

## I. INTRODUCCION.-

Desde siempre el hombre consume “productos fermentados” para transformar materias primas perecederas en alimentos con un gusto óptimo, estables desde el punto de vista microbiológico, y con un elevado valor nutricional (vino, cerveza, quesos). Los alimentos fermentados, además, son muy digestibles, porque los alimentos difíciles de digerir son transformados en sustancias rápidamente asimilables. (Sobrado, 2005)

Por “productos fermentados” entendemos el resultado final de una serie de transformaciones que requieren la intervención de levaduras, mohos y bacterias lácticas. Éstas son bacterias Gram + que fermentan el azúcar produciendo sobre todo ácido láctico. (Sobrado, 2005)

Actualmente, diversos investigadores han estudiado los microorganismos utilizados en la producción de leche fermentada y productos afines y sus efectos beneficiosos sobre el metabolismo humano y animal. Estos microorganismos vivos, conocidos como probióticos, son considerados como suplementos alimenticios que afectan benéficamente la fisiología del huésped, mediante la modulación intestinal y del sistema inmunológico y que mejoran el balance nutricional y microbiano en el tracto gastrointestinal.

El interés por los cultivos probióticos y su uso en la industria de productos lácteos fermentados ha florecido en el último lustro, no sólo desde el punto de vista terapéutico, causando efectos beneficiosos en las personas que los ingieren, sino también como agente antagónico de agentes patógenos entéricos. Diversos trabajos han demostrado que las bacterias probióticas son capaces de prevenir la adherencia, establecimiento, replicación y acción patogénica de enteropatógenos específicos en el intestino y en alimentos, ya sea provocando un descenso en el pH a través de la producción de ácidos orgánicos volátiles de cadena corta, interviniendo en la disponibilidad de nutrientes necesarios para los patógenos, disminuyendo el potencial de óxido reducción del medio o produciendo compuestos inhibitorios específicos, incluyendo bacteriocinas.

El estrés, los malos hábitos alimentarios y el abuso de antibióticos son sólo algunos de los factores que pueden afectar negativamente el necesario equilibrio de nuestra flora intestinal. Y en tales casos la ingesta de los llamados productos probióticos -que contienen microorganismos vivos y activos una vez que colonizan el intestino-, es una buena alternativa, natural y sin efectos secundarios para mejorar sensiblemente el funcionamiento intestinal y, por extensión, optimizar nuestra salud. (Fuertes, 2001)

Los componentes que hacen que un alimento sea funcional han estado siempre presentes en la naturaleza, pero es en las últimas décadas cuando los investigadores han comenzado a identificarlos de forma aislada y a determinar los beneficios concretos que éstos proporcionan a nuestro organismo. (Penna, 2000)

### **1.1 JUSTIFICACIÓN.-**

Los niveles de nutrición en nuestro país han decaído en los últimos años debido al encarecimiento de la canasta familiar; alimentos básicos como la leche y sus derivados, fuentes de proteína y vitaminas han dejado de ser parte de la dieta diaria de la familia ecuatoriana.

En el mundo actual la nutrición ha sido descuidada, debido al ritmo de vida, los consumidores prefieren adquirir alimentos pre-cocidos o fáciles de preparar, sin tomar en cuenta su valor nutricional. En la última década, la problemática de la nutrición ha hecho que las industrias alimenticias traten de incrementar el valor nutricional de los alimentos de consumo básico, de manera especial los que forman parte de las colaciones y desayunos: cereales, lácteos (yogurt), galletas, etc.

En nuestro país el yogurt es uno de los alimentos más enriquecido nutricionalmente (probióticos, vitaminas, calcio, proteínas) que existe en el mercado. Las bondades ya conocidas en cuanto a las infecciones gastrointestinales hacen de éste un alimento muy consumido. Sin embargo, en la actualidad se están realizando investigaciones para añadir a otros alimentos estas propiedades, entre ellos se ha considerado el queso.

Los pocos estudios realizados para añadir probióticos al queso nos impulsaron a realizar esta investigación, tomando en cuenta que se trata de un producto de fácil elaboración,

de bajo costo y según estudios, un excelente vehículo de bacterias probióticas. Es importante destacar que a nivel mundial se comercializan muy pocos quesos probióticos y a nivel de América Latina existe sólo un producto comercial con tales características, denominado BIOQUESO, el cual es producido por una empresa láctea en Santa Fe, Argentina. La investigación constituye entonces un gran aporte al campo científico y alimenticio en el país, creando un alimento saludable sin encarecer su costo.

El propósito de esta investigación radica en la necesidad de enriquecer los alimentos de consumo masivo, de manera que se vuelvan funcionales. A nivel de la salud se ha demostrado que la ingesta diaria de 50g de queso con adición de probióticos permite un desarrollo de microorganismos capaces de proteger el tracto gastrointestinal, aumentar las defensas de una persona inmunodeprimida e inclusive prevenir el cáncer. Los alimentos con adición de probióticos pueden mantenerse viables y aptos para el consumo humano por un período de tiempo más prolongado, ya que las bacterias probióticas inhiben el desarrollo de microorganismos que causan deterioro.

## **1.2 OBJETIVOS.-**

### **1.2.1 Objetivo General.**

Producir quesos funcionales de tipo Andino y Fresco por medio de cultivos bacterianos (*Lactobacillus bulgaricus* y *Lactobacillus helveticus*), obtenidos en laboratorio a partir de las cepas aisladas de yogurt y quesos de pasta dura.

### **1.2.2 Objetivos Específicos.**

- Aislar a partir de queso de pasta dura y yogurt elaborado artesanalmente bacterias ácido lácticas
- Identificar y caracterizar las cepas de bacterias lácticas (*Lactobacillus bulgaricus* y *Lactobacillus helveticus*) que tengan propiedades probióticas y que puedan ser utilizadas en los tipos de queso elegidos.
- Estandarizar la metodología de la adición y dosificación óptima de los cultivos probióticos durante el proceso de fabricación de los quesos fresco y andino.

- Determinar las características cualitativas y organolépticas posteriores a la inoculación en los quesos Fresco y Andino.
- Realizar un estudio bromatológico del producto final para constatar las diferencias entre los quesos testigos (sin adición de probióticos) y experimentales (con agregado de probióticos).
- Determinar los costos de la investigación para establecer la rentabilidad de la producción de ambos tipos de queso al adicionar cultivos bacterianos.

### **1.3 HIPOTESIS.**

La adición de las cepas probióticas de *Lactobacillus bulgaricus* y *Lactobacillus helveticus* en los tipos de queso Andino y Fresco, producen una variación en sus características organolépticas y nutricionales, haciendo de éstos productos de mejor calidad que los normales.

## **II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.-**

### **2.1 ALIMENTOS FUNCIONALES**

La principal función de la dieta es aportar los nutrientes necesarios para satisfacer las necesidades nutricionales de las personas. Existen cada vez más pruebas científicas que apoyan la hipótesis de que ciertos alimentos, así como algunos de sus componentes tienen efectos físicos y psicológicos beneficiosos, gracias al aporte de los nutrientes básicos. Hoy en día, la ciencia de la nutrición ha evolucionado a partir de conceptos clásicos, como evitar las deficiencias de nutrientes y la suficiencia nutricional básica, a los conceptos de nutrición "positiva" u "óptima". Las investigaciones han pasado a centrarse más en la identificación de componentes biológicamente activos en los alimentos, que ofrezcan la posibilidad de mejorar las condiciones físicas y mentales, así como de reducir el riesgo a contraer enfermedades. Se ha descubierto que muchos productos alimenticios tradicionales, como las frutas, las verduras, la soja, los granos enteros y la leche contienen componentes que pueden resultar beneficiosos para la salud. Además de éstos, se están desarrollando nuevos alimentos que añaden o amplían estos componentes beneficiosos, por las ventajas que suponen para la salud y sus convenientes efectos psicológicos.

Las virtudes que se atribuyen a determinados alimentos, que en la actualidad se denominan funcionales, no es algo tan reciente como parece, sino que su origen data de hace miles de años.

#### **2.1.1 El origen de los alimentos funcionales**

El concepto de alimentos funcionales nació en Japón. En los años 80, las autoridades sanitarias japonesas se dieron cuenta que para controlar los gastos sanitarios, generados por la mayor esperanza de vida de la población anciana, había que garantizar también una mejor calidad de vida. Se introdujo un nuevo concepto de alimentos, que se desarrollaron específicamente para mejorar la salud y reducir el riesgo de contraer enfermedades.

De este modo, en la década de los 80 se publicó la reglamentación para los "Alimentos para uso específico de salud" ("*Foods for specified health use*" o *FOSHU*), referidos a

aquellos alimentos que contienen componentes que desempeñan una función favorable y específica en las funciones fisiológicas del organismo humano, que van más allá de su contenido nutricional.

Generalmente, se considera que son aquellos alimentos, que se consumen como parte de una dieta normal y contienen componentes biológicamente activos, que ofrecen beneficios para la salud y reducen el riesgo de sufrir enfermedades. Entre algunos ejemplos de alimentos funcionales, destacan los alimentos que contienen determinados minerales, vitaminas, ácidos grasos o fibra alimenticia, los alimentos a los que se han añadido sustancias biológicamente activas, como los fitoquímicos u otros antioxidantes, y los probióticos, que tienen cultivos vivos de microorganismos beneficiosos.

Como respuesta al creciente interés sobre este tipo de alimentos, han aparecido nuevos productos y ahora el interés se centra en la necesidad de establecer normas y directrices que regulen el desarrollo y la publicidad de dichos alimentos. (Functional Food Science in Europe, 1998).

Hoy día se sigue investigando para definir y obtener un mayor conocimiento acerca de los alimentos funcionales, sus propiedades y efectos sobre las funciones fisiológicas del cuerpo humano.

Un alimento se considera funcional porque, además de destacar por sus propiedades nutritivas, contiene ciertos elementos, cuyo consumo diario dentro de una dieta equilibrada contribuye a mantener o mejorar nuestro estado de salud y bienestar.

La dieta desempeña un papel determinante en todas las etapas de la vida y es un factor implicado en la prevención y tratamiento de muchas enfermedades, junto con unos hábitos de vida saludables; práctica regular de ejercicio, abandono de hábitos tóxicos (tabaco, exceso de alcohol...) y disminución del estrés.

No existe una definición universalmente aceptada para los alimentos funcionales, al tratarse más bien de un concepto que de un grupo de alimentos. En Europa, el primer documento de consenso sobre conceptos científicos en relación con los alimentos funcionales fue elaborado por un grupo de expertos, según el cual *"un alimento funcional es aquel que contiene un componente, nutriente o no nutriente, con efecto selectivo sobre una o varias funciones del organismo, con un efecto añadido por*

*encima de su valor nutricional y cuyos efectos positivos justifican que pueda reivindicarse su carácter funcional o incluso saludable". (International Life Sciences Institute, 1999)*

### **2.1.2 Beneficios de los alimentos funcionales**

Hoy en día, la gente reconoce en mayor medida, que llevar un estilo de vida sano, incluida la dieta, puede contribuir a reducir el riesgo de padecer enfermedades y dolencias, y a mantener el estado de salud y bienestar. El apoyo que se está dando a la importancia de alimentos como las frutas, las verduras y los cereales integrales en la prevención de enfermedades, así como las últimas investigaciones sobre los antioxidantes dietéticos y sobre la combinación de sustancias protectoras en plantas, está contribuyendo a impulsar el desarrollo del mercado de los alimentos funcionales en Europa.

La necesidad de contar con alimentos que sean más beneficiosos para la salud, también se ve apoyada por los cambios socioeconómicos y demográficos que se están dando en la población. El aumento de la esperanza de vida, que tiene como consecuencia el incremento de la población anciana y el deseo de gozar de una mejor calidad de vida, así como el aumento de los costes sanitarios, han potenciado que los gobiernos, los investigadores, los profesionales de la salud y la industria alimenticia busquen la manera de controlar estos cambios de forma más eficaz. Ya existen una gran variedad de alimentos a disposición del consumidor, pero en estos momentos la prioridad es identificar qué alimentos funcionales pueden mejorar la salud y el bienestar y reducir el riesgo o retrasar la aparición de importantes enfermedades, como las enfermedades cardiovasculares, el cáncer y la osteoporosis. Si los alimentos funcionales se combinan con un estilo de vida sano, pueden contribuir de forma positiva a mejorar la salud y el bienestar. (Functional Food Science in Europe, 1998).

## **2.2 PROBIÓTICOS**

Se considera alimento probiótico aquel que contiene microorganismos vivos presentes en un alimento como el yogur, las leches fermentadas, el queso y otros derivados de la leche que permanecen activos en el intestino y ejercen importantes efectos fisiológicos. Ingeridos en cantidades suficientes tienen efecto muy beneficioso, como contribuir al

equilibrio de la flora bacteriana intestinal del huésped y potenciar el sistema inmunológico. Son capaces de atravesar el tubo digestivo, recuperarse vivos en las heces y adherirse a la mucosa intestinal. No son patógenos. Contienen esta clase de microorganismos y, por tanto, son alimentos probióticos los yogures frescos, otras leches fermentadas, el kéfir, etc.

Según el autor Sáez Pérez 2007, Un alimento se considera probiótico si reúne los siguientes criterios:

Ser inocuo y tener efectos beneficiosos.

1. Mejorar el estado de salud disminuyendo y previniendo el riesgo de contraer enfermedades.
2. Alterar, equilibrar y fortalecer la flora intestinal estimulando a la vez las defensas naturales del organismo.
3. Ayudar a metabolizar los hidratos de carbono y a absorber las vitaminas en el tracto intestinal.
4. Inducir efectos locales o sistémicos beneficiosos para la salud del huésped, más allá de los meramente nutritivos.

Los probióticos naturales se encuentran en la alimentación cotidiana en lácteos fermentados como yogures, leche y quesos, vegetales fermentados (aceituna, chucrut, soja, cereales) productos cárnicos, etc. También se usan en alimentos para lactantes para desarrollar o imitar el desarrollo de la flora normal de los bebés alimentados con leche materna. (Sáez Pérez, 2007)

Estos microorganismos ingeridos a través de probióticos logran llegar vivos al intestino delgado donde interaccionan con las bacterias de la microflora endógena. Además colonizan el intestino grueso y estabilizan la flora intestinal al adherirse a la mucosa del intestino para impedir la actividad de los microorganismos dañinos. Por tanto, estas bacterias acidolácticas tienen también propiedades inmunomoduladoras en la medida en que estimulan la producción de anticuerpos y refuerzan el sistema inmune. (Penna, 2000)



Los alimentos probióticos contienen microorganismos concretos en número suficiente para alterar o modificar la flora intestinal y pueden ejercer efectos beneficiosos para la salud. Entre ellos están los lactobacillus, ciertos cocos gram positivos, los Saccharomyces, y las Bifidobacterias. (Sobrado, 2005)

### **2.2.1 Evolución de los probióticos.**

La incorporación de estos cultivos a los alimentos es más o menos dificultosa, por las condiciones que necesitan para desarrollarse, como veremos después, aunque entre ellas destacaremos que necesitan atmósferas anaeróbicas, pH entre 6,5 y 7 etc.

Hasta la fecha, han sido desde sus comienzos, muchos los productos lácteos que han servido de vehículo a las bacterias probióticas, como manifiesta: (McGhee *et al*, 1992; Marteau y Gabonau- Rothian, 2000) por ejemplo:

- Illia Metchnikov (1845-1916). Este hizo los estudios con el yogur, de cómo estimula el Sistema Inmunitario, a partir del uso de cultivos y la flora intestinal.
- En 1940, aparición la LECHE BIFIDUS, para paliar las deficiencias nutritivas de los niños, durante la 1ª Guerra Mundial.
- En 1950, la fira DEGUSSA, elabora el primer BIOGUR Y EL BIO-GARDE.
- En 1989, en Suiza aumenta el consumo y la producción de leches fermentadas.
- En 1993, dos investigadores, Modler y Villa-García, desarrollan el primer yogur BIO, de baja Acidez.
- Medina y Jordano, en 1994, mejoran la fórmula de la leche fermentada con Lactobacillus acidophilus.
- En 1992 Hekmat y McMahan, desarrollan los primeros helados BIO.
- Desarrollo, en 1994, por Dinakaar y Mistry, nuevos derivados lácteos, como la Manteca fermentada en polvo, que son utilizados como aditivos alimentarios. (McGhee *et al*, 1992; Marteau y Gabonau- Rothian, 2000)

Las bacterias que se consideran como probióticos son:

**Género Lactobacillus**

- *Lactobacilli acidophilus*
- *Lactobacilli bulgaricus*
- *Lactobacilli casei*
- *Lactobacilli reuteri*
- *Lactobacilli brevis*
- *Lactobacilli cellobiosus*
- *Lactobacilli curvatus*
- *Lactobacilli fermentum*
- *Lactobacilli helveticus*
- *Lactobacilli plantarum*

**Género Saccharomyces**

- *Saccharomyces boulardi*

**Género Streptococcus**

- *Lactococcus lactis cremoris*
- *Esteptococcus salivaris therm*
- *Enterococcus faecium*
- *Esteptococcus diacetyllactis*
- *Esteptococcus intermedius*
- *Estreptococcus thermophilus*

**Géneros Bifidobacterium**

- *Bifidobacteria bifidum*
- *Bifidobacteria adolescentis*
- *Bifidobacteria animalis*
- *Bifidobacteria infantis*
- *Bifidobacteria longum*
- *Bifidobacteria thermophilum*

(McGhee *et al*, 1992; Marteau y Gabonau- Rothian, 2000)

### **2.2.2 Características de las bacterias probióticas**

Las especies y las bacterias que se pueden utilizar en medicina clínica como probióticos se seleccionan sobre la base de una serie de requisitos que estas deben poseer. Encontrar microorganismos verdaderamente activos, vitales y eficaces lleva muchos años de investigación; y precisamente con el fin de encontrar bacterias cada vez más seguras y eficaces, en los últimos años se han llevado a cabo una serie de proyectos de investigación, algunos financiados por la Comunidad Europea y otros por sociedades privadas, que apuntan a definir las características que deben tener las bacterias probióticas. Particularmente hay que considerar: (McGhee *et al*, 1992; Marteau y Gabonau- Rothian, 2000)

- Seguridad biológica: no deben causar infecciones de órganos o de sistemas.

- Capacidad de ser toleradas por el sistema inmunitario del organismo huésped, y, por lo tanto, deben ser preferiblemente de proveniencia intestinal.
- Capacidad de resistir la acción de los ácidos gástricos y de las sales biliares, para que puedan llegar vivas en grandes cantidades al intestino.
- Capacidad de adherirse a la superficie de la mucosa intestinal y de colonizar el segmento gastrointestinal.
- Sinergia con la microflora endógena normal.
- Efecto barrera: este término define la capacidad de producir sustancias que tengan una acción trófica sobre el epitelio de la mucosa intestinal.
- Capacidad de potenciar las defensas inmunitarias del huésped.

### **2.2.3 Clasificación y efectos beneficiosos.**

Entre los microorganismos probióticos se encuentran numerosas bacterias y algunas especies de hongos, como los siguientes:

- Bacterias Lácticas de los géneros *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Propionibacterium*.
- Actinomycetaceas: *Bifidobacterium*.
- Hongos y Levaduras: *Saccharomyces*.

En general tienen o están relacionados, con una serie bastante amplia de beneficios en la salud, manifestado por McGhee *et al*, 1992; Marteau y Gabonau- Rothian, 2000, destacando:

#### a) Prevención de Infecciones:

Sobre todo en lo que se refiere a *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, que son bacterias enteroinvasivas productoras de diarreas; Ya que inhibe la capacidad de estas de fijarse en la mucosa intestinal y su crecimiento, estabilizan la mucosa intestinal, ocupando los lugares de unión de estas bacterias.

En el mismo ámbito, se puede hablar de prevención de los microorganismos uropatógenos, prevención de las infecciones en la orina.

b) Efecto beneficioso sobre los Intolerantes a la Lactosa:

Gracias a la enzima B- Galactosidasa de los Bífidos y Lactobacillus. Ésta es indispensable para digerir la lactosa, por tanto este tipo de productos probióticos son un aporte suplementario, de ella.

c) Efecto positivo sobre la Osteoporosis:

Este efecto no es directo, pero se ha comprobado que los productos lácteos, como leche fermentadas, queso, etc. son un buen aporte de Calcio utilizable, de manera que se recarguen las reservas de Calcio. La Osteoporosis es una pérdida de Calcio por descalcificación.

d) Efecto positivo sobre el colesterol:

Los microorganismos probióticos, transforman el colesterol en Ácidos biliares libres, y de esta manera bajan los niveles del mismo en sangre.

e) Actuación sobre el Sistema Inmunológico:

Estimulan la producción de Inmunoglobulina A. Ésta es la predominante en la superficie de la mucosa intestinal, y proveen así del principal mecanismo humoral de protección a nivel de mucosas y excluye inmunológicamente hablando, bacterias y virus patógenos, toxinas y otras moléculas dañinas, que tienden a fijarse en la superficie de la mucosa.

f) Acción contra el cáncer, antitumoral:

Sobre todo en lo que respecta al cáncer colorrectal. Esto es así porque todo producto que favorezca el tránsito intestinal y que además por su mecanismo de actuación, como veremos después, va a capturar los huecos que ocupan las bacterias que producen la mutación celular de células sanas a cancerígenas.

g) Efecto positivo sobre la presión sanguínea:

Tiene, según lo comprobado clínicamente, un papel importante antihipertensivo.

Hay que decir que los efectos beneficiosos, sean los que sean, para que aparezcan, deben mantenerse los microorganismos en un número elevado vivos en medio ácido, de manera que puedan atravesar el tracto digestivo superior y que colonicen el intestino.

#### **2.2.4 Principales efectos saludables de los probióticos**

##### **2.2.4.1. Mejorar la digestibilidad de los alimentos**

Gracias al aporte enzimático, la flora probiótica contribuye a mejorar la digestión de los alimentos. Favorece sobre todo la digestión de las proteínas. Se sabe que las moléculas de las proteínas son difíciles de digerir: con el aporte de las bacterias probióticas, las proteínas ingeridas se transforman, gracias a los enzimas proteásicos de los probióticos, en moléculas más pequeñas (polipéptidos y luego aminoácidos) y por eso más digestibles. Esta propiedad puede ser apreciada especialmente en pediatría, en geriatría, durante las convalecencias y en todos los casos en que haya mala absorción. (Roitt, 2000)

##### Digestión de las grasas: lipólisis

También las grasas sufren una transformación por obra de la flora probiótica: la enzima lipasa de los probióticos las transforman en ácidos grasos y glicerol. Además de tener una función particularmente útil en las preparaciones dietéticas para lactantes, ancianos y convalescentes, está indicada especialmente en el tratamiento de las enfermedades del metabolismo: desconjugación de las sales biliares y transformación del colesterol en los lípidos séricos de las hipercolesterolemias e hiperlipemias en general. (Chandra, Kumari, 1999)

##### Digestión de la lactosa y asimilación de los aminoácidos

La mayoría de las bacterias que constituyen la flora subdominante (población inferior a 10<sup>7</sup> por gramo), especialmente los lactobacilos, produce una relevante cantidad de, Beta-galactosidasas. El hecho resulta significativo en los sujetos que presentan intolerancia hacia la lactosa, porque la, Beta-galactosidasa producida por las bacterias lácticas parece estimular la producción de la lactasa residual a nivel del enterocito; en consecuencia, se obtiene una mayor tolerancia a la lactosa ya que el enzima determina

la hidrólisis de glucosa y de galactosa, de fácil absorción por parte de la mucosa intestinal.

Se activan, además, otras reacciones enzimáticas capaces de intervenir sobre los residuos inutilizados por el contenido intestinal: Alfa-D-glucosidas, Alfa-maltosidas, Alfa-D-xilosidas. La digestibilidad de los alimentos se podría aumentar también gracias a la predigestión de factores no nutricionales, como el ácido fólico y los glucosinatos, en substratos asimilables por parte del huésped. (Chandra RK, Kumari, 1999)

Los probióticos permitirían mejorar, además, la asimilación de los aminoácidos esenciales para el huésped, sintetizándolos o inhibiendo la acción de las desaminasas y de las descarboxilasas bacterianas producidas por la microflora del tracto digestivo.

#### Síntesis de las vitaminas del grupo B

Algunos cultivos de bacterias probióticas requieren, para su actividad metabólica, justamente de las vitaminas del grupo B (por eso se justifica la asociación de vitaminas del grupo B en formulaciones asociadas), mientras que otras logran sintetizar directamente vitaminas (K, B12, B9, H, B2, B5) cuya actividad es particularmente útil justamente para la función fisiológica del aparato gastrointestinal. (Chandra RK, Kumari, 1999)

#### **2.2.4.2 Influencia sobre la anatomía y la fisiología del segmento digestivo**

El ecosistema microbiano del aparato digestivo actúa sobre numerosas propiedades fisiológicas, sobre todo por lo que se refiere al proceso de absorción a nivel intestinal. La microflora interviene aumentando:

- El volumen de los compartimientos digestivos.
- La superficie intestinal de absorción.
- Las dimensiones de las microvellosidades.
- La renovación celular de las microvellosidades.
- El tránsito digestivo: también la motilidad intestinal resulta mejorada por la presencia de la flora bacteriana. (Marteau, 2000)

### **2.2.4.3. Acción antagonista hacia gérmenes patógenos**

La acción más importante de la microflora digestiva es sin duda la de proteger frente a las infecciones y la de la colonización, por parte de gérmenes patógenos, del tubo digestivo.

Los distintos mecanismos que forman la primera línea de defensa del huésped de las infecciones intestinales se llaman resistencia a la colonización, exclusión competitiva o efecto barrera. (Roitt, 1999)

La represión de los gérmenes patógenos se puede dar de distintos modos según Roitt, 1999 :

- La producción de ácidos orgánicos, como el ácido láctico o acético, a partir de los glúcidos provenientes de los alimentos actúa bajando el pH y limitando el desarrollo de *Escherichia coli* y de las salmonelas. Además, la acidificación del tubo digestivo parece favorecer los movimientos del intestino.
- Parece que los probióticos pueden reprimir el crecimiento de las bacterias patógenas; esto sucedería gracias a la producción de sustancias antimicrobianas del tipo de la bacteriocina, que inhibe los gérmenes que a menudo causan las infecciones.

Algunas bacterias utilizadas tienen la capacidad de desconjugar las sales biliares: las formas desconjugadas poseen una capacidad de inhibición mayor sobre el desarrollo de las bacterias que las formas conjugadas.

Las bacterias probióticas podrían actuar también inhibiendo el arraigo de los gérmenes patógenos gracias a la competición para la colonización. La adherencia de los probióticos a las células intestinales permitiría una colonización rápida y focalizada del tubo digestivo. El establecimiento de gérmenes indeseables se podría evitar también gracias a una inhibición competitiva de los probióticos gracias al consumo de los nutrientes en lugar de las bacterias patógenas.

#### **2.2.4.4. Estimulación de la inmunidad**

Parece que las bacterias tienen una acción estimulante sobre el sistema inmunitario del huésped, ya que actúan tanto sobre las células implicadas en la inmunidad natural como en las relacionadas con la inmunidad específica. (Roitt, 1999)

Parece que los probióticos estimulan la actividad de los macrófagos. Todavía no conocemos los mecanismos. Sin embargo, sabemos que sólo las bacterias capaces de sobrevivir en el segmento gastrointestinal pueden actuar sobre la activación de los macrófagos. Además, parece que la presencia de los microorganismos probióticos favorece la reproducción de anticuerpos, especialmente las IgA secretoras en el lumen intestinal. Las IgA pueden inhibir la adherencia de las bacterias patógenas a la superficie de las mucosas:

- causando la aglutinación de las bacterias
- fijándose en las adhesinas, o sea sobre los factores de adherencia presentes en la superficie de las bacterias
- interfiriendo con las interacciones adhesinas/receptores celulares.

Gracias a su acción sobre el sistema inmunitario, las bacterias lácticas se podrían utilizar con fines de prevención contra las infecciones intestinales, como protección contra daños relacionados con el sistema inmunitario, como inmunomoduladores. (Roitt, 1999)

#### **2.2.4.5. Neutralización de los productos tóxicos**

La inactivación de los compuestos tóxicos gracias a las bacterias lácticas representa otro aspecto muy importante de la acción probiótica y terapéutica de las mismas. Parece que los probióticos atenúan el catabolismo intradigestivo, orientando la función hepática. Se pueden acumular en la microflora intestinal para reducir la absorción de sustancias tóxicas como el amoníaco, los aminados y el indol; parece también que disminuyen la biotransformación de las sales biliares y de los ácidos grasos en productos tóxicos. (Ortíz Maslloréns, 1998)

#### **2.2.4.6. Lucha contra el estrés**



El estrés es uno de los factores que influyen en la variación de la microflora digestiva. El estrés produce una alteración de la fisiología general y, por lo tanto, también de la del aparato digestivo. (Ortíz Maslloréns, 1998)

Cualquier situación de estrés, independientemente de su naturaleza (emociones, frío, cansancio psicofísico), produce un aumento de los movimientos peristálticos y de las secreciones de HCl y de mucus a nivel del tracto digestivo. Como consecuencia, se modifican la microflora y las actividades que dependen de ella. (Ortíz Maslloréns, 1998)

#### **2.2.4.7. Protección contra las infecciones intestinales**

Muchas investigaciones han demostrado que las bacterias lácticas pueden ejercer una actividad antimicrobiana sobre algunos componentes patógenos de la flora intestinal. La actividad antimicrobiana de las bacterias lácticas se debe a la acumulación de bacteriocinas, antibióticos, agua oxigenada, ácido láctico y ácido benzoico.

Se han obtenido resultados significativos, con el control de distintos tipos de diarreas en el hombre. Las bacterias lácticas constituyen un verdadero antídoto eficaz contra las infecciones entéricas, cuya frecuencia actualmente está aumentando en los turistas y en las personas que viajan.

#### **2.2.5 Especificaciones sobre algunas bacterias probióticas**

##### ***Propionibacterium schermani***

Las bacterias propiónicas se caracterizan por su capacidad de producir ácido propiónico, y por este motivo son muy utilizadas en el sector quesero.

El *Propionibacterium schermani* puede producir vitamina B12 y acumular prolina en el medio donde crece. Esta subespecie se caracteriza además por la capacidad de fermentar la lactosa. Por este motivo se recomienda su administración a los sujetos que presentan intolerancia hacia la lactosa. (Redondo-López *et al*, 1990)

### **Streptococcus thermophilus**

Se reproduce en el aparato gastrointestinal humano, produce ácido láctico y es el responsable de la actividad lactásica. Esta actividad enzimática facilita la digestión de la lactosa contenida en la leche y puede reducir los síntomas de mala absorción asociados a las diarreas agudas debidas a infección. Recientemente se ha propuesto reclasificar el *Streptococcus thermophilus* como *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* en base a su elevada homología de DNA y por la composición similar, en cuanto a ácidos grasos de larga cadena, con el *Streptococcus salivarius*. Los *Streptococcus salivarius* han demostrado una capacidad real contra la colonización del estómago por parte del *Helicobacter pylori*. Se podría aconsejar su utilización como agente probiótico contra el *Helicobacter pylori*. (Redondo-López *et al*, 1990)

### **Bifidobacterium bifidum**

Las bacterias anaerobias pertenecientes al género *Bifidobacterium* constituyen la flora predominante de los niños alimentados con leche materna. Se piensa que las bifidobacterias ejercen algunos de los efectos preventivos contra la diarrea relacionada con la lactancia. Además, en animales de laboratorio las bifidobacterias reducen la difusión del virus y obstaculizan la infección por rotavirus. (Redondo-López *et al*, 1990)

### **Lactobacillus bulgaricus**

(*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*)

Se usaba tradicionalmente para preparar el yogur. Produce ácido láctico en el intestino. Estimula el crecimiento de las bifidobacterias y aumenta las defensas inmunitarias. El *L. bulgaricus*, como el *L. acidophilus* y el *B. bifidum*, producen un efecto barrera sobre la translocación de *E. coli*. Muchos tipos de esta bacteria han demostrado capacidad de producir antibióticos. El principio activo aislado y purificado se ha llamado bulgaricana. Posee una actividad a pH ácido pero no tiene a pH neutro o alcalino. Mantiene su actividad a temperatura ambiente, incluso después de nueve días y es activa contra Gram-positivos y contra Gram-negativos (*Bacillus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Sarcina*, *Pseudomonas*, *Escherichia* y *Serratia*). (Redondo-López *et al*, 1990)

### *Lactobacillus casei*

Es eficaz para equilibrar la microflora intestinal y prevenir los trastornos intestinales. Posee una potente acción antidiarreica. (Redondo-López *et al*, 1990)

### *Lactobacillus plantarum*

Produce distintos tipos de proteínas con actividad bactericida, llamadas bacteriocinas. Son generalmente activas hacia las bacterias Gram-positivas. Su función es la de equilibrar la microflora intestinal. (Redondo-López *et al*, 1990)

### *Lactobacillus acidophilus*

El *Lactobacillus acidophilus* ejerce una acción antagonista sobre el crecimiento de distintos tipos de bacterias, entre las cuales: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* enteropatógenas y *Clostridium perfringens*. El responsable de esta interacción antagonista parece ser el peróxido de hidrógeno, producido por los lactobacilos. Se han encontrado los siguientes efectos positivos: en el tratamiento del estreñimiento, para aliviar la diarrea provocada por la radioterapia y en los casos de deficiencia de enzimas fecales. Además, produce un fortalecimiento del sistema inmunitario y un equilibrio de la microflora intestinal. (Redondo-López *et al*, 1990)

El *Lactobacillus acidophilus* produce dos bacteriocinas: la lactacina B y la lactacina F.

Las dos bacteriocinas poseen una actividad similar. Tienen actividad bactericida, pero no proteolítica, hacia distintas bacterias.

Algunos investigadores han aislado otra sustancia proteica producida por el *Lactobacillus*, activa contra Gram-positivos y Gram-negativos, algunos de los cuales se han mostrado resistentes hacia muchos de los antibióticos más comunes.

Las sustancias aisladas en cultivos de *L. acidophilus* con actividad antibiótica de interés terapéutico son la acidofilina, la acidolina y la lactocidina. La primera posee una actividad contra bacterias patógenas (*Salmonella*, *Shigella*, *Klebsgella*, *Pseudomonas* y *Staphylococcus*), la lactocidina ejerce una acción antagonista preferentemente hacia los Gram-negativos. (Redondo-López *et al*, 1990)

### *Lactococcus lactis*

Produce un grupo de antibióticos polipeptídicos llamados nisinas, que constituyen un factor de primaria importancia en lo que concierne a la adaptación de estreptococos lácticos en un ecosistema muy competitivo. Las nisinas y los productores de nisinas se utilizan actualmente en Europa en la industria alimentaria para controlar los procesos de fermentación. (Redondo-López *et al*, 1990)

### *Lactobacillus sporogens*

Es un fermento que tiene una elevada resistencia al calor y a los jugos gástricos, por lo tanto puede superar la barrera gástrica y alcanzar el intestino sin sufrir alteraciones. El ambiente ácido del estómago activa las esporas producidas por *L. sporogens*; cuando éstas llegan al intestino germinan y proliferan produciendo ácido láctico en forma L (+); este ácido ha demostrado capacidad de inhibir el crecimiento de gérmenes patógenos. (Redondo-López *et al*, 1990)

### *Lactobacillus helveticus*

Pertenece al grupo de los lactobacilos homofermentadores propiamente dichos. Está especialmente concentrado en la leche ácida, en el queso Emmental y en otros quesos de pasta cocida. Es fuertemente ácido-tolerante; en efecto, resiste a altas concentraciones de ácidos (hasta 5% con pH 3,5 y hasta 11% con pH 5,0). Algunas especies de este fermento producen una bacteriocina. (Redondo-López *et al*, 1990)

## **2.3 LAS BACTERIAS ACIDO LACTICAS.-**

Las bacterias ácido-lácticas se han empleado para fermentar o crear cultivos de alimentos durante al menos 4 milenios. Su uso más corriente se ha aplicado en todo el mundo a los productos lácteos fermentados, como el yogurt, el queso, la mantequilla, el kefir y el koumiss. (Guillermo Buaman, 1996)

Las bacterias ácido-lácticas constituyen un vasto conjunto de microorganismos benignos, dotados de propiedades similares, que fabrican ácido láctico como producto final del proceso de fermentación. Se encuentran en grandes cantidades en la naturaleza, así como en nuestro aparato digestivo. (Guillermo Buaman, 1996)

La acción de estas bacterias desencadena un proceso microbiano por el cual la lactosa (el azúcar de la leche) se transforma en ácido láctico. A medida que el ácido se acumula, la estructura de las proteínas de la leche va modificándose (van cuajando), y lo mismo ocurre con la textura del producto. Existen otras variables, como la temperatura y la composición de la leche, que influyen en las cualidades particulares de los distintos productos resultantes. (Guillermo Buaman, 1996)

El ácido láctico es también el que confiere a la leche fermentada ese sabor ligeramente acidulado. Los elementos derivados de las bacterias ácido-lácticas producen a menudo otros sabores o aromas característicos. El acetaldehído, por ejemplo, da al yogurt su aroma característico, mientras que el diacetilo confiere un sabor de mantequilla a la leche fermentada. Pueden añadirse asimismo al cultivo de microorganismos, como las levaduras, a fin de obtener sabores particulares. El alcohol y el dióxido de carbono producidos por la levadura, por ejemplo, dan al kefir, al koumiss y al leben (variedades de yogurt líquido) una frescura y una esponjosidad características. Entre otras técnicas empleadas cabe mencionar las que consisten en eliminar el suero o añadir sabores, que permiten crear una variada gama de productos. (Guillermo Buaman, 1996)

Los Lactobacilos son bacilos microaerófilos, grampositivos y catalasa negativos, estos organismos forman ácido láctico como producto principal de la fermentación de los azúcares. Los Lactobacilos homofermentativos dan lugar a ácido láctico como producto principal de fermentación. Este grupo está integrado por *Lactobacillus caucasicus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus delbrueckii*. Los Lactobacilos heterofermentativos producen además de ácido láctico, dióxido de carbono, etanol y otros productos volátiles; *Lactobacillus fermenti* es heterofermentativo y es capaz además, de dar buen crecimiento a temperaturas elevadas (45 °C, 113 °F). (Guillermo Buaman, 1996)

Morfológicamente, algunos bacilos son bastones delgados y largos; otros son algo parecido al colibacilo, pero, al contrario de este, todos son grampositivos. Casi todos son inmóviles, pero se han señalado excepciones. Muchos cultivos muestran una forma diplobacilar característica, a menudo reniforme. (Guillermo Buaman, 1996)

Los Lactobacilos, son microaerófilos o anaerobios, pero después de cultivos continuos, algunas cepas pueden desarrollarse en presencia de aire. Sus necesidades nutritivas son

complejas, y la mayor parte de las cepas no puede cultivarse en los medios nutritivos ordinarios, a menos que se enriquezcan con glucosa y suero. Las necesidades individuales de aminoácidos varían de 2 a 15. (Guillermo Buaman, 1996)

*Lactobacillus bulgaricus*, es una bacteria láctea homofermentativa. Se desarrolla muy bien entre 42 y 45°, produce disminución del pH, puede producir hasta un 2,7% de ácido láctico, es proteolítica, produce hidrolasas que hidrolizan las proteínas. (Guillermo Buaman, 1996)

Los estreptococos son un género de bacterias gram-positivas y catalasa negativos, esféricas pertenecientes al filo Firmicutes. Observadas bajo el microscopio, se ve que *Streptococcus thermophilus* crece formando pares (diplococos) o cadenas medianamente largas de células esféricas o elipsoides de un diámetro aproximado de 0,7-0,9 flm.. (Guillermo Buaman, 1996)

*Streptococcus termophilus*, es una bacteria homofermentativa termorresistente, produce ácido láctico como principal producto de la fermentación, se desarrolla a 37-40° pero puede resistir 50° e incluso 65° media hora. Tiene menor poder de acidificación que el *Lactobacillus*. En el yogur viven en perfecta simbiosis. (Guillermo Buaman, 1996)

## **2.4 IDENTIFICACION, CARACTERIZACION Y TIPIFICACION**

### **2.4.1 Estudio de los lactobacilos**

#### **2.4.1.1 Aislamiento y caracterización.-**

Girard H y R. Rougieux (1964) describen una técnica general de aislamiento para los *Lactobacilos*. En ciertos casos, se precisa una preparación previa de cultivos enriquecidos.

El *lactobacillus bulgaricus* o el *Lactobacillus jugurti*, son aislados directamente a partir de preparaciones comerciales: yogurt, leche «acidificada», cultivos de «fermentos lácticos» para uso terapéutico, etc.

El *l.acctobacillus lactis* o el *Lactobacillus helveticus*, son aislados a partir de un cultivo enriquecido.

El aislamiento propiamente dicho, a partir de los medios naturales indicados o bien los cultivos enriquecidos debidamente preparados, pueden ser obtenidos sobre el medio M.R.S. glucosado completo y gelosado.

#### **2.4.1.2 Medio M.R.S completo líquido**

Extracto de carne	10 gr
Peptona oxoide	10 gr
Extracto de levadura	5 gr
Tween 80	1 cc
PO4HK2	2 gr
Citrato de amonio	2 gr
Sulfato de manganeso	0.05 gr
Acetato de sodio	5 gr
Glucosa	20 gr
Agua destilada	1000 cc

Se debe ajustar el medio a un pH de 6.2 a 6.5. Esterilizar durante 20 minutos a 120C.

#### **2.4.1.3 Medio M.R.S completo gelosado.**

Tiene la misma composición que el medio M.R.S completo líquido pero se le debe agregar, antes de que se realice la esterilización, 20 gr de gelosa por litro.

#### **2.4.2 Método de tinción para Bacterias Gram.**

##### **Tinción de Gram**



**Foto 1.- Vista microscópica de bacterias Gram negativas.**

Según Davis, B.D. et col (1984), la tinción de Gram es un tipo de tinción diferencial empleado en microbiología para la visualización de bacterias, sobre todo en muestras clínicas. Debe su nombre al bacteriólogo danés Christian Gram, que desarrolló la técnica en 1884. Se utiliza tanto para poder referirse a la morfología celular bacteriana como para poder realizar una primera aproximación a la diferenciación bacteriana, considerándose Bacteria Gram positiva a las bacterias que se visualizan de color violeta y Bacteria Gram negativa a las que se visualizan de color rosa.

### **2.4.3 Técnica de la coloración gram**

#### **Fijar un frotis**

- Con la ayuda de un mechero, flamear un asa bacteriológica y esperar que enfríe un poco. Tomar el asa (previamente flameada) y con ésta coger un poco de muestra.
- Una vez obtenida una pequeña cantidad de la muestra, hacer que ésta tenga contacto con una lámina portaobjetos, la cual servirá para depositar la muestra contenida en el asa.
- Con el asa (conteniendo la muestra) sobre la lámina portaobjetos, proceder a realizar la extensión de la muestra en el portaobjetos mediante movimientos giratorios (dar vueltas con el asa) sobre la lámina.
- Esperar que seque al aire libre o ayudarse con la llama de un mechero para fijar la muestra, teniendo en cuenta que el calor no debe ser directo (sólo se pasa por la llama).

#### **Tinción**

Con violeta cristal o violeta de genciana, utilizando una cantidad suficiente de dicho colorante sobre la muestra, como para lograr cubrirla por completo. Se deja actuar al colorante por 1 minuto. Esta tinción de 1 minuto está dada para trabajar a una temperatura ambiente de 25 °C.

#### **Enjuague**

Al transcurrir el minuto, se debe enjuagar la lámina conteniendo la muestra con agua corriente. Para realizar el lavado, se debe tener en cuenta que el chorro de agua NO debe



caer directamente sobre la muestra, ésta debe caer sobre la parte superior de la lámina que no contiene muestra. El chorro debe ser un chorro delgado, aproximadamente de medio a un centímetro de espesor. También el enjuague se debe realizar poniendo la lámina en posición inclinada hacia abajo.

### **Mordiente**

Una vez enjuagado el portaobjetos, se aplica como mordiente yodo o lugol durante 1 minuto más. El mordiente es cualquier sustancia que forme compuestos insolubles con colorantes y determine su fijación a las bacterias

### **Decoloración**

Pasado el minuto de haber actuado el mordiente, el frotis se decolora con etanol al 75 %, etanol al 95 %, acetona o alcohol-acetona, hasta que ya no escurra más líquido azul. Para esto se utiliza el gotero del frasco del decolorante. Se van añadiendo cantidades suficientes del decolorante, hasta lograr que éste salga totalmente transparente, es decir, hasta que ya no escurra más líquido azul.

### **Lavado y secado**

Lavar con agua para quitar los residuos de decolorante y esperar que seque la lámina al aire libre o con la ayuda de la llama de un mechero de la forma anteriormente descrita.

### **Tinción de contraste**

Una vez que la lámina ya secó, procedemos a teñir nuevamente, pero esta vez se va a utilizar un colorante de contraste como por ejemplo la safranina, dejar actuar durante 1 minuto.

### **Nuevo enjuague**

Pasado el minuto correspondiente, se procede a enjuagar la lámina con agua, se escurre el agua sobrante y se seca en la forma anteriormente descrita.

De esta manera, ya tendremos listo el frotis para su respectiva observación microscópica.

## 2.4.4 Tinción GRAM: Morfología Bacteriana

La tinción de GRAM aporta dos ideas básicas para la definición "taxonómica" de las bacterias: el color que adquieren tras la tinción y la forma que presentan las células bacterianas.

En lo relativo a la coloración, ya hemos explicado anteriormente que hablamos de microorganismos Gram-positivos cuando aparecen teñidos de color azul-violeta y de Gram negativos cuando se visualizan de color rojo-rosado.

### 2.4.4.1 Formas básicas

#### Cocos:

Micrococos, aparecen aislados y dispersos tras la división celular. Diplococos, aparecen por pares. Estreptococoss, tienden a unirse formando cadenas. Estafilococos, aparecen en grupos irregulares, a veces de gran tamaño


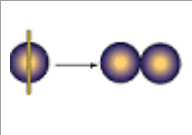

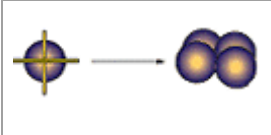
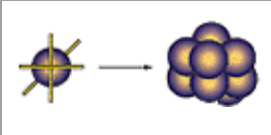
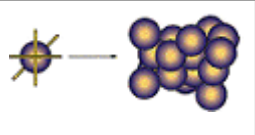
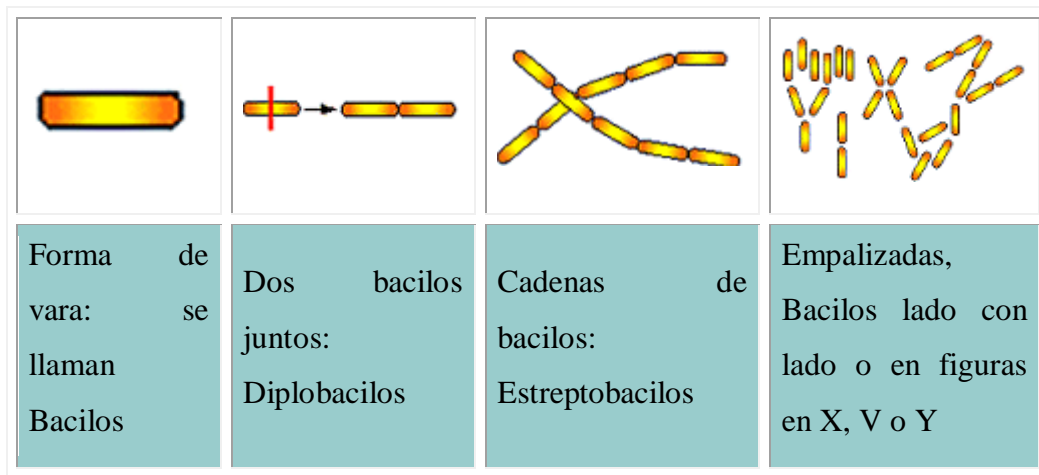
						
forma esférica: se llama Coco	División a lo largo del mismo plano, formando cadenas cortas		División a lo largo de 2 planos diferentes: Tétradas		División a lo largo de 3 planos	
	2 cocos juntos: Diplococos	4 - 20 en cadenas: Estreptococos		regularmente: Sarcinas	irregularmente: Estafilococos	

Gráfico 1.- Morfología Bacteriana de los cocos

#### Bacilos:

Grandes variaciones morfológicas: fusiformes, estreptobacilos, cocobacilos



**Gráfico 2.- Morfología Bacteriana de los bacilos**

## 2.5. MEDIOS DE CULTIVO PARA AISLAMIENTO EN LABORATORIO

Girard H y R. Rougieux (1964) presentan y caracterizan los diferentes medios de cultivos bacteriológicos utilizados:

Para diseñar un medio de cultivo se debe tener en cuenta no sólo los nutrientes requeridos por el microorganismo que se desea estudiar, sino también las condiciones físicas que le permitan crecer, los cuales son:

**Nutrientes:** La cantidad y naturaleza de los nutrientes en un medio de cultivo viene determinada por el rendimiento de un producto determinado, además de los requerimientos nutricionales del microorganismo.

**pH:** Un microorganismo puede alterarse o alterar el pH del medio de cultivo como resultado de las sustancias producidas por el propio microorganismo. Estos cambios pueden llegar a inhibir el crecimiento del microorganismo. Estos cambios se pueden prevenir controlando el pH mediante sistemas tampón, el más utilizado en microbiología es la combinación de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ .

**Necesidades de gases:** los principales gases que afectan al desarrollo microbiano son el  $\text{O}_2$  y  $\text{CO}_2$ . Las bacterias presentan una respuesta amplia y variable al  $\text{O}_2$  libre clasificándose en 4 grupos:

- **Aerobias:** bacterias que se desarrollan en presencia de  $\text{O}_2$  libre.

- Anaerobias: bacterias que se desarrollan en ausencia de O<sub>2</sub> libre.
- Anaerobias facultativas: bacterias que se desarrollan en presencia o ausencia de O<sub>2</sub> libre.
- Microaerobias: bacterias que crecen en presencia de pequeñas cantidades de O<sub>2</sub> libre.
- Control de temperatura: El desarrollo de las bacterias depende de reacciones químicas y la velocidad con que se efectúan, las cuales están influidas por la temperatura, por lo cuál la temperatura puede, en parte, determinar el crecimiento de los microorganismos en estudio. Cada especie microbiana posee una temperatura óptima de crecimiento clasificándose según esto en:
  - Psicrófilas: capaces de desarrollarse a 0°C o menos. Su temperatura óptima es alrededor de los 15° C.
  - Mesófilas: crecen mejor entre 25 y 40° C.
  - Termófilas: crecen mejor entre 45 y 60° C.
- Grado de humedad
- Esterilidad
- Protección: El medio de cultivo debe estar protegido de la contaminación microbiana ambiental.

### **2.5.1 Agar-Agar**

Sustancia mucilaginosa que se extrae de algunas algas rojas o Rodofíceas, frecuentes en el Océano Atlántico, Pacífico e Indico. Es una sustancia amorfa. Se emplea como medio de cultivo en bacteriología, como apresto de sedas, como sustituto de la gelatina, etc.

La forma seca del Agar-Agar se conoce de mediados del siglo XVIII, cuando un japonés descubrió, accidentalmente, la manera de purificarlo y secarlo. Fue llevado de China a Europa y traído a América a mediados del siglo XIX, para utilizarse, principalmente, como sustituto de la gelatina en la confección de postres gelatinosos.

Químicamente, el Agar-Agar es una mezcla compleja de sales de polisacáridos, fundamentalmente, galactósidos. Las grandes moléculas que lo constituyen determinan sus cualidades sobresalientes, como coloides y espesantes, que lo han hecho hasta ahora insustituible.

Además de los polisacáridos, contiene numerosos cationes asociados, tales como sodio, potasio, calcio, magnesio, etc. de los cuales no esta, claramente, establecida su influencia sobre las propiedades de este producto.

Referente a sus propiedades y contenidos, básicamente, dependen de la materia prima empleada, procedencia geográfica, época de cosecha y madurez del alga.

A continuación, se caracterizarán los tipos de medios de cultivo según su estado y composición.

#### **Estado:**

- Medios sólidos: Su proporción de Agar es siempre por encima del 15%.
- Medios semisólidos: Son medios intermedios entre los medios líquidos y sólidos, su proporción de Agar suele ser inferior al 5%, pero siempre suele presentar cierta cantidad que le proporcione una consistencia semisólida.
- Medios líquidos o caldos: No contiene Agar y su composición (además de agua) suele contener al menos una fuente de carbono, sales minerales, y a veces según las características de medio, factores de crecimiento, vitaminas, peptonas, aminoácidos, entre otros.

#### **Composición:**

- Medios sintéticos o químicamente definidos: Llevan fuentes de carbono, nitrógeno, sales que suplan iones (P, K, Mg, Fe, Ca, etc.), otros elementos como estimuladores de crecimiento pero siempre a concentraciones conocidas.
- Medios complejos o de composición indefinida: Estos medios llevan ingredientes como extracto de levadura, peptona, infusión de cerebro, extracto de carne, etc. que contienen nutrientes en abundancia pero sin saber con exactitud la composición cualitativa ni cuantitativa de estos nutrientes.

- Medios de enriquecimiento: Son medios complejos, normalmente, con aditivos adicionales para favorecer el crecimiento de determinados microorganismos (particularmente heterótrofos exigentes). Tales como: adicción de sangre, suero o extractos de tejidos de animales y plantas.
- Medios selectivos: Son aquellos que favorecen por su diseño el crecimiento específico de un microorganismo particular o grupo de microorganismos. Es de gran utilidad para el aislamiento de microorganismos a partir de una población microbiana mixta. Ejemplo: CO<sub>2</sub> como fuente de carbono es selectivo para autótrofos, adicionando cristal violeta se inhibe el crecimiento de los Gram (+), utilizando maltosa como única fuente de carbono sólo crecerán los que usen maltosa.
- Medios diferenciales: Son aquellos destinados a facilitar la discriminación de microorganismos de una mezcla por sus propiedades diferenciales de crecimiento en dichos medios. Ejemplo: Agar sangre diferencia hemolíticos de no hemolíticos; McConkey diferencia lactosa (+) de lactosa (-).
- Medios de mantenimiento: Suelen ser distintos a los de crecimiento óptimo ya que el crecimiento rápido y prolífico suele ocasionar la muerte rápida de las células. Por ejemplo: al añadir glucosa y utilizarla los microorganismos producen ácidos, acidificándose el medio por lo que es preferible no utilizar glucosa en los medios de mantenimiento.

Los medios realizados para el aislamiento de las bacterias ácido lácticas (*Lactobacillus bulgaricus*, y *Streptococcus thermophilus*) son:

## **2.6 LECHE**

Según Nelson y Trout (1964), la fracción proteica de la leche contiene un gran número de compuestos biológicamente activos, se encuentra en una proporción del 3.5%. Las proteínas del suero lácteo representan una mezcla variada de proteínas secretadas, tales como  $\alpha$ -lactoalbúmina,  $\beta$ -lactoglobulina, lactoferrina, actoperoxidasa, inmunoglobulinas, glicomacropéptido y una gran cantidad de factores de crecimiento. Estas proteínas tienen una serie de efectos biológicos, que van desde un efecto anticancerígenos hasta efectos en la función digestiva.

Las proteínas de la leche son de alto valor biológico, ya que tienen una gran cantidad de aminoácidos esenciales, principalmente: caseína (80%), lactoalbúmina, lactoglobulina, seroalbumina y inmunoglobulinas (20%). Esto convierte a la leche en uno de los alimentos de mayor aporte proteínico.

La leche de vaca tiene un aporte proteínico incluso excesivo. Tanto es así, que son las causantes de que a los niños lactantes no les convenga tomar esta leche, que es más rica en proteínas que la leche materna.

### **2.6.1 Caracteres Organolépticos**

Textura: La leche tiene una viscosidad de 1,5 a 2,0 centipoises a 20 °C, ligeramente superior al agua (1,005 cp). Esta viscosidad puede ser alterada por el desarrollo de ciertos microorganismos capaces de producir polisacáridos que por la acción de ligar agua aumentan la viscosidad de la leche (leche mastítica, leche hilante).

Color: el color normal de la leche es blanco, el cual se atribuye a reflexión de la luz por las partículas del complejo caseinato-fosfato-cálcico en suspensión coloidal y por los glóbulos de grasa en emulsión. Aquellas leches que han sido parcial o totalmente descremadas o que han sido adulteradas con agua, presentan un color blanco con tinte azulado. Las leches de retención o mastíticas presentan un color gris amarillento. Un color rosado puede ser el resultado de la presencia de sangre o crecimiento de ciertos microorganismos. Otros colores (amarillo, azul, etc), pueden ser producto de contaminación con sustancias coloreadas o de crecimiento de ciertos microorganismos. Una leche adulterada con suero de quesería puede adquirir una coloración amarilla-verdosa debida a la presencia de riboflavina.

Sabor: El sabor natural de la leche es difícil de definir, normalmente no es ácido ni amargo, sino más bien ligeramente dulce gracias a su contenido en lactosa. A veces se presenta con cierto sabor salado por la alta concentración de cloruros que tiene la leche de vaca que se encuentra al final del periodo de lactancia o que sufren estados infecciosos de la ubre (mastitis); otras veces el sabor se presenta ácido cuando el porcentaje de acidez en el producto es superior a 22-33 mL NaOH 0,1 N/100 mL (0,2 - 0,3 % de ácido láctico). Pero en general, el sabor de la leche fresca normal es agradable y puede describirse simplemente como característico.

Olor: El olor de la leche es también característico y se debe a la presencia de compuestos orgánicos volátiles de bajo peso molecular, entre ellos, ácidos, aldehídos, cetonas y trazas de sulfato de metilo. La leche puede adquirir, con cierta facilidad sabores u olores extraños, derivados de ciertos alimentos consumidos por la vaca antes del ordeño, de sustancia de olor penetrante o superficies metálicas con las cuales ha estado en contacto o bien de cambios químicos o microbiológicos que el producto puede experimentar durante su manipulación.

Las características nutricionales que hacen de la leche un alimento completo para la dieta de los seres humanos, también la hacen un medio de cultivo ideal para el crecimiento de una gran variedad de microorganismos.

Ya en la antigüedad se aprovechaba la actividad de las bacterias para la elaboración de productos lácteos y para la conservación de la leche, fue así como se inició la elaboración del yogurt y otras bebidas lácteas fermentadas, donde, como resultado del metabolismo fermentativo de la lactosa y la consecuente producción de ácido láctico, se conseguía la variación de las características físico-químicas de la leche y se prolongaba su vida útil.

Una de las ramas de la industria láctea que depende en gran manera de la actividad de los microorganismos, es la industria de los quesos. Una gran variedad de ellos han sido elaborados bajo la actividad enzimática de diversas especies bacterianas y fúngicas. En la elaboración de mantequillas también se utilizan cultivos bacterianos seleccionados por su habilidad de producir ácido y sabor.

En la leche cruda pueden encontrarse microorganismos de los diferentes grupos: bacterias, hongos (mohos y levaduras), los cuales serán descritos brevemente a continuación, de acuerdo a su importancia en la industria láctea.

## **2.6.2 Microorganismos de Importancia en Leche Cruda**

### **2.6.2.1 Bacterias**

Dada las características de la leche cruda, los microorganismos predominantes y que se ven favorecidos para su crecimiento son las bacterias. En la leche se pueden encontrar



diverso géneros y especies bacterianas. Aquellas de mayor importancia en la industria láctea son las llamadas bacterias lácticas y las bacterias coliformes.

### **Bacterias Gram positivas:**

**Bacterias lácticas:** son un grupo de bacterias de diferentes géneros, ampliamente distribuidas en la naturaleza. Se encuentran en el suelo y en cualquier lugar donde existan altas concentraciones de carbohidratos, proteínas desdobladas, vitaminas y poco oxígeno. Son Gram positivas y su forma puede ser bacilar, cocoide u ovoide. Algunas tienen forma bifida (*Bifidobacterium*). Soportan pH 4 en leche. Son anaeróbicas facultativas, mesófilas y termófilas y de crecimiento exigente. Pueden ser homofermentativas (más del 90% de su metabolismo resulta en ácido láctico) o heterofermentativas (producen además del ácido láctico, otros ácidos y gases). Los principales géneros de bacterias ácido lácticas son: *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Vagococcus*, *Aerococcus*, *Tetragonococcus*, *Alloiococcus* y *Bifidobacterium*.

Su estudio en el ámbito tecnológico es importante por lo siguiente: Son formadoras de textura y ayudan al establecimiento de las condiciones para la elaboración de ciertos productos lácteos.

Por efecto de la acidez producida por la fermentación de la lactosa, la leche puede llegar a coagular gracias a la coalescencia de las caseínas al alcanzarse el pH iso-eléctrico, lo cual es deseable en la elaboración de yogurt y quesos.

En la elaboración de crema y mantequilla una ligera acidificación permite acelerar el proceso y aumentar el rendimiento. Algunas especies producen polisacáridos (gomas, mucina), que aumentan la viscosidad de la leche cambiando su textura (*S. termophilus*, *Lb. bulgacicus*, *Lc. cremoris*)

Aportan sabor y aroma, ya que como parte de su metabolismo fermentativo se da la producción de acetaldehído, diacetilo, acetoina, acetona, lactonas, ácidos volátiles, alcohol y gas. El diacetilo es el principal responsable del aroma de la mantequilla. La acetoina lo es en el yogurt, mientras que el ácido láctico aporta sabor a diversos productos fermentados. Además la producción de enzimas que intervienen en el afinado

de los quesos por degradación de las proteínas y las grasas afectan notablemente las características organolépticas de los mismos

Aportan beneficios para la salud de los consumidores, el cual se ha descrito como efecto probiótico. Este puede manifestarse de manera específica en la prevención y reducción de los síntomas en los cuadros diarreicos.

**Micrococcos:** débilmente fermentadores, forman parte de la flora inocua que contamina la leche cruda. Tienen poca actividad enzimática, por lo tanto son de muy poca importancia como agentes de adulteración en la leche. Sin embargo por ser la flora más abundante en leche cruda y tener cierta capacidad proteolítica pueden llegar a ser causante de alteraciones en leches pasteurizadas mal almacenadas.

**Estafilococos:** son anaerobios facultativos, fuertemente fermentadores. Son de gran importancia desde el punto de vista sanitario. Causan mastitis y pueden provocar enfermedades o intoxicaciones en los humanos. *Staphilococcus aureus* produce una exotoxina que causa fuertes trastornos intestinales en los humanos, la cual es termorresistente, por lo cual no es destruida con la pasteurización. El *Staphilococcus epidermidis* se ve implicado en algunos casos de mastitis, por lo cual puede llegar a contaminar la leche.

**Bacterias esporuladas:** los *Bacillus* son bacterias aeróbicas con actividad enzimática variada producen acidificación, coagulación y proteolisis. Cobran importancia en productos lácteos como en leche pasteurizadas, quesos fundidos, leches concentradas, quesos de pasta cocida. Resisten la pasteurización por su capacidad de producir esporas, las cuales solo se destruyen a temperaturas por encima de 100°C.

#### **2.6.2.2 Mohos y Levaduras:**

No tienen importancia en leche fluida, si no más bien en los productos. Algunas especies son utilizadas como cultivos lácteos para el afinado de los quesos madurados como el *Penicillium candidum* y *Penicillium camemberti* en los quesos de corteza blanca como el Camembert y el *Penicillium roqueforti* en los quesos de pasta azul (Roquefort).

Las levaduras al igual que los mohos son de poca importancia en la leche líquida y son fácilmente destruidos a temperaturas de pasteurización. En la leche se encuentran las especies *Cándida cremoris*, *Sacharomices lactis*, *Sacharomices kefir*. *Torula kefir* se encuentra en los granos de kefir utilizados para producir esta bebida láctea, caracterizada por su sabor ácido-alcohólico, producto de la fermentación de la lactosa por estas especies.

## **2.7 YOGURT**

El yogurt es un gel de apariencia viscosa, resultante de la acidificación microbiana de la leche. Intervienen en su fermentación ácido láctica las bacterias *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, las cuales deben encontrarse en una relación 1:1 para una acción simbiótica efectiva. Los cocos son los responsables de la producción de ácido, los bacilos aportan el sabor y aroma debido a la producción de acetaldehído.

El yogurt es la leche fermentada de mayor consumo, el cual es preparado por la acción combinada del *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*. Es un producto de alto valor nutritivo debido a la fácil digestibilidad si se le compara con la leche fresca o fluida. (Mori Nuñez Carlos, 1989)

### **2.7.1 Generalidades**

Según Nelly Paitan (1979) el yogurt, es el producto obtenido por la coagulación de la leche y la acidificación biológica, mediante la acción de los fermentos lácteos específicos de las especies *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, a partir de la leche entera, parcialmente descremada, descremada, re combinada, reconstituida; previo tratamiento térmico; así como los microorganismos en el producto final deben ser apropiados y abundantes.

El yogurt es producto vivo preparado a partir de leche adicionado de fermentos lácteos específicos. En el mercado se encuentra el yogurt tradicional (aflanado) y el yogurt batido.

La composición química del yogurt está basada en la composición química de la leche y en los sucesivos cambios de la leche que ocurren durante la fermentación láctica, estos

cambios resultan con la reducción de la lactosa y la formación considerable del ácido láctico, con un incremento de péptidos libres, aminoácidos y ácidos grasos; así como cambios considerables de algunas vitaminas.

### **2.7.2 Clasificación del yogurt**

Según Speere, E. (1979) se puede clasificar al yogurt según las siguientes características: Por el método de elaboración, por el sabor y por el contenido graso;

El yogurt aflanado (cuajado o coagulado), es el producto en que la leche pasteurizada, es envasada inmediatamente después de la inoculación, produciéndose la coagulación en el envase.

El yogurt batido, es el producto en el que la inoculación de la leche pasteurizada, se realiza en tanques de incubación produciéndose en ellos la coagulación, luego se bate y posteriormente se envasa.

El yogurt natural, es aquel sin adición alguna de saborizantes, azúcares y colorantes, permitiéndose solo la adición de estabilizantes y conservantes. El yogurt frutado, es aquel al que se le ha agregado frutas procesadas en trozos. El yogurt frutado, es aquel al que se le ha agregado frutas procesadas en trozos.

El yogurt saborizado, es aquel que tiene saborizantes naturales y/o artificiales.

### **2.7.3 Bacterias lácticas del yogurt**

El cultivo para el yogurt debe aportar a la leche las bacterias ácido-lácticas que son responsables del proceso de acidificación. El yogurt, es producido por la fermentación de la leche con dos microorganismos *Streptococcus* y *Lactobacillus*, donde se desarrollan en simbiosis. Ambas bacterias pertenecen al grupo de las bacterias lácticas homofermentativas, es decir solo forman indicios de productos accesorios junto con ácido láctico, que representa del 90 al 97% de la lactosa fermentada. El PH óptimo y la temperatura de desarrollo del *Streptococcus thermophilus* es de 6.8 y 38°C y del *Lactobacillus bulgaricus* es 6.0 y 43°C; los primeros actúan en una acidez entre 0.85 a 0.95%, mientras que los últimos alcanzan una acidez de 1.20 a 1.50%, todos en función de ácido láctico.

#### **2.7.4 Valor nutritivo del yogurt**

El valor nutritivo del yogurt en la dieta humana se determinó por la digestibilidad de este, comparandolo con la leche ordinaria o fresca. El profiláctico efecto medicinal, que posee el yogurt en ciertas condiciones se tomó en consideración evaluando su fácil digestibilidad por el organismo, puesto que en este producto tiene láctosa desdoblada, la misma que ayuda a su fácil asimilación.

El cultivo de bacterias lácticas, Streptococcus y lactobacillus, en los productos lácteos se han recomendado corrientemente a causa de sus ventajas nutritivas y terapéuticas, que dependen de las especies bacterianas utilizadas y se puede resumir de la siguiente forma:

- Formación de enzimas hidrolíticas que facilitan la asimilación de las proteínas de la lactosa y también de los lípidos. De ellos resulta un incremento real del valor biológico de los productos fermentados.
- síntesis de vitaminas del grupo B y enriquecimiento del medio.
- Disminución de la intolerancia de lactosa.
- Buena aceptabilidad de las personas afectadas por una alergia alimentaria.
- Efectos anticolesterinémicos.
- Producción de sustancias inhibitoras de algunos grupos microbianos.
- Las leches fermentadas con baja cantidad de grasa se utiliza para el tratamiento de la obesidad.

#### **2.8 EL QUESO**

El queso, al ser un producto procedente de la leche, tiene una composición parecida. En su contenido destacan las proteínas de alto valor biológico, el calcio, el fósforo y algunas vitaminas, especialmente la vitamina A. Contiene por tanto casi todos los principios alimentarios necesarios para el crecimiento y desarrollo humano, por lo que es muy recomendable su consumo por parte de niños y mujeres embarazadas. Además,

es un alimento con un alto valor energético. Por todo ello, el consumo diario recomendado ronda los 25 gramos. (Arispe, 2000)

## **2.8.1 Características generalidades**

### **2.8.1.1 Composición de los quesos.**

#### **a) Contenido en agua y materia grasa.**

Estos valores varían de un tipo de queso a otro; y dependen de dos condiciones:

- La forma en que se realizan la coagulación y el desuerado (determinan el contenido de agua).
- La composición de la leche utilizada (determina el contenido en materia grasa).

Según Alais, 1971, Los quesos pueden ser de dos tipos:

1. ***Quesos de humedad elevada.*** La cuajada ha experimentado, una fermentación láctica activa que ha desmineralizado más o menos fuertemente la pasta, que es friable o blanda y sólo permite quesos de pequeño tamaño. Las actividades microbianas son grandes y la maduración es rápida (cuando existe). El tiempo que se conservan es corto a la temperatura ambiente.

2. ***Quesos con poca humedad.*** La cuajada es firme y a veces dura, presentando retención de las sales de calcio. Pueden moldearse piezas voluminosas y el queso es de buena conservación, pero su fabricación es delicada, exigiendo leches de buena calidad.

#### **b) La parte no grasa.**

Entre el 85 al 91 % está constituida por las materias nitrogenadas; el resto representa las sales y productos de degradación de la lactosa.

1. ***Caseína:*** Constituye la parte esencial de las materias nitrogenadas en el queso desuerado, es la base de la pasta quesera y da origen a diversos compuestos aromáticos.

2. **Lactosa:** Es el sustrato para la formación de ácido láctico e interviene en la coagulación de la leche, el desuerado y la textura de la cuajada, y también en el crecimiento de los microorganismos. (Amito, 1991)

3. **Contenido en sales naturales:** Depende de la forma de fabricación y de la acidificación durante el desuerado.

### **Lípidos de la leche:**

Se sabe que la ingesta recomendada diaria de lípidos está alrededor del 25% de las Calorías de ingesta recomendada para trabajadores sedentarios y del 35% de las Calorías para un trabajador activo. Todo ello teniendo en cuenta que la ingesta de Calorías normal recomendada es de entre 2000 y 2750 Kcal./día, donde la grasa tendrá que estar entre los 55 y los 106 g diarios.

En la dieta debe existir una proporción de ácidos grasos esenciales, esos son aquellos que no son sintetizados por el organismos, y que sólo pueden ser aportados a través de la alimentación; y que siempre deben estar presentes en la dieta, son los ácidos linoleico, linolénico y araquidónico. El queso, sobre todo el que está elaborado con leche entera, los contiene todos, y en unas proporciones bastante equilibradas. De toda formas se han hecho muchos intentos por enriquecer el queso a través de su materia prima, la leche en los ácidos grasos esenciales, sí se ha conseguido aumentar su proporción aunque también se ha aumentado el problema de que se produzcan enranciamientos y oxidaciones del producto con más facilidad al dejarlo en el ambiente, por ello se debería añadir antioxidantes para evitar este fenómeno. (Rennet, 1983).

Por otro lado los ácidos grasos mayoritarios en el queso son los Triglicéridos, los mayoritarios también en la leche, pero hasta 5 g/Kg estarán en forma de ácidos grasos libres. Éstos son fundamentales para contribuir al aroma y al flavor del queso. Estos compuestos aromáticos son los que aparecen tras la lisis de los ácidos grasos fundamentalmente por las lipasas microbianas, pero también por las lipasas pregástricas comerciales o que puedan estar en la pasta de cuajo.

Otro asunto importante a tratar, sobre todo en nuestros días es el colesterol, el consumo de queso no presenta inconveniente a no ser que ya se tenga un problema con el

colesterol. El queso aportará entre el 3 y el 45 del colesterol total(Rennet, 1983), siendo lo indicado de unos 100 mg / 100 g. (Rennet, 1983)

### **Proteínas:**

El queso es una buena fuente de proteínas útiles para el organismos, ya que realmente las que se aprovechan enteramente para las funciones vitales son las proteínas que provienen de los alimentos de origen animal. Estas contienen los aminoácidos esenciales, que al igual que pasaba con los ácidos grasos esenciales, tampoco pueden ser sintetizados por el organismo pero que no son prescindibles del organismo para sus funciones vitales. Las necesidades de un cuerpo adulto son de 1 g. proteína/ Kg. de peso corporal. El queso es un alimento adecuado ya que:

<b>100 g. de Alimento</b>	<b>Necesidades proteicas (%)</b>
QUESO FRESCO	30 - 40
QUESO DURO	40 - 50

**Tabla 1.- Composición nutricional del queso**

El valor biológico de las proteínas del queso es algo menor que el de la leche entera, ya que parte de las proteínas de la leche, las solubles se van en el suero; pero la caseína que es la queda contiene entre un 91 y un 97 del valor biológico de los aminoácidos esenciales de la leche, que teóricamente es de 100. (Rennet, 1983)

La digestibilidad, o aprovechamiento de la proteínas del queso es buena, aunque va a aumentar durante la maduración, llegando a ser mayor, en quesos de más de 5 meses, que las de la leche entera. (Dillon, 1984), llegando a obtener el grado medio de utilización, que es del 89,6%. A veces durante la maduración se pueden liberar aminoácidos sin valor biológico para el hombre, los D- aminoácidos.

También en la maduración existe la liberación de pequeñas cantidades de histaminas, Tiramina, Putrescina y Feniletilenamina. Son cantidades muy pequeñas de alrededor de 30 mg./ 100 g. de queso. Sólo provocan reacciones adversas en personas que sean alérgicas o más sensibles por tener hipertensión arterial, etc... a veces pueden provocar sarpullidos, migrañas por las aminos liberadas. (Dadvinson *et al*, 1979).



## **Lactosa**

Es el azúcar mayoritario en la leche y en los quesos, pero sobretodo en los quesos frescos, ya que los quesos maduros pierden bastante en el suero, ó por conversión en ácido láctico y lactatos, durante el proceso de elaboración del queso.

Como veremos más adelante, el queso, al tener esta transformación, será un alimento indicado para intolerantes a la lactosa, yendo mejor los quesos más maduros, por tener una mayor proporción de lactosa transformada, sigue dando algunos problemas, en estos grupos de población, los quesos frescos, menos curados, ó más parecidos a los postres lácteos como el kéfir, quark, etc., donde la lactosa está mayoritariamente sin fermentar. (Rennet, 1983)

## **Minerales y Vitaminas**

Es una fuente importante de estos micronutrientes, tan necesarios también para el organismo. Además éstos aparecerán concentrados en el alimento, no en mayor cantidad pero sí concentrados, debido a la pérdida de agua que se produce durante la maduración, concentrará todos los sólidos existentes.

En una cantidad lo suficientemente grande como para cubrir al completo las necesidades diarias se encuentra el calcio (Ca), ya sea libre ó ligado, y después cubriendo al menos el 50% de las necesidades diarias el fósforo (P). (Rennet, 1983)

Por otro lado deberán tener un cuidado mayor aquellas personas que tengan problemas con los alimentos altos en sal, por tener la tensión arterial alta, ya que la concentración de sal común en el queso, al menos en los de pasta cerrada o prensada suele ser alrededor del 2%.

El principal motivo de la utilización de sal es la obtención de una serie de propiedades organolépticas que deben desarrollar. (Rennet, 1983)

### **2.8.2 El proceso**

El método de fabricación del queso es bastante sencillo, ya que lo único que se necesita es conseguir fermentar la leche y dejar el producto en reposo para que adquiera la consistencia que se pretende. Según Vargas M. (2001) el proceso para elaboración del

queso es el siguiente:

- Recepción para verificar la calidad higiénica de la leche, mediante la prueba de alcohol (acidez), se podrá utilizar leche ácida hasta 20°Dornic.
- Pesaje.- se verifica el peso de la leche recibida.
- Filtrado por medio de una malla metálica en el tanque de recepción.
- Clarificación de la leche a través de tamices y máquina centrífuga con el objeto de eliminar impurezas.
- Precalentamiento de la leche a 45°C.
- Estandarización del contenido de grasa, mínimo 2.0 %
- Características físico-químicas de diferentes tipos de queso:
- Homogenización.
- Pasteurización a una temperatura de 63°C por 30 minutos.
- Tratamiento de la leche en la tina de calentamiento, adición de antifat 15 gr y cloruro de calcio 20 gr por cada 100 lts de leche.
- Calentamiento de la leche a 36 – 38°C, adición de 4 gr de cuajo y una cucharadita de cloruro de sodio.
- Coagulación, dejar en reposo por 30 minutos.
- Cortar la cuajada y batir por 10 minutos aproximadamente (tamaño grano de maíz).
- Dejar en reposo de 3 a 5 minutos.
- Desuerado del 30 %.
- Batido por 5 minutos aproximadamente.
- Moldeado.
- Prensado por espacio de 15 a 20 minutos.
- Salado en tinajas de salmuera (23 °Boumé), por espacio de 2 a 3 horas.
- Envasado en fundas de polietileno.
- Almacenamiento en cámara de frío a 4 °C.

### **2.8.3 Tipos de queso**

**Queso fresco.**- es aquel que se consume sin someterse a maduración durante su elaboración a diferencia del queso maduro. El queso fresco al ser más sencillo en su producción y fabricación es el más común entre los quesos artesanos caseros. El queso

más conocido de este tipo es el denominado "queso de untar " o queso doble crema, tipo queso Philadelphia y el queso blanco fresco tipo Burgos o Villalón, quesillos, requesón, con la característica común que poseen gran cantidad de humedad y su elaboración resulta sencilla, siendo el primer paso en el aprendizaje de la elaboración de queso. (Arispe, 2000)

**Queso Andino.-** Es un queso de tipo semi-maduro. Se entiende por "queso maduro" aquel que se consume después de someterse previamente a una maduración más o menos larga según se desee un queso más o menos añejo. Los quesos más conocidos de este tipo son los del tipo Manchego, Cheddar, Parmesano o Godua con la característica común que poseen poca humedad y en su elaboración la cuajada se trata y se prensa de forma especial. Estos quesos se deben someter a la acción de la sal para obtener todo sabor y larga duración. (Arispe, 2000)

#### 2.8.4 Quesos Gruyere, Emmental, y Gouda.

##### Queso emmental.-

A continuación se presentan los datos nutricionales sobre el valor calórico, proteínas, grasas, hidratos de carbono e índice glucémico (I.G) que posee el/la: *Queso emmental*

Tamaño de la porción:	1 tajada de 20 g	% Del valor diario
Porciones por empaque:		
Calorías	70	
Calorías de grasa	49	
Grasa total	5	8%
Grasa saturada (g)	3	15%
Colesterol (mg)	14	5%
Sodio (mg)	175	7%
Carbohidratos totales (g)	0	0%

Fibra dietaria (g)	0	0%
Azúcares (g)	0	0%
Proteína (g)	5	
Vitamina A		16%
Vitamina C		0%
Calcio		76%
Hierro		0%

**Tabla 2.- Valor Nutricional queso Enmental**

### **Queso Gouda.-**

A continuación se presentan los datos nutricionales sobre el valor calórico, proteínas, grasas, hidratos de carbono e índice glucémico (I.G) que posee el/la: *Queso gouda*

Tamaño de la porción:	1 Tajada de 20 g	
Porciones por empaque:		
		% Del valor diario
Calorías	70	
Calorías de grasa	50	
Grasa total	5	8%
Grasa saturada (g)	3	15%
Colesterol (mg)	23	8%
Sodio (mg)	165	7%
Carbohidratos totales (g)	1	0%
Fibra dietaria (g)	0	0%
Azúcares (g)	0	
Proteína (g)	5	

**Tabla 3.- Valor Nutricional queso Gouda**

## Queso Gruyere.-

Queso maduro, duro, graso, El producto tiene una duración sanitaria de 120 días.

Tamaño de la porción:	1 tajada de 20 g	
		% Del valor diario
Calorías	70	
Calorías de grasa	49	
Grasa total	5	8%
Grasa saturada (g)	3	15%
Colesterol (mg)	14	5%
Sodio (mg)	175	7%
Carbohidratos totales (g)	0	0%
Fibra dietaria (g)	0	0%
Azúcares (g)	0	0%
Proteína (g)	5	
Vitamina A		16%
Vitamina C		0%
Calcio		76%
Hierro		0%

Tabla 4.- Valor Nutricional queso Gruyere

## 2.9 ANALISIS SENSORIAL DE LOS QUESOS

### 2.9.1 Fallas en la elaboración de quesos.

La mayoría de los defectos de los quesos se pueden atribuir a alguna de las siguientes situaciones:

\* Malas condiciones de higiene durante todo el proceso que sufre la leche desde el momento del ordeño.

\* Errores que se cometen durante el proceso de la fabricación.

\* Problemas en el proceso de conservación posterior del producto. (Sánchez, 2000)

Según Sánchez, 2000 Las Fallas comunes en el producto final:

- **Quesos que saben muy amargos.** Debido a pobre higiene al manejar la leche y/o utensilios de los quesos; uso de cantidad excesiva del cuajo; excesiva acidez, posiblemente desarrollada durante el proceso de elaboración del queso o se le añadió muy poca sal.

- **Sabor amargo.** Causado por la acción de microorganismos indeseables, la mala calidad o insuficiente cantidad de sal, utilización de excesiva cantidad de cloruro de calcio.

- **Quesos muy amargos y ácidos.** Ocurre cuando el queso contiene mucha humedad o acidez.

- **Quesos con poco a ningún sabor.** El queso no se ha madurado suficientemente o se produjo insuficiente acidez durante la elaboración.

- **Leche no coagula en una cuajada sólida.** Se ha usado poco cuajo o fue diluido en agua muy caliente o es de pobre calidad.

- **Coloración irregular.** Debido a la contaminación de microorganismos, mala distribución de la sal o al corte de la cuajada en trozos de diferentes tamaños, conservando más suero los pedazos más grandes, en los cuales se desarrolla una acidez mayor que en los pequeños, por lo que disminuye la intensidad del efecto producido por el colorante artificial; empleo de colorantes de mala calidad, infectados por hongos.

- **Manchas rojas, azules, grises o negras.** Proviene de la acción de los hongos sobre los quesos depositados en locales inadecuados. El tono rojo es el más perjudicial porque penetra al interior y transmite a la pasta un sabor amargo fuerte y desagradable.

- **El queso terminado es excesivamente seco.** Puede ser ocasionado por cuajo insuficiente; corte de la cuajada en partículas muy pequeñas que produce mucha pérdida

de suero; alta acidez en la cuajada; las cuajadas han sido cocinadas a una temperatura excesiva o éstas han estado demasiado agitadas.

- **El queso terminado es excesivamente harinoso.** Hay humedad en exceso o la acidez es muy alta

## **2.10 ANALISIS MICROBIOLOGICO**

### **2.10.1 Alteraciones microbiologicas**

Hay muchos microorganismos que pueden crecer en el queso y originar defectos de textura o sabor. El desarrollo microbiano está determinado por los siguientes factores:

1. La carga microbiana de la leche en la que los aspectos más influyentes son :
  - Condiciones higiénicas durante el ordeño.
  - Pasterización de la leche.
  - Bactofugación.
  - Recontaminación de la leche (Walstra, 2001).
2. Las medidas para impedir la contaminación durante la elaboración y maduración del queso.
3. Las medidas para limitar el crecimiento de los microorganismos y sus efectos alterantes durante la fabricación y la maduración de los quesos.

Las características fisicoquímicas del queso y las condiciones de maduración, especialmente el contenido en ácido láctico y el pH, la concentración de sal, la presencia de azúcares, la temperatura y tiempo de maduración y la humedad relativa del aire determinan si los microorganismos pueden o no crecer en el queso (Walstra, 2001)

### III. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1.- MATERIALES

##### 3.1.1 Equipo y material de laboratorio:

- Estufa
- Cámara de aislamiento
- Cámara de incubación
- Cajas petri
- Tubos de ensayo
- Micropipeta
- Balanza analítica
- Vasos de precipitación
- Pipetas
- Pinza
- Autoclave
- Bisturí
- Cultivos bacterianos (*Lactobacillus bulgaricus* y *Lactobacillus helveticus*).
- Parafilm
- Gotero
- Asa
- Fundas ziploc
- Agar selectivo (QDA, PDA y LDA)
- Guantes y mascarillas
- Extracto de levadura
- Peptona de caseína
- Microscopio
- Agua destilada
- Suero de leche (líquido o en polvo)
- Cubreobjetos
- Portaobjetos
- Mechero
- Papel filtro
- Espectofotometro
- Extracto de carne
- Jabón líquido
- PO4HK2
- Citrato de amonio
- Sulfato de magnesio
- Acetato de sodio
- Glucosa
- Agua destilada
- Yogurt
- Queso
- Leche



### **3.1.2 Material para elaboración de quesos:**

- Leche pasteurizada
- Cultivos de bacterias termófilas
- Nitrato de Sodio
- Cloruro de calcio
- Cuajo
- Cuchillo
- Ollas
- Espátulas
- Moldes
- Balanza
- Termómetro
- Tinajas de salmuera
- Fundas para envasar
- Agua
- Salmuera (23°Boume)
- Tina de calentamiento
- Tamices
- Fermento láctico termófilo mixto  
(Tipo Andino)
- Prensa
- Inoculo de Bacterias Probióticas

## **3.2. MÉTODOS**

Esta investigación constó de dos fases: una de laboratorio y otra de análisis de sensibilidad organoléptica de los quesos producidos.

### **3.2.1 Factores de estudio**

En la presente investigación los factores de estudio que se tomaron en cuenta fueron: el origen de las bacterias de interés y las fuentes de donde proviene cada una de ellas. Se tomaron

ORIGEN:

Y: Yogurt

Q: Queso

FUENTES:

Se tomaron tres fuentes para cada origen; en este caso se seleccionaron tres tipos de yogures elaborados por medio de fermentos que contienen las bacterias de interés (*Lactobacillus bulgaricus* y *Lactobacillus helveticus*), aislados en un medio selectivo y un medio general.

**F1=** inóculo 1

**F2=** inóculo 2

**F3=** inóculo 3

Al igual que para el yogurt se tomaron como factores de estudio tres tipos de quesos que contienen gran cantidad de las bacterias requeridas para la investigación.

**F1=** inóculo 1

**F2=** inóculo 2

**F3=** inóculo 3

### **3.2.2 Análisis Estadístico**

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar simple, con cuatro repeticiones (R) para cada una de las muestras de yogurt (previamente elaborado) y de queso. Se realizó una prueba de Duncan al 5% para determinar cual es el mejor tratamiento, y una prueba de DMS al 5% para determinar el mejor grupo dentro de los tratamientos, es decir el que presente mayor crecimiento y colonización en menor tiempo.

La investigación se dividió en dos fases, por lo que en cada una de ellas se realizó un diseño experimental. En la fase de laboratorio se hizo un diseño completamente al azar simple para seleccionar las mejores cepas bacterianas, mientras que en la fase de campo se realizó un diseño de bloques al azar con análisis grupal para el análisis de sensibilidad.

Se prepararon de manera artesanal 26 quesos, de acuerdo a los tratamientos establecidos en laboratorio. Se realizaron 260 encuestas de degustación para determinar las características organolépticas de los quesos producidos.

### **3.2.3.- Actividades de ejecución**

**3.2.3.1 Identificación y caracterización de las cepas de bacterias lácticas que tengan propiedades probióticas y que puedan ser utilizadas en los tipos de queso elegidos.**

#### **METODO AISLAMIENTO Y TIPIFICACION GIRARD/ROUGIEUX**

La identificación de las bacterias de los géneros de interés se realizó mediante una disolución de los productos (queso y yogurt) en agua destilada. Una vez homogeneizada la mezcla se procedió a su observación en el microscopio, comprobando su presencia y la de ciertos contaminantes naturales muy comunes como hongos y levaduras en dichos productos.

Posteriormente se realizó el aislamiento y tipificación según el método descrito por los autores Girard y Rougieux, de la siguiente manera:

Se tomaron muestras de los productos que contienen las bacterias de interés y se inocularon en los medios (MEDIO M.R.S completo líquido y gelosado) descritos anteriormente en el capítulo de Revisión Bibliográfica. Las muestras inoculadas en el medio líquido fueron dispensadas en tubos de ensayo y las otras en cajas petri.

Transcurridas 48 horas de incubación, se pudo apreciar el aspecto de las colonias que por lo general son blancas cremosas, redondas de 0.5 a 1.5 mm de diámetro o capilosas.

Según la bibliografía se podía apreciar igualmente la presencia eventual de esférulas gaseosas en el seno de la masa de gelosa, que en muchos casos puede ser debido a otros gérmenes distintos de los lactobacilos que se investigan (levaduras)

Los lactobacilos son bastoniformes, en ocasiones largos o cocobacilares aislados o en cadenas, Gram positivos, que en algunos casos exhiben unas granulaciones y no forman esporos.

Para hacer la tipificación de las bacterias ácido lácticas (*Lactobacillus bulgaricus* y *Lactobacillus helveticus*) presentes en los materiales que se utilizaron en el aislamiento se realizó la técnica de Coloración Gram( Para bacterias Gram positivas) descrita en el capítulo de Revisión Bibliográfica:

Se recogió una muestra estéril contenida en los tubos de medio líquido, mediante un frotis se la depositó en un portaobjetos dejando secar a temperatura ambiente. La muestra fue fijada al calor, flameada 3 veces aproximadamente con la ayuda de un mechero. Posteriormente se procedió a agregar azul violeta (cristal violeta) y esperar 1 minuto. Se enjuagó con agua, se agregó lugol y un minuto después se enjuagó con agua nuevamente. El siguiente paso fue la adición de alcohol acetona durante 30 segundos, luego de un nuevo enjuague se agregó el colorante de contraste safranina, se esperó 1 minuto y se realizó el último enjuague.

La observación al microscopio óptico se hizo a 100x con aceite de inmersión.

### **3.2.3.2.- Aislamiento a partir de queso de pasta dura y yogurt con bacterias ácido lácticas.**

Primero se realizaron medios selectivos en los cuales se aislaron las bacterias directamente de los yogures elegidos y para quesos se realizó una suspensión donde se colocó 1 cc de queso y 5 cc de agua destilada, se llevó al homogenizador para que las bacterias presentes se desprendan. La preparación de los medios se realizó asépticamente, haciéndolos hervir 3 veces en el horno microondas y luego llevándolos al autoclave durante una hora, las cajas y todos los materiales utilizados fueron previamente autoclavados. Una vez preparados los medios y vertidos en cada caja se realizó una siembra estriada con asa de platino en cada caja haciendo 5 repeticiones de cada uno de los yogures y quesos utilizados, todo esto dentro de la cámara de flujo previamente desinfectada. Se sellaron las cajas y permanecieron en la cámara de incubación a 37 ° C durante 48 horas. Los medios de cultivo selectivos para depositar las muestras de yogurt y queso son los siguientes

#### **PDA (Agar papa dextrosa) (Para yogurt y queso)**

##### **Composición por Litro:**

- Agar -15g
- Dextrosa - 20g
- Infusión papa - 4g

#### **LDA (Agar Leche ) (para yogurt)**

##### **Composición para un litro:**

- Leche - 972 cc
- Dextrosa – 20 g
- Agar agar – 14 g

#### **QDA (Agar Queso) (para quesos)**

##### **Composición para un litro:**

- Queso – 250 g
- Dextrosa – 20 g
- Agar agar – 14 g

- Agua Destilada – 722cc

### **3.2.3.3 Preparación, incubación y fermento.-**

Después de las 48 horas de incubación se revisaron las cajas donde se presentó un crecimiento uniforme de las bacterias ácido lácticas, con estas realizamos medios de proliferación masiva que fueron utilizados para la inoculación directa en los quesos. De las 5 cajas que realizamos, se utilizaron únicamente 3 para inocular en medio de proliferación masiva y las 2 restantes se destinaron a un conteo de bacterias. El medio de proliferación masiva es un medio líquido donde se colocaron, con la ayuda del asa de platino, y en total asepsia, las cepas de bacterias provenientes de los diferentes medios de cultivo. Se sellaron y se dejaron en la cámara de incubación durante 48 horas a una temperatura de 37 ° C.

Para la cuantificación de bacterias se utilizó la escala Mac Farland =  $3 \times 10^8$  bac/ ml donde x cada grado se encuentra 300000000 de bacterias. Se realiza una dilución donde a 1cc de bacterias se coloca 9 cc de agua y se compara con la escala. En nuestro caso realizamos la cuantificación con ayuda del espectrofotómetro que realiza un conteo en peso/ masa. Utiliza una longitud de onda de 560 nm se mide con respecto a un blanco que es un tubo q solo tiene agua.

### **Medios de proliferación masiva (100cc)**

#### **Peptona**

#### **Yogurt y Queso:**

#### **Composición para litro:**

- Peptona - 5 g
- dextrosa - 5 g
- Na Cl - 5 g
- água destilada - 985 cc

## Leche

### Yogurt y Queso:

#### Composición para litro:

- Peptona - 5 g
- dextrosa - 5 g
- Na Cl - 5 g
- leche - 985 cc

#### **3.2.3.4.- Adición y dosificación de los cultivos probióticos durante el proceso de fabricación de los quesos fresco y andino.**

La fabricación de quesos se realizó en el área de procesamiento de lácteos, se siguió el procedimiento general utilizado en la producción de quesos descrito anteriormente, tanto para queso fresco, como para queso Andino, más la adición del inóculo que contiene las bacterias probióticas obtenidas en el laboratorio.

La cantidad de inóculo agregado a cada queso fue de 54cc, para obtener un queso de 500g. La adición se realizó al momento de añadir el cuajo a la leche, y en el caso del queso Andino, se debe adicionar a la vez el fermento para su maduración.

#### **3.2.3.5.- Determinación de las características cualitativas y organolépticas posteriores a la inoculación en los quesos Fresco y Andino.**

Este fue uno de los puntos más importantes de la investigación. Se puso principal atención a analizar cómo afectan, aunque no debían hacerlo, a las características organolépticas del alimento y producto final, sobre todo cuando hablamos de queso, que no afecten negativamente al proceso de MADURACIÓN, fundamental en su elaboración. (Stanton *et al*, 1998)

Los microorganismos son los verdaderos artífices de los cambios organolépticos que se producen en ella, con producción de sustancias aromáticas que generan el bouquet del queso, y también con algunos cambios en la textura del queso. (Stanton *et al*, 1998)

Se realizó una encuesta en la cual se analizaron 4 variables, las más relevantes que nos llevaron a determinar el mejor producto de cada tipo de queso. Se contó con la ayuda de 10 personas para la degustación y se realizó una encuesta para cada tratamiento de ambos tipos de queso, un total de 260 encuestas (anexo 3). Se utilizó una escala Hedónica para otorgar un valor a las encuestas realizadas estableciendo un rango de calificación para cada una de las características:

**COLOR:**

Blanco normal	5
Blanco amarillento	3
Amarillo	1

**OLOR:**

Imperceptible	7
Levemente perceptible	5
Perceptible	3
Muy perceptible	1

**TEXTURA:**

Dura	5
Blanda	3
Cremosa	1

**SABOR:**

Desagradable	1
Insípido	3
Común	5
Agradable	7

**3.2.3.6.- Estudio bromatológico del producto final para constatar que las únicas diferencias entre los quesos testigos (sin adición de probióticos) y experimentales (con agregado de probióticos), provengan sólo de la variable en estudio.**

Se realizó un análisis bromatológico del queso con adición de bacterias y del queso sin bacterias (Testigo), en la Facultad de Ciencias químicas de la Universidad Central del Ecuador, Los análisis son certificados y avalados por lo que arrojaron con gran precisión los resultados de la composición de cada queso y se determinó si existen fluctuaciones en cuanto al contenido nutricional.



**3.2.3.7.- Determinación de los costos de la investigación para establecer la rentabilidad de la producción de ambos tipos de queso al adicionar cultivos bacterianos.**

Fue importante conocer los costos de producción de los quesos con adición de cultivos bacterianos ya que si se pretende una producción masiva enfocada a satisfacer las necesidades del mercado sin importar su condición económica, se deben manejar costos bajos. En este caso se tomaron en cuenta también los costos de la fase de laboratorio ya que es indispensable para la obtención de bacterias.

**ANÁLISIS DE COSTOS DEL PROYECTO**

Concepto	Cantidad	Unidad	Costo Unitario (dolares)	Costo Total (dolares)
<b>Material de laboratorio</b>				
Papel toalla	10	Paquete	\$0.89	\$8.90
Guantes quirúrgicos	2	Cajas	\$5.00	\$10.00
Hojas de bisturí	1	Caja	\$11.50	\$11.50
Asa de transferencia	3	Unidad	\$3.50	\$10.50
Detergente 500g	1	Paquete	\$1.34	\$1.34
Papel aluminio	2	Rollos	\$2.00	\$4.00
Atomizador	1	Unidad	\$1.13	\$1.13
Cloro	1	Litro	\$0.76	\$0.76
Alcohol	1	Litro	\$2.50	\$2.50
Cajas Petri cristal	100	Unidad	\$0.50	\$50.00
Pipetas volumétricas	2	Unidad	\$7.00	\$14.00
Mascarillas	1	Caja	\$8.00	\$8.00
Parafilm	1	Rollo	\$2.00	\$2.00
Agar-agar	500	Gramos	\$160	\$160
PDA	150	Gramos	\$0.25	\$37.50
Sulfato de magnesio	100	Gramos		\$8.00
Citrato de amonio	100	Gramos		\$8.00
Acetato de sodio	100	Gramos		\$8.00
Fundas Ziploc	2	Cajas	\$1.55	\$3.10
<b>INSUMOS PARA LABORATORIO</b>				
Leche	15	Litros	\$0.90	\$13.50
Yogurt	30	250cc	\$0.40	\$12.00
Queso	3.5	Kg		\$56.00
<b>INSUMOS PARA PRODUCCIÓN (26 quesos 500g)</b>				
Leche	170	Litros	\$0.30	\$52.00
Fermento	500	Cc		\$0.15
Sal	1	Kilogramo	\$0.40	\$0.40
<b>MATERIAL DE PAPELERIA</b>				

Hojas papel bond A4	5	Resma500	\$5.00	\$25.00
Cartucho de tinta	5	Recarga	\$5.00	\$25.00
<b>ANALISIS BROMATOLOGICOS</b>	4		\$80.00	\$320.00
<b>TOTAL</b>				<b>\$853.28</b>

### 3.3 VARIABLES.-

- Tipo de queso: se tomará el que resulte más apto para inocular, es decir el que presente mayor crecimiento y colonización en menor tiempo en laboratorio.
- Bacterias: se tomaran las que presenten mayor crecimiento (conteo mediante escala McFarland)
- Fuente de origen de las bacterias: yogurt o queso que presente mayor contenido de bacterias viables.
- Evaluación del comportamiento de las cepas post inoculación por medio de análisis bromatológicos para ver en que cantidad se encuentran presentes en los quesos
- Evaluación de las características organolépticas y cualitativas de los quesos inoculados.

## IV.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1.- ANALISIS DE CRECIMIENTO DE LAS COLONIAS DE BACTERIAS DE *Lactobacillus bulgaricus* y *Lactobacillus helveticus*

##### 4.1.1- Análisis de crecimiento de las colonias de bacterias de *Lactobacillus bulgaricus* y *Lactobacillus helveticus* en medio PDA.

##### 4.1.1.1.- PDA1

Al establecer el análisis de variancia para el crecimiento de bacterias de *Lactobacillus bulgaricus* y *Lactobacillus helveticus* en medio PDA1 bajo dos orígenes y fuentes de colonias bacterianas, se detectaron diferencias estadísticas a nivel del 1% para tratamientos. Al desglosar los grados de libertad para tratamientos no se detectaron diferencias estadísticas entre los grupos de estudio (yogurt y queso); Dentro del origen yogurt las fuentes se diferenciaron a nivel del 5%, mientras que dentro del origen queso, éstas se diferenciaron al 1%. El promedio general de crecimiento fue de 1.31 mg/ml con un coeficiente de variación del 36.28% (CUADRO 1)

#### CUADRO 1.- Análisis de Variancia del crecimiento de *Lactobacillus* en medio PDA1, bajo dos orígenes y fuentes de colonias bacterianas.

\*\* significancia estadística al 1%

\* significancia estadística al 5%

Fuentes de Variación	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F
TOTAL	29	11.73		
TRATAMIENTOS	(5)	6.27	1.25	5.52**
GRUPOS	1	0.39	0.39	1.69 <sup>ns</sup>
DG1 (Yogurt)	2	1.64	0.82	3.56*
DG2 (Queso)	2	4.24	2.12	9.22**
ERROR	24	5.46	0.23	
X(mg/ml)			1.31	
CV(%)			36.28	

<sup>ns</sup> no significativo estadísticamente

El origen de las bacterias no se diferencia estadísticamente y es así que manifiesta promedios no diferenciables: 1.43 para el origen 1 (yogurt) y 1.20 para el origen 2 (queso) (CUADRO 2)

**CUADRO 2.- Efecto del origen sobre el crecimiento de *Lactobacillus* en medio PDA1, prueba DMS al 5%.**

GRUPOS	CRECIMIENTO DE BACTERIAS	
G1 Yogurt	1.43	
G2 Queso	1.20	

Al comparar todos los tratamientos mediante la prueba de Duncan al 5% sobre el crecimiento de *Lactobacillus* en el medio PDA1, se determinó que T1 (YF1) y T5 (QF2) presentaron los mayores crecimientos que con 1.89 y 1.90, respectivamente se encuentran ocupando los primeros lugares del primer rango; mientras que los menores promedios correspondieron a los tratamientos T4 (QF1) y T6 (QF3) con promedios inferiores a 1.12; añadiendo que estos tratamientos tienen su origen en el queso. (CUADRO 3)

Los promedios de crecimiento más altos provienen de ambos orígenes en estudio, lo cual muestra que tanto el uno como el otro favorecen el crecimiento de los *Lactobacillus*. Sin embargo en el queso la presencia de *Lactobacillus* se ve limitada por la presencia de hongos característicos.

**CUADRO 3.- Efecto de los tratamientos sobre el crecimiento de *Lactobacillus* en el medio PDA1, prueba de Duncan al 5%.**

**4.1.1.2.- PDA2**

TRATAMIENTOS		CRECIMIENTO DE BACTERIAS	
G1	T1 (YF1)	1.89	a
	T2 (YF2)	1.12	b
	T3 (YF3)	1.27	ab
G2	T4 (QF1)	0.61	b
	T5 (QF2)	1.90	a
	T6 (QF3)	1.09	b

Una vez establecido el análisis de variancia para el crecimiento de colonias bacterianas de *Lactobacillus bulgaricus* y *Lactobacillus helveticus* en medio PDA2 bajo dos

orígenes y fuentes de colonias bacterianas, se detectó diferencias estadísticas para los tratamientos a nivel del 1%. Al desglosar los grados de libertad para tratamientos, los grupos de estudio (yogurt y queso) no presentaron diferencias estadísticas entre ellos; sin embargo dentro del origen yogurt las fuentes se diferenciaron a nivel del 1% mientras que dentro del origen queso, éstas no mostraron diferencias significativas. El promedio general de crecimiento fue de 1.20 mg/ml con un coeficiente de variación del 53.12%. (CUADRO 4)

**CUADRO 4.- Análisis de Variancia del crecimiento de *Lactobacillus* en medio PDA2, bajo dos orígenes y fuentes de colonias bacterianas.**

Fuentes de Variación	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F
TOTAL	29	19.73		
TRATAMIENTOS	(5)	9.99	2.00	4.92**
GRUPOS	1	1.42	1.42	3.46 <sup>ns</sup>
DG1 (Yogurt)	2	8.31	4.15	10.12 <sup>**</sup>
DG2 (Queso)	2	0.27	0.13	0.31 <sup>ns</sup>
ERROR	24	9.74	0.41	
X(mg/ml)			1.20	
CV(%)			53.12	

El origen 1 (yogurt) presentó un promedio de crecimiento de 1.42 mg/ml, superior al promedio del origen 2 (queso) que fue de 0.98 mg/ml, sin embargo no existe diferencia estadística entre ellos. (CUADRO 5)

**CUADRO 5.- Efecto del origen sobre el crecimiento de *Lactobacillus* en medio PDA2, prueba de DMS al 5%.**

GRUPOS	CRECIMIENTO DE BACTERIAS	
G1 Yogurt	1.42	
G2 Queso	0.98	

Se realizó una comparación de todos los tratamientos sobre el crecimiento de *Lactobacillus* en el medio PDA2, y se determinó que T3 (YF3) presentó el mayor

crecimiento con 2.32 y tiene diferencias estadísticas con los demás tratamientos, mediante Duncan al 5%. El promedio de crecimiento más bajo corresponde al tratamiento T1 (YF1) con un valor de 0.50 y se encuentra ocupando el último lugar del tercero y último rango. Hay que señalar que tanto el tratamiento con mayor crecimiento, como el de menor provienen del mismo origen (yogurt) (CUADRO 6)

El origen que mostró mayor crecimiento bacteriano en este medio fue nuevamente el yogurt, sin embargo se pudo observar que la fuente (F1) obtuvo el promedio de crecimiento más bajo, esto se debe a que la misma contiene una cantidad de contaminantes mayor que las otras fuentes procedentes del mismo origen (Y).

**CUADRO 6.- Efecto de los tratamientos sobre el crecimiento de *Lactobacillus* en el medio PDA2**

**4.1.1.3.- PDA3**

TRATAMIENTOS		CRECIMIENTO DE BACTERIAS	
G1	T1 (YF1)	0.50	c
	T2 (YF2)	1.43	b
	T3 (YF3)	2.32	a
G2	T4 (QF1)	0.84	bc
	T5 (QF2)	1.16	bc
	T6 (QF3)	0.95	bc

El análisis de variancia realizado para el crecimiento de colonias bacterianas de *Lactobacillus bulgaricus* y *Lactobacillus helveticus* en medio PDA3 bajo dos orígenes y fuentes de colonias bacterianas, mostró diferencias estadísticas para los tratamientos a nivel del 1%. Se desglosaron los grados de libertad para tratamientos, y se determinó que los grupos de estudio (yogurt y queso) presentaron diferencias estadísticas entre ellos al 1%. Dentro del origen yogurt las fuentes se diferenciaron a nivel del 1% mientras que dentro del origen queso, éstas no mostraron diferencias significativas. Se obtuvo un promedio general de crecimiento de 1.28 mg/ml con un coeficiente de variación del 33.75%. (CUADRO 7)

**CUADRO 7.- Análisis de Variancia del crecimiento de *Lactobacillus* en medio PDA3, bajo dos orígenes y fuentes de colonias bacterianas.**

El origen 1 (yogurt) presentó el promedio más elevado de crecimiento de 1.54 mg/ml, y

Fuente de Variación	GL	CRECIMIENTO	DEBACTERIAS	F
T1 (YF1)		cuadrados	1.6 medios	
TOTAL	29	9.37	1.12	bcd
TRATAMIENTOS	(5)	4.88	1.91	0.98
GRUPOS	1	2.07	0.69	2.07
DG1 (Yogurt)	2	1.59	1.39	0.80
DG2 (Queso)	2	1.21	0.98	0.61
T2 (YF2)				
T3 (YF3)				
T4 (QF1)				
T5 (QF2)				
T6 (QF3)				
ERROR	24	4.49	0.19	
X(mg/ml)			1.28	
CV(%)			33.75	

el origen 2 (queso) uno de 1.02 mg/ml, diferenciadas estadísticamente mediante la prueba de DMS al 5%(CUADRO 8)

**CUADRO 8.- Efecto del origen sobre el crecimiento de *Lactobacillus* en medio PDA3, prueba de DMS al 5%**

GRUPOS	CRECIMIENTO DE BACTERIAS	
G1 Yogurt	1.54	a
G2 Queso	1.02	b

En comparación de todos los tratamientos sobre el crecimiento de *Lactobacillus* en el medio PDA3, se determinó que T3 (YF3) tiene el mayor crecimiento con 1.91, ocupando el primer lugar del primer rango mediante la prueba de Duncan al 5%. El promedio de crecimiento más bajo corresponde al tratamiento T4 (QF1) con un valor de 0.69 y se encuentra ocupando el último lugar del cuarto rango. (CUADRO 9)

El promedio de crecimiento más bajo correspondió a la fuente cuyo origen es queso (Q), esto se debe principalmente al hecho de que éstas son muy susceptibles a la contaminación ambiental cuando se encuentran en medio PDA. Este medio al no ser selectivo, en presencia de otros microorganismos, inhibe su adecuado crecimiento.

**CUADRO 9.- Efecto de los tratamientos sobre el crecimiento de *Lactobacillus* en el medio PDA3, prueba de Duncan al 5%.**

#### 4.1.1.4.- PDA4

Se realizó el análisis de variancia para el crecimiento de colonias bacterianas de *Lactobacillus bulgaricus* y *Lactobacillus helveticus* en medio PDA4 bajo dos orígenes y fuentes de colonias bacterianas, y se obtuvieron diferencias estadísticas para los tratamientos a nivel del 1%. Al realizar un desglose de los grados de libertad para tratamientos, se determinó que los grupos de estudio (yogurt y queso) no presentaron diferencias estadísticas entre ellos. Sin embargo, dentro de los orígenes yogurt y queso, las fuentes se diferenciaron a nivel del 1%. Se obtuvo un promedio general de crecimiento de 1.62 mg/ml con un coeficiente de variación del 25.60%. (CUADRO 10)

**CUADRO 10.- Análisis de Variancia del crecimiento de *Lactobacillus* en medio PDA4, bajo dos orígenes y fuentes de colonias bacterianas.**

Los orígenes de bacterias no mostraron una diferencia estadística significativa. El promedio más elevado de crecimiento corresponde al origen 1 (yogurt) equivalente a

Fuentes de Variación	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F
TOTAL	29	10.57		
TRATAMIENTOS	(5)	6.44	1.29	7.47**
GRUPOS	1	0.22	0.22	1.294 <sup>ns</sup>
DG1 (Yogurt)	2	3.08	1.54	9.058**
DG2 (Queso)	2	3.14	1.57	9.235**
ERROR	24	4.14	0.17	
X(mg/ml)			1.62	
CV(%)			25.60	

1.71 mg/ml, mientras que el del origen 2 (queso) es de 1.54 mg/ml. (CUADRO 11)

**CUADRO 11.- Efecto del origen sobre el crecimiento de *Lactobacillus* en medio PDA4.**



GRUPOS	CRECIMIENTO DE BACTERIAS	
G1 Yogurt	1.71	
G2 Queso	1.54	

Se comparó la totalidad de los tratamientos sobre el crecimiento de *Lactobacillus* en el medio PDA4, determinando que T2 (YF2) y T5 (QF2) tienen el mayor crecimiento con 2.26 y 2.10 y se encuentran ocupando los primeros lugares del primer rango, mediante la prueba de Duncan al 5%, mientras que el tratamiento T6 (QF3) con un valor de 0.98 se encuentra ocupando el último lugar. (CUADRO 12)

El origen que presenta un crecimiento más elevado es el yogurt, sin embargo se observó que la fuente (F2) proveniente del origen queso (Q) presenta un crecimiento elevado en este medio. Esto se debe a que la pasta dura que forma este tipo de queso tiene mayor espesor, y por lo tanto un número mayor de colonias bacterianas.

**CUADRO 12.- Efecto de los tratamientos sobre el crecimiento de *Lactobacillus* en el medio PDA4.**

TRATAMIENTOS		CRECIMIENTO DE BACTERIAS	
G1	T1 (PDA F1)	1.71	abc
	T2 (PDA F2)	2.26	a
	T3 (PDA F3)	1.15	cd
G2	T4 (PDA F1)	1.53	bcd
	T5 (PDA F2)	2.10	ab
	T6 (PDA F3)	0.98	d

**4.1.2.- Análisis de crecimiento de las colonias de bacterias de *Lactobacillus bulgaricus* y *Lactobacillus helveticus* en medio LDA.**

**4.1.2.1- LDA1**

Se realizó el análisis de variancia para el crecimiento de *Lactobacillus bulgaricus* y *Lactobacillus helveticus* en medio LDA1 y diferentes fuentes de colonias bacterianas, y se obtuvieron diferencias estadísticas para los tratamientos a nivel del 1%. Se obtuvo un

promedio general de crecimiento de 0.78 mg/ml con un coeficiente de variación de 35.95%. (CUADRO 13)

**CUADRO 13.- Análisis de Variancia del crecimiento de *Lactobacillus* en medio LDA1, bajo un origen y fuentes de colonias bacterianas.**

Al comparar todos los tratamientos sobre el crecimiento de *Lactobacillus* en el medio LDA1, se pudo determinar que T2 (YF2) tiene el mayor crecimiento con un promedio de 1.29 diferenciándose del resto de tratamientos. El promedio de crecimiento más bajo corresponde al tratamiento T3 (YF3) con un valor de 0.36. (CUADRO 14)

El medio de crecimiento LDA es un medio selectivo para las fuentes que proceden del

Fuentes de Variación	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F
TOTAL	14	3.19		
TRATAMIENTOS	(2)	2.24	1.12	14.20**
ERROR	12	0.95	0.08	
X(mg/ml)			0.78	
CV(%)			35.95	

origen Yogurt (Y), por lo que las bacterias pueden desarrollarse libremente. La fuente (F2) tiene un promedio de crecimiento superior ya que presenta cepas puras y una cantidad mínima de contaminantes.

**CUADRO 14.- Efecto de los tratamientos sobre el crecimiento de *Lactobacillus* en el medio LDA1, Duncan al 5%**

TRATAMIENTOS	CRECIMIENTO DE BACTERIAS	
T1 (YF1)	0.69	b
T2 (YF2)	1.29	a
T3 (YF3)	0.36	b

#### 4.1.2.2.- LDA2

Una vez realizado el análisis de variancia para el crecimiento de colonias bacterianas de en medio LDA2 bajo distintas fuentes de colonias, se obtuvieron diferencias estadísticas para los tratamientos a nivel del 1%. Se obtuvo un promedio general de crecimiento de 1.006 mg/ml con un coeficiente de variación de 28.18%. (CUADRO 15)

#### CUADRO 15.- Análisis de Variancia del crecimiento de *Lactobacillus* en medio LDA2, bajo un origen y fuentes de colonias bacterianas.

Se realizó una comparación de los tratamientos sobre el crecimiento de *Lactobacillus* en medio LDA2, el cual reflejó que existe un crecimiento mayor en el tratamiento T2 (YF2) que presenta un promedio de 1.54 mg/ml, tiene diferencia estadística frente a los tratamientos T1 (YF1) y T3 (YF3) que presentan promedios mas bajos, y que a su vez presentan diferencia estadística significativa entre ellos, mediante la prueba de Duncan

Fuentes de Variación	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F
TOTAL	14	3.91		
TRATAMIENTOS	(2)	2.94	1.47	18.26**
ERROR	12	0.97	0.08	
X(mg/ml)			1.006	
CV(%)			28.18	

al 5%.(CUADRO 16)

La fuente (F3) no tiene un crecimiento adecuado en este medio ya que al ser selectivo permite el desarrollo del gran número de esporas que contiene. Estos contaminantes son propios del yogurt, y no alteran la inocuidad del mismo, únicamente genera una mayor competencia dentro del medio de crecimiento, lo que reduce su crecimiento.

#### CUADRO 16.- Efecto de los tratamientos sobre el crecimiento de *Lactobacillus* en el medio LDA2, Duncan al 5%.

TRATAMIENTOS	CRECIMIENTO DE BACTERIAS	
T1 (YF1)	1.03	b
T2 (YF2)	1.54	a
T3 (YF3)	0.45	c

#### 4.1.2.3.- LDA3

Se realizó un análisis de variancia para determinar el crecimiento de bacterias ácido lácticas en medio LDA3 bajo un origen y tres fuentes de colonias bacterianas. Los tratamientos presentaron diferencias estadísticas a nivel del 1%. Se obtuvo un promedio general de crecimiento de 0.82 mg/ml con un coeficiente de variación del 37.10%. (CUADRO 17)

#### CUADRO 17.- Análisis de Variancia del crecimiento de *Lactobacillus* en medio LDA3, bajo un origen y fuentes de colonias bacterianas.

Se compararon todos los tratamientos sobre el crecimiento de bacterias en medio LDA3, mostrando que existe un crecimiento mayor en el tratamiento T2 (YF2) con un promedio de 1.52 mg/ml, diferenciándose estadísticamente de los tratamientos T1 (YF1) y T3 (YF3), mediante la prueba de Duncan al 5%, los cuáles no presentaron

Fuentes de Variación	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F
TOTAL	14	4.90		
TRATAMIENTOS	(2)	3.77	1.89	20.14**
ERROR	12	1.12	0.09	
X(mg/ml)		0.82		
CV(%)		37.10		

diferencia entre ellos. (CUADRO 18)

La fuente (F1), al igual que la fuente (F3), presentó un promedio de crecimiento menor ya que contiene un gran número de contaminantes que inhiben el crecimiento de las bacterias dentro del medio selectivo utilizado.

**CUADRO 18.- Efecto de los tratamientos sobre el crecimiento de *Lactobacillus* en el medio LDA3, Duncan al 5%.**

TRATAMIENTOS	CRECIMIENTO DE BACTERIAS	
T1 (YF1)	0.59	b
T2 (YF2)	1.52	a
T3 (YF3)	0.36	b

#### 4.1.2.4.- LDA4

Al establecer el análisis de variancia para determinar el crecimiento de bacterias de *Lactobacillus bulgaricus* y *Lactobacillus helveticus* en medio LDA4 bajo un origen y tres fuentes de colonias bacterianas, se determinó diferencia estadística entre los tratamientos a nivel del 1%. Se obtuvo un promedio general de crecimiento de 0.79 mg/ml con un coeficiente de variación del 39.02%. (CUADRO 19)

**CUADRO 19.- Análisis de Variancia del crecimiento de *Lactobacillus* en medio LDA4, bajo un origen y fuentes de colonias bacterianas.**

Se realizó una comparación de los tratamientos sobre el crecimiento de *Lactobacillus* en medio LDA4, el cual reflejó que existe un crecimiento mayor en el tratamiento T2

Fuentes de Variación	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F
TOTAL	14	5.87		
TRATAMIENTOS	(2)	4.74	2.37	25.11**
ERROR	12	1.13	0.09	
X(mg/ml)			0.79	
CV(%)			39.02	

(YF2) que presenta un promedio de 1.58 mg/ml y presenta diferencia estadística, mediante la prueba de Duncan al 5%, frente a T1 (YF1) y T3 (YF3) los cuáles no tienen diferencia estadística entre ellos. (CUADRO 20)

Dentro de este medio se observan los mismos promedios de crecimiento esperados, ya que las bacterias se comportan del mismo modo frente a un medio selectivo.

**CUADRO 20.- Efecto de los tratamientos sobre el crecimiento de *Lactobacillus* en el medio LDA4, Duncan al 5%.**

TRATAMIENTOS	CRECIMIENTO DE BACTERIAS	
T1 (YF1)	0.42	b
T2 (YF2)	1.58	a
T3 (YF3)	0.36	b

**4.1.3.- Análisis de crecimiento de las colonias de bacterias de *Lactobacillus bulgaricus* y *Lactobacillus helveticus* en medio QDA.**

**4.1.3.1.- QDA1**

En el análisis de variancia para determinar el crecimiento de bacterias de en medio QDA1 bajo un origen y tres fuentes de colonias bacterianas. Existen diferencias estadísticas entre los tratamientos, a nivel del 1%. Se obtuvo un promedio general de crecimiento de 1.78 mg/ml con un coeficiente de variación del 18.16%. (CUADRO 21)

**CUADRO 21.- Análisis de Variancia del crecimiento de *Lactobacillus* en medio QDA1, bajo un origen y fuentes de colonias bacterianas.**

Fuentes de Variación	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F
TOTAL	14	4.78		
TRATAMIENTOS	(2)	3.53	1.77	16.95**
ERROR	12	1.25	0.10	
X(mg/ml)		1.78		
CV(%)		18.16		

Al comparar la totalidad de los tratamientos sobre el crecimiento de *Lactobacillus* en medio QDA1, se determinó que aquellos que presentan mayor crecimiento son T2 (QF2) y T3 (QF3) cuyos promedios son de 2.24 mg/ml y 1.99 mg/ml, respectivamente;

no son diferentes estadísticamente pero presentan diferencia significativa frente a T1 (QF1) mediante la prueba de Duncan al 5%.(CUADRO 22).

La fuente (F1) tiene una característica particular ya que presenta un contenido más elevado de grasa, en relación con las otras dos fuentes utilizadas. Esto impide que forme en su corteza una pasta dura con alto contenido de bacterias del género *Lactobacillus*.

**CUADRO 22.- Efecto de los tratamientos sobre el crecimiento de *Lactobacillus* en el medio QDA1, Duncan al 5%.**

TRATAMIENTOS	CRECIMIENTO DE BACTERIAS	
T1 (QF1)	1.11	b
T2 (QF2)	2.24	a
T3 (QF3)	1.99	a

#### 4.1.3.2.- QDA2

Una vez realizado el análisis de variancia para determinar el crecimiento de bacterias de *Lactobacillus bulgaricus* y *Lactobacillus helveticus* en medio QDA2 bajo un origen y tres fuentes de colonias bacterianas se observó que existe diferencia significativa al 1%, entre los tratamientos. Se obtuvo un promedio general de crecimiento de 1.52 mg/ml con un coeficiente de variación del 18.27% (CUADRO 23)

**CUADRO 23.- Análisis de Variancia del crecimiento de *Lactobacillus* en medio QDA2, bajo un origen y fuentes de colonias bacterianas.**

Fuentes de Variación	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F
TOTAL	14	2.87		
TRATAMIENTOS	(2)	1.95	0.97	12.71**
ERROR	12	0.92	0.08	
X(mg/ml)			1.52	
CV(%)			18.27	

Se realizó una comparación de los tratamientos sobre el crecimiento de las bacterias en medio QDA2, la cual reflejó que existe un crecimiento mayor en el tratamiento T2 (QF2) que presenta un promedio de 1.85 mg/ml y no tiene diferencia estadística frente al tratamiento T3 (QF3), mediante Duncan al 5%. T1 (QF1) es el tratamiento con crecimiento promedio más bajo y es diferente estadísticamente de los otros dos tratamientos. (CUADRO 24)

Las fuentes (F2) y (F3) contienen una concentración significativa de *Lactobacillus* las cuáles le otorgan una característica en común: son quesos maduros con corteza consistente y seca, de la cuál es más simple aislar las bacterias.

**CUADRO 24.- Efecto de los tratamientos sobre el crecimiento de *Lactobacillus* en el medio QDA2, Duncan al 5%**

TRATAMIENTOS	CRECIMIENTO DE BACTERIAS	
T1 (QF1)	1.01	b
T2 (QF2)	1.85	a
T3 (QF3)	1.69	a

#### 4.1.3.3.- QDA3

El análisis de variancia realizado para determinar el crecimiento de bacterias de *Lactobacillus bulgaricus* y *Lactobacillus helveticus* en medio QDA3 bajo un origen y tres fuentes de colonias bacterianas arrojó diferencia significativa entre los tratamientos al 1%. Se obtuvo un promedio general de crecimiento de 1.17 mg/ml con un coeficiente de variación del 22.56%. (CUADRO 25)

**CUADRO 25.- Análisis de Variancia del crecimiento de *Lactobacillus* en medio QDA3, bajo un origen y fuentes de colonias bacterianas.**

Fuentes de Variación	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F
TOTAL	14	4.04		
TRATAMIENTOS	(2)	3.20	1.60	22.83**
ERROR	12	0.84	0.07	
X(mg/ml)		1.17		
CV(%)		22.56		



Al comparar la totalidad de los tratamientos sobre el crecimiento de *Lactobacillus* en medio QDA3, se observó una diferencia significativa entre los tres tratamientos en estudio. T3 (QF3) presenta un crecimiento mayor con un promedio de 1.68 mg/ml seguido por T2 (QF2) con 1.27 y finalmente T1 (QF1) con el promedio más bajo de 0.56. (CUADRO 26)

El medio QDA es un medio selectivo para las fuentes que proceden del origen queso (Q), por lo que en éste el crecimiento de bacterias se ve favorecido. Las bacterias de la fuente (F1) tienden a crecer dentro de un medio de alto contenido graso, al realizar el medio QDA con un queso que tiene un contenido de grasa inferior, éstas se ven inhibidas ya que no cuentan con el aporte de grasa necesario para su crecimiento.

**CUADRO 26.- Efecto de los tratamientos sobre el crecimiento de *Lactobacillus* en el medio QDA3, Duncan al 5%.**

TRATAMIENTOS	CRECIMIENTO DE BACTERIAS	
T1 (QF1)	0.56	c
T2 (QF2)	1.27	b
T3 (QF3)	1.68	a

#### 4.1.3.4.- QDA4

Al realizar el análisis de variancia para determinar el crecimiento de bacterias en medio QDA4 bajo un origen y tres fuentes de colonias bacterianas se obtuvo una diferencia estadística de los tratamientos a nivel de 1%. Se obtuvo un promedio general de crecimiento de 1.14 mg/ml con un coeficiente de variación del 27.52%

**CUADRO 27.- Análisis de Variancia del crecimiento de *Lactobacillus* en medio QDA4, bajo un origen y fuentes de colonias bacterianas.**

Fuentes de Variación	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F
TOTAL	14	3.21		
TRATAMIENTOS	(2)	2.03	1.02	10.35**
ERROR	12	1.18	0.10	
X(mg/ml)			1.14	
CV(%)			27.52	

Se compararon los tratamientos sobre el crecimiento de *Lactobacillus* en medio QDA4, y se observó que T3(QF3) y T2(QF2) no presentan diferencias significativas entre ellos, con un promedio de 1.49 y 1.29 mg/ml, respectivamente. El tratamiento T1(QF1) presenta el promedio de crecimiento mas bajo y se diferencia estadísticamente de T3 y T2.

El medio selectivo fue realizado con el queso de la fuente (F2) y (F3), dando como resultado un crecimiento elevado ya que las bacterias podían desarrollarse normalmente y sin problemas por competencia dentro del medio.

**CUADRO 28.- Efecto de los tratamientos sobre el crecimiento de *Lactobacillus* en el medio QDA4, Duncan al 5%.**

TRATAMIENTOS	CRECIMIENTO DE BACTERIAS	
T1 (QF1)	0.63	b
T2 (QF2)	1.29	a
T3 (QF3)	1.49	a

#### **4.2.- ANALISIS DE SENSIBILIDAD DE LAS CARACTERÍSTICAS ORGANOLEPTICAS DE QUESO FRESCO Y ANDINO.-**

##### **4.2.1.- Análisis de sensibilidad de las características organolépticas de queso fresco.-**

##### **4.2.1.1.- COLOR**

Al establecer el análisis de variancia dentro de la prueba de sensibilidad para el color del queso fresco producido bajo la acción de medios y fuentes de colonias bacterianas, no se observó diferencia estadística en los degustadores mientras que en los tratamientos y grupos existe una diferencia significativa al 1%. Dentro de cada uno de los grupos, los tratamientos no se diferenciaron estadísticamente. Se obtuvo un valor promedio general de 3.99 con un coeficiente de variación del 31.84%. (CUADRO 29)

**CUADRO 29.- Análisis de Variancia del color del queso fresco bajo medios de cultivo y fuentes de colonias bacterianas.**

Fuentes de Variación	GL	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	F
TOTAL	129	236.80		
DEGUSTADORES	9	17.11	1.90	1.30 <sup>ns</sup>
TRATAMIENTOS	(12)	61.60	5.13	3.51 <sup>**</sup>
ENTRE GRUPOS	3	39.67	13.22	9.05 <sup>**</sup>
DG1	5	16.33	3.27	2.24 <sup>ns</sup>
DG2	2	3.20	1.60	1.09 <sup>ns</sup>
DG3	3	2.40	1.20	0.82 <sup>ns</sup>
ERROR	108	158.09	1.46	
X			3.99	
CV(%)			31.84	

Al comparar los medios de crecimiento se observó que los medios G2 (LDA) y G4 (Testigo) tienen un promedio de 4.60 que se acerca al color blanco normal y no presentan diferencias estadísticas entre ellos, mediante la prueba de Duncan al 5%. Los medios G1 y G3 son iguales estadísticamente pero tienen un promedio menor que se encuentra entre blanco amarillento a blanco y existe diferencia significativa frente a los primeros. (CUADRO 30)

Se pudo observar que el medio G2 (LDA), selectivo para las fuentes de origen de yogurt (Y) otorga la mejor calificación para la característica de color del queso fresco debido a que está realizado con leche, por lo que no altera las características propias de la leche al inocular en el queso.

**CUADRO 30.- Efecto del medio de crecimiento sobre el color del queso fresco, Duncan al 5%.**

GRUPOS	COLOR
G1(PDA)	3.57   b
G2(LDA)	4.60   a
G3(QDA)	3.20   b
G4(Testigo)	4.60   a

Se realizó una comparación de los tratamientos sobre el color del queso. El tratamiento T8 (LDA YF2) presenta el valor más alto de la escala otorgada a la característica color, con un valor de 5, y se encuentra ocupando el primer lugar del primer rango, mediante la prueba de Duncan al 5%. El valor más bajo corresponde al tratamiento T6 (PDA QF3) con 2.60 que se traduce en un color amarillento y se encuentra ocupando el último lugar en el último rango (CUADRO 31)

El medio PDA es un medio de crecimiento general, por lo que las bacterias no se desarrollan en grandes cantidades. Pese a que es un medio incoloro, las características del color del queso varían, pues al haber crecimiento de colonias el color del medio se altera y se vuelve amarillento.

**CUADRO 31.- Efecto de los tratamientos sobre el color del queso fresco, Duncan al 5%**

<b>TRATAMIENTOS</b>	<b>COLOR</b>	
T1(PDA YF1)	3.60	bcd
T2(PDA YF2)	4.00	abc
T3(PDA YF3)	4.00	abc
T4(PDA QF1)	3.20	cd
T5(PDA QF2)	4.00	abc
T6(PDA QF3)	2.60	d
T7(LDA YF1)	4.20	abc
T8(LDA YF2)	5.00	a
T9(LDA YF3)	4.60	ab
T10 (QDA QF1)	3.00	cd
T11 (QDA QF2)	3.60	bcd
T12 (QDA QF3)	3.00	cd
T13 TESTIGO	4.60	ab

#### **4.2.1.2.- OLOR**

Al realizar el análisis de variancia en la prueba de sensibilidad de olor para el queso fresco bajo el efecto de medios y fuentes de colonias bacterianas se observó que no existe diferencia significativa entre los degustadores; no así entre tratamientos y grupos que presentan una diferencia significativa al 5%. Existió una diferencia significativa del 5% dentro de los grupos 1 y 2. Dentro del grupo 3 se presentó una diferencia estadística

a nivel de 1%. Se obtuvo un valor promedio de 4.35 con un coeficiente de variación del 37.55%. (CUADRO 32)

**CUADRO 32.- Análisis de Variancia del olor del queso fresco bajo medios de cultivo y fuentes de colonias bacterianas.**

Fuentes de Variación	GL	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	F
TOTAL	129	339.97		
DEGUSTADORES	9	11.35	1.26	0.50 <sup>ns</sup>
TRATAMIENTOS	(12)	57.97	4.83	1.93*
ENTRE GRUPOS	3	25.10	8.37	3.33*
DG1	5	23.80	4.76	1.89*
DG2	2	5.60	2.80	1.12*
DG3	3	3.47	1.73	0.69**
ERROR	108	270.65	2.51	
X			4.35	
CV(%)			37.55	

Los medios muestran que el medio de crecimiento G2 (LDA) y G4 (Testigo) no presentan diferencias estadísticas, sin embargo G2 tiene un valor promedio de 4.40 que representa un olor perceptible a levemente perceptible, mientras que G4 tiene un valor de 5.20. Los medios G1 (PDA) y G3 (QDA) no presentan diferencias estadísticas entre ellos pero tienen un promedio menor y existe diferencia significativa únicamente frente a G4. (CUADRO 33)

El medio LDA es selectivo para las bacterias provenientes del origen yogurt (Y). El yogurt tiene en su composición bacterias cocoideas estáticas que brindan un aroma característico y agradable. Los quesos que fueron inoculados con las bacterias aisladas en LDA presentan el aroma más agradable.

**CUADRO 33.- Efecto del medio de crecimiento sobre el olor del queso fresco, Duncan al 5%**

GRUPOS	OLOR	
G1(PDA)	4.30	b
G2(LDA)	4.40	ab
G3(QDA)	3.53	b
G4(Testigo)	5.20	a

Se realizó una comparación total de tratamientos que mostró que el tratamiento T4 (PDA QF1) presenta el valor más alto con un valor de 5.40, es decir levemente perceptible, y no presenta diferencias estadísticas con el tratamiento T13 que tiene un valor de 5.20, mediante la prueba de Duncan al 5%. Únicamente presenta diferencias estadísticas con los tratamientos T5 (PDA QF2), T10 (QDA QF1) y T11 (QDA QF2), que presentan valores más bajos, y se encuentran ocupando los últimos lugares del último rango. El valor más bajo corresponde a T10 (QDA QF1) con un promedio de 3.20 que representa un olor perceptible. (CUADRO 34)

En cuanto al valor más alto obtenido dentro de esta comparación se debe destacar que la fuente (PDA QF1) no altera el olor del queso como lo hacen las otras fuentes en los diferentes medios. El medio PDA es inoloro y la fuente (F1) no cuenta con una cantidad considerable de microorganismos, como hongos, capaces de otorgar al queso un olor en particular.

**CUADRO 34.- Efecto de los tratamientos sobre el olor del queso fresco, Duncan al 5%.**

<b>TRATAMIENTOS</b>	<b>OLOR</b>	
T1(PDA YF1)	4.60	ab
T2(PDA YF2)	3.80	ab
T3(PDA YF3)	4.20	ab
T4(PDA QF1)	5.40	a
T5(PDA QF2)	3.40	b
T6(PDA QF3)	4.40	ab
T7(LDA YF1)	4.60	ab
T8(LDA YF2)	3.80	ab
T9(LDA YF3)	4.80	ab
T10 (QDA QF1)	3.20	b
T11 (QDA QF2)	3.40	b
T12 (QDA QF3)	4.00	ab
T13 TESTIGO	5.20	a

#### **4.2.1.3.- TEXTURA**

Al establecer el análisis de variancia en las pruebas de sensibilidad para determinar la textura del queso fresco bajo medios y fuentes de colonias bacterianas se observó una diferencia significativa de los degustadores al 1%, por el contrario los tratamientos, los

grupos y dentro de cada grupo, no presentaron diferencias estadísticas. Se obtuvo un valor promedio de 3.41 con un coeficiente de variación del 37.23%. (CUADRO 35)

**CUADRO 35.- Análisis de Variancia de la textura del queso fresco bajo medios de cultivo y fuentes de colonias bacterianas.**

Fuentes de Variación	GL	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	F
TOTAL	129	227.11		
DEGUSTADORES	9	36.34	4.04	2.74**
TRATAMIENTOS	(12)	31.51	2.63	1.78 <sup>ns</sup>
ENTRE GRUPOS	3	6.71	2.24	1.52 <sup>ns</sup>
DG1	5	15.73	3.15	2.14 <sup>ns</sup>
DG2	2	3.47	1.73	1.17 <sup>ns</sup>
DG3	3	5.60	2.80	1.90 <sup>ns</sup>
ERROR	108	159.26	1.47	
X			3.41	
CV(%)			37.23	

El medio G4 (Testigo) tiene el valor más alto de 4.00 que dentro de la escala se acerca a una textura dura y sin diferenciarse estadísticamente del resto de los grupos. (CUADRO 36)

**CUADRO 36.- Efecto del medio de crecimiento sobre la textura del queso fresco.**

GRUPOS	TEXTURA
G1(PDA)	3.13
G2(LDA)	3.33
G3(QDA)	3.20
G4(Testigo)	4.00

Sin embargo de no diferenciarse los tratamientos, el T13 (testigo) presenta el valor más alto equivalente a 4.00. El promedio más bajo corresponde a T3 (PDA YF3) con un valor de 2.40, que corresponde a una textura entre cremosa a blanda.

El testigo presenta mayor consistencia ya que los quesos con adición de bacterias se caracterizan por tener una textura más cremosa, especialmente debido a que en el proceso de elaboración la cuajada no es tan compacta como la del queso común.

**CUADRO 37.- Efecto de los tratamientos sobre la textura del queso fresco.**

TRATAMIENTOS	TEXTURA
T1(PDA YF1)	3.60
T2(PDA YF2)	3.80
T3(PDA YF3)	2.40
T4(PDA QF1)	2.60
T5(PDA QF2)	3.40
T6(PDA QF3)	3.00
T7(LDA YF1)	3.20
T8(LDA YF2)	3.80
T9(LDA YF3)	3.00
T10 (QDA QF1)	3.40
T11 (QDA QF2)	3.60
T12 (QDA QF3)	2.60
T13 TESTIGO	4.00

#### 4.2.1.4.- SABOR

El análisis de variancia en la prueba de sensibilidad para determinar el sabor del queso fresco mostró que los degustadores no presentan diferencia estadística. Los tratamientos son diferentes al 1%, mientras que los grupos únicamente lo son a nivel del 5%. Dentro del grupo 1 no existen diferencias significativas, mientras que dentro de los grupos 2 y 3 existe diferencia estadística al 1%. Se obtuvo un valor promedio de 3.02 con un coeficiente de variación del 48.09% (CUADRO 38)

**CUADRO 38.- Análisis de Variancia del sabor del queso fresco bajo medios de cultivo y fuentes de colonias bacterianas.**

Fuentes de Variación	GL	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	F
TOTAL	129	672.49		
DEGUSTADORES	9	14.65	1.63	0.42 <sup>ns</sup>
TRATAMIENTOS	(12)	236.49	19.71	5.05**
ENTRE GRUPOS	3	38.63	12.88	3.30*
DG1	5	44.00	8.80	2.26 <sup>ns</sup>
DG2	2	72.80	36.40	9.33**
DG3	3	81.07	40.53	10.39**
ERROR	108	421.35	3.90	
X			3.02	
CV(%)			48.09	



El medio G4 (Testigo) tiene el valor más alto de 5.80, el cual en la escala de valor corresponde a un sabor común a agradable y presenta diferencias estadísticas, con el resto de medios, mediante la prueba de Duncan al 5%. Éstos últimos presentan promedios inferiores al 4.41. (CUADRO 39)

**CUADRO 39.- Efecto del medio de crecimiento sobre el sabor del queso fresco, Duncan al 5%.**

<b>GRUPOS</b>	<b>SABOR</b>	
G1(PDA)	3.80	b
G2(LDA)	4.40	b
G3(QDA)	3.87	b
G4(Testigo)	5.80	a

Al comparar los tratamientos sobre el sabor del queso fresco se determinó que T8 (LDA YF2) presenta el valor más alto de 6.20, que se aproxima a una característica agradable en cuanto al sabor y junto a T11 (QDA QF2) y T13 (TESTIGO) y se encontraron compartiendo los primeros lugares del primer rango. Los valores más bajos corresponden a los tratamientos T7 (LDA YF1) y T10 (QDA QF1) que se encuentran ocupando los últimos lugares del cuarto y último rango con promedios de 2.40 y 2 respectivamente, correspondientes a un sabor insípido. (CUADRO 40)

Al usar medios selectivos hechos a base de queso y leche, el queso presenta un mejor sabor. El tratamiento (QDA QF2) otorga un sabor característico por la cantidad de microorganismos que viven en simbiosis con las bacterias lácticas; el medio contiene el mismo tipo de queso por lo que no hay una alteración del medio original en el que proliferan dichas bacterias. De igual manera sucede con el medio (LDA YF2), en el cuál no existen microorganismos simbióticos, sin embargo el medio de leche potencia el desarrollo de bacterias ácido lácticas.

**CUADRO 40.- Efecto de los tratamientos sobre el sabor del queso fresco, Duncan al 5%.**

<b>TRATAMIENTOS</b>	<b>SABOR</b>	
T1(PDA YF1)	3.00	cd
T2(PDA YF2)	5.20	ab
T3(PDA YF3)	3.80	bcd
T4(PDA QF1)	2.80	cd
T5(PDA QF2)	4.60	abc
T6(PDA QF3)	3.40	bcd
T7(LDA YF1)	2.40	d
T8(LDA YF2)	6.20	a
T9(LDA YF3)	4.60	abc
T10 (QDA QF1)	2.00	d
T11 (QDA QF2)	6.00	a
T12 (QDA QF3)	3.60	bcd
T13 TESTIGO	5.80	a

**4.2.2.- Análisis de sensibilidad de las características organolépticas de queso andino.-**

**4.2.2.1.- COLOR**

Se realizó un análisis de variancia en la prueba de sensibilidad para determinar el color del queso andino bajo medios y fuentes de colonias bacterianas el cual arrojó una diferencia estadística a nivel de 1 % únicamente en los degustadores. Los tratamientos, los grupos y dentro de cada grupo no presentaron diferencias significativas. Se obtuvo un valor promedio de 3.44 con un coeficiente de variación del 34.30%. (CUADRO 41)

**CUADRO 41.- Análisis de Variancia del color del queso andino bajo medios de cultivo y fuentes de colonias bacterianas.**

Fuentes de Variación	GL	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	F
TOTAL	129	226.49		
DEGUSTADORES	9	50.49	5.61	3.88**
TRATAMIENTOS	(12)	19.69	1.64	1.13 <sup>ns</sup>
ENTRE GRUPOS	3	1.23	0.41	0.28 <sup>ns</sup>
DG1	5	16.33	3.27	2.25 <sup>ns</sup>
DG2	2	0.27	0.13	0.09 <sup>ns</sup>
DG3	3	1.87	0.93	0.64 <sup>ns</sup>
ERROR	108	156.31	1.45	
X			3.44	
CV(%)			34.30	

Los medios de crecimiento no mostraron diferencias estadísticas y de esta manera manifiestan promedios no diferenciables, sin embargo el valor más alto corresponde al medio G1 (PDA) de 3.57, que corresponde a un color blanco amarillento y el medio G4 (Testigo) es el que presenta el valor mas bajo de 3.20.(CUADRO 42)

**CUADRO 42.- Efecto del medio de crecimiento sobre el color del queso andino.**

GRUPOS	COLOR
G1(PDA)	3.57
G2(LDA)	3.47
G3(QDA)	3.53
G4(Testigo)	3.20

Se realizó una comparación de todos los tratamientos sobre el color del queso la cuál determinó que éstos no presentan diferencias estadísticas entre ellos, por lo que sus valores promedios no son diferenciables. Sin embargo el valor más alto es de 4.20 y corresponde a los tratamientos T2 (PDA YF2) y T3 (PDA YF3), así mismo el valor más bajo corresponde a T4 (PDA QF1) y T5 (PDA QF2) equivalente a 3. (CUADRO 43)

El medio PDA no altera las características físicas, como el color, al realizar el aislamiento de bacterias, por lo que es el más adecuado al producir queso andino, ya que éste no es blanco en su totalidad como en el caso del queso fresco.

**CUADRO 43.- Efecto de los tratamientos sobre el color del queso andino.**

<b>TRATAMIENTOS</b>	<b>COLOR</b>
T1(PDA YF1)	3.80
T2(PDA YF2)	4.20
T3(PDA YF3)	4.20
T4(PDA QF1)	3.00
T5(PDA QF2)	3.00
T6(PDA QF3)	3.20
T7(LDA YF1)	3.40
T8(LDA YF2)	3.60
T9(LDA YF3)	3.40
T10 (QDA QF1)	3.20
T11 (QDA QF2)	3.80
T12 (QDA QF3)	3.60
T13 TESTIGO	3.20

#### 4.2.2.2.- OLOR

Al establecer el análisis de variancia de las pruebas de sensibilidad para determinar el color del queso andino bajo medios y fuentes de colonias bacterianas se obtuvieron diferencias significativas al 1% para los degustadores, los tratamientos y los grupos no mostraron diferencias significativas, así como el desglose respectivo. Se obtuvo un valor promedio de 4.83 con un coeficiente de variación del 30.77%. (CUADRO 44)

**CUADRO 44.- Análisis de Variancia del olor del queso andino bajo medios de cultivo y fuentes de colonias bacterianas.**

<b>Fuentes de Variación</b>	<b>GL</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>Cuadrado medio</b>	<b>F</b>
TOTAL	129	424.89		
DEGUSTADORES	9	181.82	20.20	9.63**
TRATAMIENTOS	(12)	16.49	1.37	0.66 <sup>ns</sup>
ENTRE GRUPOS	3	5.83	1.94	0.92 <sup>ns</sup>
DG1	5	5.33	1.07	0.50 <sup>ns</sup>
DG2	2	3.47	1.73	0.82 <sup>ns</sup>
DG3	3	1.87	0.93	0.44 <sup>ns</sup>
ERROR	108	226.58	2.10	
X			4.83	
CV(%)			30.77	

Los medios de crecimiento no presentan diferencias significativas entre ellos, sin embargo el valor más elevado corresponde a G4 (Testigo) con un promedio de 5.20, que en la escala se traduce en levemente perceptible. El valor más bajo corresponde al medio G1 (PDA) equivalente a 4.53. (CUADRO 45)

En el queso Andino se produce un fenómeno de maduración el cuál está a cargo de un sinnúmero de microorganismos presentes en el fermento que se adiciona en el queso. Al añadir el inóculo de bacterias procedentes del medio QDA, el proceso de maduración se acelera, debida a la alta concentración de microorganismos, otorgando al queso su olor característico.

**CUADRO 45.- Efecto del medio de crecimiento sobre el olor del queso andino.**

<b>GRUPOS</b>	<b>OLOR</b>	
G1(PDA)	4.53	
G2(LDA)	4.67	
G3(QDA)	4.93	
G4(Testigo)	5.20	

Se compararon los tratamientos sobre el olor del queso sin embargo no existen diferencias estadísticas entre ellos. T10 (QDA QF1) y T13 (TESTIGO) presentan el promedio más elevado de 5.20, levemente perceptible, mientras que el valor más bajo corresponde al tratamiento T4 (PDA QF1) y equivale a 4. (CUADRO 46)

La fuente (QF1) proveniente del medio PDA muestra los valores más bajos en cuanto al olor del queso debido a que tal fuente contiene gran cantidad de ácidos grasos, los cuales en el proceso de maduración hacen que el queso tenga un olor más fuerte.

**CUADRO 46.- Efecto de los tratamientos sobre el olor del queso andino.**

<b>TRATAMIENTOS</b>	<b>OLOR</b>	
T1(PDA YF1)	4.40	
T2(PDA YF2)	4.80	
T3(PDA YF3)	4.80	
T4(PDA QF1)	4.00	
T5(PDA QF2)	4.40	
T6(PDA QF3)	4.80	
T7(LDA YF1)	4.20	
T8(LDA YF2)	5.00	
T9(LDA YF3)	4.80	
T10 (QDA QF1)	5.20	
T11 (QDA QF2)	4.60	
T12 (QDA QF3)	5.00	
T13 TESTIGO	5.20	

#### 4.2.2.3.- TEXTURA

Se realizó un análisis de variancia en las pruebas de sensibilidad para determinar la textura del queso andino bajo medios y fuentes de colonias bacterianas. Los degustadores y los tratamientos no presentaron una diferencia significativa, así como los grupos. Dentro de los grupos 1 y 3 no se encontró diferencia significativa, mientras que en el grupo 2 existe significancia al 1%. Se obtuvo un valor promedio de 3.07 con un coeficiente de variación del 49.70%. (CUADRO 47)

**CUADRO 47.- Análisis de Variancia de la textura del queso andino bajo medios de cultivo y fuentes de colonias bacterianas.**

<b>Fuentes de Variación</b>	<b>GL</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>Cuadrado medio</b>	<b>F</b>
TOTAL	129	296		
DEGUSTADORES	9	13.54	1.50	0.68 <sup>ns</sup>
TRATAMIENTOS	(12)	42.40	3.53	1.59 <sup>ns</sup>
ENTRE GRUPOS	3	2.13	0.71	0.32 <sup>ns</sup>
DG1	5	13.60	2.72	1.23 <sup>ns</sup>
DG2	2	26.67	13.33	6.00 <sup>**</sup>
DG3	3	0	0	0 <sup>ns</sup>
ERROR	108	240.06	2.22	
X			3.07	
CV(%)			49.70	

El medio de crecimiento no refleja una diferencia estadística, sin embargo el valor más alto corresponde a G4 (testigo) con un promedio de 3.4, y el valor más bajo se registra en G2 (LDA) y equivale a 2.87, los cuáles corresponden dentro de la escala a textura blanda (CUADRO 48)

**CUADRO 48.- Efecto del medio de crecimiento sobre la textura del queso andino.**

<b>GRUPOS</b>	<b>TEXTURA</b>	
G1(PDA)	3.00	
G2(LDA)	2.87	
G3(QDA)	3.00	
G4(Testigo)	3.40	

Los promedios de la textura del queso andino para los tratamientos en estudio se presentan en el cuadro 49. Si bien no se diferencian estadísticamente, el mayor promedio fue de 4.20, correspondiente al T8 (LDA F2) y se encuentra ocupando el primer lugar en el primer rango, mediante la prueba de Duncan al 5%; y dentro de la escala de valor corresponde a una textura blanda; y el menor a T7 (LDA YF1) y T9 (LDA YF3) con promedios de 2.20, que se encuentran ocupando el tercer y último rango.

El medio LDA refleja valores opuestos en cuanto a la textura del queso andino. Esto se debe únicamente a las fuentes, ya que se comprobó que la fuente (YF2) es la más pura y no contiene contaminantes naturales. Las fuentes (YF1) y (YF3) tienen un alto contenido de levaduras que hacen que la cuajada sea menos uniforme y el queso presente una textura blanda.

**CUADRO 49.- Efecto de los tratamientos sobre la textura del queso andino, Duncan al 5%.**

<b>TRATAMIENTOS</b>	<b>TEXTURA</b>	
T1(PDA YF1)	2.40	
T2(PDA YF2)	3.80	
T3(PDA YF3)	2.60	
T4(PDA QF1)	2.80	
T5(PDA QF2)	3.40	
T6(PDA QF3)	3.00	
T7(LDA YF1)	2.20	
T8(LDA YF2)	4.20	

T9(LDA YF3)	2.20	
T10 (QDA QF1)	3.00	
T11 (QDA QF2)	3.00	
T12 (QDA QF3)	3.00	
T13 TESTIGO	3.40	

#### 4.2.2.4.- SABOR

Al establecer el análisis de variancia de la prueba de sensibilidad para determinar el sabor del queso andino bajo medios y fuentes de colonias bacterianas no se encontraron diferencias estadísticas entre degustadores. Los tratamientos mostraron una diferencia estadística al 1%. Al desglosar los tratamientos, los grupos se diferenciaron al 5%. En el grupo 1 y 2 no se encontraron diferencias estadísticas; dentro del grupo 3 existió una diferencia únicamente al 5%. Se obtuvo un valor promedio de 5.26 con un coeficiente de variación del 32.49%. (CUADRO 50)

#### CUADRO 50.- Análisis de Variancia del sabor del queso andino bajo medios de cultivo y fuentes de colonias bacterianas.

Fuentes de Variación	GL	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	F
TOTAL	129	534.03		
DEGUSTADORES	9	12.80	1.42	0.51 <sup>ns</sup>
TRATAMIENTOS	(12)	222.03	18.50	6.68**
ENTRE GRUPOS	3	14.23	4.74	1.71*
DG1	5	114.73	22.95	8.28 <sup>ns</sup>
DG2	2	72.80	36.40	13.14 <sup>ns</sup>
DG3	3	20.27	10.13	3.65*
ERROR	108	299.20	2.77	
X			5.26	
CV(%)			32.49	

El medio de crecimiento G4 (Testigo) presentó un promedio equivalente a 6.00, que corresponde en la escala de valor a un sabor común a agradable y se encontró ocupando el primer lugar del primer rango mediante la prueba de Duncan al 5%, mientras que G3 (QDA) presentó el valor más bajo correspondiente a 4.67, y se encuentra ocupando el último lugar del primer rango.(CUADRO 51)



**CUADRO 51.- Efecto del medio de crecimiento sobre el sabor del queso andino.**

<b>GRUPOS</b>	<b>SABOR</b>	
G1(PDA)	5.17	ab
G2(LDA)	5.20	ab
G3(QDA)	4.67	b
G4(Testigo)	6.00	a

Una vez comparados todos los tratamientos mediante la prueba de Duncan al 5% se determinó que el tratamiento T3 (PDA YF3) presenta el valor más alto con un promedio de 6.80, próximo a agradable y se encuentra ocupando el primer lugar del primer rango. Los valores más bajos corresponden a los tratamientos T7 (LDA YF1) y T4 (PDA QF1) con promedios de 3.00 y 2.80, y se encuentran ocupando los últimos lugares del tercer y último rango, dentro de la escala de valor corresponden a un sabor desagradable a insípido. (CUADRO 52)

Las fuentes que corresponden al origen yogurt, en medio PDA otorgan al queso un sabor característico gracias a la acción de las bacterias aromáticas cocoideas que contienen. Las fuentes (QF1) y (YF1) se mantienen como las de menor valor en cuanto al sabor ya que presentan ácidos grasos y contaminantes naturales, respectivamente.

**CUADRO 52.- Efecto de los tratamientos sobre el sabor del queso andino, Duncan al 5%**

<b>TRATAMIENTOS</b>	<b>SABOR</b>	
T1(PDA YF1)	4.20	def
T2(PDA YF2)	6.60	ab
T3(PDA YF3)	6.80	a
T4(PDA QF1)	2.80	f
T5(PDA QF2)	5.60	abcd
T6(PDA QF3)	5.00	bcde
T7(LDA YF1)	3.00	f
T8(LDA YF2)	6.20	abc
T9(LDA YF3)	6.40	abc
T10 (QDA QF1)	3.60	ef
T11 (QDA QF2)	5.60	abcd
T12 (QDA QF3)	4.80	cde
T13 TESTIGO	6.00	abc

#### **4.3.- ANALISIS BROMATOLOGICO DE QUESO FRESCO Y ANDINO.-**

##### **4.3.1.-Análisis Bromatológico de queso fresco.-**

##### **4.3.1.1.- QUESO TESTIGO.- (Anexo 4 y 6)**

Los resultados del análisis bromatológico arrojaron datos de contenido proteico de 14.95g/100g para el queso testigo, sin adición de bacterias, 20.18g/100g para el contenido de grasa y un valor de energía correspondiente a 241.4kcal/100g. La cantidad de carbohidratos del queso testigo es nula. (CUADRO 53)

##### **CUADRO 53.- Resultados del Análisis Bromatológico del queso fresco testigo.-**

<b>PARAMETROS</b>	<b>UNIDAD</b>	<b>RESULTADO</b>	<b>METODO</b>
<b>*Proteína (factor 6.38)</b>	<b>g/100 g</b>	<b>14.95</b>	<b>MAL-04</b>
<b>*Grasa</b>	<b>g/100 g</b>	<b>20.18</b>	<b>MAL-03</b>
<b>*Humedad</b>	<b>g/100 g</b>	<b>62.69</b>	<b>MAL-13</b>
<b>*Cenizas</b>	<b>g/100 g</b>	<b>2.18</b>	<b>MAL-02</b>
<b>Fibra</b>	<b>g/100 g</b>	<b>0.00</b>	<b>MAL-50</b>
<b>Carbohidratos</b>	<b>g/100 g</b>	<b>0.00</b>	<b>Cálculo</b>
<b>Energía</b>	<b>Kcal/100 g</b>	<b>241.4</b>	<b>Cálculo</b>
<b>Calcio</b>	<b>mg/ Kg</b>	<b>4598</b>	<b>Absorción atómica</b>

#### 4.3.1.2.-QUESO QDAQF3.- (Anexo 5 y 7)

El queso fresco (QDA E) presentó resultados de contenido proteico de 16.44g/100g, 14.52 g/100g de grasa y un valor energético equivalente a 219.6kcal/100g. Los resultados mostraron un contenido representativo de carbohidratos de 5.8g/100g y un aumento en el contenido en calcio. (CUADRO 54)

El queso con adición de probióticos mostró un contenido más elevado de proteínas, debido a que la acción de las bacterias se concentra en el complejo de caseinato de Calcio. La caseína se divide en tres tipos,  $\alpha$  caseína,  $\beta$  caseína y caseína  $\kappa$ , ésta última contiene la mayor cantidad de proteínas, que al reaccionar con el cuajo generalmente se pierden. Las bacterias ácido lácticas inoculadas actúan sobre la caseína  $\kappa$ , permitiendo que las proteínas no se eliminen en el suero y se queden en la cuajada. Así mismo, al haber un menor desdoblamiento de la caseína el contenido de calcio se incrementa ya que puede permanecer en mayor concentración en la cuajada.

El contenido de carbohidratos en un queso común es nulo ya que la lactosa se transforma en ácido láctico -como proceso natural en la elaboración del queso- y se elimina. En presencia de las bacterias probióticas la lactosa se desdobra en mínima cantidad y permanece como azúcar en el queso.

#### CUADRO 54.- Resultados del Análisis Bromatológico del queso fresco QDAQF3.-

PARAMETROS	UNIDAD	RESULTADO	METODO
<b>*Proteína (factor 6.38)</b>	<b>g/100 g</b>	<b>16.44</b>	<b>MAL-04</b>
<b>*Grasa</b>	<b>g/100 g</b>	<b>14.52</b>	<b>MAL-03</b>
<b>*Humedad</b>	<b>g/100 g</b>	<b>60.93</b>	<b>MAL-13</b>
<b>*Cenizas</b>	<b>g/100 g</b>	<b>2.31</b>	<b>MAL-02</b>
<b>Fibra</b>	<b>g/100 g</b>	<b>0.00</b>	<b>MAL-50</b>
<b>Carbohidratos</b>	<b>g/100 g</b>	<b>5.80</b>	<b>Cálculo</b>
<b>Energía</b>	<b>Kcal/100 g</b>	<b>219.6</b>	<b>Cálculo</b>
<b>Calcio</b>	<b>mg/ Kg</b>	<b>4690</b>	<b>Absorción atómica</b>

#### **4.3.2.- Análisis Bromatológico de queso Andino.-**

##### **4.3.2.1.- QUESO TESTIGO.- (Anexo 8)**

El análisis bromatológico del queso andino testigo mostró que contiene 25.78g/100g de proteína, 26.53g/100g y 346.29kcal/100g de energía. El contenido de carbohidratos es de 1.10%. (CUADRO 55)

##### **CUADRO 55.- Resultados del Análisis Bromatológico del queso andino testigo.-**

<b>PARAMETROS</b>	<b>UNIDAD</b>	<b>RESULTADO</b>	<b>METODO</b>
<b>*Proteína (factor 6.38)</b>	<b>g/100 g</b>	<b>25.78</b>	<b>AOAC 920.123</b>
<b>*Grasa</b>	<b>g/100 g</b>	<b>26.53</b>	<b>NTE INEN 64</b>
<b>*Humedad</b>	<b>g/100 g</b>	<b>43.67</b>	<b>NTE INEN 63</b>
<b>*Cenizas</b>	<b>g/100 g</b>	<b>2.92</b>	<b>NTE INEN 14</b>
<b>Carbohidratos totales</b>	<b>(%)</b>	<b>1.10</b>	<b>Cálculo</b>
<b>Energía</b>	<b>Kcal/100 g</b>	<b>346.29</b>	<b>Cálculo</b>

##### **4.3.2.2.- QUESO PDAQF3.- (Anexo 9)**

El queso andino (PDA E) presentó resultados de contenido proteico de 21.36g/100g, 25.66g/100g de grasa y un valor energético equivalente a 327.78kcal/100g. Los resultados mostraron un contenido de carbohidratos de 2.85g/100g. (CUADRO 56)

El contenido de proteínas no aumenta con la adición de bacterias como en el queso fresco ya que las bacterias probióticas en contacto con las bacterias propias del fermento que se añade para la elaboración de queso maduro, se encuentran en competencia por nutrientes, razón por la cuál el contenido de proteínas permanece constante.

En cuanto a la humedad, el queso testigo presenta valores inferiores a los del queso con bacterias probióticas. Esto se debe a que al haber un mayor número de bacterias en el medio (Queso) hay una mayor producción de ácido láctico, alcohol y CO<sub>2</sub>, productos que se obtienen del proceso normal de fermentación láctica. Al haber mayor humedad la vida útil del producto se reduce.

**CUADRO 56.- Resultados del Análisis Bromatológico del queso andino PDAQF3.-**

<b>PARAMETROS</b>	<b>UNIDAD</b>	<b>RESULTADO</b>	<b>METODO</b>
<b>*Proteína (factor 6.38)</b>	<b>g/100 g</b>	<b>21.36</b>	<b>AOAC 920.123</b>
<b>*Grasa</b>	<b>g/100 g</b>	<b>25.66</b>	<b>NTE INEN 64</b>
<b>*Humedad</b>	<b>g/100 g</b>	<b>47.39</b>	<b>NTE INEN 63</b>
<b>*Cenizas</b>	<b>g/100 g</b>	<b>2.74</b>	<b>NTE INEN 14</b>
<b>Carbohidratos totales</b>	<b>(%)</b>	<b>2.85</b>	<b>Cálculo</b>
<b>Energía</b>	<b>Kcal/100 g</b>	<b>327.78</b>	<b>Cálculo</b>

## V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- ❖ En términos generales, en las diferentes repeticiones de PDA el mayor crecimiento de bacterias se presentó en el origen yogurt (Y) debido a que esta fuente es más pura porque presenta menor cantidad de contaminantes.
- ❖ Cada una de las fuentes de queso manifestó una menor variación en las diferentes evaluaciones realizadas en PDA, no así las fuentes de yogurt que manifiestan cambios drásticos en las diferentes evaluaciones en el mismo medio. Esto posiblemente se debe a que las bacterias cuyo origen es el queso (Q) son menos susceptibles a contaminantes ambientales ya que provienen de un medio contaminado naturalmente por otros microorganismos característicos del queso.
- ❖ La fuente (F2) cuyo origen es yogurt (Y), siempre manifestó un mayor crecimiento de bacterias en las diferentes repeticiones de LDA, en relación a las fuentes (F1) y (F3), diferenciándose estadísticamente.
- ❖ En el medio QDA, en términos generales, el mayor crecimiento de bacterias se presentó en las fuentes (QF2) y (QF3), diferenciándose estadísticamente de la fuente (QF1). Esto se debe a que las bacterias ácido lácticas de la fuente (QF1) se desarrollan en un medio con un alto contenido de grasa, y al encontrarse en un medio deficiente no pueden crecer adecuadamente.
- ❖ Las fuentes (QF2) y (QF3) contienen una concentración significativa de *Lactobacillus* las cuáles le otorgan una característica en común: son quesos maduros con corteza consistente y seca, de la cuál es más simple aislar las bacterias.
- ❖ Dentro del análisis de sensibilidad del queso fresco, los degustadores manifestaron un criterio similar en la evaluación, en relación a las características organolépticas para del color sabor y olor, mientras que en la textura, los degustadores expresaron en forma diferencial, debido posiblemente a que esta prueba de sensibilidad se desconoce.

- ❖ En el caso del análisis de sensibilidad del queso andino, los degustadores evaluaron diferencias en cuanto a los parámetros de olor y color, sin embargo, existió un criterio de diferenciación en cuanto a las características de sabor y textura. Esto se explica ya que en nuestro medio, el consumo de queso semi-maduro, no es muy difundido y algunos degustadores no gustan de su sabor.
- ❖ Dentro del queso fresco los grupos G2 (LDA) y G4 (Testigo) manifestaron un color muy cercano al ideal, blanco normal, mientras QDA manifestó un color blanco amarillento.
- ❖ El tratamiento de mejor color del queso fresco constituyó el T8 (LDA YF2) pues el 100% de los degustadores lo definieron como un blanco normal.
- ❖ El queso (Testigo), sin adición de bacterias, manifestó un olor promedio de 5.20 que se encuentra entre levemente perceptible a imperceptible, mientras que el QDA en términos generales, manifiesta un olor perceptible.
- ❖ El queso T4 (PDA QF1) es el que más tiende a manifestar un olor imperceptible.
- ❖ El queso fresco (Testigo), sin adición de bacterias, es el único que tiende a presentar una textura más dura que el resto de quesos evaluados, mientras que algunos tratamientos con PDA (T3 y T4) tienden a una textura cremosa.
- ❖ Los únicos tratamientos que manifestaron un mejor sabor que el testigo fueron el T8 (LDA YF2) y el T11 (QDA QF2), mientras que T7 (LDA YF1) y T10 (QDA QF1) tienden a un sabor desagradable.
- ❖ Dentro del queso andino, el tratamiento T8 (LDA YF2) fue el único que para los degustadores presenta una textura tendiendo a ser dura, mientras que los quesos T7 (LDA YF1) y T9 (LDA YF3) tienden a manifestar una textura cremosa.

- ❖ El testigo, dentro del análisis de sensibilidad de queso andino, manifestó un sabor común, tendiendo a agradable, siendo superado únicamente por los tratamientos T2 (PDA YF2) y T3 (PDA YF3), que son los que más tienden a agradable.
- ❖ La adición de bacterias para la obtención de queso fresco aumenta el contenido de proteína del mismo en aproximadamente 1.5g/100g de queso. Además disminuye la cantidad de grasa en 5.66g/100g. Hay un leve incremento de cenizas y una disminución de la energía de 21.8kcal/100g. Se observa un incremento de calcio de 92mg/kg
- ❖ En la adición de bacterias para la obtención de queso andino el contenido de proteína del mismo es menor con un valor de 21.36 g/100g en relación al queso testigo que tiene 25.78 g/100g. Del mismo modo disminuye la cantidad de grasa en 0.87g/100g. Se observa un incremento de la energía de 18.51kcal/100g.

### **Recomendaciones**

- ❖ El queso de mayor agrado entre los degustadores es el que proviene de la fuente (F2) y (F3) cuyo origen es el yogurt, por lo que sería idóneo para introducir el producto en el mercado.
- ❖ Es recomendable la obtención de un cultivo madre de bacterias probióticas que permita standarizar los procesos de producción, permitiendo una mayor rentabilidad y eficiencia en los procesos. De este modo se podría añadir el inóculo como parte de una formulación para la fabricación de cualquier tipo de queso.
- ❖ Los costos iniciales de inversión que son elevados se verían amortizados por el hecho de ofrecer al mercado un producto nutritivo y funcional, que forma parte de una medicina preventiva, el cuál tendría una alta demanda por ser único en el mercado nacional.
- ❖ La seguridad alimentaria forma parte de las nuevas políticas mundiales de desarrollo, sobre todo en los países en vías de desarrollo, lo que les permitiría



brindar a la población alimentos en cantidad suficiente y aptos para su consumo y bienestar.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Alais, C. (1971) Ciencia de la leche: Principios de técnica quesera. 2ª edición. Editorial Continental. España. 594 pp.
2. Amato J. (1991) Ciencia y tecnología de la leche. Editorial Acribia, S.a. Zaragoza España. 547 pp.
3. Arispe, I., Manufacture of Venezuelan White Cheese. J. Food Sci. 49: 1005. 2000. Disponible en:  
<http://members.tripod.com/~cocinavzla/espanol/queso.html>
4. Buaman G, 1996. Disponible en:  
<http://www.monografias.com/trabajos38/yogurt/yogurt.shtml>
5. Chandra RK, Kumari S., Nutrition and immunity: an overview. J Nutr 1999;124:1433S-5S.
6. Dadvinson *et al*, 1979. Elaboración del queso. Artículo disponible en:  
[www.agroinformacion.com/leer-contenidos.aspx?articulo=542](http://www.agroinformacion.com/leer-contenidos.aspx?articulo=542)
7. Fuertes. A, 2001, Bacterias beneficiosas y bacterias indeseables, Artículo disponible en:  
[http://www.mifarmacia.es/contenido/articulos/articulo\\_n\\_probioticos.htm](http://www.mifarmacia.es/contenido/articulos/articulo_n_probioticos.htm)
8. Functional Food Science in Europe, 1998, disponible en:  
<http://www.eufic.org/article/es/page/BARCHIVE/expid/basics-alimentos-funcionales/>
9. Girard H y R. Rougieux (1964), Microbiología Agrícola
10. International Life Sciences Institute, 1999, disponible en:  
[http://www.hispacoop.es/web/es/alimentos\\_funcionales/](http://www.hispacoop.es/web/es/alimentos_funcionales/)
11. Marteau PR *et al*. *Protection from gastrointestinal diseases with the use of probiotics* Am J Clin Nutr 2001; 73 (suppl): 430 S-6 S
12. McGhee y col.; Murteau y Gabonau- Rothian, 2000 helper cells for mucosal immune responses. En: Ogra PL, Mestecky J, Lamm ME, y cols. (eds): *Handbook of mucosal immunology*. Academic Press, Orlando, Florida. 1992, 263-274.
13. Mori Nuñez, Carlos (1989) Estudio de la calidad de Yogurt Afianzado, bajo diferentes niveles de recombinación de la leche.
14. Nelson y Trout (1964), Generalidades sobre el queso. Artículo disponible en:  
[http://danival.org/9900queso/113\\_elaboracion.html1.1](http://danival.org/9900queso/113_elaboracion.html1.1)

15. Ortíz Maslloréns, F., *Iniciación a la inmunología*. Fundación Jiménez Díaz. 1998.
16. Paitan, N (1979) *Elaboración de Yogurt con Chirimoya, Guayaba y Mango*.
17. Penna FJ, *Diarrea y Probióticos*. Simposio sobre Utilidad de los probióticos en el manejo de las diarreas. *Revista de enfermedades infecciosas en pediatría*. 2000, Vol XI, número 6, p 182.
18. Redondo-López V, Cook RL, Sobel JD. Emerging role of lactobacilli in the control and maintenance of the bacterial microflora. *Rev Infect Dis* 1990; 12:856-872.
19. Rennet, 1983 disponible en:  
<http://www.tecnologiadelqueso.com/conocer/72002.php>
20. Roitt., I., *Inmunología*. Ediciones Científicas y Técnicas, S.A. SALVAT. 3<sup>ra</sup> Edición. 2000.
21. Sáez Pérez, 2007 Artículo disponible en:  
<http://es.wikipedia.org/wiki/Probi%C3%B3tico>
22. Sánchez, C. 2000. *Elaboración de quesos: fallas y posibles soluciones*. Artículo disponible en: [www.ceniap.gov.ve/publica/divulga/fd52/quesos.htm](http://www.ceniap.gov.ve/publica/divulga/fd52/quesos.htm)
23. Speere, E., 1979 *Lactología Industrial*, Editorial Zigma, pag 237.
24. Sobrado, L., 2005 *Prebióticos y probióticos: efectos e implicaciones en la fisiología de la nutrición*. Artículo de revisión original e inédito. Disponible en:  
<http://www.nutrar.com/detalle.asp?ID=2358&opin=1>
25. Stanton C.; Desmond, C.; Coakley, M.; Collins, J.K.; Fitzgerald, G.; Ross, R.P., *Challenges facing development of probiotic-containing functional foods*. In: FARNWORTH, E.R., ed. *Handbook of fermented functional foods*. Boca Raton: CRC Press, 1998. p.27-58.
26. Vargas, M., *Módulo de Tecnología de Productos Lácteos*, Marzo-Septiembre 2001, Nota de aula.
27. Walstra P. *et.al*, 2001 *Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos*. Editorial Acribia. Zaragoza España.

## ANEXOS

### Anexo 1.- Codex de queso Emmental

#### NORMA INTERNACIONAL INDIVIDUAL DEL CODEX PARA EL QUESO EMMENTAL

CODEX STAN C-9-1967

#### 1. DENOMINACIÓN DEL QUESO

Emmentaler, Emmental

#### 2. PAÍSES SOLICITANTES

Suiza (país de origen), Finlandia, Francia, Estados Unidos de América

#### 3. MATERIAS PRIMAS

3.1 CLASE DE LECHE UTILIZADA: leche de vaca

#### 3.2 ADICIONES AUTORIZADAS

##### 3.2.1 Adiciones necesarias

- cultivos de bacterias inocuas productoras de ácido láctico (fermentos lácticos) y de bacterias productoras de ácido propiónico
- cuajo u otras enzimas coagulantes adecuadas
- cloruro de sodio
- agua

##### 3.2.2 Adiciones facultativas

- cloruro de calcio, máx. 200 mg/kg de la leche utilizada
- sulfato cúprico, máx. 15 mg/kg de queso, expresados como cobre

#### 4. CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES DEL QUESO LISTO PARA EL CONSUMO

	4A (Rectangular redondeada)	4B (Bloque)	4C (Bloque sin corteza)
4.1 TIPO (CONSISTENCIA)	Queso duro	Queso duro	Queso duro
4.2 FORMA	Rectangular redondeada	Bloque rectangular	Bloque rectangular
4.3 DIMENSIONES Y PESOS			
4.3.1 <i>Altura</i>	12 a 30 cm	12 a 30 cm	12 a 30 cm
4.3.2 <i>Diámetro</i>	70 a 100 cm	-	-
4.3.3 <i>Peso</i>	min. 50 kg	min. 30 kg	min 30 kg
4.4 CORTEZA			
4.4.1 <i>Consistencia</i>	Dura	Dura	Dura
4.4.2 <i>Aspecto</i>	Seco	Seco	Como el interior
4.4.3 <i>Color</i>	Amarillo dorada a pardo	Amarillo dorada a pardo	Marfil a amarillo pálido
4.5 PASTA			
4.5.1 <i>Textura</i> : puede cortarse fácilmente			
4.5.2 <i>Color</i> : marfil a amarillo pálido			

#### **4.6 OJOS**

**4.6.1 Distribución:** regular, de unos pocos a abundantes

**4.6.2 Forma:** redonda

**4.6.3 Diámetro:** principalmente de 1.3 cm.

**4.6.3 Aspecto:** mate a brillante

**4.7 CONTENIDO MÍNIMO DE MATERIA GRASA EN EL EXTRACTO SECO:** 45%

**4.8 CONTENIDO MÁXIMO DE HUMEDAD:** 40%

**CONTENIDO MÍNIMO DE EXTRACTO SECO:** 60%

#### **4.9 OTRAS CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES**

**4.9.1 Sabor y aroma:** suave, parecido al de la nuez, más o menos pronunciado

**4.9.2 Listo para el consumo:** a los días como mínimo a contar desde el día de su fabricación

**4.9.3 Conservación:** normalmente, el queso deberá conservar sus características durante un más per lo menos a una temperatura de 15°C, a partir del momento en que está listo para el consumo.

#### **5. MÉTODO DE FABRICACIÓN**

**5.1 MÉTODO DE COAGULACIÓN:** cuajo u otras enzimas coagulantes adecuadas.

**5.2 TRATAMIENTO TÉRMICO:** después de cortar la cuajada en partículas del tamaño de los granos de trigo, se calienta a una temperatura mínima de 50°C.

**5.3 PROCEDIMIENTO DE FERMENTACIÓN:** fermentación láctica y fermentación propiónica en todo el queso a una temperatura mínima de 20°C, durante tres semanas por lo menos.

**5.4 PROCEDIMIENTO DE MADURACIÓN:** proteólisis debida a la acción de las enzimas microbianas, sometándose el queso a temperaturas sucesivas que oscilan entre 10 y 25°C.

**5.5 OTRAS CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES:** tratamiento con sal de cocina; los quesos se salan introduciéndolos en salmuera y/o salando su superficie en seco; durante la maduración, excepto en el caso de los bloques sin corteza, la superficie de los quesos se lava, limpia y sala a intervalos regulares.

## Anexo 2.- Codex de queso Gouda

### NORMA INTERNACIONAL INDIVIDUAL DEL CODEX PARA EL QUESO GOUDA

CODEX STAN C-5-1966

#### 1. DENOMINACIÓN DEL QUESO

Gouda<sup>1</sup>

#### 2. PAÍS SOLICITANTE

Los Países Bajos (país de origen)

#### 3. MATERIAS PRIMAS

##### 3.1 CLASE DE LECHE UTILIZADA: leche de vaca

##### 3.2 ADICIONES AUTORIZADAS

- cultivos de bacterias inocuas productoras de ácido láctico (fermentos lácticos)
- cuajo u otras enzimas coagulantes apropiadas
- cloruro de sodio
- agua
- cloruro de calcio, máx. 200 mg/kg de la leche utilizada
- bija (achiote)<sup>2</sup> y beta-caroteno, solos o mezclados, máx. 600 mg/kg de queso
- nitrato de sodio y de potasio, máx. 50 mg/kg de queso

#### 4. CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES DEL QUESO LISTO PARA EL CONSUMO

##### 4.1 TIPO (CONSISTENCIA): semi-duro

##### 4.2 FORMA:

- a) cilíndrica con lados convexos, formando una curva suave que une la superficie plana superior con la inferior; la relación altura/diámetro varía de 1/4 a 1/3
- b) bloque plano con lados cuadrados y/o rectangulares (cuando no sea rectangular) y con o sin corteza
- c) rectangular, la longitud del lado largo más del doble que la del lado más corto

*Aspecto:* seco o revestido de cera, o de una suspensión plástica o de una película de aceite vegetal.

*Color:* amarillento

#### PASTA

*Textura:* firme, que pueda cortarse

*Color:* color paja

#### OJOS

*Distribución:* de unos pocos a abundantes, distribuidos regular o irregularmente en todo el interior del queso

*Forma:* más o menos redonda

*Tamaño:* variable, del tamaño de la cabeza de un alfiler al de un guisante

*Aspecto:* no definido

**CONTENIDO MÍNIMO DE GRASA EN EL EXTRACTO SECO: 48%**

**CONTENIDO MÁXIMO DE HUMEDAD: 43%**

**CONTENIDO MÍNIMO DE EXTRACTO SECO: 57%**

**OTRAS CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES:** normalmente, el queso Gouda no se consume hasta que no tenga por lo menos cinco semanas de edad.

**CONTENIDO MÁXIMO DE HUMEDAD:** 45%

**CONTENIDO MÍNIMO DE EXTRACTO SECO:** 55%

**OTRAS CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES:** normalmente, el queso Gouda en miniatura no se consume hasta que no tenga tres semanas de edad.

#### **MÉTODOS DE FABRICACIÓN**

**MÉTODO DE COAGULACIÓN:** cuajo u otras enzimas coagulantes apropiadas

**TRATAMIENTO TÉRMICO:** la cuajada se calienta con o sin la ayuda de agua caliente

**PROCEDIMIENTO DE FERMENTACIÓN:** principalmente láctica

**PROCEDIMIENTO DE MADURACIÓN:** madura durante el almacenamiento a una temperatura que oscile preferiblemente entre 10° y 20°C

**OTRAS CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES:** se sala en salmuera, después de su fabricación.

**Anexo 3.-**

**ENCUESTA DE CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DE QUESO CON PROBIÓTICOS**

Tipo de queso: .....

**COLOR:**

Blanco normal	
Blanco amarillento	
Amarillo	

Otros.....

**OLOR:**

Imperceptible	
Levemente perceptible	
Perceptible	
Muy perceptible	

Otros.....

**TEXTURA:**

Dura	
Blanda	
Cremosa	

Otros.....

**SABOR:**

Desagradable	
Insípido	
Común	
Agradable	

Otros.....