temperatura de 60°C, o mayor, hasta que esté lleno el bulbo de la botella y se pone en marcha nuevamente la centrifugadora; después de alcanzar la velocidad apropiada se deja girar durante 2 minutos.
f) Se agrega agua caliente hasta que el líquido se acerque a la graduación superior de la escala.
g) Se centrifuga durante 1 minuto más a una temperatura comprendida entre 55 y 60°C y se transfiere la botella a un baño de agua caliente mantenida a 24 la misma temperatura anterior, se sumerge hasta el nivel de la parte superior de la columna de grasa y se deja hasta que la columna esté en equilibrio y hasta que la superficie inferior de la grasa adquiera su forma final, lo cual toma no menos de 3 minutos.
h) Se retira la botella del baño María, se seca y se mide la columna de grasa, en porcentaje de peso, desde la superficie inferior hasta el punto más alto del menisco superior. En el momento que se hace la medida, la columna de grasa debe estar translúcida, de color amarillo oro o ámbar, libre de partículas suspendidas visibles.

13.1.2 **Determinación de pH**

Preparación de la muestra

a) Moler finamente el queso con la ayuda de un mortero
b) Pesar 100 g de la muestra homogenizada
c) Añadir 10-20 ml de agua destilada con objeto de formar una pasta uniforme. Ajustar la temperatura a 20°C

Preparación del potenciómetro

a) Calentar y calibrar el potenciómetro de acuerdo a su manual.
b) Lavar varias veces el electrodo con agua, antes y después tomar la determinación

Medición

a) Tomar una porción de la muestra ya preparada, mezclarla bien con un agitador
b) Sumergir el electrodo en la muestra de manera que lo cubra perfectamente
c) Hacer la medición de pH, el valor se lee directamente en la pantalla del potenciómetro

13.1.3 **Determinación de humedad: Método por secado en estufa**

a) Pesar de 2 a 3 g de muestra en un crisol con tapa previamente tarado.
b) Secar la muestra en el horno durante 1.5 h. a (100-105)°C.
c) Retirar del horno, tapar, dejar enfriar en el desecador y pesar tan pronto como se equilibre con la temperatura ambiente.
d) Repetir hasta peso constante.
e) Calcular el porcentaje de humedad de la siguiente manera, anote los resultados obtenidos en la tabla y repórtelo como pérdida por secado a (100-105°C),

Muestra	Día	Tiempo	P_1 [peso cápsula vacía (g)]	P_2 [peso cápsula vacía + muestra antes de secado (g)]	P_3 [peso cápsula vacía + muestra después de secado (g)]	% humedad
Nombre						

Cálculos

$$\%H = \frac{g\ H_2O\ evaporada}{Masa\ de\ muestra\ (g)} \times 100$$

Donde:

g H_2O evaporada = $P_2 - P_3$

Masa de muestra (g) = $P_2 - P_1$

Sustituyendo:

$$\%H = \frac{P_2 - P_3}{P_2 - P_1} \times 100$$

13.2 Anexo No. 2: Descripción del método estadístico

Modelo estadístico y análisis de varianza

	Acción	Ejemplo
1	Se definen los tratamientos y se sortean las unidades experimentales. Se realiza el experimento y se recopilan los datos. Suponiendo que son tres tratamientos y cuatro repeticiones, y que se midió el crecimiento de ciertas plantas, los resultados se acomodan en una tabla.	

	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4
Trat 1	13	12	13	11
Trat 2	11	14	13	12
Trat 3	9	8	11	9
			Total	136

← y..

y_{32} valor del tratamiento 3 repetición 2

2	Se suman todos los valores de las unidades experimentales. A ese valor se le llamará y.. Se obtiene el cuadrado de todos los valores de la unidades experimentales y luego se suman, a ese valor se le llamará Σy_{ij}^2			

	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4
Trat 1	169	144	169	121
Trat 2	121	196	169	144
Trat 3	81	64	121	81
			Total	1580

3	Se calcula la suma de cuadrados del total con la fórmula: Suma Cuadrados total = $\Sigma y_{ij}^2 - (y..)^2 / n$ Donde n es el total de los datos	Suma de cuadrados total = $1580 - (136)^2 / 12 = 38.6$
4	Es necesario encontrar la varianza entre los tratamientos. Primero se obtiene la suma de cada uno de los tratamientos (que se llamarán $y_{i.}$). Cada suma de tratamientos se eleva al cuadrado, luego el resultado de cada tratamiento se divide entre el número de repeticiones de ese tratamiento, en este caso todos los tratamientos tienen 4 repeticiones, y finalmente se suman los valores, el resultado se denomina $\Sigma y_{i.}^2 / n_i$	

	$y_{i.}$	$(y_{i.})^2$	$(y_{i.})^2/n_i$
Trat 1	49	2401	600.25
Trat 2	50	2500	625
Trat 3	37	1369	342.25
		suma	1567.5

$\Sigma y_{i.}^2/n_i$

5	Se calcula la suma de cuadrados de los tratamientos con la fórmula: Suma Cuadrados de tratamientos $= \Sigma y_{i.}^2/n_i - (y..)^2 / n$	Suma de cuadrados de tratamientos $= 1567.5 - (136)^2 / 12 = 26.16$
6	Se calcula los grados de libertad de los tratamientos que serán: t – 1 Donde t es el número de tratamientos	Grados de libertad de tratamientos: $= 3 - 1 = 2$
7	Se calcula los grados de libertad del total: n – 1	Grados de libertad del total $= 12 - 1 = 11$
8	Los datos hasta ahora calculados se llenan en la tabla de análisis de varianza. GL son los grados de libertad, SC es la suma de cuadrados y CM son los cuadrados medios.	

	GL	SC	CM	F
Trat	2	26.16		
Error				
Total	11	38.6		

9	Se calcula los grados de libertad del error: grados de libertad del error : t (r – 1) Donde ***t*** es el número de tratamientos, ***r*** el número de repeticiones. También se puede calcula GL del error como : GL error = GL Total – GL tratamientos	

	GL	SC	CM	F
Trat	2	26.16		
Error	9			
Total	11	38.6		

10

Se calcula la suma de cuadrados del error, la fórmula es:

SC error = $\Sigma\, y_{ij}^2 - \Sigma\, y_{i\cdot}^2 / r$

El primer término se puede tomar de la fórmula de la SC total, el segundo término de la SC trat.

Otra forma de calcular la SC del error es:

SC error = SC total – SC tratamiento

	GL	SC	CM	F
Trat	2	26.16		
Error	9	12.44		
Total	11	38.6		

11

Se calculan los cuadrados medios de los tratamientos con la siguiente ecuación:

CM trat = SC trat / GL trat

	GL	SC	CM	F
Trat	2	26.16	13.08	
Error	9	12.44		
Total	11	38.6		

12

Se calculan los cuadrados medios del error con la sisuiente fórmula:

CM error = SC error / GL error

	GL	SC	CM	F
Trat	2	26.16	13.08	
Error	9	12.44	1.382	
Total	11	38.6		

13

Se calcula el valor F con el siguiente ecuación

F = CM trat / CM error

	GL	SC	CM	F
Trat	2	26.16	13.08	9.463
Error	9	12.44	1.382	
Total	11	38.6		

14

Se busca en las tablas de la distribución F el valor al 0.05% de significancia. Los grados de libertad de los tratamientos serán los grados de libertad del numerador y los grados de libertad del error serán los grados de libertad de denominador.

$F_{0.05,\,2,\,9} = 4.26$

15

Si la F calculada es mayor que la F de las tablas, se concluye que sí hay diferencia entre tratamientos, de los contrario se concluye que no hay diferencias entre tratamientos.

Como 9.46 > 4.26, se concluye que sí hay diferencias entre tratamientos

16

Si existe diferencia entre tratamientos al 95% de seguridad se puede probar con una F del 99%

$F_{0.01,\,2,\,9} = 8.02$

Sí hay diferencia muy significativa

Fuente: Dr. Jesús Alberto Mellado Bosque, 2010. Estadística aplicada.

13.3 Anexo No. 3: Resultados de análisis microbiológicos

13.3.1 *Escherichia Coli*

13.3.1.1 Día 0

LABORATORIO CLINICO DUBON RETALHULEU

ANISUR ANALISIS INDUSTRIALES DEL SUR

CLIENTE: REGINA DEL CID
LUGAR: RETALHULEU
FECHA DE REPORTE: 08/09/2017
MUESTRA ANALIZADA: QUESO (7 muestras recibidas en bolsas plásticas)
FECHA DE RECEPCION: 30/08/2017

ANALISIS MICROBIOLOGICO

Código	Muestra	Escherichia coli*	Límite Máximo Permitido**
3303	Control Queso (día 0)	< 10	< 10 UFC/g
3304	Queso Hierba de Limón 0.1% (día 0)	< 10	< 10 UFC/g
3305	Queso Hierba de Limón 0.3% (día 0)	< 10	< 10 UFC/g
3306	Queso Hierba de Limón 0.5% (día 0)	< 10	< 10 UFC/g
3307	Queso Semilla de Apio 0.1% (día 0)	< 10	< 10 UFC/g
3308	Queso Semilla de Apio 0.3% (día 0)	< 10	< 10 UFC/g
3309	Queso Semilla de Apio 0.5% (día 0)	12	< 10 UFC/g

* Metodología: APHA - AOAC, Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods 4th Edition 2,001, Capitulo 8.

**Norma: Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 Alimentos. Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos.

Gerente Técnico de Laboratorio

Lic. David Humberto Dubón N.
Químico Biólogo
Colegiado No. 1,142

ANISUR ANALISIS INDUSTRIALES DEL SUR
4a. Av. 5-17 Z. 1, Retalhuleu
Tel.: 7771 5108

labdubonreu@hotmail.com

LABORATORIO CLÍNICO DUBÓN RETALHULEU / DIVISIÓN INDUSTRIAL ANISUR
4a. Av. 5-17 Zona 1 Retalhuleu, Guatemala, C.A. Tel: (502) 7771 5108 Tel/Fax: (502) 7771 5771

13.3.1.2 Día 15

LABORATORIO CLINICO DUBON RETALHULEU

ANISUR ANALISIS INDUSTRIALES DEL SUR

EMPRESA: REGINA DEL CID
LUGAR: RETALHULEU
FECHA DE REPORTE: 23/09/2017
MUESTRA ANALIZADA: QUESO (7 muestras recibidas en bolsas plásticas) Incubación previa 15 días
FECHA DE RECEPCION: 14/09/2017

ANALISIS MICROBIOLOGICO

Código	Muestra	Escherichia coli*	Límite Máximo Permitido**
3286	Control Queso (día 15)	28 UFC/g	< 10 UFC/g
3287	Queso Hierba de Limón 0.1% (dia 15)	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
3288	Queso Hierba de Limón 0.3% (dia 15)	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
3289	Queso Hierba de Limón 0.5% (dia 15)	12 UFC/g	< 10 UFC/g
3290	Queso Semilla de Apio 0.1% (día 15)	19 UFC/g	< 10 UFC/g
3291	Queso Semilla de Apio 0.3% (día 15)	20 UFC/g	< 10 UFC/g
3292	Queso Semilla de Apio 0.5% (día 15)	15 UFC/g	< 10 UFC/g

* Metodología: APHA - AOAC, Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods 4th Edition 2,001, Capítulo 8.

**Norma: Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 Alimentos. Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos.

Gerente Técnico de Laboratorio

ANISUR ANALISIS INDUSTRIALES DEL SUR
4a. Av. 5-17 Z. 1, Retalhuleu
Tel.: 7771 5108

labclubonreu@hotmail.com

LABORATORIO CLÍNICO DUBÓN RETALHULEU / DIVISIÓN INDUSTRIAL ANISUR
4a. Av. 5-17 Zona 1 Retalhuleu, Guatemala, C.A. Tel: (502) 7771 5108 Tel/Fax: (502) 7771 5771

13.3.2 *Staphylococcus aureus*

13.3.2.1 Día 0

LABORATORIO CLINICO DUBON RETALHULEU

ANISUR ANALISIS INDUSTRIALES DEL SUR

CLIENTE: REGINA DEL CID
LUGAR: RETALHULEU
FECHA DE REPORTE: 08/09/2017
MUESTRA ANALIZADA: QUESO (7 muestras recibidas en bolsas plásticas)
FECHA DE RECEPCION: 30/08/2017

ANALISIS MICROBIOLOGICO

Código	Muestra	Staphylococcus aureus*	Límite Máximo Permitido**
3303	Control Queso (día 0)	$0.2x10^2$	10^3 UFC/g
3304	Queso Hierba de Limón 0.1% (día 0)	$0.05x10^2$	10^3 UFC/g
3305	Queso Hierba de Limón 0.3% (día 0)	$0.2x10^2$	10^3 UFC/g
3306	Queso Hierba de Limón 0.5% (día 0)	$0.1x10^2$	10^3 UFC/g
3307	Queso Semilla de Apio 0.1% (día 0)	$0.3x10^2$	10^3 UFC/g
3308	Queso Semilla de Apio 0.3% (día 0)	$0.3x10^2$	10^3 UFC/g
3309	Queso Semilla de Apio 0.5% (día 0)	$0.2x10^2$	10^3 UFC/g

* Metodología: APHA - AOAC, Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods 4th Edition 2,001, Capítulo 39.

**Norma: Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 Alimentos. Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos.

Gerente Técnico de Laboratorio

Lic. David Humberto Dubón N.
Químico Biólogo
Colegiado No. 1,142

ANISUR ANALISIS INDUSTRIALES DEL SUR
4a. Av. 5-17 Z. 1, Retalhuleu
Tel.: 7771 5108

labdubonreu@hotmail.com

LABORATORIO CLÍNICO DUBÓN RETALHULEU / DIVISIÓN INDUSTRIAL ANISUR
4a. Av. 5-17 Zona 1 Retalhuleu, Guatemala, C.A. Tel: (502) 7771 5108 Tel/Fax: (502) 7771 5771

13.3.2.2 Día 15

LABORATORIO CLINICO DUBON RETALHULEU

ANISUR ANALISIS INDUSTRIALES DEL SUR

EMPRESA: REGINA DEL CID
LUGAR: RETALHULEU
FECHA DE REPORTE: 23/09/2017
MUESTRA ANALIZADA: QUESO (7 muestras recibidas en bolsas plásticas) Incubación previa 15 días
FECHA DE RECEPCION: 14/09/2017

ANALISIS MICROBIOLOGICO

Código	Muestra	Staphylococcus aureus*	Límite Máximo Permitido**
3286	Control Queso (dia 15)	$1.5x10^2$	10^3 UFC/g
3287	Queso Hierba de Limón 0.1% (dia 15)	$0.8x10^2$	10^3 UFC/g
3288	Queso Hierba de Limón 0.3% (dia 15)	$0.4x10^2$	10^3 UFC/g
3289	Queso Hierba de Limón 0.5% (dia 15)	$0.45x10^2$	10^3 UFC/g
3290	Queso Semilla de Apio 0.1% (día 15)	$1.25x10^2$	10^3 UFC/g
3291	Queso Semilla de Apio 0.3% (día 15)	$1.1x10^2$	10^3 UFC/g
3292	Queso Semilla de Apio 0.5% (día 15)	$0.8x10^2$	10^3 UFC/g

* Metodologia: APHA - AOAC, Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods 4th Edition 2,001, Capitulo 39.

**Norma: Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 Alimentos. Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos.

Gerente Técnico de Laboratorio

ANISUR ANALISIS INDUSTRIALES DEL SUR
4a. Av. 5-17 Z. 1, Retalhuleu
Tel.: 7771 5108

labdubonreu@hotmail.com

LABORATORIO CLÍNICO DUBÓN RETALHULEU / DIVISIÓN INDUSTRIAL ANISUR
4a. Av. 5-17 Zona 1 Retalhuleu, Guatemala, C.A. Tel: (502) 7771 5108 Tel/Fax: (502) 7771 5771

13.3.3 *Listeria Monocytogenes*

13.3.3.1 Día 0

LABORATORIO CLINICO DUBON RETALHULEU

ANISUR ANALISIS INDUSTRIALES DEL SUR

CLIENTE: REGINA DEL CID
LUGAR: RETALHULEU
FECHA DE REPORTE: 08/09/2017
MUESTRA ANALIZADA: QUESO (7 muestras recibidas en bolsas plásticas)
FECHA DE RECEPCION: 30/08/2017

ANALISIS MICROBIOLOGICO

Código	Muestra	Listeria monocytogenes/25 g*	Límite Máximo Permitido**
3303	Control Queso (día 0)	Ausencia	Ausencia
3304	Queso Hierba de Limón 0.1% (día 0)	Ausencia	Ausencia
3305	Queso Hierba de Limón 0.3% (día 0)	Ausencia	Ausencia
3306	Queso Hierba de Limón 0.5% (día 0)	Ausencia	Ausencia
3307	Queso Semilla de Apio 0.1% (día 0)	Ausencia	Ausencia
3308	Queso Semilla de Apio 0.3% (día 0)	Ausencia	Ausencia
3309	Queso Semilla de Apio 0.5% (día 0)	Ausencia	Ausencia

* Metodología: APHA - AOAC, Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods 4th Edition 2,001, Capítulo 36.

**Norma: Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 Alimentos. Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos.

Gerente Técnico de Laboratorio

ANISUR ANALISIS INDUSTRIALES DEL SUR
4a. Av. 5-17 Z. 1, Retalhuleu
Tel.: 7771 5108

labdubonreu@hotmail.com

LABORATORIO CLÍNICO DUBÓN RETALHULEU / DIVISIÓN INDUSTRIAL ANISUR
4a. Av. 5-17 Zona 1 Retalhuleu, Guatemala, C.A. Tel: (502) 7771 5108 Tel/Fax: (502) 7771 5771

13.3.3.2 Día 15

LABORATORIO CLINICO DUBON RETALHULEU

ANISUR ANALISIS INDUSTRIALES DEL SUR

CLIENTE: REGINA DEL CID
LUGAR: RETALHULEU
FECHA DE REPORTE: 23/09/2017
MUESTRA ANALIZADA: QUESO (7 muestras recibidas en bolsas plásticas) Incubación previa 15 días
FECHA DE RECEPCION: 14/09/2017

ANALISIS MICROBIOLOGICO

Código	Muestra	Listeria monocytogenes/25 g*	Límite Máximo Permitido**
3286	Control Queso (día 15)	Ausencia	Ausencia
3287	Queso Hierba de Limón 0.1% (dia 15)	Ausencia	Ausencia
3288	Queso Hierba de Limón 0.3% (dia 15)	Ausencia	Ausencia
3289	Queso Hierba de Limón 0.5% (dia 15)	Ausencia	Ausencia
3290	Queso Semilla de Apio 0.1% (día 15)	Ausencia	Ausencia
3291	Queso Semilla de Apio 0.3% (día 15)	Ausencia	Ausencia
3292	Queso Semilla de Apio 0.5% (día 15)	Ausencia	Ausencia

* Metodologia: APHA - AOAC, Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods 4th Edition 2,001, Capitulo 36.

**Norma: Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 Alimentos. Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos.

Gerente Técnico de Laboratorio

ANISUR ANALISIS INDUSTRIALES DEL SUR
4a. Av. 5-17 Z. 1, Retalhuleu
Tel.: 7771 5108

labdubonreu@hotmail.com

LABORATORIO CLÍNICO DUBÓN RETALHULEU / DIVISIÓN INDUSTRIAL ANISUR
4a. Av. 5-17 Zona 1 Retalhuleu, Guatemala, C.A. Tel: (502) 7771 5108 Tel/Fax: (502) 7771 5771

13.3.4 *Salmonella spp*

13.3.4.1 Día 0

LABORATORIO CLINICO DUBON RETALHULEU

ANISUR ANALISIS INDUSTRIALES DEL SUR

EMPRESA: REGINA DEL CID
LUGAR: RETALHULEU
FECHA DE REPORTE: 08/09/2017
MUESTRA ANALIZADA: QUESO (7 muestras recibidas en bolsas plásticas)
FECHA DE RECEPCION: 30/08/2017

ANALISIS MICROBIOLOGICO

Código	Muestra	Salmonella spp/25g	Límite Máximo Permitido**
3303	Control Queso (día 0)	Ausencia	Ausencia
3304	Queso Hierba de Limón 0.1% (día 0)	Ausencia	Ausencia
3305	Queso Hierba de Limón 0.3% (día 0)	Ausencia	Ausencia
3306	Queso Hierba de Limón 0.5% (día 0)	Ausencia	Ausencia
3307	Queso Semilla de Apio 0.1% (día 0)	Ausencia	Ausencia
3308	Queso Semilla de Apio 0.3% (día 0)	Ausencia	Ausencia
3309	Queso Semilla de Apio 0.5% (día 0)	Ausencia	Ausencia

* Metodologia: APHA - AOAC, Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods 4th Edition 2,001, Capitulo 37.

**Norma: Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 Alimentos. Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos.

Gerente Técnico de Laboratorio

ANISUR ANALISIS INDUSTRIALES DEL SUR
4a. Av. 5-17 Z. 1, Retalhuleu
Tel.: 7771 5108

labdubonreu@hotmail.com

LABORATORIO CLÍNICO DUBÓN RETALHULEU / DIVISIÓN INDUSTRIAL ANISUR
4a. Av. 5-17 Zona 1 Retalhuleu, Guatemala, C.A. Tel: (502) 7771 5108 Tel/Fax: (502) 7771 5771

13.3.4.2 Día 15

LABORATORIO CLINICO DUBON RETALHULEU

ANISUR ANALISIS INDUSTRIALES DEL SUR

EMPRESA: REGINA DEL CID
LUGAR: RETALHULEU
FECHA DE REPORTE: 23/09/2017
MUESTRA ANALIZADA: QUESO (7 muestras recibidas en bolsas plásticas) Incubación previa 15 días
FECHA DE RECEPCION: 14/09/2017

ANALISIS MICROBIOLOGICO

Código	Muestra	Salmonella spp/25g	Límite Máximo Permitido**
3286	Control Queso (día 15)	Ausencia	Ausencia
3287	Queso Hierba de Limón 0.1% (dia 15)	Ausencia	Ausencia
3288	Queso Hierba de Limón 0.3% (dia 15)	Ausencia	Ausencia
3289	Queso Hierba de Limón 0.5% (dia 15)	Ausencia	Ausencia
3290	Queso Semilla de Apio 0.1% (día 15)	Ausencia	Ausencia
3291	Queso Semilla de Apio 0.3% (día 15)	Ausencia	Ausencia
3292	Queso Semilla de Apio 0.5% (día 15)	Ausencia	Ausencia

* Metodologia: APHA - AOAC, Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods 4th Edition 2,001, Capítulo 37.

**Norma: Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 Alimentos. Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos.

Gerente Técnico de Laboratorio

ANISUR ANALISIS INDUSTRIALES DEL SUR
4a. Av. 5-17 Z. 1, Retalhuleu
Tel.: 7771 5108

labdubonreu@hotmail.com

LABORATORIO CLÍNICO DUBÓN RETALHULEU / DIVISIÓN INDUSTRIAL ANISUR
4a. Av. 5-17 Zona 1 Retalhuleu, Guatemala, C.A. Tel: (502) 7771 5108 Tel/Fax: (502) 7771 5771

14. APÈNDICE

14.1 Resultados de análisis de varianza

Para cada una de las determinaciones se realizó el análisis de varianza establecido, siendo este ANDEVA con Bloques Completamente al azar, cada tratamiento se estableció de la siguiente manera:

Datos

Semillas de Apio
- **A_1** = queso con recubrimiento de quitosano y A.E al 0.1%
- **A_2** = queso con recubrimiento de quitosano y A.E al 0.3%
- **A_3** = queso con recubrimiento de quitosano y A.E al 0.5%

Hierba de té limón
- **B_1** = queso con recubrimiento de quitosano y A.E al 0.1%
- **B_2** = queso con recubrimiento de quitosano y A.E al 0.3%
- **B_3** = queso con recubrimiento de quitosano y A.E al 0.5%

Control = queso sin recubrimiento

***A.E** = Aceite esencial

14.1.1 Análisis de varianza para determinación de grasa

ANDEVA COMPLETAMENTE AL AZAR

[Queso con recubrimiento de quitosano y A.E de Semillas de Apio Vs Queso Control (Sin recubrimiento)]

Repetición	Testigo	Trat. A_1	Trat. A_2	Trat. A_3	
0	3	3	3	3	
5	3	3	3	3	
10	3	3	3	3	
15	3	3	3	3	
Total	12	12	12	12	48
Total cuadrados	144	144	144	144	576

n =	15
m =	4
Fc =	38,4

Causas de variación	Sumatoria de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Factor calculado	Factor tabulado
Tratamiento	0,0	3,00	0,0	0,0	2,79
Error	105,60	56	1,89		
Total	105,60	59			

Conclusión
No existe diferencia estadística entre los tratamientos

ANDEVA COMPLETAMENTE AL AZAR
[Queso con recubrimiento de quitosano y A.E de Hierba de té limón Vs Queso Control (Sin recubrimiento)]

Repetición	Testigo	Trat. B_1	Trat. B_2	Trat. B_3	
0	3	3	3	3	
5	3	3	3	3	
10	3	3	3	3	
15	3	3	3	3	
Total	12	12	12	12	48
Total cuadrados	144	144	144	144	576

n =	15
m =	4
Fc =	38,4

Causas de variación	Sumatoria de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Factor calculado	Factor tabulado
Tratamiento	0,0	3,00	0,0	0,0	2,79
Error	105,60	56	1,89		
Total	105,60	59			

Conclusión
No existe diferencia estadística entre los tratamientos

Fuente: elaboración propia, 2017

14.1.2 Análisis de varianza para determinación de pH

ANDEVA COMPLETAMENTE AL AZAR
[Queso con recubrimiento de quitosano y A.E de Semillas de apio Vs Queso Control (Sin recubrimiento)]

Repetición	Testigo	Trat. A_1	Trat. A_2	Trat. A_3	
	6,381	6,028	6,042	6,224	
5	6,040	5,970	5,946	5,903	
10	5,843	5,765	5,889	5,843	
15	5,779	4,634	5,858	5,759	
Total	24043	22397	23735	23729	93904
Total cuadrados	578065849	501625609	563350225	563065441	2206107124

n =	15
m =	4
Fc =	146966020,3

Causas de variación	Sumatoria de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Factor calculado	Factor tabulado
Tratamiento	107788,00	3,00	35929,33	0,00	2,79
Error	406096787,73	56	7251728,35		
Total	406204575,73	59			

Conclusión
No existe diferencia estadística entre los tratamientos

ANDEVA COMPLETAMENTE AL AZAR
[Queso con recubrimiento de quitosano y A.E de Hierba de té limón Vs Queso Control (Sin recubrimiento)]

Repetición	Testigo	Trat. B_1	Trat. B_2	Trat. B_3	
0	6.381	6.126	6.034	6.397	
5	6.040	5.880	5.816	5.922	
10	5.843	5.872	5.731	5.653	
15	5.779	5.761	5.562	5.779	
Total	24043	23639	23143	23751	94576
Total cuadrados	578065849	558802321	535598449	564110001	2236576620

n =	15
m =	4
Fc =	149076996

Causas de variación	Sumatoria de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Factor calculado	Factor tabulado
Tratamiento	28111,73	3,00	9370,58	0,00	2,79
Error	410763084,00	56	7335055,07		
Total	410791195,73	59			

Conclusión
No existe diferencia estadística entre los tratamientos

Fuente: elaboración propia, 2017

14.1.3 Determinación de humedad

14.1.3.1 Tabla. No. 08: Valores experimentales en la determinación de humedad

Muestra	Día	Tiempo	P_1 [Peso cápsula vacía (g)]	P_2[Peso cápsula vacía + muestra antes de secado (g)]	P_3[Peso cápsula vacía + muestra después de secado (g)]	% Humedad
0.1% S.A	0	2 hrs	36	40	37	75
	5	2 hrs	36	40	37	75
	10	2 hrs	36	40	37	75
	15	2 hrs	36	40	37	75
0.3% S.A	0	2 hrs	36	40	37	75
	5	2 hrs	36	40	38	50
	10	2 hrs	36	40	38	50
	15	2 hrs	36	40	39	25
0.5% S.A	0	2 hrs	32	36	33	75
	5	2 hrs	32	36	34	50
	10	2 hrs	32	36	34	50
	15	2 hrs	32	36	34	50
0.1% H.L	0	2 hrs	25	29	26	75
	5	2 hrs	25	29	27	50
	10	2 hrs	25	29	27	50
	15	2 hrs	25	29	27	50
0.3% H.L	0	2 hrs	30	34	31	75
	5	2 hrs	30	34	31	75
	10	2 hrs	30	34	31	75
	15	2 hrs	30	34	31	75
0.5% H.L	0	2 hrs	21	25	22	75
	5	2 hrs	21	25	22	75
	10	2 hrs	21	25	23	50
	15	2 hrs	21	25	23	50
Control	0	2 hrs	23	27	24	75
	5	2 hrs	23	27	25	50
	10	2 hrs	23	27	25	50
	15	2 hrs	23	27	25	50

Fuente: elaboración propia, 2017

14.1.3.2 Análisis de varianza para determinación de humedad

ANDEVA COMPLETAMENTE AL AZAR

[Queso con recubrimiento de quitosano y A.E de Semillas de Apio Vs Queso Control (Sin recubrimiento)]

Repetición	Testigo	Trat. A_1	Trat. A_2	Trat. A_3	
0	75	75	75	75	
5	50	75	50	50	
10	50	75	50	50	
15	50	75	25	50	
Total	225	300	200	225	950
Total cuadrados	50625	90000	40000	50625	231250

n =	15
m =	4
Fc =	15041,667

Causas de variación	Sumatoria de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Factor calculado	Factor tabulado
Tratamiento	375,00	3,00	125,00	0,16	2,79
Error	44583,33	56	796,13		
Total	44958,33	59			

Conclusión
No existe diferencia estadística entre los tratamientos

ANDEVA COMPLETAMENTE AL AZAR

[Queso con recubrimiento de quitosano y A.E de Hierba de té limónVs Queso Control (Sin recubrimiento)]

Repetición	Testigo	Trat. B_1	Trat. B_2	Trat. B_3	
0	75	75	75	75	
5	50	50	75	50	
10	50	50	75	50	
15	50	50	75	50	
Total	225	225	300	225	975
Total cuadrados	50625	50625	90000	50625	241875

n =	15
m =	4
Fc =	15843,75

Causas de variación	Sumatoria de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Factor calculado	Factor tabulado
Tratamiento	281,25	3,00	93,75	0,11	2,79
Error	45750,00	56	816,96		
Total	46031,25	59			

Conclusión
No existe diferencia estadística entre los tratamientos

Fuente: elaboración propia, 2017

14.1.4 Análisis de varianza para determinaciones microbiológicas

14.1.4.1 Análisis de varianza para *Escherichia Coli* (*E. Coli*)

ANDEVA COMPLETAMENTE AL AZAR

[Queso con recubrimiento de quitosano y A.E de Semillas de Apio Vrs Queso Control (Sin recubrimiento)]

Repetición	**Testigo**	**Trat. A_1**	**Trat. A_2**	**Trat. A_3**			
0	10	10	10	12		**n =**	15
15	28	19	20	15		**m =**	4
Total	38	29	30	27	124		
Total cuadrados	1444	841	900	729	3914		

Causas de variación	**Sumatoria de cuadrados**	**Grados de libertad**	**Cuadrado medio**	**Factor calculado**	**Factor tabulado**
Tratamiento	4,67	3,00	1,56	0,04	2,79
Error	1953,07	56	34,88		
Total	1957,73	59			

Conclusión
No existe diferencia estadística entre los tratamientos

ANDEVA COMPLETAMENTE AL AZAR

[Queso con recubrimiento de quitosano y A.E de Hierba de té limón Vs Queso Control (Sin recubrimiento)]

Repetición	Testigo	Trat. A_1	Trat. A_2	Trat. A_3	
0	10	10	10	10	
15	28	10	10	12	
Total	38	20	20	22	100
Total cuadrados	1444	400	400	484	2728

n =	15
m =	4

Causas de variación	Sumatoria de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Factor calculado	Factor tabulado
Tratamiento	15,20	3,00	5,07	0,21	2,79
Error	1346,13	56	24,04		
Total	1361,33	59			

Conclusión
No existe diferencia estadística entre los tratamientos

Fuente: elaboración propia, 2017.

14.1.4.2 Análisis de varianza para *Staphylococcus aureus*

ANDEVA COMPLETAMENTE AL AZAR

[Queso con recubrimiento de quitosano y A.E de Semillas de Apio Vs Queso Control (Sin recubrimiento)]

Repetición	**Testigo**	**Trat. A_1**	**Trat. A_2**	**Trat. A_3**			
	20	30	30	20		**n =**	15
15	150	125	110	80		**m =**	4
Total	170	155	140	100	565		
Total cuadrados	28900	24025	19600	10000	82525		

Causas de variación	**Sumatoria de cuadrados**	**Grados de libertad**	**Cuadrado medio**	**Factor calculado**	**Factor tabulado**
Tratamiento	181,25	3,00	60,42	0,06	2,79
Error	53723,33	56	959,35		
Total	53904,58	59			

Conclusión
No existe diferencia estadística entre los tratamientos

ANDEVA COMPLETAMENTE AL AZAR

[Queso con recubrimiento de quitosano y A.E de Semillas de Apio Vrs Queso Control (Sin recubrimiento)]

Repetición	Testigo	Trat. A_1	Trat. A_2	Trat. A_3			
	20	5	20	10		**n =**	15
15	150	80	40	45		**m =**	4
Total	170	85	60	55	370		
Total cuadrados	28900	7225	3600	3025	42750		

Causas de variación	Sumatoria de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Factor calculado	Factor tabulado
Tratamiento	568,33	3,00	189,44	0,35	2,79
Error	30600,00	56	546,43		
Total	31168,33	59			

Conclusión
No existe diferencia estadística entre los tratamientos

Fuente: elaboración propia.

14.1.4.3 Análisis de varianza para *Lysteria monocytogenes* y *Salmonella spp*

Al no existir presencia de esta bacteria en las muestras experimentales en ninguno de los días de evaluación establecidos (día 0 y día 15) no se realizó el análisis de varianza.

15. GLOSARIO

15.2 Botella de babcock: recipiente de vidrio de fondo plano, el cual tiene un cuello alargado, vertical y graduado. Es utilizada en el método volumétrico de cuantificación de grasas.

15.3 Catación: probar o degustar algún producto para examinar sus sabores, olores u otra característica propia del producto

15.4 Consumidores: es aquel individuo u organización que demanda bienes o servicios que ofrece, ya sea un productor o quien provee los mencionados bienes y servicios

15.5 Costra coriácea: capa superficial de pigmentos amarillentos que se presenta en los quesos cuando están contaminados o viejos.

15.6 Crisol: recipiente de porcelana es un material de laboratorio utilizado principalmente para calentar, fundir, quemar, y calcinar sustancias.

15.7 Hierba perenne: es una planta que vive durante más de dos años. A las plantas perennes se les dice también vivaces.

15.8 Liras de corte: instrumento de corte muy sencillo normalmente con forma de rejilla.

15.9 Matraz: recipiente de vidrio generalmente con base circular o algo esférica y un cuello recto y estrecho

15.10 Microflora banal: se define como la totalidad de los microorganismos (patógenos, internos y externos) que se encuentran en un entorno específico.

15.11 Microflora patógena: son todos los microorganismos patógenos que se encuentran en un entorno específico.

15.12 Natamisina: conocida también como pimarisina, es un antibiótico antifúngico producido por un microorganismo del género Streptomyces, Streptomyces natalensis, se utiliza contra una variedad de infecciones fúngicas.

15.13 Pepsina de cerdo: es una enzima proveniente del estómago de los cerdos, esta se produce y secreta por la mucosa gástrica en el momento de la digestión.

15.14 Proteasa Mucor miehei, Mucor pusillus Endothia parasítica: son coagulantes de origen microbiano, provenientes de los hongos, estas enzimas son apropiadas para la elaboración de quesos de masa cocida a altas temperaturas.

15.15 Tween 80: es un surfactante hidrofílico. Se utiliza para la emulsificación de aceite en agua (O/W), dispersión o solubilización de aceites, y para hacer lavables las pomadas anhidras

15.16 Vida útil: conocida también como vida de anaquel o self life, es el tiempo que un producto puede utilizarse o estar almacenado sin que sus propiedades se degraden.

Mazatenango, Suchitepéquez, Octubre 2017

Comisión de Trabajo de graduación
Ingeniería en Alimentos
Centro Universitario de Sur Occidente

Distinguidos Señores de comisión de trabajo de graduación:

De manera atenta nos dirigimos a ustedes y de acuerdo al normativo de trabajo de graduación he procedido acompañar el protocolo de seminario II titulado: **"Comparación de la vida útil de un queso fresco procesado sin conservadores y quesos frescos con recubrimientos comestibles de quitosano y aceites esenciales"**, de la estudiante: **Alba Regina Del Cid Juárez,** identificada con el número de carné: **201146260** y DPI número: **2264724501109**

Derivado de lo anterior, consideramos llena los requisitos académicos y legales que el protocolo establece para ser procedido a evaluación.

Ante ustedes, nos suscribimos.

Respetuosamente

M.sC. Edgar Roberto Del Cid Chacón
Asesor Principal

Ing. en Ali. Silvia Marisol Guzmán Téllez
Asesor Adjunto

Mazatenango, Suchitepéquez, Octubre 2017

Comisión de Trabajo de Graduación
Ingeniería en Alimentos
Centro Universitario de Sur Occidente

Distinguida Comisión de Trabajo de Graduación:

De manera atenta nos dirigimos a ustedes y por medio de la presente hacemos de su conocimiento que cumpliendo con los nombramientos que nos fueron asignados, hemos procedido a revisar, evaluar y corregir el trabajo de graduación de la estudiante: **Alba Regina Del Cid Juárez,** identificada con el número de carné: **201146260** y DPI número: **2264724501109,** el cual lleva como título: **Comparación de la vida útil de un queso fresco procesado sin conservadores y quesos frescos con recubrimientos comestibles de quitosano y aceites esenciales**.

Derivado de lo anterior, consideramos llena los requisitos académicos y legales que el protocolo establece para ser procedido a los trámites correspondientes que rigen el centro universitario y firmamos la presente, dando fe de lo antes mencionado.

Sin nada más que agregar, nos suscribimos de su persona.

Dr. Sammy Alexis Ramírez Juárez
Presidente de terna evaluadora

Ing. Víctor Manuel Nájera Toledo
Secretario de terna evaluadora

Ing. en Ali. Aurora Carolina Estrada Elena
Vocal de terna evaluadora

Mazatenango, Suchitepéquez, Octubre 2017

PhD. Marco Antonio Del Cid Flores

Coordinador de Ingeniería en Alimentos

CUNSUROC – USAC

Distinguido, Doctor:

Le saludo cordialmente, deseándole éxitos en sus labores diarias.

El motivo de la presente, es para informarle que la comisión de trabajo de graduación ha recibido el informe revisado de los asesores nombrados y las correcciones correspondientes de la terna evaluadora de la evaluación de seminario II. Del trabajo de graduación titulado: **Comparación de la vida útil de un queso fresco procesado sin conservadores y quesos frescos con recubrimientos comestibles de quitosano y aceites esenciales.** De la estudiante: **Alba Regina Del Cid Juárez,** identificada con el número de carné: **201146260** y DPI número: **2264724501109.**

El documento antes mencionado presenta los requisitos establecidos en redacción y corrección, para que se proceda a los trámites correspondientes.

Sin nada más que agregar, me suscribo de usted.

Respetuosamente

Ing. en Ali. Marvin Manolo Sánchez López
Secretario de comisión de trabajo de graduación

Mazatenango, Suchitepéquez, Octubre 2017

Dr. Guillermo Tello

Director Centro Universitario de Sur Occidente

Universidad de San Carlos de Guatemala

Distinguido, Doctor:

Le saludo cordialmente, deseándole éxitos en sus labores diarias.

De conformidad con el cumplimiento de mis funciones, como coordinador de la carrera de Ingeniería en Alimentos del Centro Universitario de Sur Occidente –CUNSUROC-, he tenido a bien revisar el informe de trabajo de graduación titulado: **Comparación de la vida útil de un queso fresco procesado sin conservadores y quesos frescos con recubrimientos comestibles de quitosano y aceites esenciales.** El cual ha sido presentado por la estudiante: **Alba Regina Del Cid Juárez,** identificada con el número de carné: **201146260** y DPI número: **2264724501109.**

El documento antes mencionado llena los requisitos establecidos para optar al titulo de Ingeniero en Alimentos, en el grado académico de Licenciado, por lo que solicito la autorización del imprimase.

Sin nada más que agregar, me suscribo de usted.

Respetuosamente

Universidad de San Carlos de Guatemala
Centro Universitario del Sur Occidente
Coordinador de Ingeniería en Alimentos
Mazatenango, Such.

PhD. Marco Antonio Del Cid Flores
Coordinador de la carrera de Ingeniería en Alimentos

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
CENTRO UNIVERSITARIO DEL SUR OCCIDENTE
MAZATENANGO, SUCHITEPEQUEZ
DIRECCIÓN DEL CENTRO UNIVERSITARIO

CUNSUROC/USAC-I-11-2017

DIRECCIÓN DEL CENTRO UNIVERSITARIO DEL SUROCCIDENTE, Mazatenango, Suchitepéquez, siete de noviembre de dos mil diecisiete----------

Encontrándose agregados al expediente los dictámenes de la Comisión de Tesis y del Secretario del comité de Tesis, SE AUTORIZA LA IMPRESIÓN DEL TRABAJO DE GRADUACIÓN TITULADO: **"COMPARACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DE UN QUESO FRESCO PROCESADO SIN CONSERVADORES Y QUESOS FRESCOS CON RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES DE QUITOSANO Y ACEITES ESENCIALES"** de la estudiante: **TPA. Alba Regina Del Cid Juárez,** carné **201146260** de la carrera Ingeniería en Alimentos.

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

Dr. Guillermo Vinicio Tello Cano
Director - CUNSUROC

CENTRO UNIVERSITARIO DE SUROCCIDENTE
DIRECCIÓN
U.S.A.C. Mazatenango

/gris