

UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA

**ELABORACIÓN DE QUESO FRESCO PASTEURIZADO UTILIZANDO
BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS NATIVAS DEL DEPARTAMENTO DE
OLANCHO**

POR:

LUIS HUMBERTO URREA ORELLANA

TESIS



CATACAMAS, OLANCHO

HONDURAS, C.A.

DICIEMBRE, 2013

**ELABORACIÓN DE QUESO FRESCO PASTEURIZADO UTILIZANDO
BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS NATIVAS DEL DEPARTAMENTO DE
OLANCHO**

POR

LUIS HUMBERTO URREA ORELLANA

M. Sc. JUAN AMILCAR COLINDRES
Asesor Principal UNA

M. Sc. LOURDES ENRÍQUEZ DE MADRID
Asesor Adjunto UNAH

**TESIS PRESENTADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA COMO
REQUISITO PREVIO A LA OBTENCION DEL TITULO**

LICENCIADO EN TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

CATACAMAS, OLANCHO

HONDURAS, C.A.

DICIEMBRE, 2013

FICHA CARTOGRAFICA

Urrea L., Enríquez L., Amílcar C., Herrera R., Herrera, N; 2013 (**Elaboración de Queso Fresco Pasteurizado Utilizando Bacterias Acido Lácticas Nativas Del Departamento De Olancho**) Luis Humberto Urrea Orellana, Lourdes Enríquez de Madrid, Juan Amílcar Colindres, Ramón Antonio Herrera, Nelys Herrera Funes. 81 pág.

Nombre de los autores: Luis Humberto Urrea Orellana, Lourdes Enríquez de Madrid, Juan Amílcar Colindres, Ramón Herrera, Nelys Herrera Funes.

Disertación académica de licenciatura en tecnología alimentaria – UNA 2013.

DEDICATORIA

Dios primeramente y ante todo, Padre Celestial, por permitirme existir, darme vida, salud y fuerzas para lograr cumplir metas establecidas, por permitirme superar cada uno de los desafíos que se atraviesan en el camino, a ti que todo lo sabe que todo lo ve.

A mis padres María Juana Orellana Vásquez, Luis Humberto Urrea Chacón, por darme su apoyo en todo momento, por su ayuda incondicional, por enseñarme el camino que debo seguir, por amarme con mis defectos y virtudes, mis padres que me dieron la vida y me criaron, a ustedes con todo mi amor dedico este triunfo.

A mis hermanos y hermanas que estuvieron presentes apoyándome, Yesenia Urrea, Carolina Urrea, Abigail Urrea, David Urrea, los amo, a ustedes que creyeron en mí.

A familia en general, amigos, maestros y compañeros que me apoyaron, a ustedes que creyeron este triunfo realidad.

A la Universidad Nacional de Agricultura y toda la familia universitaria que lo conforma, al estado de Honduras por darme la educación necesaria para lograr culminar mi carrera de pre grado.

AGRADECIMIENTOS

A Dios padre, Jesús hijo y Espíritu Santo por permitirme culminar estos 4 años en la universidad, dar sabiduría y entendimiento cuando se necesitó.

A mis padres por darme su apoyo, guiándome por el camino correcto y corrigiendo mis errores y así seguir siempre adelante.

A mis asesores Juan Amílcar Colindres M. Sc., por su confianza y apoyo que me dio para la realización de este trabajo investigativo, sus asesorías y consejos siempre. A la Dra. Lourdes Enríquez de Madrid, por creer en mí, por brindarme sus conocimientos para el desarrollo de esta investigación.

A los que apoyaron al desarrollo mediante sus propios medios a Francisco Alemán que sus aportes fueron importantes para la culminación de este trabajo investigativo.

A la Universidad Nacional de Agricultura, por darme la oportunidad de formar parte de su gran familia Universitaria, y su formación brindada.

CONTENIDO

	Pág.
ACTA DE SUSTENTACION.....	i
FICHA CARTOGRAFICA	ii
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
CONTENIDO.....	v
LISTA DE CUADROS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE ANEXOS	xi
ABREVIATURAS	xii
RESUMEN.....	xiii
I. INTRODUCCION.....	1
II. OBJETIVOS	2
2.1 Objetivo General.....	2
2.2 Objetivos Específicos	2
III. MARCO TEORICO.....	3
3.1 Situación láctea en Honduras.....	3
3.1.1 Factores de la baja competitividad de la cadena agroalimentaria de leche y productos	3
3.1.2 Principales actores de la cadena agroalimentaria de leche y productos lácteos....	4

3.1.3 La intermediación o recolección de leche en Honduras se efectúa de la siguiente manera.....	5
3.1.4 Centros recolectores y de enfriamiento de leche (CREL).....	5
3.1.5 Tipología de las empresas	5
3.1.6 Los Parámetros establecidos en la ley fito zoosanitaria.....	7
3.2 Situación láctea para el departamento de Olancho	8
3.3 Leche.....	9
3.5 El Queso.....	10
3.5.3 Clasificación de los tipos de queso	11
3.6.1 Materia prima y estandarización	12
3.6.3 Inoculación y fermentación.....	13
3.6.4 La coagulación	13
3.6.5 Salado	14
3.6.6 Desuerado o escurrimiento.....	14
3.6.7 Moldeo y prensado	14
3.7 Análisis de acidez de queso	15
3.8 Microbiología de cultivos iniciadores.....	16
3.8.1 Taxonomía y características	16
3.8.2 Funciones	17
3.9 Clasificación de BAL.....	19
3.9.1 Según la fermentación de la lactosa las BAL se clasifican en	19
3.9.2 Según la temperatura ideal de crecimiento	19
3.9 Análisis Sensorial	20
3.9.1 Caracterización organoléptica de queso fresco.....	21
3.9.2 Quesos de coagulación acida.....	21

3.9.3 Quesos de coagulación enzimática.....	21
IV. MATERIALES Y METODOS.....	23
4.1 Descripción de la ubicación.....	23
4.2 Materiales.....	24
4.3 Equipos	24
4.3.1. Equipos para el aislamiento y la identificación de las BAL	24
4.3.2 Para la elaboración de queso Fresco a base de leche pasteurizada	25
4.4 Diseño de la prueba sensorial	25
4.1.1 Test de triangulación	25
4.1.2 Hipótesis:.....	26
4.1.3 Toma de muestra	26
4.1.4 Medios de cultivo	26
4.5 Metodología.....	27
4.5.1 Aislamiento	27
4.5.2 Tinción de Gram, morfologías celulares y coloniales.....	28
4.5.3 Reproducción de colonias de interes	28
4.6 Identificación	29
4.7 Conservación	29
4.8 Producción de queso fresco	29
4.8.1 Flujo de proceso para la producción	29
4.8.2 Descripción del proceso	30
V RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	33
5.1 Resultados microbiológicos.....	33
5.1.2 Recuento total de bacterias.....	33
5.1.3 Recuento de Coliformes Totales	34

5.1.4 Recuento Total de Bacterias Acido lácticas	36
5.1.5 Resultados de Tinción de Gram, Morfología colonial y celular	37
5.1.6 Resultados bioquímico de la prueba de catalasa	38
5.1.7 Resultado del comportamiento de las cepas en leche	39
5.1.8 resultado de comportamiento en tiempo de acidez de las BAL aisladas	40
5.2 Resultados en la producción de queso	41
5.3 Resultados obtenidos del análisis sensorial	43
VI CONCLUSIONES	45
VII RECOMENDACIONES	46
VIII BIBLIOGRAFIA	47
ANEXOS	50

LISTA DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1 Microorganismos y límites establecidos en leche pasteurizada.	8
Cuadro 2 Composición general de la leche de diferentes mamíferos.	10
Cuadro 3 Ejemplo de algunos quesos.	12
Cuadro 4 Resultados obtenidos del Agar P.C (plate count) a partir de la queso semi seco y queso fresco:	33
Cuadro 5 Resultados del Recuento Total de Coliformes del Agar MacConkey en queso fresco.....	35
Cuadro 6. Resultados del Recuento Total de Bacterias Acido Lácticas del Agar MRS a partir de queso fresco.....	36
Cuadro 7 Resultado de Tinción de Gram.....	38
Cuadro 8 Resultados de catalasa positiva	39
Cuadro 9 resultados de Coagulación de leche en 24 horas	39
Cuadro 10 Resultados obtenidos en el análisis sensorial	43

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 Flujo de proceso para la producción de queso fresco.	30
Figura 2. Gráfico de recuento total entre muestras de queso a una dilución de 10^{-6}	34
Figura 3 Gráfico de Coliformes Totales en las muestras a una dilución de 10^{-4}	35
Figura 4 Recuento total de Bacterias Acido lácticas a una dilución de 10^{-6}	37
Figura 5 Gráfico de comportamiento de la capacidad de acidificar en la leche	40
Figura 6 Movimiento de la acidez de la leche en el tiempo durante el proceso de	
incubación	42

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1 Algunos equipos para laboratorios de Bioseguridad.	51
Anexo 2 algunos equipos para la producción de queso.....	52
Anexo 3 Test de análisis sensorial, prueba de triangulación.....	53
Anexo 4 Tabla para el número máximo crítico de respuestas correctas en la prueba triangular de similitud.	55
Anexo 5 puntos de probabilidad superior de la distribución t del alumno.....	56
Anexo 6 Algunos medios de cultivo	57
Anexo 7 Preparación de medios de cultivo	58
Anexo 8 Reproducción cepas en leche.....	59
Anexo 9 Producción de queso.....	60
Anexo 10 Bitácoras de las Pruebas preliminares del proceso de elaboración de queso fresco.....	61

ABREVIATURAS

ALCOSA	Alimentos de Cortés, S. A. de C. V.
ANMAT	Alimentación Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología.
BAL	Bacterias Ácido Lácticas.
ETA	Enfermedades Trasmítidas por Alimentos.
FAO	Food and Agriculture Organization.
LACTHOSA	Lácteos de Honduras S.A.
LEYDE	Leche y derivados S.A.
MEIZ	Maestría en Enfermedades Infecciosas y Zoonóticas.
MRS	Man, Rogosa, Sharpe.
OIRSA	Organismo Internacional Regional de Salud Agropecuaria.
PASELO	Proyecto de Apoyo al Sub-Sector Lácteo de Olancho.
PROLACMON	Productos Lácteos Montecristo.
SENASA	Secretaría Nacional de Sanidad Alimentaria.
SAG	Secretaría de Agricultura y Ganadería.
UHT	Ultra High Temperature.
UNA	Universidad Nacional de Agricultura.
UNAH	Universidad Nacional Autónoma de Honduras.

Urrea L., 2010. Elaboración de queso fresco pasteurizado utilizando bacterias ácido lácticas nativas del departamento de Olancho. Tesis Tecnología Alimentaria, Catacamas, Olancho, Universidad Nacional de Agricultura. 81p.

RESUMEN

Este trabajo investigativo fue realizado en colaboración entre la Universidad Nacional Autónoma de Honduras (UNAH) y la Universidad Nacional de Agricultura de Honduras. Consistió en aislar y reproducir bacterias nativas del departamento de Olancho para desarrollar un queso pasteurizado con las mismas características organolépticas del queso fresco no pasteurizado olanchano.

La investigación se realizó en tres etapas, en primer lugar se hicieron análisis microbiológicos a muestras de quesos obtenidas en plantas lácteas de Olancho, que han sido reconocidas como productoras de queso de alta calidad organoléptica. Los análisis realizados fueron Conteos Totales de Bacterias, Conteos de Coliformes Totales, Conteo Total de Bacterias Ácido Lácticas, Prueba de Tinción de Gram, Prueba Catalasa, Morfología Colonial y Celular y Prueba de Coagulación.

La segunda etapa consistió en la determinación, de los parámetros productivos acidez, salinidad y tiempos para el proceso de elaboración de un queso fresco pasteurizado, inoculando las bacterias nativas aisladas en condiciones tecnológicas similares en las que se produce los quesos artesanales en esta zona.

En la tercera etapa se realizó una evaluación sensorial, mediante una prueba de triangulación en la cual se evaluó la similitud entre el queso pasteurizado inoculando las bacterias ácido lácticas nativas de Olancho y el queso producido de manera artesanal en la zona.

Los resultados muestran que con el 95% confianza, $n= 36$, $\beta= 0.05$, y $Pd= 0.30$ (ver anexo 2 y 3); el resultado se encuentra en la región de aceptación de la prueba de similitud, con una proporción verdadera de la población que puede distinguir las muestras no mayor que 11%, aceptando así la H_0 que no hay diferencia entre las muestras.

Palabras claves: Aislamiento, Microbiología, Elaboración de queso, Bacterias ácido lácticas, evaluación sensoria.

I. INTRODUCCION

La elaboración de productos lácteos se puede distinguir en dos sectores, los que producen de forma industrial y los que producen de forma artesanal. Los productos de origen artesanal tienen un gran mercado nacional, sin embargo, las plantas donde se producen siguen escasas normas y procedimientos que aseguren la inocuidad de los derivados, limitando así la exportación legal de estos productos hacia otros países y generando problemas de salud en la población Hondureña.

Para lograr expandir y abrir el mercado internacional y asegurar la inocuidad de los productos lácteos de la región, es necesario el cumplimiento de normas nacionales e internacionales ya establecidas, entre ellas conteos microbianos que aseguran la salud de la población en general. Para ello se requiere el desarrollo de productos lácteos con leche pasteurizada e inoculada con iniciadores microbianos nativos de la zona, con el fin de asegurar la inocuidad y las características organolépticas de los productos de la región.

Este trabajo de investigación consistió en la búsqueda de soluciones tecnológicas para producir un queso fresco artesanal pasteurizado con bacterias nativas de Olancho, con ello se puede acceder a mercados nacionales selectos como el de los supermercados, hoteles y servicios turísticos, así como el mercado de exportación de productos nostálgicos en Estados Unidos, Canadá, México, España u otros países donde hay colonias de hondureños. Para el logro de este objetivo se hace necesario continuar investigando los mejores métodos de preservación y comercialización estas cepas de bacterias nativas.

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

- Elaborar un queso fresco pasteurizado utilizando bacterias ácido lácticas nativas del departamento de Olancho que proporcionan características organolépticas de esta zona.

2.2 Objetivos Específicos

- Aislar y reproducir bacterias ácido lácticas nativas del departamento de Olancho para la producción de quesos frescos pasteurizados.
- Desarrollar un protocolo de proceso de queso fresco pasteurizado, inoculando las bacterias ácido lácticas nativas para que le den las características organolépticas del queso fresco que se produce en el departamento de Olancho.
- Evaluar sensorialmente mediante una prueba de triangulación, la similitud entre un queso fresco pasteurizado inoculado con bacterias ácido lácticas nativas, frente a un queso fresco no pasteurizado artesanal producido en Olancho.

III. MARCO TEORICO

3.1 Situación láctea en Honduras

Según datos de la última Encuesta Agrícola Nacional del año 2007-2008, realizada por el INE y boletines posteriores, en Honduras existen alrededor de 68,918 explotaciones, equivalentes al 71.3% del total de explotaciones bovinas, con orientación a la producción de leche.

La producción de leche apenas alcanza alrededor de 1.8 millones de litros diarios en la temporada seca, durante la época de lluvia la producción de leche se incrementa a 2.5 millones por día, debido a que la productividad pasa de 3.8 litros/vaca/día a 4.4 litros/día/vaca. Con base a esos datos se puede estimar que la producción anual de leche asciende a aproximadamente 720.0 millones de litros por año (OIRSA, 2005).

3.1.1 Factores de la baja competitividad de la cadena agroalimentaria de leche y productos lácteos establecidos por OIRSA 2005

- a.** la gran mayoría de los productores alimentan su ganado en pasturas naturales, sin hacer un manejo adecuado de las mismas y en muy pocos casos se utiliza ensilaje o heno.
- b.** La baja productividad de la actividad ganadera se debe en parte al uso de sistemas extensivos con baja rotación de potreros.

- c. Prácticas inadecuadas de manejo animal y al deficiente uso de suplementos y sales minerales.
- d. Falta de aplicación de planes sanitarios dirigidos a prevenir la entrada y diseminación de enfermedades zoonóticas, condición necesaria para lograr el reconocimiento sanitario de las autoridades de otros países o regiones.
- e. Baja calidad de la leche debido a problemas de higiene e inocuidad.
- f. Carencia de un sistema de registro único para la identificación eficiente de animales y de sus propietarios, para que sea ejecutado y supervisado por una autoridad competente.
- g. Bajos índices productivos y reproductivos del hato.
- h. Acentuada inseguridad ciudadana, social (el abigeato) y jurídica en el país que resulta en bajos niveles de inversión y financiamiento agrícola.
- i. Falta de aplicación de medidas de regulación sanitaria (salud animal).

3.1.2 Principales actores de la cadena agroalimentaria de leche y productos lácteos según ORISA 2005 son los siguientes

- Productores
- Intermediarios/recolectores de leche
- Centros de recolección y enfriamiento de leche (CREL's)
- Plantas lácteas industriales
- Plantas lácteas artesanales
- Distribuidores mayoristas y minoristas
- Consumidores

3.1.3 La intermediación o recolección de leche en Honduras se efectúa de la siguiente manera

- Las plantas industriales: recogen la leche en fincas y centros de recolección, aplicando descuentos en el precio de compra en función de la distancia de la explotación a la planta y del volumen de entrega.
- Las plantas artesanales: recogen la leche en fincas y centros de recolección, con base a un precio acordado previamente y que incluye descuentos para compensar gastos de transporte.
- Productores directamente: a las plantas procesadoras, a sus centros de acopio, utilizando yogos de aluminio o de plástico.
- Por medio de un servicio privado de recolección: donde el productor paga por el servicio y recibe el pago de la empresa procesadora, con base a un precio acordado con anticipación. Tanto en el circuito industrial como artesanal de comercialización de la leche están presentes los intermediarios.

3.1.4 Centros recolectores y de enfriamiento de leche (CREL)

Desde finales de la década de los noventa, en Honduras han venido funcionando 129 centros recolectores y de enfriamiento de leche, los cuales funcionan gracias a la organización de 2,746 productores de leche en 129 empresas mercantiles. Estos centros están estratégicamente ubicados en los doce departamentos más productores del país y han contribuido a mejorar las técnicas de producción y calidad de la leche. Cuentan con equipo de enfriamiento y algunos con medios de transporte adecuados para la entrega de la leche a las plantas industriales con base a precios que cuentan con premio por calidad (OIRSA 2005).

3.1.5 Tipología de las empresas

Según OIRSA 2005 Plantas lácteas industriales, hasta el año 2010, en Honduras operaban nueve plantas industriales de productos lácteos:

- Lácteos de Honduras, S.A (LACTHOSA), dedicada a la producción de leche fluida, leches saborizadas, quesos procesados y madurados, yogurt, cremas y leche en polvo y que además cuenta con centros de recolección en varias zonas del país.
- Leche y Derivados, S.A. (LEYDE), dedicada a la producción de leche fluida, leches saborizadas, quesos, quesillos y cremas y también cuenta con un centro de recolección en su zona de influencia.
- Lácteos Hondita S. de R. L., dedicada a la producción de quesos procesados y madurados destinados principalmente para exportación.
- Alimentos de Cortés, S. A. de C. V. (ALCOSA), dedicada a la producción y distribución de leche fluida y crema.
- Heladera Hondureña, S. A., dedicada principalmente a la producción de helados y en menor proporción crema.
- Productos Lácteos Montecristo (PROLACMON), especializados en la producción de crema industrial para otras procesadoras artesanales.
- Lácteos Ledezma, especializada en la producción de queso, crema y quesillo.
- Lácteos Río Grande, S. A., dedicada a la producción de leche fluida para el mercado local.
- Lácteos Zamorano, planta que opera con fines de enseñanza que produce leche fluida, leche saborizada, quesos procesados, yogurt, crema y helado, los cuales son vendidos al público en general.

Estas plantas forman parte del circuito industrial o formal de la producción de leche, están certificadas e inspeccionadas por el SENASA de la Secretaría de Agricultura y Ganadería (SAG). Además, seis de ellas están certificadas para exportar y destinan parte de su producción al mercado regional y extra-regional (OIRSA 2005).

Las plantas lácteas artesanales también conocido como el circuito informal, el cual está conformado por alrededor de 472 plantas artesanales que se encuentran distribuidas en todo el país, pero con mayores niveles de presencia y concentración en las principales zonas de producción de leche como la región nororiental, central y la del litoral Atlántico. Estas plantas operan a menor escala que las industriales, realizando sus actividades productivas de manera artesanal con limitaciones de equipo, especialmente las más pequeñas (OIRSA 2005).

Según datos obtenidos mediante encuesta de línea de base de procesadores artesanales de leche por Pym rural en 2009, estas plantas procesan alrededor de 590,000 litros diarios de leche, para un total anual de 215.0 millones de litros, cantidad inferior en 25.0 millones a la procesada por las plantas industriales (OIRSA 2005).

3.1.6 Los parámetros establecidos en la ley fito-zoosanitaria

La Secretaría de Agricultura y Ganadería (SAG), a través del Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria (SENASA) Según el artículo 8 y 9 que corresponde al capítulo IV de la leche y productos lácteos en la Ley Fito Zoosanitaria (SENASA-SAG 2005).

El artículo 8 dice que El Laboratorio Nacional de Análisis de Residuos (LANAR) es la Institución de Referencia de la SAG para verificar la calidad e Inocuidad de la Leche y los Productos Lácteos y El Laboratorio del Departamento de Control de Alimentos de la Secretaría de Salud para los aspectos microbiológicos, fisicoquímicos y bromatológicos (SENASA-SAG 2005).

El artículo 9 corresponde a los Parámetros microbiológicos aceptables en leche y en productos lácteos, son los siguientes (SENASA-SAG 2005).

Cuadro 1 Microorganismos y límites establecidos en leche pasteurizada y quesos.

<u>MICROORGANISMOS</u> Valor aceptable	<u>PRODUCTO LECHE</u> <u>Pasteurizada</u>		
Coliformes totales (UFC/ml)	10		
Recuento total de bacterias (UFC/ml)	10, 000		
Mohos y levaduras	Negativo		
<i>Listeria monocitogenes</i>	Negativo		
Fosfatasa	Negativo		
Coliformes fecales (UFC/ml)	Ausente		
	Frescos	madurados	Procesados
Mohos y levaduras (UFC/g)	500	500	100
<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)	1000	100	< 100
Aerobios totales (UFC/g)	10, 000	10, 000	10, 000
<i>Listeria monocitogenes</i>	Negativo	Negativo	Negativo
<i>Salmonella</i> en 25 g	Negativo	Negativo	Negativo
Fosfatasa residual (UF/g)	< 12	< 12	< 12
Coliformes totales (UFC/g)	10	10	10
Coliformes fecales (UFC/g)	Ausente	Ausente	Ausente

3.2 Situación láctea para el departamento de Olancho

Durante los últimos años han existido varios intentos de reactivar al sub-sector lácteo de Olancho, empleando diferentes estrategias que en cierta medida han resultado incompletas. Esto debido a la magnitud de la problemática, la cual engloba problemas de tipo económico, técnico, político y cultural que requiere de esfuerzos sistemáticos, de voluntad política, grandes recursos y de la comprensión de las relaciones de colaboración y conflicto entre los actores de la cadena, dentro del nuevo escenario del libre comercio (PASELO. 2004).

En el 2004 surge el proyecto PASELO que está enfocado a mejorar la inocuidad de los productos lácteos artesanales de Olancho mediante la capacitación y asistencia técnica de los actores que participan en la cadena, en los aspectos de las Buenas Prácticas de Ordeño y Manufactura y utilizando metodologías de Análisis Social y Producción más Limpia (PASELO 2004).

3.3 Leche

La leche es una secreción natural de la glándula mamaria de los animales mamíferos, se trata de un alimento completo procedente del ordeño de los animales domésticos. Se define a la leche como producto íntegro, no alterado ni adulterado y sin calostro del ordeño, regular, complejo e interrumpido de las vacas sanas y bien alimentadas (Pascual, A; *et. al.* 1999).

Se entiende por leche la proveniente, de especies Bovina, Caprina, Ovina, o Bufina. Cuando no exista una referencia específica de la especie, entendiéndose como leche bovina (ANMAT. 2006).

3.3.1 Criterios nutricionales

La leche contiene casi todos los elementos nutricionales necesarios para el crecimiento de los mamíferos recién nacidos. Un litro de leche de vaca contiene aproximadamente 50 g de lactosa, 32 g de proteínas y 40 g de grasa. El potencial energético de un litro de leche entera, semi-descremada o desnatada es de 2.720 Kj, 2.090 Kj, 1.460 kJ, respectivamente (Mahaut *et. al.* 2004).

Cuadro 2 Composición general de la leche de diferentes mamíferos en g. 100 g⁻¹ de leche.

MNT: materias nitrogenadas totales, EST: extracto seco total. (Mahaut, M. *et. al.* 2004)

Leche	EST	MNT	Proteínas	Caseínas	Urea	MG	Lactosa	Cenizas
Mujer	12,6	-	1,6-1,2	0,5-0,8	-	3,75	6-7	0,21
Vaca	13,0	3,9	3,2	2,8	0,014	3,9	4-6	0,9
Oveja	18,4	5,5	5,5	4,5	0,035	7,19	4,7	0,9
Cabra	-	2,8	2,8	3,3	0,0385	3,38	4,4-4,7	0,5-0,8
Yegua	-	2,0	2,0	-	-	-	-	0,4
Camella	12,4	3,0	3,0	-	-	3,3	3,3	0,7

3.5 El Queso

Se entiende por queso el producto seco que se obtiene por la separación parcial del suero de la leche o leche reconstituida (entera, parcial o totalmente descremada), o de sueros lácteos, coagulados por la acción física, del cuajo, de enzimas específicas, de bacterias específicas, de ácidos orgánicos, solos o combinados, todos de calidad apta para uso alimentario. Con o sin el agregado de sustancias alimenticias, especias, condimentos, aditivos, sustancias aromatizantes y materiales colorantes (ANMAT 2006).

Por otra parte el Codex Alimentarius 2010. Simplifica que se entiende por queso el producto blando, semiduro, duro y extra duro, madurado o no madurado, y que puede estar recubierto, en el que la proporción entre las proteínas de suero y la caseína no sea superior a la de la leche.

3.5.1 Origen del queso

La fabricación del queso se produjo de forma accidental: antiguamente, se utilizaban los estómagos de cabras y ovejas para trasportar la leche y, durante el transporte, la leche se cuajaba y se separaba en una fracción líquida (suero) y otra sólida (queso).

Sin conocer el origen aquellos cambios, la gente descubrió que era un alimento de buen sabor. En la actualidad, se sabe que esa transformación de leche en queso se debió a varios factores: la presencia de microorganismos, la temperatura en que era transportada y, principalmente la presencia de la enzima llamada renina o quimosina. La enzima se encuentra en el estómago de los terneros, las cabras y las ovejas por lo que la leche se cuajaba cuando era colocada en estos recipientes (Hernández *et. al.* 2003).

No se sabe exactamente la fecha exacta en la que se fabricó el queso por primera vez, aunque se han encontrado recipientes para su fabricación, en Egipto, que fueron utilizados mil años antes de cristo. A mediados del siglo XIX, su elaboración se extendió a todas las granjas de Europa (Hernández *et. al.* 2003).

3.5.2 El queso en la actualidad

Hoy, es una industria de grandes proporciones a nivel mundial y se fabrican muchas variedades de queso. Se conocen en todo el mundo más de dos mil nombres de quesos. Sin embargo; en realidad, hay menos de cincuenta tipos diferentes. Los distintos nombres que se le asignen a los quesos dependen del lugar de fabricación, de ligeras modificaciones en el proceso de fabricación o incluso, de la presentación de los quesos (tamaño y forma) y de método de conservación (Hernández *et. al.* 2003).

3.5.3 Clasificación de los tipos de queso

Según Chamorro y Losada (2002) existen varias maneras de clasificar los tipos de queso algunas de ellas son:

- Clasificación según el tipo de leche.
- Clasificación dependiendo del tipo de coagulación.
- Clasificación según su textura.

- Clasificación según su región o país.
- Clasificación según su tecnología.

Una clasificación muy general se fundamenta en si los quesos, después de obtenidos, han sido o no a un proceso de fermentación (maduración) con microorganismo. En esta clasificación se denominan quesos madurados o quesos frescos.

Queso fresco: se entiende por queso fresco el que está listo para el consumo poco después de su fabricación.

Queso madurado: se entiende por queso madurado el que ha experimentado los cambios bioquímicos y físicos necesarios y característicos de variedad de queso. (Hernández *et. al* 2003).

Cuadro 3 Ejemplo de algunos quesos.

Ejemplo de algunos Quesos	
Quesos madurados	Quesos fresco
Parmesano	Queso crema
Cheddar	Ricota
Suizo	Requesón
Gruyere	Requesón

3.6 Desarrollo de la producción de queso

3.6.1 Materia prima y estandarización

La mayoría de quesos se elaboran a partir de leche de vaca; sin embargo, también se utilizan leche de Cabra, Oveja, Bufala, Camella y Yegua. La composición de la leche depende de algunos factores, como la raza del animal, la hora de ordeño, el periodo de lactancia, época del año y el tipo de alimentación del animal, por lo que debe ser estandarizada antes de iniciar

el proceso. Generalmente, se ajustan los contenidos de grasa y proteínas para que cumplan con los requerimientos mínimos de las normas vigentes. El contenido de proteínas se complementa añadiendo caseinatos (Hernández; *et. al* 2003).

3.6.2 Pasteurización

La pasteurización brinda tanto ventajas como desventajas en el proceso de elaboración del queso. La leche debe ser sometida a un tratamiento térmico, antes de ser procesada, para eliminar los microorganismos patógenos y facilitar el desarrollo del cultivo láctico; sin embargo, este tratamiento reduce, el poder de coagulación de la leche e induce la precipitación de las proteínas, lo que puede causar problemas en el desuerado. Para disminuir al máximo los inconvenientes, se recomienda reducir el tratamiento térmico: realizarlo a una temperatura entre 62 y 65 °C, durante un tiempo de entre quince y veinte segundos (Hernández; *et. al* 2003).

3.6.3 Inoculación y fermentación

La adición de cultivos lácticos o iniciadores durante esta etapa tiene como finalidad producir ácido láctico para acidificar la leche. La presencia de ácido favorece la coagulación de la leche cuando se adiciona la renina e influye en la leche en la textura, el aroma y la vida útil de los quesos. El cultivo iniciador se agrega depende el tipo de queso que se va elaborar (Hernández; *et. al* 2003).

3.6.4 La coagulación

La coagulación de la leche consiste en la desestabilización o desnaturalización de las proteínas de la leche. Se puede realizar de dos formas que son: la coagulación acida que ocurre por la acumulación de ácido láctico producido por la fermentación, la coagulación enzimática que se lleva a cabo mediante la adición de un conjunto de enzimas, denominado cuajo común, extraído generalmente del estómago de los terneros (Hernández; *et. al* 2003).

Antes de adicionar el cuajo, es conveniente ajustar la temperatura de la leche entre 30 y 40 °C, intervalo óptimo de actividad de enzimas. Una vez agregado el cuajo se deja en reposo por un periodo de veinte a treinta minutos, que es el tiempo requerido para la coagulación (Hernández; *et. al* 2003).

3.6.5 Salado

El salado tiene varias funciones: proporcionar sabor al producto, evitar la proliferación de microorganismos, ayudar al desuerado y contribuir a la formación de la corteza del queso. En el proceso, se utiliza sal cristalizada o salmueras de diferentes concentraciones de acuerdo al tipo de queso (Hernández; *et. al* 2003).

3.6.6 Desuerado o escurrimiento

Una vez la leche ha cuajado, se debe cortar la cuajada. Primero se hacen cortes de forma vertical y luego de forma horizontal hasta que la cuajada queda convertida en cubos pequeños. Este procedimiento ayuda a eliminar el suero, por el aumento que se logra en la superficie. Además del corte de la cuajada, otros factores que contribuyen al desuerado son el aumento de la temperatura y la agitación (Hernández; *et. al* 2003).

3.6.7 Moldeo y prensado

El moldeo tiene como finalidad dar forma al queso y ayudar a que los gránulos de la cuajada se aglomeren. Los moldes pueden ser redondos, cuadrados, cilíndricos o alargados. El prensado se realiza para endurecer la masa de queso y eliminar el exceso de suero. Generalmente el moldeo y el prensado se ejecutan utilizando el mismo equipo, pues los moldes tienen dispositivos que ejercen presión sobre el queso. La presión que se ejerce y el tiempo de aplicación dependen del tipo de queso (Hernández; *et. al* 2003).

Si se elaboran quesos blandos o semi- blando no es necesario aplicar presión, pues es suficiente con la que provoca el peso del queso. Este procedimiento se conoce como auto prensado y puede durar hasta veinticuatro horas. Cuando se va producir un queso de consistencia más dura, se utilizan las prensas neumáticas; al usarlas, se debe controlar la presión que se ejerce, pues si es muy alta se pueden romper los gránulos en lugar de endurecer la masa de queso (Hernández; *et. al* 2003).

3.7 Análisis de acidez de queso

Según Gonzales R., 2010. La determinación de acides en queso se realiza de la siguiente manera:

Con una muestra 10 gramos de queso finamente molidos. En un frasco volumétrico de 100 ml, añadiendo agua destilada a 40° C hasta alcanzar 100 ml. La mezcla se agita vigorosamente, se filtra la solución con una pipeta se toman 50 ml del filtrado, esta cantidad corresponde a 5 g de la muestra.

Se llena una bureta con una solución de hidróxido de sodio 0.1 N. Se toma la lectura de la cantidad de la solución de la bureta, se colocó en un frasco Erlenmeyer 5 g de la muestra en forma de solución, luego se adiciona 5 gotas de fenolftaleína al 1 % como indicador, se adiciona gota por gota la solución de hidróxido de sodio, al mismo tiempo se agitara el Erlenmeyer con la muestra lentamente, cuando aparezca el color rosa, se sigue agitando el frasco durante 15 segundos para ver si el color permanece. En caso necesario, se adiciono cada vez una gota extra del hidróxido de sodio (NaOH) cuando el color permanece por 15 segundos, se termina la titulación.

Se toma la lectura en la bureta y se calcula la cantidad de hidróxido de sodio usada para neutralizar la acidez de la muestra.

La acidez del producto También puede ser expresada como el porcentaje de peso del ácido que se encuentra en la muestra. El cálculo de la acidez titulable se efectúa mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Acidez} = \frac{A \times B \times C}{D} \times 100$$

En donde:

A = cantidad en mililitros del álcali o sosa usada.

B = normalidad de la sosa usada

C = peso equivalente expresado en gramos del ácido predominante en el producto (Ácido láctico).

D = peso de la muestra en miligramos

3.8 Microbiología de cultivos iniciadores

Las BAL desempeñan un papel muy importante en los procesos de fermentación; son muy utilizadas en la industria alimentaria, no solamente por su habilidad por acidificar y por lo tanto preservar alimentos de las esporas, si no también su implicación en la textura, sabor, olor y desarrollo de aroma de alimentos fermentados (Parra R, 2010).

Las BAL vivas pueden estar contenidas en un grupo de microorganismos llamados cultivos lácticos o iniciadores, se emplean en la industria para la elaboración de leches fermentadas, quesos, mantequilla y otros productos que para su obtención requieren ser fermentados (Parra R, 2010).

3.8.1 Taxonomía y características

La acidificación de BAL fue iniciada 1919 por Orla Jensen, comprende un diverso grupo de organismos Gran-positivos, de no motilidad, en forma de cocos y carencia de catalasa.

Son cocos y bacilos de longitud variable y de un grosor de 0.5-0.8 μm . se trata de un grupo de bacterias fisiológicamente uniforme, de pared Gran-positiva, son aerobios facultativos, catalasa negativa y no formadora de esporas. Carecen de actividad respiratoria porque les falta una enzima (citocromo catalasa), contiene un grupo hemo, que les permite poner en marcha la cadena respiratoria con el oxígeno como aceptor de electrones (Parra R, 2010).

A pesar de su metabolismo anaerobio, son anaerobios tolerantes y en los medios de cultivo sólidos forman colonias en presencia de aire. Diferentes factores afectan el crecimiento, entre los más importantes está la temperatura. Existe una temperatura óptima a la cual la velocidad de crecimiento es más alta y depende de las características del microorganismo utilizado, como también de las condiciones ambientales; la mayoría de las especies necesitan aminoácidos y vitaminas del grupo B (lactoflavina, tiamina, biotina, ácido nicotínico, ácido pantoténico, ácido fólico y varios aminoácidos (Parra R, 2010).

Son quimoorganotrofos y solamente crecen en medios complejos. Carbohidratos fermentables y alcoholes pueden ser utilizados como fuentes de energía para formar principalmente ácido láctico, a través de la degradación de la hexosa a lactato (homofermentativas) y productoras adicionales como acetato, etanol, CO_2 , formato succinato (heterofermentativas) (Parra R, 2010).

3.8.2 Funciones

Las funciones en la tecnología de productos alimenticios de las BAL son: formación de sabor ácido, inhibición de organismos patógenos, gelificación de la leche, reducción del contenido de lactosa, formación de aroma, producción de gas requerida para la formación de "ojos" en los quesos, proteólisis requerida en la maduración de los quesos, también han sido muy utilizadas como pro-bióticos (Parra R, 2010).

Las BAL producen pequeñas cantidades de acetaldehído y diacetilo por la fermentación de citratos, otorgando sabor y aroma agradable. Además producen dióxido de carbono, que van a formar los ojos de algunos quesos y el carácter espumoso de algunas leches fermentadas. La actividad lipolítica y proteolítica tiene influencia en la formación de compuestos de sabor y aroma típicos de variedades de quesos madurados, como son los ácidos grasos libres y transformaciones enzimáticas de algunos aminoácidos produciendo amoníaco, ácidos orgánicos (ácido acético, ácido propiónico, ácido isobutírico) y dióxido de carbono (Parra R, 2010).

La primera y principal función de las BAL es la formación de ácidos orgánicos, principalmente ácido láctico a una velocidad conveniente para asegurar una fermentación consistente y exitosa. El ácido láctico puede ser obtenido a través de la fermentación de la lactosa, que da un sabor ácido fresco en leches fermentadas, mejora cuerpo y textura en los quesos e inhibe, en parte, el desarrollo de flora contaminante y patógena. Además, aseguran la calidad y uniformidad del producto final y en varios casos al valor nutricional de productos alimenticios. Poseen actividades proteolíticas y lipolíticas, especialmente durante la maduración de los quesos (Parra R, 2010).

Formación de sabores y olores por las BAL, la mayoría de las BAL tiene solamente una habilidad limitada para sintetizar aminoácidos de nuevo. Para este crecimiento en leche, las BAL, son completamente dependientes del sistema proteolítico al degradar parcialmente caseínas y generar aminoácidos libres y, especialmente, péptidos libres. Estos péptidos son además hidrolizados a aminoácidos por la acción combinada de peptidasas. Durante este proceso en el queso, un número de péptidos amargos son formados como intermedios y degradados de nuevo, con un directo impacto en el sabor y olor de queso. Un amplio rango de componentes de sabor y olor pueden ser producidos como resultado de la conversión de aminoácidos como metionina, leucina y fenilamina (Parra R, 2010).

3.9 Clasificación de BAL

Las BAL pertenecen al *Phylum Firmicutes* que comprende alrededor de 20 géneros: *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *enterococcus*, *Oenococcus*, *tetragenococcus*, *Vagococcus* y *Weissella* son los principales miembros de las BAL, siendo *Lactobacillus* es el más grande de estos géneros (Parra R, 2010)

El tipo y característica de los organismos iniciadores que son utilizados en la producción de leches fermentadas, son los dos más importantes factores de determinación de la calidad del producto final. El criterio esencial para la selección de iniciadores incluye acidificación, aroma, sabor, estabilidad y textura. Estos pueden clasificar de varias maneras, dependiendo su forma, temperatura de crecimiento, funciones etc. (Parra R, 2010).

3.9.1 Según la fermentación de la lactosa las BAL se clasifican en

Homofermentativas: compuesto de *Lactococcus*, *Pediococcus* y *Streptococcus*, convierten 1 mol de glucosa en dos moles de ácido láctico, además que se produce más del 85% de ácido láctico a partir de glucosa (Parra R, 2010).

Heterofermentativas: compuesto por los generos *Lactococcus*, *Lactobacillios*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* y *Pediococcus*. Fermentan 1 mol de glucosa para formar 1 mol de ácido láctico, 1 mol de etanol y 1 mol de CO₂. 1 mol de ATP es generado por 1 mol de glucosa. Producen solamente el 50 % de ácido láctico (Parra R, 2010).

3.9.2 Según la temperatura ideal de crecimiento

Mesófitas: temperatura ideal de incubación 20-25 °C, volumen de cultivo líquido 1-2%, tiempo de incubación: 18-20 horas acidez final 0.8% de ácido láctico.

Especies: *Lactococcus lactis subs lactis*, *Lactococcus lactis subs cremoris*, *Lactococcus lactis*, *biovariedad diacelactis*, *Leuconostoc mesenteroides subs cremoris* (Parra R, 2010).

Termófilas: temperatura ideal de incubación 40-45 °C, volumen de cultivo líquido 2-3%, tiempo de incubación: 2-4 horas, acidez final 0.9% de ácido, Especies: *láctico Lactobacilos delbruekii subsp bulgaricus*, *Lactobacilos lactis*, *Lactobacilos helveticus*, *Lactobacilos acidophilus*, *Lactobacilos casei*, *Lactobacilos plantarum*, *Streptococos salivarius subsp thermophilus* (Parra R, 2010).

3.9 Análisis Sensorial

Las pruebas triangulares consisten en presentar al juez dos muestras iguales y una diferente, con el objetivo de que sea reconocida justamente cual es la muestra diferente. Es una prueba muy sencilla, fácil de realizar y brinda objetividad en los resultados. La condición más importante para que sea utilizada correctamente es que las muestras que se analizan sean idénticas en todas sus características, excepto en el atributo que se vaya a evaluar (Espinoza 2007).

Por ejemplo si se quiere seleccionar jueces por su habilidad en el sabor, han de controlarse muy bien las demás propiedades, esto es color, textura, olor, o por el contrario se precisa enmascarar las variaciones que pudieran presentarse empleando por ejemplo, iluminación coloreada, trituración de la muestra, etc. El número de pruebas para hacer una selección correcta no está determinado, pues depende fundamentalmente de los objetivos que se persiga lograr con los catadores seleccionados. La selección de los jueces a partir de los resultados obtenidos de una serie de pruebas triangulares efectuadas con soluciones de sustancias químicas conocidas (Espinoza 2007).

3.9.1 Caracterización organoléptica de queso fresco

Según (Chamorro y Losada 2002) El queso sin maduración o frescos, independientemente de cómo haya sido su coagulación (ácida o enzimática), el tipo de leche empleada (vaca, oveja, cabra o sus mezclas) y si es desnatada o enriquecida, etc. Presentan unas características organolépticas muy parecidas en cuanto a la apariencia, pero en lo referente a la textura y a las características olfato- gustativas habrá grandes diferencias entre puramente ácidos y los totalmente enzimáticos. En los quesos de coagulación mixta, la diferencia entre ellos se acortan, aunque siempre predominan las características ácidas o las enzimáticas, según el tipo de queso.

3.9.2 Quesos de coagulación ácida

- **Apariencia:** sin corteza.
- **Color** blanco.
- **Textura:** pasta o masa continua y homogénea, untuosa, muy húmeda o granulada. corta, friable.
- **Olor:** de la familia de olores láctico, a cuajada fresca, a leche acidificada.
- **Sensación táctil en la boca:** húmedos, a veces algo granulados.
- **Aroma:** de la familia de aromas láctico, cuajada fresca, a leche acidificada.
- **Sabor:** ácido, algo dulce.
- **Sensaciones trigeminales:** a veces algo astringente, refrescantes en ocasiones.

3.9.3 Quesos de coagulación enzimática

- **Apariencia:** sin corteza definida (fina y rugosa).
- **Color:** blanco según el tipo de leche y tecnología empleada.
- **Textura:** pasta cerrada compacta, a veces oquedades de tipo mecánico, gelatinosa o gomosa, húmeda, algo elástica.

- **Sensación táctil (mano):** húmedo y algo elástico.
- **Olor:** de la familia de olores láctico, a cuajada fresca.
- **Sensación táctil en la boca:** húmedos, a veces algo granuloso.
- **Aroma:** de la familia de aromas láctico, cuajada fresca.
- **Sabor:** ácido, algo dulce.
- **Sensaciones trigeminales:** a veces algo astringente, refrescantes en ocasiones.

IV. MATERIALES Y METODOS

4.1 Descripción de la ubicación

El presente trabajo de investigación se realizó en tres etapas, en la primera fue los análisis microbiológicos y aislamiento de BAL en la escuela de Microbiología, en el laboratorio Teasdale-Corti, de la Maestría en Enfermedades Infecciosas y Zoonóticas (MEIZ), ubicada en el edificio de las Ciencias Biológicas de la UNAH. Tegucigalpa, Francisco Morazán.

En la segunda y tercera etapa se desarrollaron un protocolo de producción de queso fresco pasteurizado inoculándole las BAL nativas de Olancho y una evaluación sensorial, para evaluar la similitud del queso fabricado con bacterias nativas versus el queso fresco artesanal sin pasteurizar, respectivamente. Estas dos etapas posteriores se ejecutaron en las instalaciones de la Universidad Nacional de Agricultura, localizada en el municipio de Catacamas 83°53 longitud oeste y 14°51 longitud en el departamento de Olancho, a 450 metros sobre el nivel del mar y 215 km carretera que conduce al municipio de Dulce nombre de Culmi.

La precipitación anual promedio alcanza los 1,343.3mm de los cuales el 88% se registran en los meses lluviosos. Según la clasificación bioclimática de Holdridge, el clima corresponde al de bosque seco tropical, que colinda al norte con los municipios de Gualaco, San Esteban, Dulce Nombre de Culmí y con la República de Nicaragua; al oeste con los municipios de San Francisco de Becerra, Santa María del real y Juticalpa.

La procedencia de las muestras de queso y crema obtenidas para la identificación y aislamiento de bacterias lácticas nativas, así como la leche de donde se obtuvo la crema no pasteurizada utilizada en este trabajo de investigación, procedía de las aldeas de la colonia agrícola, la sosa, gualiqueme, el coyote y las agujas, mismas que están dentro de las condiciones climatológicas del bosque tropical seco descrito.

4.2 Materiales

- De uso personal: Gabacha, Redecilla.
- Laboratorio: Cristalería de laboratorio, Mascarilla, Guantes estériles, Placas con agar, Porta Objetos, Asas, Gradillas, algodón, puntas para pipetas, pipeta, mechero, papel toalla, alcohol al 72%, agua destilada, reactivos (identificación de BAL).
- Elaboración de queso: leche, cuajo, NaCl, termómetro, paleta de acero inoxidable, colador, lira de acero inoxidable, Mesón de acero inoxidable.
- Análisis sensorial: vasos desechables, palillos de madera, platos desechables, cuchillo de acero inoxidable, agua purificada, galletas simples, papel toalla, papel bon, lápiz carbón, calculadora.

4.3 Equipos

4.3.1. Equipos para el aislamiento y la identificación de las BAL

Equipo de Laboratorio de Nivel de Bioseguridad II. Cámara de flujo laminar, incinerador, incubadora con CO₂, autoclave, placa de calentamiento con agitación, destilador, balanza analítica, microscopio, cámara de extracción de gases, vortex para agitación de tubos, dos refrigeradores uno para material limpio y otro para material sucio (Ver anexo 2).

4.3.2 Para la elaboración de queso Fresco a base de leche pasteurizada

Pasteurizador ARMFIELD HTST/UHT FT74TP, tina quesera de investigación marca CHEESE VAT ARMFIELD FT20-Mkl, descremadora baño maría digital VWR SCIENTIFIC modelo 1235 WHATER BATH, balanza analítica OHAUS modelo VOYAGER - PRO, TURBO MIXER LW Scientific modelo TM - 1000 autoclave ALL AMERICSAN 25X- 1, horno esterilizador VWR SCIENTIFIC modelo 1350 FM FORCED HIR OVEN, destilador de agua, potenciómetro OAKTON ION 510, incubadora JEIO TECH - ON 12 G, refrigeradora de incubación DBO 100, prensas de acero inoxidable. (Ver anexo 1)

4.4 Diseño de la prueba sensorial

La evaluación sensorial se realizó mediante un test de triangulación para similitud, el cual tiene como objetivo evaluar la similitud entre el queso elaborado con leche pasteurizada con inoculación de bacterias ácido lácticas nativas de Olancho versus el queso no pasteurizado olanchano. Para la evaluación sensorial se condujo una prueba de 36 respuestas mediante el uso de 12 jueces con entrenamiento básico que asistieron a 3 sesiones consecutivas.

Para la evaluación sensorial se decidió arbitrariamente establecer un valor β al 5 % ($\beta = 0.05$), relativo a la hipótesis alternativa que la proporción verdadera de la población capaz de detectar una diferencia entre las muestras es al menos 30% ($P_d = 0.030$). Significa que se quiso estar 95% seguros que no más de 30 % de la población puede detectar diferencias entre las muestras (Ver anexos 3) (Meilgaard, M. *et. al.*1991).

4.1.1 Test de triangulación

El punto superior final del intervalo de confianza es calculado de la siguiente forma:

$$P. \text{ Max. (95\%)} = [1.5 (x/n) - 0.5] + Z\beta\sqrt{(2.25(x/n)(1-x/n)/36)}$$

En donde:

x = es el número de respuestas correctas observadas (ver anexo 4).

n = es el número de respuestas (ver anexos 4).

z_{β} = es el punto percentil superior $100 \times \beta$ de la distribución normal (anexos 5).

4.1.2 Hipótesis:

H_0 : no hay diferencia entre las muestras de queso.

H_a : si existe diferencia entre las muestras de queso.

4.1.3 Toma de muestra

Las muestras se recolectaron de plantas procesadoras de lácteos en Olancho, tomando como referencia la investigación realizada por Martínez E. 2010, donde se identifican los quesos de mayor preferencia en la región. Las muestras fueron trasladadas al laboratorio de Microbiología de la MEIZ en la escuela de Microbiología de la Universidad Nacional Autónoma de Honduras UNAH en Tegucigalpa, Francisco Morazán, siguiendo procedimientos estándar para la toma, rotulación y conservación de las muestras.

4.1.4 Medios de cultivo

Para el aislamiento e identificación de bacterias fue necesario la utilización de medios enriquecidos de diferentes tipos, tales como medio selectivo para bacterias ácido-lácticas Agar MRS, y medios enriquecidos como ser Agar Columbia, Agar Soya Tripticasa y algunos caldos para la activación o reproducción y conservación de bacterias tales como Caldo Soya Tripticasa, Agua Peptonada y Leche (Ver anexos 6).

4.5 Metodología

4.5.1 Aislamiento

Para la identificación de bacterias, al igual que la investigación realizada por Martínez E. 2010, fue necesario obtener aislamiento por colonias específicas a través de diferentes técnicas y medios selectivos. Se utilizaron las técnicas de vaciado en placa, siembra en superficie o estría en superficie y el aislamiento el método de flobisher en los medios selectivos y diferenciales.

De las muestras de queso seleccionadas se tomaran 10 gramos de cada muestra. Estas fueron cortadas en pequeños pedazos para, luego vestirlas en 90 mililitros (ml) de una solución de caldo MRS al 2% de peptona, se mezclaron para obtener una distribución uniforme de la muestra en el caldo MRS (dilución 10^1). Se procedió a realizar las soluciones seriadas en tubos de ensayos contenientes de 9 ml de caldo MRS al 2% de peptona, agregando 1 ml de cada dilución hasta llegar a la dilución 10^8 .

Se utilizó la técnica de vaciado en placa para el medio Agar Plate Count, (recuento total de bacterias) tomando 1 ml de cada dilución vertiéndolo en placas Petri estériles por duplicado. Al momento de cubrir la dilución con el Agar se mesclo bien para tratar de hacer una distribución de la muestra en toda superficie interna de la placa antes de que el medio solidificara. Una vez que el medio solidifico las placas Petri fueron llevadas a incubación por 24 horas en una atmosfera con 5-10% CO_2 , a 29-37 °C.

Para la técnica de siembra en superficie con los medios Agar MacConkey (recuento de coliformes totales) y Agar MRS (medio selectivo para bacterias acido lácticas) se realizó vaciando el medio Agar en las placas Petri estériles dejando que solidifiquen, luego se realiza la siembra tomando una azada de cada dilución, la siembra se realizó por duplicado. Después las placas Petri fueron llevadas a incubación por 24 horas en una atmosfera con 5-10% CO_2 , a 29-37 °C.

Después de 24 horas de incubación se procedió a hacer el recuento total de bacterias. Las colonias características a BAL se aislaron por la técnica Frobisher y posteriormente se realizó la coloración de Gram correspondiente a los géneros de interés *Lactococcus* y *Bacillus*.

4.5.2 Tinción de Gram, morfologías celulares y coloniales

La coloración de Gram es un tipo de tinción diferencial que se emplea en el aislamiento mediante la visualización de las bacterias a través de la pared celular.

El procedimiento inicia con la colocación del frotis en el puente de coloración, luego se cubren los frotis con Cristal Violeta durante un minuto, se lavan con agua del grifo para eliminar el exceso de colorante. Luego se cubre con Lugol durante un minuto, seguidamente se lava con agua para eliminar el exceso de Lugol. A continuación se aplica gota a gota Alcohol Cetona, se lava inmediatamente con agua del grifo. Después de esto se cubre el frotis con Safranina durante 30 segundos, seguidamente se lava con agua del grifo. Por último se dejan secar los frotis para luego ver en el microscopio.

La técnica de tinción tiene como finalidad crear un contraste entre la célula y el medio que la rodea, ayuda a realizar una identificación preliminar de las bacterias que se aíslan de las muestras de queso fresco.

4.5.3 Reproducción de colonias de interés

Una vez identificadas las colonias de interés se utilizó el método de Frobisher para su reproducción, en el cual se usa Agar MRS y Agar enriquecido Columbia Gelosa sangre. El método consiste en vaciar el medio Agar en las placas Petri estériles dejando que se solidifiquen para hacerles una prueba de esterilidad incubando las placas durante 24 horas en una atmósfera con 5-10% CO₂, a 29-37 °C. Una vez finalizada la prueba de esterilidad se procedió a la siembra, para lo cual se toma un azada de las colonias de interés obtenidas y se

siembra en las placas con Agar MRS. Después las placas se llevaron a incubación por 24 horas en una atmosfera con 5-10% CO₂, a 29-37 °C.

4.6 Identificación

Una vez seleccionados los cultivos característicos de BAL con morfología celular de cocos, se procedió a la identificación mediante la técnica de API 20 STREP que permite la identificación de los *Streptococos*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* y *Enterococcus*.

4.7 Conservación

Las cepas pertenecientes a los géneros de interés aisladas y clasificadas, por su morfología colonial y celular, fueron sembradas en caldo MRS, e incubadas por 24 horas en una atmósfera con 5-10 % CO₂, a 35-37 ° C. luego se inocularon 10 ml del cultivo a 300 ml de leche descremada UHT para su transporte a temperatura ambiente a el laboratorio de microbiología de la UNA. La reproducción de las bacterias se llevó a cabo por medio de el mismo procedimiento cada cinco días se depositaran 10 ml de cultivo a 300 ml de leche descremada UHT (Anexo 8).

4.8 Producción de queso fresco

4.8.1 Flujo de proceso para la producción

El flujo de proceso para la producción de queso fresco pasteurizado inoculando cultivos iniciadores de bacterias ácido lácticas nativas del departamento de Olancho, se realizó de la siguiente manera:

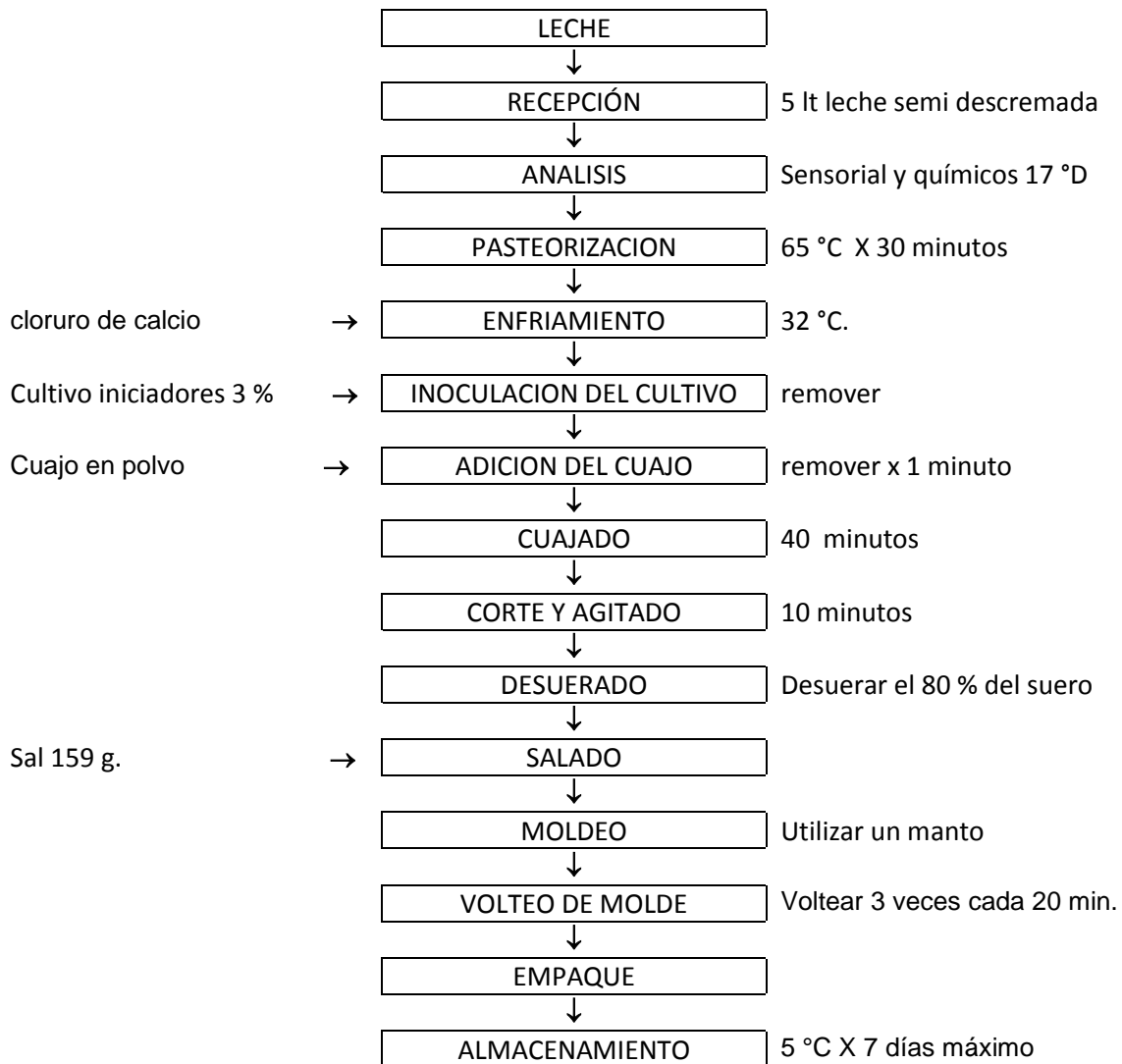


Figura 1 Flujo de proceso para la producción de queso fresco.

4.8.2 Descripción del proceso

Recepción: Primeramente la leche se filtró a través de una tela fina, para eliminar cuerpos extraños. Esta provino de la recolección de leche que realiza la Planta de Lácteos el Pataste y otra parte de la leche de las instalaciones de la Universidad Nacional de Agricultura.

Análisis: se inspeccionó sensorialmente la leche para revisar sus características organolépticas y corroborar su buena calidad y limpieza de partículas extrañas (sucio). También se realizó un análisis de acidez titulable con el método Gonzales R., 2010.

Pasteurización: Consistió en calentar la leche a una temperatura de 65 °C por 30 minutos, para eliminar los microorganismos patógenos y mantener las propiedades nutricionales de la leche, para luego producir un queso de buena calidad.

Enfriamiento: mediante un choque térmico se enfrió la olla que contenía la leche y sumergió en un recipiente que contenía agua a baja temperatura. Se buscó una temperatura entre 32 °C. Aquí se agregó cloruro de calcio en una proporción del 0.2% en relación a la leche que entró a proceso.

Inoculación del cultivo: Una vez pasteurizada y enfriada la leche a 32 °C se agregó el cultivo láctico (ver anexo 9). Después de inocular se dejó reposar durante dos horas para que las bacterias actuaran y se reprodujeran en la leche.

Adición de cuajo: se le adicionó 0.081395 g. de cuajo en polvo (para este caso cuajo Hansen) para 5 litros de leche, que es la capacidad de la tina quesera para investigación. Se agitó la leche durante un minuto para disolver el cuajo.

Cuajado: se dejó en reposo la leche con el cuajo hasta lograr la coagulación o cuajado, lo cual tomo 40 minutos a una temperatura de 32 °C.

Corte y agitado: una vez que la leche cuajó, se realizaron cortes con la lira horizontal y vertical, dejando la cuajada en cubos de 1 cm³. Se agitó durante 5 minutos suavemente para evitar que los cubos, convertidos en gránulos, se unieran entre sí. Después se dejó en reposo hasta alcanzar los 40 minutos de reposo (ver anexo 9).

Desuerado: se extrajo el 80 % del suero, dejando el 20% de suero junto con la cuajada. El desuerado consistió en separar el suero dejándolo escurrir a través de un colador puesto en el desagüe de la tina quesera.

Salado: se le aplicó el 3.18% de sal en relación a la cantidad total de leche procesada, para 5 lts/ 159 g. de sal regándola y removiendo suavemente la cuajada junto con el suero.

Moldeo: los moldes de acero inoxidable se cubrieron con un lienzo y se llenaron con la cuajada. En este momento, se realizó una pequeña presión al queso para compactarlo mejor, sin prensarlo.

Volteo del molde: se voltearon los moldes tres veces a intervalos de 20 minutos. Seguidamente, se dejaron reposar por 1 hora y luego se sacaron de los moldes. Lo anterior se hizo con el objetivo que el queso desuerara por ambos extremos del molde.

El empaque: se hizo en bolsas plásticas de polietileno para que no permitía el paso de humedad y se contaminaran.

Almacenamiento: finalmente los quesos procesados se refrigeraron 4-7°C para su conservación. El almacenamiento idóneo no debe ser mayor de 7 días (Ver anexo 5).

V RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Resultados microbiológicos

Las muestras de quesos frescos recolectadas en esta investigación provenían de Lácteos el Pataste, Lácteos Jutiquire y Lácteos Alvarado, que según Martínez E. 2010, fueron plantas con producción de quesos de alta aceptabilidad por los consumidores. Razón por la cual se utilizaron para sacar las bacterias ácido lácticas nativas de la región.

5.1.2 Recuento total de bacterias

Se diluyeron las muestras de manera seriada, y se sembraron mediante la técnica de vaciado en placa. El análisis de recuento total de bacterias se realizó para tener un estimado de la carga microbiana presentes en los productos lácteos que se procesan de forma artesanal en el corredor lácteo Olanchano. Para el recuento total de bacterias se usó el medio Agar PlateCount.

Cuadro 4 Resultados obtenidos del Agar P.C (plate count) a partir de la queso semi seco y queso fresco:

Muestra	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸
Queso semi seco 11-7-13	Incontable	Incontable	incontable	incontable	39000000	Pocas colonias	Pocas colonias	No hubo crecimiento
Queso fresco 15-7-13	Incontable	Incontable	incontable	incontable	contable	55000000	Pocas colonias	No hubo crecimiento.

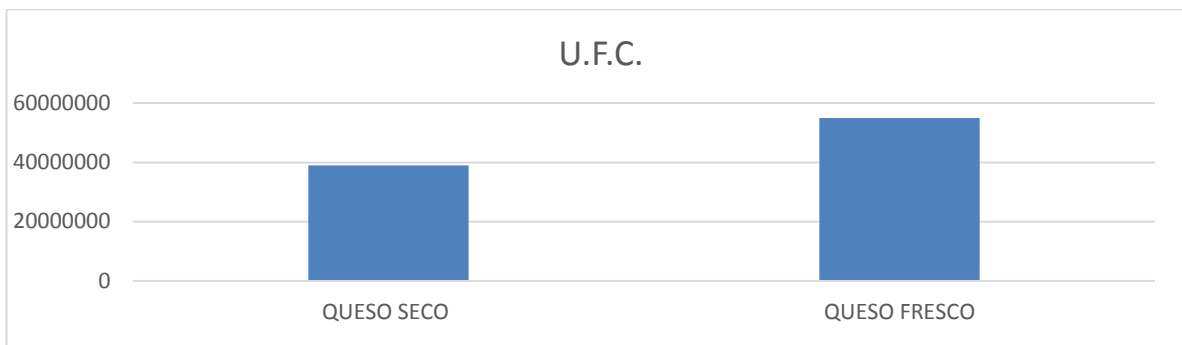


Figura 2. Gráfico de recuento total entre muestras de queso a una dilución de 10^{-6}

Como se puede observar en la Figura 2, los resultados que conforman el recuento total de bacterias para las muestras seleccionadas de queso fresco del 15-7-13 tienen una lectura a una dilución de 10^{-6} de 55,000,000 UFC.

Así mismo, los resultados del recuento total de bacterias en las muestras de queso fresco entre las diluciones 10^{-1} a la 10^{-4} obtenida en campo revelan que existe una población incontable de bacterias (Cuadro 4).

Esto comprueba que los productos lácteos sin pasteurizar poseen elevadas cantidades de microorganismos, entre los cuales se puede encontrar bacterias ácido lácticas pero también microorganismos patógenos como el *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*, coliformes fecales entre otros, microorganismo presente en las leches mastíticas de la zona hasta en un 89 % de las fincas según la investigación realizada por Rodríguez, Y. 2010.

5.1.3 Recuento de Coliformes Totales

Para el recuento de Coliformes Totales se diluyeron las muestras de manera seriada, y se sembraron mediante la técnica de estría en superficie. Para el análisis microbiológico de recuento de Coliformes se utilizó el medio de cultivo MacConkey Agar el cual es selectivo para el crecimiento de dichas bacterias entéricas.

El análisis de Coliformes Totales se realiza como complemento en la investigación ya que de esta forma podemos determinar haciendo referencia en la cantidad de microorganismos de origen entero presentes en los lácteos, el manejo que se les da en toda la cadena de producción y las condiciones higiénico-sanitarias en las cuales operan las plantas artesanalmente en el departamento de Olancho.

Cuadro 5 Resultados del Recuento Total de Coliformes del Agar MacConkey en queso fresco

Muestra	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸
Queso semi seco 11-7-13	incontable	Incontable, cambio de coloración del Agar de roja a amarillo.	Incontable, cambio de coloración del Agar de roja a amarillo	639000	Pocas colonias	Pocas colonias	No hubo crecimiento	No hubo crecimiento.
Queso fresco 15-7-13	incontable	Incontable, baja de acidez decoloro el medio.	Incontable, baja de acidez decoloro el medio.	475000	Pocas colonias	Pocas colonias	No hubo crecimiento	No hubo crecimiento.

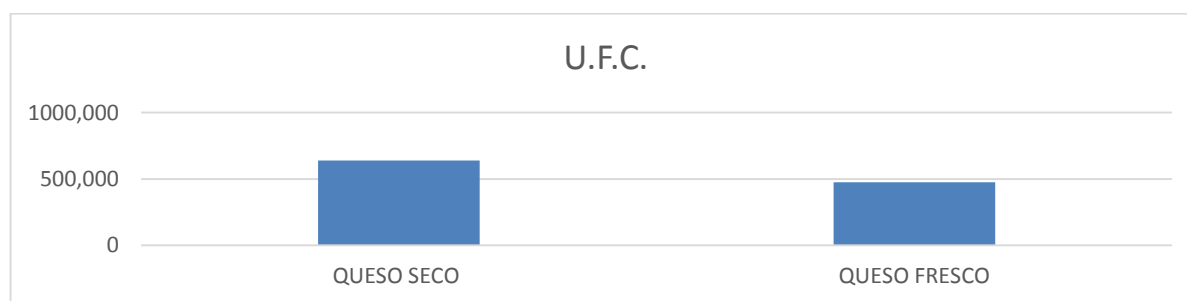


Figura 3 Gráfico de Coliformes Totales en las muestras a una dilución de 10⁻⁴

Como se puede observar en la Figura 3, los resultados que conforman el recuento de Coliformes totales para las muestras seleccionadas de queso fresco del 15-7-13 tienen una lectura a una dilución de 10⁻⁴ de 475,000 UFC como se observa en el cuadro 5. Esto indica la posible presencia de microorganismos peligrosos como *Escherichia coli*.

Con el resultado de 475,000 UFC de Coliformes totales se encuentra fuera de los rangos establecidos en la Ley Fito Zoosanitaria en el Capítulo IV artículo 9. Las muestras de queso fresco presentan conteos incontables hasta una dilución de 10^{-3} como se puede observar en el cuadro 5.

5.1.4 Recuento Total de Bacterias Acido lácticas

Para el recuento de BAL se diluyeron las muestras de manera seriada, y se sembraron mediante la técnica de estría en superficie, utilizando en medio Agar MRS. El medio de cultivo MRS es un medio selectivo en el cual se crean las condiciones propicias para el crecimiento de bacterias ácido lácticas, partiendo de los resultados del desarrollo bacteriológico que obtuvimos se pudo seleccionar las cepas que cumplen con las características de las bacterias ácido lácticas. Para ello se tomó en cuenta la morfología colonial, color, forma, tamaño, translucidas entre otros, posteriormente se sometieron a las pruebas de diferenciación bioquímica como ser pruebas de catalasa, y tinción de Gram para para la caracterización de su morfología celular.

Cuadro 6. Resultados del Recuento Total de Bacterias Acido Lácticas del Agar MRS a partir de queso fresco

Muestra	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}
Queso semi seco 11-7-13	incontable	incontable	incontable	Se nota diferencia de colores amarillo y blancas	Se nota diferencia de colores amarillo y blancas	53500000	No hubo crecimiento	No hubo crecimiento
Queso fresco 15-7-13	incontable	incontable	incontable	Incontable	incontable	62500000	Pocas colonias	No hubo crecimiento.

Para la interpretación de carga microbiana de manera gráfica se puede observar en la figura 4 en donde se compara el queso fresco con mayor carga microbiana sobre un queso semi-seco producido los dos artesanalmente.

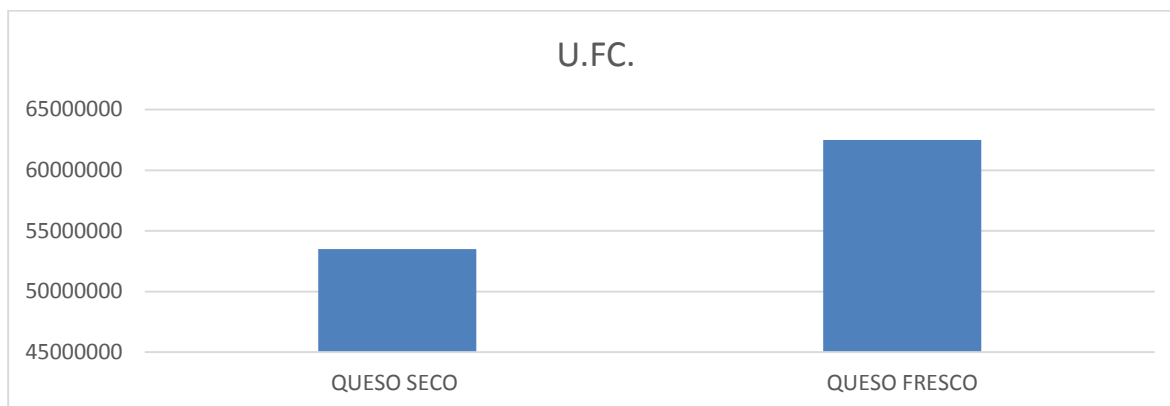


Figura 4 Recuento total de Bacterias Acido lácticas a una dilución de 10^{-6}

Los resultados que conforman el Recuento Total de Bacterias Acido Lácticas confirman que los quesos artesanales poseen grandes cantidades de UFC de bacterias acido lácticas nativas ya que se encontraron conteos incontables entre las diluciones 10^{-1} a 10^{-5} . En la dilución 10^{-6} se encontraron 62,500,000 UFC. Lo anterior nos indica que los quesos artesanales están cargados de Bacterias Acido Lácticas nativas y que estas son una de las líneas de defensa de la población contra los patógenos presentes en estos productos.

5.1.5 Resultados de Tinción de Gram, Morfología colonial y celular

Después de los análisis con el agar MRS, como medio selectivo para el crecimiento de BAL, mediante la técnica de aislamiento flobisher obteniendo colonias solas y purificadas se realizó la prueba de Gram en donde consecutivamente se analizó la morfología colonial y celular mediante la observación con microscopio, los resultados fueron los siguientes.

Cuadro 7 Resultado de Tinción de Gram

Codificación	Gram	Forma y Agrupación	morfología colonial
A1	+	cocos, en racimos y cadenas pequeñas	Creмосa, elevada, lisas, puntiforme.
A2	+	cocos, en pares y cadenas pequeñas	Creмосa, convexas, elevada.
B1	+	cocos, en cadenas	blancas, puntiforme, elevada
B2	+	cocobacilos, en cadenas y aislados	Blanquecina, lisas, convexa.
C1	+	cocos, en cadenas y agrupados	Creмосa, irregular, elevada.
C2	+	cocobacilos, en cadenas y aislados	Creмосa, puntiformes, elevada.
C3	+	bacilos en cadenas	Traslucidas, muy pequeñas.
C4	+	cocos, cocobacilos, racimos y en cadena cortas.	Blanquecinas, colonias grandes.

Ya observadas mediante un microscopio a las colonias obtenidas de la tinción de Gram se determinó las colonias en donde según sus características colonial y celular corresponden a BAL. Según Martínez E. 2010 con estas características observadas en su mayoría corresponden a cocos, bacilos y cocobacilos, no esporulados, Gram positivos.

5.1.6 Resultados bioquímico de la prueba de catalasa

Una vez clasificadas las cepas con referencia en la tinción de Gram por su morfología colonial y celular, se realizaron las pruebas de catalasa, que establece los criterios de clasificación según el "Manual de Determinación Bacteriológico de Bergey" para diferenciarlos de otros géneros no incluidos entre los BAL Bergey's para la diferenciación de los géneros no incluidos entre las BAL.

Cuadro 8 Resultados de catalasa positiva

Codificación	Catalasa
A1	Negativa
A2	Negativa
B1	Negativa
B2	Negativa
C1	Positiva
C2	Negativa
C3	Negativa
C4	Negativa

Como se observa en el Cuadro 6, la colonia C1 resultó tener características de catalasa positiva. Esto permitió descartarla por no pertenecer a las características de las BAL aun y cuando sean Gram positivas. Luego se prosiguió trabajando con las cepas que dieron como resultado catalasa negativa.

5.1.7 Resultado del comportamiento de las cepas en leche

Para esta prueba fue necesario el uso de una leche estéril UHT de uso comercial, en 6 tubos de ensayo en la cual se le inoculo las cepas a cada tubo y se dejó en incubación por 24 horas en una atmosfera con 5-10% CO₂, a 29-37 °C.

Cuadro 9 resultados de Coagulación de leche en 24 horas

Codificación	coagulación/ 24 horas
A1	Negativo
A2	Negativo
B1	Positivo
B2	Positivo
C2	Positivo
C3	Positivo
C4	Positivo

Las bacterias caracterizadas mediante la tinción de Gram, que resultaron ser catalasa negativas, con su morfología colonial y morfología celular identificadas, se sometieron a la prueba de coagulación. Las bacterias codificadas A1 y A2 dieron negativo en la prueba de coagulación, por consiguiente fueron descartados ya que no presentan aparente potencial de producción de acidez y de incidir en las características organolépticas en los productos terminados.

5.1.8 resultado de comportamiento en tiempo de acidez de las BAL aisladas

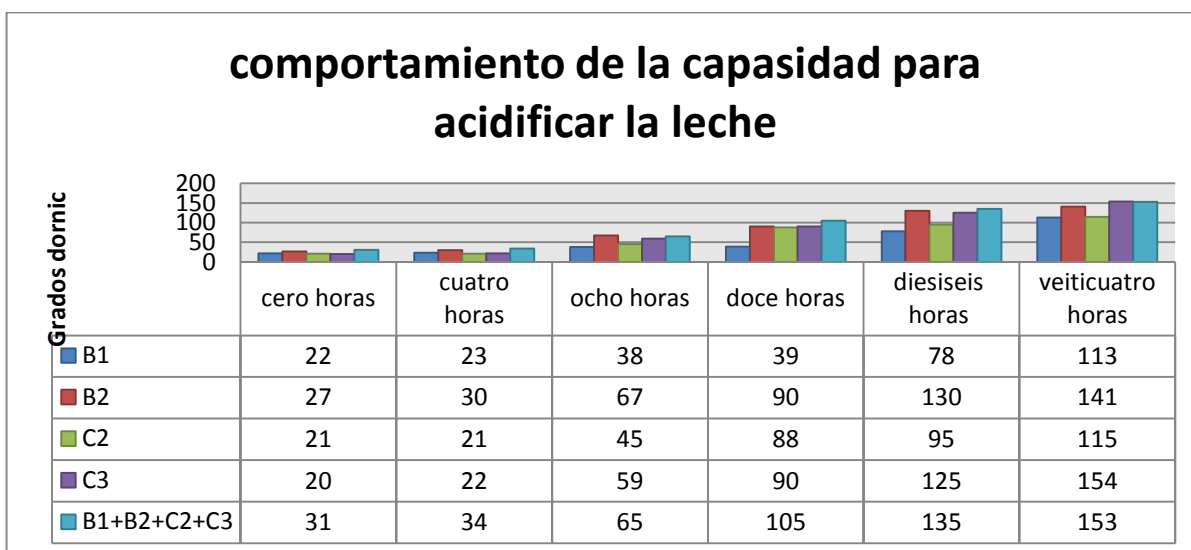


Figura 5 Gráfico de comportamiento de la capacidad de acidificar en la leche

En la Figura 6 se puede observar la producción de acidez de las bacterias de manera individual, las bacterias B2 y C3 son las que mostraron mejores resultados en acidificar la leche, ya que alcanzaron 141 y 154°D respectivamente. De igual forma se puso a prueba la capacidad de las cuatro cepas para trabajar en simbiosis, los resultados muestran que las cuatro bacterias trabajando en conjunto tienen una gran capacidad de acidificación ya que la leche alcanza 153 °D en 24 horas.

Esta prueba tuvo como objetivo conocer el comportamiento de crecimiento de las bacterias inoculadas en leche y así determinar el punto óptimo de inoculación, al momento de procesar el queso fresco en la tina quesera.

5.2 Resultados en la producción de queso

Para el desarrollo del protocolo de proceso para la producción de queso fresco utilizando leche pasteurizada e inoculada con las Bacterias Acido Lácticas nativas identificadas (B1,B2,C2 y C3), se realizaron pruebas preliminares (ver anexo 10). En primer lugar se revisaron los parámetros de proceso utilizados en las plantas artesanales de la zona para queso fresco. En tal sentido la acidez predominante en los quesos frescos comercializados fue de 24.25°D y el salado (3.18% en base a la cantidad total de leche). Las pruebas preliminares nos llevaron a formular el siguiente protocolo de proceso:

Para 5 litros de leche (capacidad de la tina quesera de investigación) se debe usar los siguientes materiales y seguir el siguiente procedimiento:

Materiales:

- ✓ Sal 3.18% en base a la cantidad total de leche: en este caso 159 g. de sal,
- ✓ Cuajo polvo con poder de 1 gr para 75 litros: se usó 0.081395 g. para 5 litros,
- ✓ Cloruro de calcio: 20 gr para 100 litros de leche, en este caso 1 g. para 5 litros,
- ✓ Inoculo: 3% (25% de cada sepa B1, B2, C2, C3): se usó 37.5 cc de cada inoculo.

Procedimiento:

La leche a procesar debe ser leche con menos de dos horas de haberse ordeñado y debe ser obtenida aplicando Buenas Prácticas de Ordeño para asegurar su calidad higiénica. Seguidamente se pasteuriza la misma calentándola a 65°C por 30 minutos.

Después se enfría a 32 °C para inocular las bacterias ácido lácticas nativas. Se espera dos horas para que las bacterias se reproduzcan y acidifiquen, hasta alcanzar 22 °D.

A continuación se aplica el cuajo, se agita 5 minutos continuos para que haya una distribución uniforme del cuajo, después se deja 40 minutos en reposo para que cuaje, se revisa la consistencia de la cuajada haciendo un corte en forma de T con un cuchillo, si al separar el corte tiene la consistencia firme se prosigue con el corte de la cuajada. Este se hace con una lira horizontal y una vertical de 1 cm de separación entre las láminas cortadoras para producir cubos de 1cm³.

Una vez cortada la cuajada se agita lentamente por cinco minutos y continúa agitando cada 10 minutos para que los gránulos no se agrupen y tomen consistencia y la cuajada alcance casi 24.25°D. Seguidamente se extrae el 80 % del suero a través de tamiz. A continuación se sala la cuajada con 3.18% de sal por 20 minutos. Seguidamente se vierte la cuajada en moldes de acero inoxidable, los cuales se cubrieron con un lienzo y se llenaron con la cuajada. En este momento, se realizó una pequeña presión al queso para compactarlo mejor, sin prensarlo. A continuación se voltearon los moldes tres veces a intervalos de 20 minutos.

Seguidamente, se dejaron reposar por 1 hora y luego se saca el queso fresco de los moldes. Lo anterior se hace con el objetivo que el queso desuere por ambos extremos del molde.

00 min. 17 D
30 min. 18 D
60 min. 20 D
90 min. 21 D
120 min. 22 D

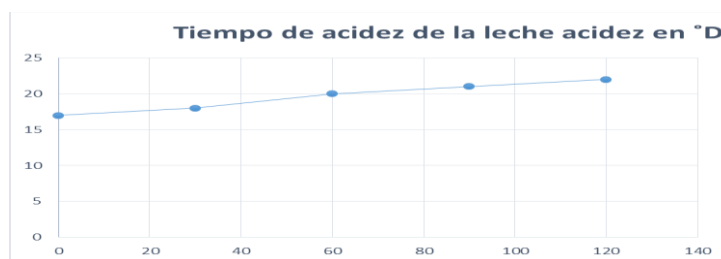


Figura 6 Movimiento de la acidez de la leche en el tiempo durante el proceso de incubación

5.3 Resultados obtenidos del análisis sensorial

Cuadro 10 Resultados obtenidos en el análisis sensorial

EVALUADORES	RONDA 1			RONDA 2			RONDA 3			No Detectaron diferencia		
										diferencia	diferencia	total
1	A	A	B	A	A	B	A	A	B	2	1	3
2	A	B	B	A	B	B	A	B	B	2	1	3
3	B	A	B	B	A	B	B	A	B	3	0	3
4	A	A	B	A	A	B	A	A	B	3	0	3
5	B	B	A	B	B	A	B	B	A	2	1	3
6	A	B	A	A	B	A	A	B	A	2	1	3
7	A	B	B	A	B	B	A	B	B	1	2	3
8	A	B	A	A	B	A	A	B	A	1	2	3
9	B	A	A	B	A	A	B	A	A	2	1	3
10	B	B	A	B	B	A	B	B	A	1	2	3
11	B	A	A	B	A	A	B	A	A	1	2	3
12	B	A	B	B	A	B	B	A	B	3	0	3
total sumatoria										23	13	36

Rojo: no detectaron diferencia.

Azul: detectaron diferencia.

De los panelistas 13 personas determinaron la muestra diferente como se observa en la tabla (8) q para el valor especificado de $n= 36$, $\beta= 0.05$, y $Pd= 0.30$; el resultado se encuentra en la región de aceptación de la prueba de similitud (i. e., las respuestas incorrectas ≤ 13) (ver anexos 4 y 5).

Utilizando la aproximación normal a la binomial se puede construir un 95% intervalo de confianza de una cola para la proporción verdadera de los panelistas capaces de distinguir en la población.

El punto superior final del intervalo de confianza es calculado de la siguiente forma (ver anexo 4 y 5):

$$P. \text{ Max. (95\%)} = \left[1.5 \left(\frac{x}{n}\right) - 0.5\right] + Z_{\beta} \sqrt{\frac{2.25 \left(\frac{x}{n}\right) \left(1 - \frac{x}{n}\right)}{36}}$$

En donde:

X= es el número de respuestas correctas observadas.

N= es el número de respuestas.

Z_{β} = es el punto percentil superior $100 \times \beta$ de la distribución normal.

$$P. \text{ Max. (95\%)} = \left[1.5 \left(\frac{13}{36}\right) - 0.5\right] + 1.645 \sqrt{\frac{2.25 \left(\frac{13}{36}\right) \left(1 - \frac{13}{36}\right)}{36}}$$

$$P. \text{ Max. (95\%)} = [-0.086] + 1.645 [0.12] = 0.1114$$

$$P. \text{ Max. (95\%)} = 11 \%$$

Estos resultados muestran que con el 95% confianza, $n = 36$, $\beta = 0.05$, y $Pd = 0.30$; el resultado se encuentra en la región de aceptación de la prueba de similitud, con una proporción verdadera de la población que puede distinguir las muestras no mayor que 11%, aceptando así la H_0 que no hay diferencia entre las muestras.

VI CONCLUSIONES

- Las bacterias nativas B1, B2, C2 y C3 aisladas, reproducidas y utilizadas de manera conjunta en leche pasteurizada, producen un queso fresco similar en propiedades organolépticas al queso fresco no pasteurizado olanchano ya que en una prueba de triangulación solo 11 % de la población pudo detectar diferencias a un 95% de confianza y un $n= 36$, $\beta= 0.05$, y $Pd= 0.30$.
- Con esta investigación se pudo comprobar que es posible Aislar y reproducir bacterias ácido lácticas nativas del departamento de Olancho para la producción de quesos frescos pasteurizados.
- Con el desarrollo de este trabajo de investigación fue posible desarrollar un protocolo de proceso de queso fresco pasteurizado con bacterias nativas.
- Las bacterias nativas B1, B2, C2 y C3 con potencial para la producción de quesos pasteurizados con características organolépticas similares a los quesos artesanales no pasteurizados olanchanos, pertenecen a las Bacterias Ácido Lácticas, con tinción de Gram positiva, sus formaciones coloniales son en cocos, en cadenas, cocobacilos en cadenas y aislados y bacilos en cadenas que oscilan entre blancas, puntiforme, elevada Blanquecina, lisas, Cremosa, puntiformes, elevada convexa Traslucidas muy pequeñas.

VII RECOMENDACIONES

- Es necesario realizar una investigación para determinar el mejor método de conservación y comercialización de las bacterias aisladas e identificadas.
- Probar las bacterias nativas aisladas e identificadas en líneas de producción de mayor escala productiva.
- Darle seguimiento a esta investigación, para registrar una patente del producto en el futuro.

VIII BIBLIOGRAFIA

ANMAT (administración nacional de medicamentos, alimentos y tecnología médica). Código alimentario argentino. 2006. Alimentos lácteos (en línea). Ley 18284. Artículos: 553 al 642 - Alimentos Lácteos. - Actualizado al 11/2010. Argentina. Disponible en: www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/CAPITULO_VIII.pdf

Bergey's (1986). Manual of Systematic Bacteriology. (volumen 2) Segunda edición, Editorial Board. Williams and Wilkins, Baltimore. Pág. 1071, 1072.

Chamorro, M.C; Losada, M.M; 2002. Tecnología de Alimentos, Análisis sensorial de los quesos (En línea). Madrid Esp. Consultado el 20 marzo 2013. Disponible en: <http://books.google.hn/books?id=UNraJqwOlqUC&pg=PA238&dq=analisis+sensorial+de+alimentos&hl=es-419&sa=X&ei=XPmYUZjdL6T00gHwpIDgCw&ved=0CDYQ6AEwAg>

Codex Alimentarius. 2010. Norma general del codex para el queso. Leche y productos lácteos. . 2da edición. (En línea). Enmienda adoptada por la Comisión del Codex Alimentarius en su 26o período de sesiones. Consulta: 26 abril de 2013. Disponible en: http://www.codexalimentarius.org/input/download/standards/175/CXS_283s.pdf. Sitio web\

Espinoza J. 2007. Evaluación Sensorial de los Alimentos. Editorial Universitaria. La Habana, Cuba. Disponible en: <http://revistas.mes.edu.cu/EDUNIV/legalcode-ar.htm>

Gonzales R., 2010. “Caracterización de la composición físico química del queso fresco elaborado artesanalmente en Sehuilaca, municipio de Minatitlán, Veracruz”. Tesis Medico. Veterinario. Universidad Veracruzana. 42 p

Hernández, A; Arrieta, R.; Alfaro, I. (2003). Microbiología Industrial. Productos Lácteos (en línea). EUDED. Consultado el 19 Mayo 2013. Disponible en: <http://books.google.hn/books?id=KFq4oEQQjdEC&pg=PA75&dq=produccion+de+queso>

Mahaut, M.; Jeantet, R; Brule, G; Schuck, P, 2004. Productos lácteos industriales. Editorial Lavosier, Zaragoza España. 177 pág.

Martínez E. 2010. Aislamiento e Identificación de Bacterias Acido lácticas del queso semi-seco Olancho para uso como cultivo iniciador. Tesis Lic. Tecnología Alimentaria. Universidad Nacional de Agricultura. Catacamas, Olancho. 85 pág.

Meilgaard, M.; Civille, G.; Tomas, B. 1991. Sensory Evaluation Techniques II Edition. Florida, United States of American.

OIRSA (Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria) 2005. Cadena Ganadera. Capitulo VIII descripción y análisis de los principales actores que conforman la cadena agroalimentaria de leche y productos lácteos. Consulta el 18 Nov. 2013. Disponible en: <http://rastreadabilidad.org/cadena.php?id=148&s=9>

Osorio, L; Petschen, X; Castillo F. R; Ganoza S. V; 2000. Estudio de la industria agroalimentaria en Honduras. Subsector lácteos y sus derivados (en línea). San José C.R. (IICA), consultado el: 26 de abril 2013 Disponible en: repiica.iica.int/docs/BV/AGRIN/B/E21/XL2000600271.PDF

Parra R. 2010. Bacterias Ácido Lácticas: Papel Funcional en los Alimentos, Rev. Bio. Agro. Vol. 8. Nº 1. Popayán. Jan./June, 2010. Consultado en línea el 20 de noviembre del 2013. Disponible en: <http://www.unicauca.edu.co/biotecnologia/ediciones/vol8->

PASELO (Proyecto de apoyo al sub-sector lácteo de Olancho); Programa pro-mesas/RDS-HN. 2004. Caracterización inicial de los rasgos de calidad microbiológica, física y química de la leche y los productos lácteos de las fincas y plantas atendidas por el proyecto (en línea). Consultado el 03 Mayo 2013. Disponible en: <http://www.senasa-sag.gob.hn>

Pymerural, 2009. (Programa de los gobiernos de Honduras y Nicaragua, auxiliado por la cooperación Suiza) consultado el 16 Nov. 2013. Disponible en: www.pymerural.org/?lang=es

Rodríguez, Y. 2000. Determinación de Mastitis Bovinas en Catacamas y Santa María del Real. Olancho, Honduras. Tesis, Ing. Agrónomo. Universidad Nacional de Agricultura. Catacamas, Olancho. 43 pág.

SENASA-SAG (Secretaria Nacional de Sanidad Alimentaria, Secretaria de Agricultura y Ganadería) 2005. Ley Fito Zoosanitaria. Leche y productos lácteos. Consultado 25 Nov. 2013. Disponible en: <http://www.senasa-sag.gob.hn>.

ANEXOS

Anexo 1 Algunos equipos para laboratorios de Bioseguridad.

Cámara de flujo Laminar



Autoclave



Incubadora CO₂



Anexo 2 algunos equipos para la producción de queso.

Tina quesera CHEESE VAT ARMFIELD FT20-MkII



Refrigeradora de incubación DBO 100 para almacenar las muestras de queso.



Anexo 3 Test de análisis sensorial, prueba de triangulación.

Laboratorio de análisis sensorial



Panelista ejerciendo su criterio.



Cabina para el evaluador



Ejemplo de Ficha para prueba triangular

Universidad Nacional de Agricultura.
Análisis Sensorial

Ficha para la prueba triangular. Producto a evaluar: Queso fresco.

Ficha n: _____

Nombre _____ Fecha _____

A continuación se presentan 3 muestras de las cuales dos son iguales y una diferente. Pruébelas cuidadosamente de izquierda a derecha y encierre en un círculo la muestra diferente. Enjúguese la boca entre una muestra y otra.

Sugerencias _____

Anexo 4 Tabla para el número máximo crítico de respuestas correctas en la prueba triangular de similitud.

Triangle Test for Similarity: Critical Number (Maximum) of Correct Answers

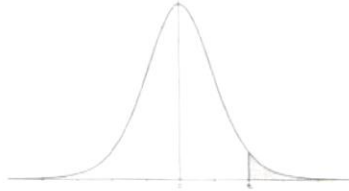
Accept the null hypothesis of no difference with $100(1 - \beta)\%$ confidence if the number of correct responses is less than or equal to the number in the table that corresponds to the specified values of n , β , and p_d , where p_d is the proportion of the population that can distinguish the samples.

n	β	P_d				n	β	P_d			
		0.15	0.20	0.25	0.30			0.15	0.20	0.25	0.30
18	0.001	—	—	—	—	45	0.001	—	—	—	—
	0.01	—	—	—	—		0.01	—	—	—	15
	0.05	—	—	—	—		0.05	—	15	16	17
	0.10	—	—	—	6		0.10	—	16	17	19
21	0.001	—	—	—	—	48	0.001	—	—	—	—
	0.01	—	—	—	—		0.01	—	—	—	17
	0.05	—	—	—	—		0.05	—	16	17	19
	0.10	—	—	7	7		0.10	—	17	19	20
24	0.001	—	—	—	—	51	0.001	—	—	—	—
	0.01	—	—	—	—		0.01	—	—	—	18
	0.05	—	—	—	8		0.05	—	17	19	20
	0.10	—	—	8	9		0.10	17	18	20	22
27	0.001	—	—	—	—	54	0.001	—	—	—	—
	0.01	—	—	—	—		0.01	—	—	18	19
	0.05	—	—	—	9		0.05	—	18	20	22
	0.10	—	—	9	10		0.10	18	20	21	23
30	0.001	—	—	—	—	57	0.001	—	—	—	—
	0.01	—	—	—	—		0.01	—	—	19	21
	0.05	—	—	10	11		0.05	—	19	21	23
	0.10	—	10	10	11		0.10	19	21	23	25
33	0.001	—	—	—	—	60	0.001	—	—	—	—
	0.01	—	—	—	—		0.01	—	—	20	22
	0.05	—	—	11	12		0.05	—	21	23	25
	0.10	—	11	12	13		0.10	20	22	24	26
36	0.001	—	—	—	—	66	0.001	—	—	—	22
	0.01	—	—	—	—		0.01	—	—	23	25
	0.05	—	—	12	13		0.05	—	23	25	28
	0.10	—	12	13	14		0.10	22	25	27	29
39	0.001	—	—	—	—	72	0.001	—	—	—	24
	0.01	—	—	—	13		0.01	—	—	25	28
	0.05	—	—	13	15		0.05	—	26	28	30
	0.10	—	13	15	16		0.10	25	27	30	32
42	0.001	—	—	—	—	78	0.001	—	—	—	27
	0.01	—	—	—	14		0.01	—	—	28	30
	0.05	—	—	15	16		0.05	26	28	31	33
	0.10	—	14	16	17		0.10	27	30	32	35

Note: For values of n not in the table calculate the $100(1 - \beta)\%$ upper one-tailed confidence interval — $(1.5(x/n) - 0.5) + (1.5)z_\beta \sqrt{(nx - x^2)/n^3}$, where x is the number of correct answers from the study, n is the number of respondents, and z_β is the upper- β critical value of a standard normal deviate. It may be concluded with $100(1 - \beta)\%$ confidence that the true proportion of distinguishers in the population is not greater than the calculated value. To find z_β use the last row of Table T4, substituting α for β .

Anexo 5 puntos de probabilidad superior de la distribución t del alumno.

TABLE T4
Upper- α Probability Points of Student's t -Distribution
(Entries Are $t_{\alpha;v}$)



- Instructions:
- (1) Enter the row of the table corresponding to the number of degrees of freedom (ν) for error.
 - (2) Pick the value of t in that row, from the column that corresponds to the predetermined α -level.

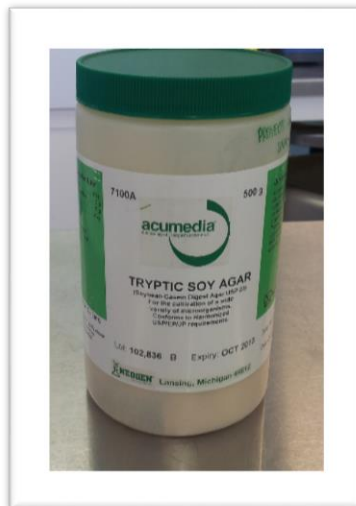
ν	α						
	0.25	0.10	0.05	0.025	0.01	0.005	0.0005
1	1.000	3.078	6.314	12.706	31.821	63.657	636.619
2	0.816	1.886	2.920	4.303	6.965	9.925	31.598
3	0.765	1.638	2.353	3.182	4.541	5.841	12.941
4	0.741	1.533	2.132	2.776	3.747	4.604	8.610
5	0.727	1.476	2.015	2.571	3.365	4.032	6.859
6	0.718	1.440	1.943	2.447	3.143	3.707	5.959
7	0.711	1.415	1.895	2.365	2.998	3.499	5.405
8	0.706	1.397	1.860	2.306	2.896	3.355	5.041
9	0.703	1.383	1.833	2.262	2.821	3.250	4.781
10	0.700	1.372	1.812	2.228	2.764	3.169	4.587
11	0.697	1.363	1.796	2.201	2.718	3.106	4.437
12	0.695	1.356	1.782	2.179	2.681	3.055	4.318
13	0.694	1.350	1.771	2.160	2.650	3.012	4.221
14	0.692	1.345	1.761	2.145	2.624	2.977	4.140
15	0.691	1.341	1.753	2.131	2.602	2.947	4.073
16	0.690	1.337	1.746	2.120	2.583	2.921	4.015
17	0.689	1.333	1.740	2.110	2.567	2.898	3.965
18	0.688	1.330	1.734	2.101	2.552	2.878	3.922
19	0.688	1.328	1.729	2.093	2.539	2.861	3.883
20	0.687	1.325	1.725	2.086	2.528	2.845	3.850
21	0.686	1.323	1.721	2.080	2.518	2.831	3.819
22	0.686	1.321	1.717	2.074	2.508	2.819	3.792
23	0.685	1.319	1.714	2.069	2.500	2.807	3.767
24	0.685	1.318	1.711	2.064	2.492	2.797	3.745
25	0.684	1.316	1.708	2.060	2.485	2.787	3.725
26	0.684	1.315	1.706	2.056	2.479	2.779	3.707
27	0.684	1.314	1.703	2.052	2.473	2.771	3.690
28	0.683	1.313	1.701	2.048	2.467	2.763	3.674
29	0.683	1.311	1.699	2.045	2.462	2.756	3.659
30	0.683	1.310	1.697	2.042	2.457	2.750	3.646
∞	0.674	1.282	<u>1.645</u>	1.960	2.326	2.576	3.291

Anexo 6 Algunos medios de cultivo

Medios utilizados en el aislamiento

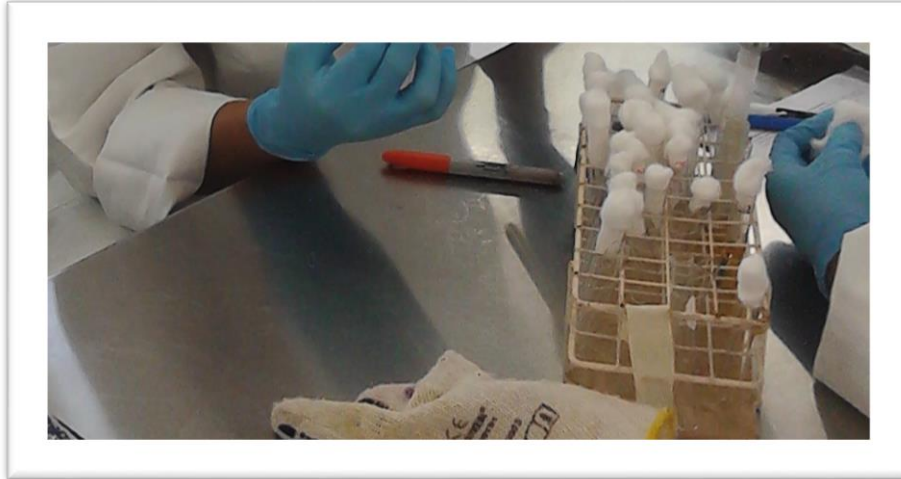


Agar Soya Tripticasa



Anexo 7 Preparación de medios de cultivo

Preparación de caldo Soya y MRS



Pesado de los medio de cultivo



Anexo 8 Reproducción cepas en leche.

Siembra de cepas en Leche UHT



Incubación de medio lácteo con inóculo para su reproducción.



Anexo 9 Producción de queso

Agitado de cuajada.



Inoculación de cepas al producto



Prensado de quesos con moldes de acero inoxidable



Anexo 10 Bitácora de las Pruebas preliminares del proceso de elaboración de queso fresco.

Bitácora del proceso de elaboración de quesos					
prueba numero: 1			fecha: 6 de septiembre 2013		
Actividad	cantidad	Acidez	Temperatura	tiempo de duración de la actividad	observaciones
Proceso					
recibo de leche	5litros	16 °D	-	-	se le hace los análisis
tipo de leche	-	-	-	-	Entera
Refrigeración	-	-	3-5 °C	-	-
Pasteurización	-	-	65 °C	20 minutos	-
cloruro de calcio	1 g.	16 °D	32 °C	-	-
Agregar BAL	3%	18 °D	32 °C	-	0 horas inoculación
Análisis	-	18 °D	32 °C	-	30 minutos
Análisis	-	20 °D	32 °C	-	60 minutos
Análisis	-	21 °D	32 °C	-	90 minutos
Análisis	-	22 °D	32 °C	-	120 minutos
agregado de cuajo	0.081395 g	22 °D	32 °C	-	-
Cuajado	-	-	32 °C	42 minutos	-
corte de cuajada	-	-	32 °C	5 minutos	-
Agitación	-	-	32 °C	10 minutos	-
Desuerado	80%	-	32 °C	10 minutos	se dejó un 80 % pasa salado
Salado	5%	-	32 °C	45 minutos	salado con 20% de suero
moldeado	-	-	-	5 minutos	en moldes de acero
Refrigerado	-	-	3-5 °C	-	temperatura refrigeración
criterios organolépticos :	color : Blanco, amarillento		olor: Característico		sabor: Característico, simple
	textura: Suave, firme		apariencia: cremoso		

Anexos 10 Bitácora de las Pruebas preliminares del proceso de elaboración de queso fresco.

Bitácora del proceso de elaboración de quesos					
prueba numero: 2			fecha: 19 de septiembre 2013		
Actividad	cantidad	Acidez	Temperatura	tiempo de duración de la actividad	observaciones
Proceso					
recibo de leche	5litros	15 °D		-	se le hace los análisis
tipo de leche	-	-		-	semi descremada
Refrigeración	-	-	3-5 °C	-	-
Pasteurización	-	-	65 °C	20 minutos	-
cloruro de calcio	1 g.	15 °D	32 °C	-	-
Agregar BAL	3%	16 °D	32 °C	-	0 horas inoculación
Análisis	-	16 °D	32 °C	-	30 minutos
Análisis	-	18°D	32 °C	-	60 minutos
Análisis	-	19°D	32 °C	-	90 minutos
Análisis	-	21 °D	32 °C	-	120 minutos
Análisis	-	22 °D	32°C	-	150 minutos
agregado de cuajo	0.081395 g	22 °D	32 °C	-	-
Cuajado	-	-	32 °C	50 minutos	-
corte de cuajada	-	-	32 °C	5 minutos	-
Agitación	-	-	32 °C	10 minutos	-
Desuerado	90%	-	32 °C	10 minutos	se dejó un 90 % pasa salado
Salado	7%	-	32 °C	45 minutos	salado con 10% de suero
moldeado	-	-	-	5 minutos	en moldes de acero
Refrigerado	-	-	3-5 °C	-	temperatura refrigeración
criterios organolépticos:	color : Blanco amarillento		olor: Característico		sabor: característico, salado
	textura: blanda, quebradiza		apariencia: jugoso		

Anexo 10 Bitácora de las Pruebas preliminares del proceso de elaboración de queso fresco

Bitácora del proceso de elaboración de quesos					
prueba numero: 3			fecha: 24 de septiembre 2013		
actividad	cantidad	Acidez	Temperatura	tiempo de duración de la actividad	observaciones
Proceso					
recibo de leche	5litros	17 °D		-	se le hace los análisis
tipo de leche	-	-		-	semi descremada
Refrigeración	-	-	3-5 °C	-	-
Pasteurización	-	-	65 °C	20 minutos	-
cloruro de calcio	1 g.	17 °D	32 °C	-	-
Agregar BAL	3%	17 °D	32 °C	-	0 horas inoculación
Análisis	-	18 °D	32 °C	-	30 minutos
Análisis	-	19°D	32 °C	-	60 minutos
Análisis	-	21°D	32 °C	-	90 minutos
Análisis	-	22 °D	32 °C	-	120 minutos
agregado de cuajo	0.082395 g	22 °D	32 °C	-	-
Cuajado	-	-	32 °C	35 minutos	-
corte de cuajada	-	-	32 °C	5 minutos	-
Agitación	-	-	32 °C	10 minutos	-
Desuerado	80%	-	32 °C	10 minutos	se dejó un 80 % pasa salado
Salado	7%	-	32 °C	60 minutos	salado con 20% de suero
moldeado	-	-	-	5 minutos	en moldes de acero
Refrigerado	-	-	3-5 °C	-	temperatura refrigeración
criterios organolépticos:	color : Blanco		olor: Característico		sabor: característico, salado
	textura: Blanda, uloza		apariencia: jugoso		

Anexo 10 Bitácora de las Pruebas preliminares del proceso de elaboración de queso fresco

Bitácora del proceso de elaboración de quesos					
prueba numero: 4			fecha: 30de septiembre 2013		
Actividad	cantidad	Acidez	Temperatura	tiempo de duración de la actividad	observaciones
Proceso					
recibo de leche	5litros	16 °D		-	se le hace los análisis
tipo de leche	-	-		-	semi descremada
Refrigeración	-	-	3-5 °C	-	-
Pasteurización	-	-	65 °C	20 minutos	-
cloruro de calcio	1 g.	16°D	32 °C	-	-
Agregar BAL	3%	16 °D	32 °C	-	0 horas inoculación
Análisis	-	17 °D	32 °C	-	30 minutos
Análisis	-	18°D	32 °C	-	60 minutos
Análisis	-	20°D	32 °C	-	90 minutos
Análisis	-	22 °D	32 °C	-	120 minutos
agregado de cuajo	0.082486 g	22 °D	32 °C	-	-
Cuajado	-	-	32 °C	45 minutos	-
corte de cuajada	-	-	32 °C	5 minutos	-
Agitación	-	-	32 °C	10 minutos	-
Desuerado	80%	-	32 °C	10 minutos	se dejó un 80 % pasa salado
Salado	7%	-	32 °C	60 minutos	salado con 20% de suero
moldeado	-	-	-	5 minutos	en moldes de acero
Refrigerado	-	-	3-5 °C	-	temperatura refrigeración
criterios organolépticos:	color : Blanco		olor: Característico		sabor: característico, salado
	textura: Blanda, quebradiza		apariencia: jugoso		

Anexo 10 Bitácora de las Pruebas preliminares del proceso de elaboración de queso fresco

Bitácora del proceso de elaboración de quesos					
prueba numero: 5			fecha: 07 de octubre 2013		
Actividad	cantidad	Acidez	Temperatura	tiempo de duración de la actividad	observaciones
Proceso					
recibo de leche	5litros	17 °D		-	se le hace los análisis
tipo de leche	-	-		-	semi descremada
Refrigeración	-	-	3-5 °C	-	-
Pasteurización	-	-	65 °C	20 minutos	-
cloruro de calcio	1 g.	17°D	32 °C	-	-
Agregar BAL	3%	17 °D	32 °C	-	0 horas inoculación
Análisis	-	18 °D	32 °C	-	30 minutos
Análisis	-	19°D	32 °C	-	60 minutos
Análisis	-	20°D	32 °C	-	90 minutos
Análisis	-	22 °D	32 °C	-	120 minutos
agregado de cuajo	0.082396 g	22 °D	32 °C	-	-
Cuajado	-	-	32 °C	40 minutos	-
corte de cuajada	-	-	32 °C	5 minutos	-
Agitación	-	-	32 °C	10 minutos	-
Desuerado	80%	-	32 °C	10 minutos	se dejó un 80 % pasa salado
Salado	7%	-	32 °C	60 minutos	salado con 20% de suero
moldeado	-	-	-	5 minutos	en moldes de acero
Refrigerado	-	-	3-5 °C	-	temperatura refrigeración
criterios organolépticos:	color : Blanco		olor: Característico		sabor: característico, salado
	textura: Blanda, compacta		apariencia: jugoso		