

	GESTIÓN SERVICIOS BIBLIOTECARIOS					  	
	CARTA DE AUTORIZACIÓN						
CÓDIGO	AP-BIB-FO-06	VERSIÓN	1	VIGENCIA	2014	PÁGINA	1 de 1

Neiva, 03 de septiembre del 2015

Señores

CENTRO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA

Ciudad

La suscrita: Erika Tatiana Cortes Macías con C.C.1.083.894.224 de Pitalito autora del trabajo de grado titulado: "Evolución de atributos de calidad en queso huilense en almacenamiento refrigerado" presentado y aprobado en el año 2015 como requisito para optar al título de "Ingeniera Agrícola; autorizo al CENTRO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN de la Universidad Surcolombiana para que con fines académicos, muestre al país y el exterior la producción intelectual de la Universidad Surcolombiana, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera:

Los usuarios puedan consultar el contenido de este trabajo de grado en los sitios web que administra la Universidad, en bases de datos, repositorio digital, catálogos y en otros sitios web, redes y sistemas de información nacionales e internacionales "open access" y en las redes de información con las cuales tenga convenio la Institución.

- Permita la consulta, la reproducción y préstamo a los usuarios interesados en el contenido de este trabajo, para todos los usos que tengan finalidad académica, ya sea en formato Cd-Rom o digital desde internet, intranet, etc., y en general para cualquier formato conocido o por conocer, dentro de los términos establecidos en la Ley 23 de 1982, Ley 44 de 1993, Decisión Andina 351 de 1993, Decreto 460 de 1995 y demás normas generales sobre la materia.

- Continúo conservando los correspondientes derechos sin modificación o restricción alguna; puesto que de acuerdo con la legislación colombiana aplicable, el presente es un acuerdo jurídico que en ningún caso conlleva la enajenación del derecho de autor y sus conexos.

De conformidad con lo establecido en el artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, "Los derechos morales sobre el trabajo son propiedad de los autores", los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables.

Erika Tatiana Cortes Macías:

Erika Tatiana Cortes Macías

	GESTIÓN SERVICIOS BIBLIOTECARIOS						  
	DESCRIPCIÓN DE LA TESIS Y/O TRABAJOS DE GRADO						
CÓDIGO	AP-BIB-FO-07	VERSIÓN	1	VIGENCIA	2014	PÁGINA	1 de 4

TÍTULO COMPLETO DEL TRABAJO: Evolución de atributos de calidad en queso huilense en almacenamiento refrigerado.

AUTOR O AUTORES:

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
Cortes Macías	Erika Tatiana

DIRECTOR Y CODIRECTOR TESIS:

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
Gutiérrez Guzmán	Nelson

ASESORES:

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
Amorocho Cruz Castro Camacho	Claudia Milena Jennifer Katiusca

PARA OPTAR AL TÍTULO DE: Ingeniero Agrícola

FACULTAD: Ingeniería

PROGRAMA O POSGRADO: Agrícola

CIUDAD: Neiva **AÑO DE PRESENTACIÓN:** 2015 **NÚMERO DE PÁGINAS:** 69

TIPO DE ILUSTRACIONES (Marcar con una X):

Diagramas___ Fotografías___ Grabaciones en discos___ Ilustraciones en general Grabados___ Láminas___
Litografías___ Mapas___ Música impresa___ Planos___ Retratos___ Sin ilustraciones___ Tablas o Cuadros

SOFTWARE requerido y/o especializado para la lectura del documento:

MATERIAL ANEXO: formulación de medios de cultivo y ecuaciones.

PREMIO O DISTINCIÓN (En caso de ser LAUREADAS o Meritoria):

PALABRAS CLAVES EN ESPAÑOL E INGLÉS:

	Español	Ingles		Español	Ingles
1.	Quesillo	Quesillo	6.		
2.	Parámetros	Parameters	7.		

	GESTIÓN SERVICIOS BIBLIOTECARIOS						  
	DESCRIPCIÓN DE LA TESIS Y/O TRABAJOS DE GRADO						
CÓDIGO	AP-BIB-FO-07	VERSIÓN	1	VIGENCIA	2014	PÁGINA	2 de 4

3. fisicoquímicos physicochemical 8.
4. Bacterias ácido Lactic acid 9.
 lácticas bacteria
5. *Enterobacterias* Enterobacterias 10.

RESUMEN DEL CONTENIDO: (Máximo 250 palabras)

Se estudió la evolución de los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos en función del tiempo de almacenamiento refrigerado ($4^{\circ}\text{C}\pm 1$), como indicadores de la pérdida de frescura en queso huilense. Se estudiaron tres tratamientos que corresponden a T1 elaborado y empacado artesanalmente en hojas de plátano, procedente del municipio de Yaguará; T2 elaborados en industria local de derivados lácteos en Neiva, empacados al vacío y T3 elaborado y empacado artesanalmente en hojas de plátano en microempresa local de Neiva.

Todas las muestras fueron transportadas el mismo día de su producción, en termos refrigerados hasta el laboratorio control de calidad y procesos agrícolas de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Surcolombiana, donde se realizaron ensayos de TPA (Análisis de Perfil de Textura), compresión simple para evaluar dureza, color, pH, acidez titulable, humedad y recuentos microbiológicos. Las muestras de los diferentes tratamientos fueron mantenidas en condiciones de refrigeración y los parámetros fueron evaluados a los 0, 5, 10, 15 y 20 días de almacenamiento con el fin de estudiar la evolución de la frescura.

En todos los tratamientos evaluados y a pesar de los cambios en todos los atributos considerados, el estudio permite concluir que el producto mantiene su vida útil hasta los 20 días siempre y cuando se mantengan las condiciones de almacenamiento refrigerado ($4^{\circ}\text{C}\pm 1$).



GESTIÓN SERVICIOS BIBLIOTECARIOS

DESCRIPCIÓN DE LA TESIS Y/O TRABAJOS DE GRADO



CÓDIGO

AP-BIB-FO-07

VERSIÓN

1

VIGENCIA

2014

PÁGINA

3 de 4

ABSTRACT: (Máximo 250 palabras)

The evolution of the physicochemical and microbiological parameters were studied as a function of storage time of refrigerated ($4^{\circ}\text{C}\pm 1$), as indicators of staling in quesoillo Huilense, Three treatments were studied: T1 prepared and packed by hand in banana leaves, from the municipality of Yaguara, T2, prepared in local industry of dairy products and vacuum-packed and T3, prepared and packed by hand in banana leaves at local micro-enterprise.

All samples were transported on the same day of its production, in flasks cooled to the laboratory quality control and agricultural processes of the Faculty of Engineering at Universidad Surcolombiana, ATP assays were performed to evaluate texture, simple compression to evaluate hardness, color, pH, titratable acidity, moisture and microbiological counts. Samples of different treatments were maintained under refrigeration and parameters were evaluated at 0, 5, 10, 15 and 20 days of storage in order to study the evolution of freshness.

In all treatments evaluated and despite the changes in all attributes considered, the study concludes that the product main tains its lifetime to 20 days if the storage conditions are kept refrigerated ($4^{\circ}\text{C}\pm 1$).



GESTIÓN SERVICIOS BIBLIOTECARIOS

DESCRIPCIÓN DE LA TESIS Y/O TRABAJOS DE GRADO



CÓDIGO

AP-BIB-FO-07

VERSIÓN

1

VIGENCIA

2014

PÁGINA

4 de 4

APROBACION DE LA TESIS

Nombre Presidente Jurado: Nelson Gutiérrez Guzmán

Firma:

Nombre Jurado: Claudia Milena Amorocho Cruz

Firma:

Nombre Jurado: Jennifer Katiusca Castro Camacho

Firma:

Jennifer Katiusca Castro Camacho.

**EVOLUCIÓN DE ATRIBUTOS DE CALIDAD EN QUESILLO HUILENSE
EN ALMACENAMIENTO REFRIGERADO**

ERIKA TATIANA CORTES MACIAS

**UNIVERSIDAD SURCOLOMBAINA
FACULTAD DE INGENIERIA
INGENIERIA AGRICOLA
NEIVA
2015**

**EVOLUCIÓN DE ATRIBUTOS DE CALIDAD EN QUESILLO HUILENSE
EN ALMACENAMIENTO REFRIGERADO**

ERIKA TATIANA CORTES MACIAS

Trabajo de Grado presentado como requisito para optar al título de:
INGENIERO AGRÍCOLA

Director

Ph.D. NELSON GUTIERREZ GUZMAN.
Profesor de planta programa ingeniería agrícola.

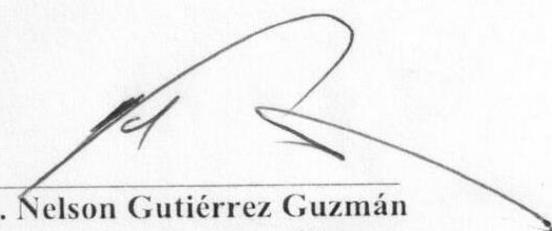
**UNIVERSIDAD SURCOLOMBAINA
FACULTAD DE INGENIERIA
INGENIERIA AGRICOLA**

NEIVA

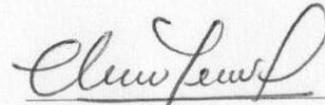
2015

Nota de aceptación:

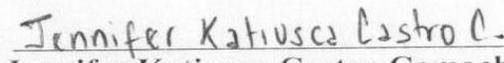
Este trabajo Recibí
Nota "Aprobatoria"



Ph. D. Nelson Gutiérrez Guzmán
Director



Ph. D. Claudia Milena Amorocho Cruz
Jurado



M. Sc Jennifer Katusca Castro Camacho
Jurado

Neiva, Septiembre de 2015

A Dios

A mi madre Luz Marina Macías

A mis hermanas Sindy, Adriana y Natalia.

Agradecimientos

Quiero expresar mis más sinceros agradecimientos a:

Dios por ser la luz y guía de mi camino.

La Universidad Surcolombiana como financiadora del Proyecto y al grupo AgroindustriaUsco por todo su apoyo.

Mi director Nelson Gutiérrez Guzmán, y a mis jurados Claudia Milena Amorocho Cruz y Jennifer Katusca Castro Camacho, por su asesoría, apoyo, tiempo y paciencia durante todo este tiempo.

Mi familia por el apoyo constante e incondicional en mi vida, y más aún en los años de carrera profesional y en especial quiero expresar mi más grande agradecimiento a mi madre, Leonel y mis hermanas porque sin ellos no hubiera podido culminar esta etapa de mi vida.

Mi novio Andrés Carvajal por su amor, por siempre creer en mí, por apoyarme en todo los proyectos que emprendo y por ser una fuente importante de mi alegría.

Todo el grupo de trabajo de CESURCAFE y a mis amigos que me acompañaron en la realización de ese proyecto.

Nataly Peña, Yaneth Liliana Ruiz y a la profesora Claudia Amorocho porque sin la enseñanza, confianza y el apoyo de ellas hubiera sido imposible realizar este proyecto.

CONTENIDO

RESUMEN	12
ABSTRACT.....	13
1. INTRODUCCIÓN	14
1.1. Problema de Investigación.....	14
2. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN	16
3. OBJETIVOS	18
3.1. Objetivo General.....	18
3.2. Objetivos específicos	18
4. MARCO CONCEPTUAL.....	19
4.1. Generalidades del producto: Quesillo huilense.....	19
4.2. Características fisicoquímicas del quesillo	21
4.2.1. pH.....	21
4.2.2. Acidez titulable	21
4.2.3. Humedad.....	22
4.3. Técnicas instrumentales de análisis en quesos.....	22
4.3.1. Propiedades mecánicas de la textura del quesillo	22
4.3.2. Colorimetría.....	23
4.3.2.1. Color en quesillo	24
4.4. Parámetros microbiológicos.....	25
4.4.1. Métodos Microbiológicos	25
4.4.2. Bacterias Acido Lácticas (BAL).....	26
4.4.3. Enterobacterias.....	26
4.5. Manejo y conservación de productos lácteos y derivados	26
4.5.1. Empaque	27
4.5.2. Refrigeración de productos lácteos	27
5. MATERIALES Y METODOS	28
5.1 Descripción y selección de la muestra	28
5.2 Análisis Fisicoquímicos	28
5.2.1. Determinación de Humedad.....	28
5.2.2. pH.....	29

5.2.3.	Acidez titulable	30
5.2.4.	Textura	30
5.2.5.	Color	32
5.3	Análisis microbiológico	33
5.3.1.	Recuento de BAL.....	34
5.3.2.	Determinación de <i>Enterobacterias</i>	34
5.3.3.	Determinación de la presencia–ausencia de coliformes totales y <i>Escherichia coli</i>	34
5.3.4.	Tinción Gram	35
5.3.5.	Conservación de BAL.....	36
5.4.	Análisis estadístico.....	36
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	37
6.1.	Análisis Físicoquímicos	37
6.2.	Evolución de textura y compresión simple	41
6.3.	Análisis de las coordenadas colorimétricas del queso	45
6.4.	Análisis microbiológico	49
6.4.1.	Caracterización morfológica en placa y Tinción Gram de las BAL.	50
6.4.2.	Recuento de Enterobacterias y presencia-ausencia de coliformes totales y <i>Escherichia coli</i>	50
7.	CONCLUSIONES	57
8.	BIBLIOGRAFÍA	59
	ANEXOS	64

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.Composición química del quesoillo huilense.....	21
Tabla 2.Descripción de los parámetros mecánicos obtenidos a través del TPA.....	23
Tabla 3.Parámetros para determinar el análisis de perfil de textura (TPA) y para la prueba de compresión simple.....	32
Tabla 4.Características iniciales del quesoillo	37
Tabla 5.Valores de pH, Acidez (% ácido láctico) y Humedad (%) de los tratamientos (T1, T2, T3) en el tiempo en almacenamiento de 4°C.	38
Tabla 6. Valores de medias de los parámetros experimentales y calculados de las coordenadas CIELab con respecto al factor tratamiento.	46
Tabla 7.Recuento de Enterobacterias en el tiempo de almacenamiento.	51
Tabla 8. Presencia-Ausencia de coliformes totales y <i>Escherichia coli</i> en los tratamientos (T1, T2, T3) en el tiempo en almacenamiento de 4°C.....	51
Tabla 9.Identificación de las colonias representativas del recuento de BAL en los tres	52

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.Elaboración de queso artesanal.	20
Figura 2.Transporte de las muestras de queso de la fábrica al laboratorio.	28
Figura 3. Determinación del contenido de humedad en muestras de queso.	29
Figura 4.Determinación de pH en muestras de queso.	30
Figura 5.Determinación de Acidez titulable de muestras de queso.	30
Figura 6. Análisis de perfil de textura de muestras de queso.....	31
Figura 7.Ensayos de compresión simple en muestras de queso.	32
Figura 8. Determinación de coordenadas de color CIELab para muestras de queso.....	33
Figura 9. Diluciones seriadas y siembra de BAL.....	34
Figura 10. Determinación de la Presencia y ausencia de <i>E-coli</i> en muestras de queso.	35
Figura 11. Método de conservación de BAL.	36
Figura 12a y b. Gráfica de medias de porcentaje de humedad según tratamientos (T1,T2 y T3) y Evolución de la humedad con respecto al tiempo de almacenamiento.	39
Figura 13.a y b. Gráfica de medias pH-tratamientos (T1, T2 Y T3) y evolución del pH con respecto al tiempo de almacenamiento.	40
Figura 14a y b. Gráfica de medias Acidez (% de ácido láctico)-tratamientos (T1, T2 y T3) y evolución de la acidez con respecto al tiempo de almacenamiento.....	41
Figura 15. Cambios de la Dureza (g) para los tratamientos T1, T2 y T3 en función del tiempo de almacenamiento.	42
Figura 16. Cambios de la Cohesividad para los tratamientos T1, T2 y T3 en función del tiempo de almacenamiento.	43
Figura 17. Cambios de la Adhesividad para los tratamientos T1, T2 y T3 en función del tiempo de almacenamiento.	43

Figura 18. Cambios de la elasticidad para los tratamientos T1, T2 y T3 en función del tiempo de almacenamiento.	44
Figura 19. Cambios de la firmeza para los tratamientos T1, T2 y T3 en función del tiempo de almacenamiento.	45
Figura 20. Cambios de la masticabilidad para los tratamientos T1, T2 y T3 en función del tiempo de almacenamiento.	45
Figura 21. Evolución de la luminosidad respecto al tiempo con la interacción de los tres tratamientos (T1, T2 y T3).	47
Figura 22. Evolución del índice de amarillamiento respecto al tiempo con la interacción de los tres tratamientos (T1, T2 y T3).	47
Figura 23. Representación gráfica de amarillez- blancura WI vs. YI ($R^2=0.9994$), para los tres quesillos en estudio.	48
Figura 25. Crecimiento de BAL-tratamientos (T1, T2 y T3).	49
Figura 26. Crecimiento de BAL Log UFC/gr en función del tiempo de almacenamiento.	50
Figura 27. Curva típica obtenida en el análisis de textura realizado con el	65

LISTA DE ANEXOS

Anexo A. Curva típica obtenida en el análisis de textura realizado con el texturometro CT3.	65
Anexo B. Requisitos microbiológicos para queso fresco.....	65
Anexo C. Determinación de acidez (% de ácido láctico).....	66
Anexo D. Medios de cultivo	67

RESUMEN

Se estudió la evolución de los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos en función del tiempo de almacenamiento refrigerado ($4^{\circ}\text{C}\pm 1$), como indicadores de la pérdida de frescura en quesoillo huilense elaborado, empaçado artesanalmente y procedente de una industria local de derivados lácteos empaçado al vacío. Se estudiaron tres tratamientos que corresponden a T1 elaborado y empaçado artesanalmente en hojas de plátano, procedente del municipio de Yaguará; T2 elaborados en industria local de derivados lácteos en Neiva, empaçados al vacío y T3 elaborado y empaçado artesanalmente en hojas de plátano en microempresa local de Neiva.

Todas las muestras fueron transportadas el mismo día de su producción, en termos refrigerados hasta el laboratorio control de calidad y procesos agrícolas de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Surcolombiana, donde se realizaron ensayos de TPA (Análisis de Perfil de Textura) para evaluar textura, compresión simple para evaluar dureza, color, pH, acidez titulable, humedad y recuentos microbiológicos. Las muestras de los diferentes tratamientos fueron mantenidas en condiciones de refrigeración y los parámetros fueron evaluados a los 0, 5, 10, 15 y 20 días de almacenamiento con el fin de estudiar la evolución de la frescura.

En la evolución de la dureza se observó en los tratamientos T1 y T2 valores iniciales en los rangos entre 500g-600g, mientras que el T3 presentó valores de 200 g; al finalizar el almacenamiento, el tratamiento T2 presentó los valores más altos, del orden de 800 g y los tratamientos T1 y T3 presentaron valores finales similares del orden de 300 g; en cuanto al color, los cambios más notorios se presentaron en los índices de blancura y amarillamiento los cuales resultaron con una evolución inversamente proporcional; la humedad del producto registro un descenso notorio entre los días 0 y 5 de almacenamiento en el tratamiento T1, sin diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos T2 y T3; de la misma forma en el análisis microbiológico, se pudo establecer en general que, las muestras de Quesillo en los tres tratamientos, Se identificaron BAL (Bacterias Ácido Lácticas) Gram-positivas, con morfología bacilar, cocoide, agrupado en diplococos, en ninguno de las muestras evaluadas se observó presencia de *E-coli*, lo cual es indicador de la inocuidad del producto.

En todos los tratamientos evaluados y a pesar de los cambios en todos los atributos considerados, el estudio permite concluir que el producto mantiene su vida útil hasta los 20 días siempre y cuando se mantengan las condiciones de almacenamiento refrigerado ($4^{\circ}\text{C}\pm 1$).

Palabras Clave: quesoillo, parámetros fisicoquímicos, Bacterias ácido lácticas, *Enterobacterias*.

ABSTRACT

The Evolution of the physicochemical and microbiological parameters were studied in function of time cold storage ($4^{\circ}\text{C}\pm 1$), as indicators of staling in processed quesillo and packaged by hand from a local industry of dairy products packaged-vacuum. Three treatments were performed: T1, it was prepared and packed by hand, from the municipality of Yaguara, T2, prepared in local industry of dairy products and vacuum-packed and T3, prepared and packed by hand in the local micro-enterprise.

All samples were transported on the same day of its production, in flasks cooled to the laboratory quality control and agricultural processes of the Faculty of Engineering at Universidad Surcolombiana, ATP assays were performed to evaluate texture, simple compression to evaluate hardness, color, pH, titratable acidity, moisture and microbiological counts. Samples of different treatments were maintained under refrigeration and parameters were evaluated at 0, 5, 10, 15 and 20 days of storage in order to study the evolution of freshness.

In the evolution of the hardness was observed in treatments T1 and T2, the initial values ranged from 500 g to 600 g, while T3 showed values 200 g the end of the storage, treatment T2 showed the highest values, approximately 800g, and T1 and T3 had similar final values of the order of 300 g, as regards color, the most notable changes occurred in the whiteness and yellowing indices which resulted in an evolution inversely proportional; product moisture registered a marked decline between days 0 and 5 storage for T1, no statistically significant differences for treatments T2 and T3; in the same way, in the microbiological analysis it was established that in general, the quesillo samples in the three treatments had BAL whose morphology allowed to determine that these were bacilos, cocos y diplococos Gram (+), in none of these cases evaluated were observed presence of *E-coli*, which is indicative of product safety.

In all treatments evaluated and despite the changes in all attributes considered, the study concludes that the product main tains its lifetime to 20 days if the storage conditions are kept refrigerated ($4^{\circ}\text{C}\pm 1$).

Keywords: quesillo, physicochemical parameters, lactic acid bacteria, *Enterobacteriaceae*.

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente en Colombia existe un desconocimiento generalizado de la evolución de los parámetros que inciden en la calidad y definen la preferencia, selección y decisión de consumo de los alimentos, a pesar de que existen disponibles técnicas instrumentales y sensoriales aplicables a casi todos los productos agroalimentarios.

El quesillo es un queso fresco, no madurado, elaborado con leche de vaca, tiene un sabor moderadamente ácido, de consistencia semiblanda, se constituye en un alimento, nutritivo y económico en comparación con otros quesos, pertenece o está comprendido bajo la denominación de quesos de pasta hilada, ya que tienen en común una fase particular de la tecnología, el hilado, basado en la propiedad de la caseína de estirarse bajo determinadas condiciones de temperatura y acidez.

En el departamento del Huila se produce y consume un tipo de quesillo fabricado principalmente de manera artesanal y en algunos casos a nivel semindustrializado, de gran aceptación en mercado local, pero con dificultades a la hora de ser ofrecido en el mercado nacional debido al desconocimiento de las técnicas de manejo y conservación que permitan mantener de manera aceptable su apariencia, calidad e inocuidad.

En este trabajo se estudió la evolución de quesillo huilense elaborado y empacado artesanalmente y elaborado en industria local empacado al vacío, en función del tiempo en almacenamiento refrigerado, con el fin de definir las condiciones óptimas de manejo pos compra ajustado a las condiciones de manejo en los hogares de los consumidores.

1.1. Problema de Investigación

El denominado quesillo corresponde a una variedad artesanal de queso producida en principalmente en Colombia, Argentina y Chile, se caracteriza por ser un queso blando de pasta cruda, tipo pasta hilada, que se consume fresco y posee textura compacta, firme y ligeramente elástica, de color blanco, blanco-amarillento, o amarillento (Oliszewski, Cisint, Vercellone & Núñez, 2003). En los últimos 10 años el quesillo viene siendo ofrecido en el mercado nacional de Colombia con algún nivel de industrialización, en el que se ha modificado su empaque, presentación y método de conservación en relación con los productos típicos que se pueden encontrar en diferentes poblaciones del departamento del Huila. El crecimiento en la oferta de este producto, motivado por la aceptación en el contexto nacional, exige que las modificaciones en el producto estén soportadas en conceptos tecnológicos derivados de procesos de investigación científica.

Debido a las políticas del Tratado de Libre Comercio, en proceso de firmarse en Colombia, el sector lácteo no es ajeno a ello, sus productos deben ser de excelente calidad, competitivos para poder exportarse a otros países. El quesillo, un queso de pasta hilada hace parte de los productos aceptados como exportable (Londoño, 2006).

Aun con su gran potencial actual, el quesillo se elabora de forma artesanal a base de leche cruda, la cual se procesa para extraer el suero lácteo ácido, en condiciones de procesamiento, transporte y comercialización con cierto nivel de industrialización. Esto ocasiona un producto alimenticio con corto tiempo útil que no permite mantener sus características fisicoquímicas, organolépticas y microbiológicas lo que dificulta su comercialización a gran escala (Maldonado & Llanca, 2006; citado por Granados *et al*, 2010).

Con las consideraciones anteriores se puede definir el problema de investigación para atender la necesidad de la industria de quesos artesanales en el departamento del Huila en Colombia, relacionado con el desconocimiento relativo de la evolución de los diferentes atributos de calidad en función del tipo de empaque y del tiempo, junto con las condiciones de almacenamiento; por lo que podría plantearse la pregunta de investigación como sigue. ¿El conocimiento de la evolución de los parámetros que afectan la estabilidad y los atributos que definen la calidad en quesillo huilense, permite definir las condiciones adecuadas de empaque, tiempo y condiciones de almacenamiento para proponer a los consumidores, un producto seguro después de la compra?

La respuesta a este interrogante será un importante aporte a la creciente industria alimentaria que procesa lácteos, tratando de posicionar en mercados especializados el tradicional quesillo Huilense.

2. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

A pesar del hecho de no ser el quesillo un producto de consumo masivo, por su aceptación ya viene siendo objeto de atención de la industria alimentaria; en el contexto latinoamericano, algunas investigaciones se han desarrollado para caracterizar el quesillo en algunos de sus atributos de calidad, llegando incluso a proponer el diseño de alimentos funcionales adicionando bacterias probióticas en quesillos elaborados con nuevos productos; a continuación se relacionan las mencionadas investigaciones:

Ramírez-Navas & Rodríguez (2012) compararon el color por espectrocolorimetría en 14 variedades de quesillos comerciales y una de fabricación en laboratorio, concluyendo que las variaciones en el color se deben principalmente a la composición y al método de fabricación, además, indicaron que el color es un adecuado atributo para decidir la aceptación por parte de los consumidores.

Oliszewski, Cisint & Núñez (2007) evaluaron la vida útil del quesillo Argentino de fabricación artesanal, comparado con fabricación industrializada, mediante el estudio de la evolución del pH, la acidez y la microbiota.

Oliszewski *et al.*, (2003) evaluaron la inocuidad del quesillo fabricado en el noroeste Argentino, mediante el recuento de aerobios mesófilos totales, coliformes totales y coliformes fecales.

Por su parte, Cocio (2006), propuso la elaboración de quesillo de la denominada leche de soya con adición de Bacterias probióticas con el fin de ofrecer un alimento funcional que además de nutrir va a favorecer la salud del consumidor.

Se encuentran en mayor cantidad reportes de investigación con otras variedades de queso de mayor tradición y más altos volúmenes de consumo en el mundo, entre las que se destacan las siguientes que tiene alguna relación con los propósitos y metodologías definidas para este estudio:

Zúñiga, Ciro & Osorio (2007) evaluaron cambios en la textura en función del tiempo de maduración del queso Edam, para lo cual midieron la dureza utilizando mediante punción con esfera y mediante ensayos de TPA.

Castañeda *et al.* (2007) evaluaron las propiedades reológicas del queso Goya, determinadas a través del análisis sensorial descriptivo cuantitativo (QDA) y a través del análisis instrumental por medio de un analizador de textura con pruebas de TPA.

Estrada *et al.* (2011) estudiaron la evolución de dos parámetros que afectan la estabilidad y conservación del queso y que permiten comparar características en queso de oveja como son la actividad de agua y el pH.

En cuanto a la evaluación de la evolución de la microbiota, se puede destacar el trabajo de Moura *et al.* (2008) quienes realizaron un análisis microbiológico en cierta variedad de queso artesanal comercializado en un mercado popular en Brasil.

Con lo mencionado en párrafos anteriores se demuestra que hay suficiente soporte metodológico para caracterizar y evaluar los aspectos que permiten decidir sobre la frescura cambios en los atributos de calidad en diferentes variedades de queso, además, queda claro también que en otros países existe preocupación por evaluar los aspectos relacionados con la calidad de los quesos artesanales y tradicionales de cada región lo que permite un mejor desarrollo a la creciente industria del sector derivado de los lácteos.

La posibilidad de ofrecer a la industria agroalimentaria local y a los consumidores información que les ayude a mejorar las condiciones de empaque, manejo y forma de conservación del quesillo huilense, de manera que se pueda contar con un producto con atributos de calidad mantenidos durante un tiempo suficiente, justifica la realización de este trabajo de investigación, además porque se utilizan los conocimientos adquiridos durante el proceso de formación de los ingenieros agrícolas con especialidad en agroindustria, fortaleciendo esta línea de trabajo.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo General

Estudiar la evolución de algunos atributos de calidad y parámetros que afectan la estabilidad y la calidad en queso huilense en función del modo de fabricación, tiempo de almacenamiento en condiciones de refrigeración.

3.2. Objetivos específicos

Evaluar cambios fisicoquímicos y recuento microbiológico que pueden indicar pérdida de frescura en las muestras de queso en función del tipo de elaboración, tipo de empaque y tiempo de almacenamiento refrigerado

Realizar un análisis comparativo entre los diferentes empaques y formas de elaboración a medida que avanza el tiempo de almacenamiento refrigerado.

Evaluar la interacción de los indicadores de pérdida en frescura a medida que avanza el tiempo de almacenamiento, considerando como variables del proceso la textura, color, pH, acidez titulable, humedad y recuento microbiológico.

4. MARCO CONCEPTUAL

4.1. Generalidades del producto: Quesillo huilense

Es un queso fresco, no madurado, elaborado con leche de vaca, tiene un sabor moderadamente ácido, de consistencia semiblanda (Urrea & Sanchez, 1996), se constituye en un alimento, nutritivo y económico en comparación con otros quesos, pertenece o está comprendido bajo la denominación de quesos de pasta hilada, ya que tienen en común una fase particular de la tecnología del hilado, basado en la propiedad de la caseína de estirarse bajo determinadas condiciones de temperatura y acidez (Jaramillo *et al*, citado por Cury *et al*, 2014).

El quesillo representa una buena posibilidad de aprovechar las leches acidificadas en las ganaderías de alta y pequeña producción en el país; se empezó a fabricar en el Alto Magdalena, regiones del Huila y Tolima, en los últimos años se extendió por el Medio y Bajo Magdalena, Caldas, Cundinamarca, Boyacá, Antioquia, Santander y Cesar (Londoño, 2006). Es así como la importancia económica de la producción de lácteos en el país y en el departamento del Huila, junto con la complejidad de la tecnología para su producción, procesamiento y aceptación, requieren un mayor conocimiento de sus propiedades texturales, fisicoquímicas, y microbiológicas con el fin de ofrecer alimentos con aceptables niveles de calidad (Zúñiga *et al*, 2007).

En la producción artesanal el queso es una masa circular con la apariencia de las arepas o puede tener una forma semicuadrada, su empaque artesanal es la hoja de plátano, por lo cual no requiere de molde. Pero a nivel industrial, su forma es rectangular debido al molde utilizado, obteniéndose unos bloques hasta de 5 libras. Presenta una superficie blanca y brillante y su consistencia interna es semiblanda, pero no se desbarata al frote de los dedos, su textura es cerrada sin ojos, y se observa en capas, cuando está muy fresco (Urango, 2012).

En la figura 1 se observa el diagrama de flujo del proceso de elaboración del quesillo huilense y además los diferentes empaques: empaque artesanal y empaque al vacío.

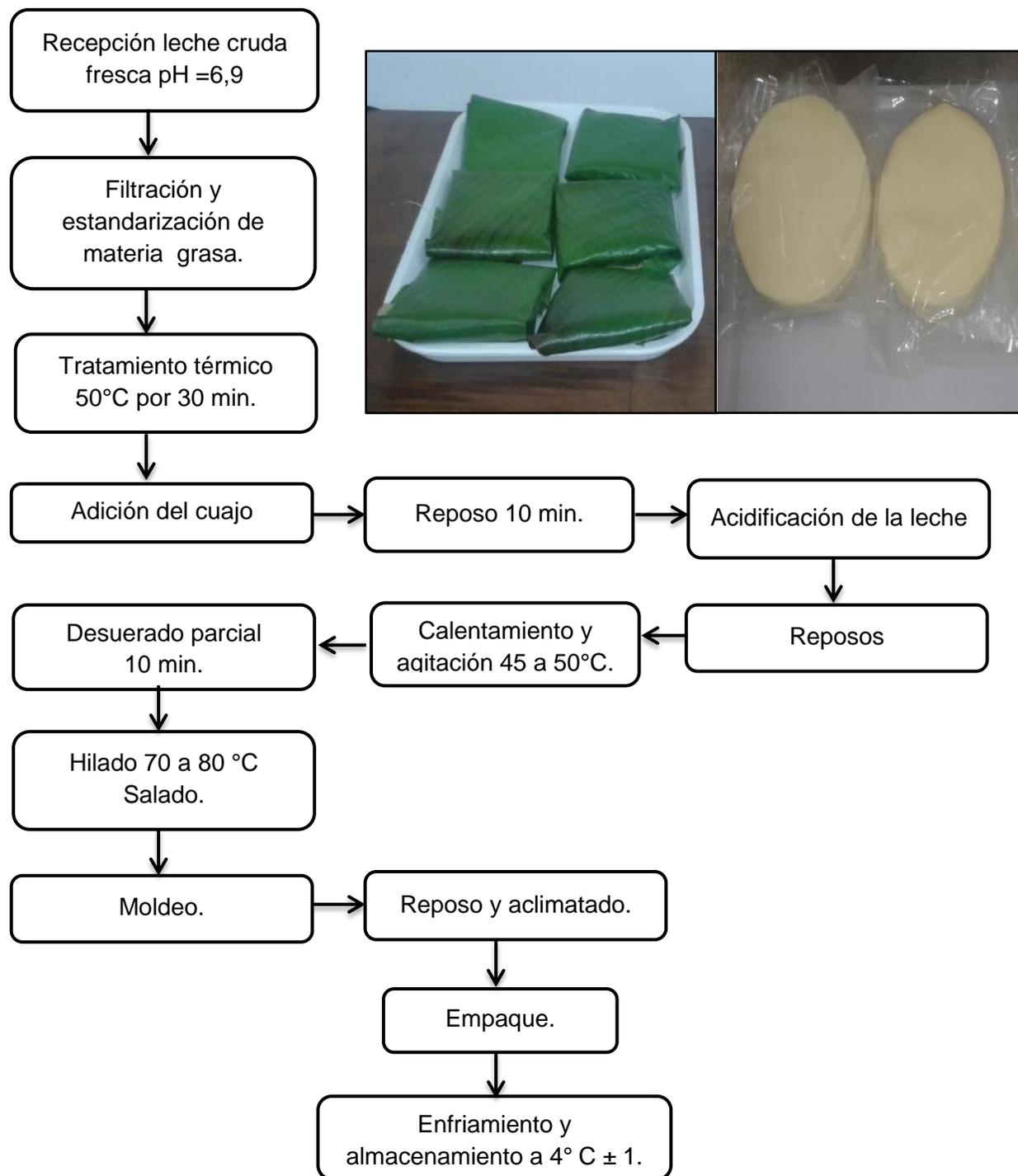


Figura 1.Elaboración de quesillo artesanal.

Fuente: Adaptado de Ramírez-Navas *et al* (2010).

4.2. Características fisicoquímicas del queso

En la tabla 1 se presenta la composición proximal del queso huilense, de manera general corresponde a un producto de humedad intermedia, con alto contenido de materia grasa y un importante aporte proteico, su contenido de ácido láctico le imprime condiciones de alimentos ácidos, de muy buena aceptación por los consumidores.

Tabla 1. Composición química del queso huilense.

Características	Valores de referencia
Humedad (%)	49-51
Materia grasa (%)	24-26
Proteína (%)	19-21
Sal (%)	1.1-1.4
Materia grasa en materia seca (%)	51
Humedad del queso desgrasado (%)	67
pH	5.2 – 5.5
Acidez (% ácido láctico)	0.7 – 0.8

Fuente: Novoa & Rodríguez. 1994

4.2.1. pH

El pH en quesos frescos determina los tipos de microorganismos que son capaces de multiplicar y regular la actividad de varias enzimas (Bruschi, 2000), es uno de los parámetros que afecta sobre todo las propiedades texturales del queso, debido a su efecto o sobre la red de proteínas (Watkinson *et al.*, 2001; Lu *et al.*, 2008).

La determinación de pH es sencilla ya que sólo se requiere de un pHmetro para tomar la medida sobre una masa homogénea de queso por dilución de la muestra en agua destilada (Gonzales, 2010).

4.2.2. Acidez titulable

Se expresa como el porcentaje de ácido láctico (Londoño, 2006), la acidez de los productos lácteos es debida a la fermentación de la lactosa en ácido láctico, en la que intervienen bacterias acidificadoras. Durante la fermentación de la lactosa ocurren otras fermentaciones que dan origen a olores o aromas característicos (Revilla, 1996 citado por Moncada, 2005).

La acidez, en el queso es otro factor que no sólo tiene incidencia sobre el sabor, sino también directamente en los cambios que experimenta la red de proteína (cuajada) del queso, teniendo

ésta una correlación directa en los fenómenos de sinéresis (es decir; a mayor acidez, mayor sinéresis) y textura final (Pinho *et al.*, 2004 citado por Ramírez *et al* 2012).

4.2.3. Humedad

La humedad es un parámetro importante para identificar si el producto ha conservado la frescura y calidad; según la NTC 750 los quesos se clasifica según el contenido de humedad sin materia grasa en extraduro, duro, firme/semiduro y blando; además de favorecer el desarrollo microbiano, si se hablara de quesos madurados esta participa en el proceso de maduración del queso, con alto contenido de humedad maduran rápidamente, mientras que con bajo contenido la maduración se prolonga considerablemente (Rodríguez, 2007).

4.3. Técnicas instrumentales de análisis en quesos

4.3.1. Propiedades mecánicas de la textura del quesillo

Pueden medirse a través de sus propiedades reológicas, por medio de varios métodos: técnicas de compresión uniaxial, de relajación y de compresión dinámica. La compresión uniaxial, utilizado frecuentemente en la obtención de parámetros reológicos de quesos, consiste en comprimir una muestra cilíndrica mediante un plato descendente a velocidad constante, hasta un nivel de deformación superior al del punto de fractura. La resistencia mecánica desarrollada por la muestra, en respuesta a la deformación impuesta, se registra a través de un TPA. La medición depende de la velocidad de desplazamiento de la superficie de compresión y de la temperatura (Londoño, 2006).

4.3.1.1. Parámetros texturales

La realización de una prueba de TPA produce una curva de fuerza/tiempo característica del comportamiento de la muestra durante su doble compresión, mediante esta se obtienen siete parámetros, Demonte citado por Londoño 2006, como se muestra en la Tabla 2.

La textura se puede evaluar mediante un TPA, diseñado para permitir la evaluación instrumental de los parámetros de textura, se basa en imitar la acción de las mandíbulas por medio de un texturómetro (Demonte citado por Londoño 2006).

En la tabla 2 se muestra la descripción de los parámetros obtenidos a través del TPA.

Tabla 2. Descripción de los parámetros mecánicos obtenidos a través del TPA.

Parámetro mecánico	Descripción	Forma de obtención
Dureza	Se refiere a la fuerza requerida para comprimir un producto entre los molares o entre la lengua y el paladar.	Fuerza máxima obtenida durante el primer ciclo de compresión. Unidad: gramos
Cohesión	Firmeza de las uniones internas del alimento.	Proporción positiva entre el área del segundo pick y el área del primer pick. Corresponde a $A2/A1$ (Anexo A) Unidad: adimensional
Adhesividad	Trabajo necesario para vencer la fuerza de atracción entre el alimento y una superficie.	Área de la fuerza del pick negativo, si lo hubiera, que sigue al primer pick. Corresponde a $A3$ (Anexo A) Unidad: gramos x segundo
Elasticidad	Velocidad a la cual el alimento deformado retorna a su condición original luego de remover la fuerza aplicada.	Recuperación de la muestra entre el fin del primer ciclo de compresión y el inicio del segundo ciclo de compresión. Corresponde a la longitud de d . (Anexo A) Unidad: adimensional
Masticabilidad	Representa el trabajo necesario para masticar un alimento hasta que esté listo para ser deglutido.	Producto de la dureza por la cohesión y la elasticidad. Unidad: mj
Firmeza	Fuerza necesaria para provocar una deformación dada.	Área de la fuerza del pick negativo, si lo hubiera, que sigue al primer pick. Corresponde a $A3$ (Anexo A). Unidad: gramos x segundo

Fuente: Adaptado de Figueroa (2006).

4.3.2. Colorimetría

Se ha establecido que el color es un parámetro fundamental al momento de determinar la madurez o evolución de un alimento en el tiempo, una tecnología avanzada para medir el color

es el colorímetro triestímulo, el cual usa sensores que simulan el modo en que el ojo humano ve el color. El colorímetro expresa el color en forma numérica y cuantifica la diferencia de color entre un estándar y una muestra de producción (Angón *et al*, 2006). Un colorímetro está compuesto por: una fuente de luz, tres filtros (correspondientes al rojo, verde y azul) y un detector, por lo que puede ser considerado como una imitación directa del mecanismo de percepción del sistema visual humano. Su funcionamiento se basa en que al incidir la fuente de luz sobre la muestra en un ángulo de 45°, existe una reflexión difusa que atraviesa los tres filtros X, Y, Z y luego, es medida por la fotocélula o detector.

El procedimiento para medir color en los alimentos con el colorímetro Konika Minolta, serie CR-410, consiste en colocar el equipo en contacto directo sobre la muestra, como se observa en la figura 8. Definida el área de interés, se procede a accionar el botón de medición, el equipo emite una luz de xenón pulsante y las longitudes de onda emitidas por la muestra, son transcritas por el colorímetro a valores del espacio de color seleccionado, como L^* a^* b^* , la coordenada L^* describe luminosidad, y las coordenadas a^* y b^* describen tonos entre rojo-verde y amarillo-azul respectivamente. Según MacDougall (2002) citado por Wenceslao *et al*, (2012) las mejoras en CIELab se deben a la transformación no lineal de la raíz cúbica de los valores triestímulo, los cuales se aproximan más al espacio visual de las muestras de color del sistema Munsell (2002).

4.3.2.1. Color en quesillo

Las variaciones de color de Quesillo son debidas principalmente al suero de leche inicial, composición, ácido usado en la producción de queso, la microflora indígena, la tecnología de fabricación, el tiempo de estiramiento, el tiempo y la temperatura de almacenamiento y embalaje.

En Colombia, Ramírez & Rodríguez (2012) estudiaron el color en quesillo y los parámetros de color fueron obtenidos usando el espacio CIELab, donde L^* corresponde a ligereza / oscuridad (cambio gamas de color del oscuro 0% a 100% de luz), a^* verde/rojo cromaticidad (de verde a rojo 60 -60), y b^* de cromaticidad azul/amarillo (de azul a amarillo 60 -60). Se promedió cada parámetro para cada uno de los quesillos y se calcularon C^* H^* , ΔE^* y los índices WI (Índice de blancura) y YI (Índice de amarillamiento); además, se calcularon los valores promedio de L^* , a^* , b^* .

Los atributos de color croma métrico o saturación (C^*), matiz, tonalidad o tono (H^*), se calcularon a partir de las ecuaciones 1 y 2; y los índices de color WI y YI fueron determinados según (Boun & Huxsoll, 1991) en la ecuación 3 y (Ramírez, 2010) en la ecuación 4.

Diferencias de color (simbolizadas como ΔE^*), en el espacio CIELab, numéricamente representa la percepción de la diferencia de color para el ojo humano entre dos muestras de

alimentos. También ΔE^* representa un índice general de la variación de color. ΔE^* se calculó utilizando la ecuación 5 (Ramírez & Rodríguez, 2012).

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad \text{Ecuación 1.}$$

$$H^* = \arctg \left[\frac{b^*}{a^*} \right] \quad \text{Ecuación 2.}$$

$$WI = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}} \quad \text{Ecuación 3.}$$

$$YI = 142.86 \left[\frac{b^*}{L^*} \right] \quad \text{Ecuación 4.}$$

$$\Delta E_{r,s} = \sqrt{(L^* - L_{ref}^*)^2 + (a^* - a_{ref}^*)^2 + (b^* - b_{ref}^*)^2}$$

$$\Delta E_{r,s} = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

Ecuación 5.

4.4. Parámetros microbiológicos

4.4.1. Métodos Microbiológicos

Como indicadores de calidad microbiológica se registra la presencia de (aerobios mesófilos, coliformes totales, coliformes fecales, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*), estos microorganismos como es el caso de los aerobios mesófilos, están presentes en el queso como consecuencia de inadecuada gestión de la higiene y manipulación, los coliformes tanto totales como fecales y *E. coli* se consideran indicativos de contaminación fecal, por lo cual no deben estar presentes en el alimento (Carrasco, 2002).

Según la norma técnica Colombia NTC750 el queso en sus diferentes clases debe cumplir con los requisitos microbiológicos mínimos indicados en el Anexo B.

4.4.2. Bacterias Acido Lácticas (BAL)

Las BAL son un grupo de microorganismos representados por varios géneros con características morfológicas, fisiológicas y metabólicas en común. En general las BAL son cocos o bacilos Gram positivos, no esporulados, no móviles, anaeróbicos, microaerofílicos o aerotolerantes; oxidasa, catalasa y benzidina negativas, carecen de citocromos, no reducen el nitrato a nitrito y producen ácido láctico como el único o principal producto de la fermentación de carbohidratos. Además, las BAL son ácido tolerantes pudiendo crecer algunas a valores de pH tan bajos como 3.2, otras a valores tan altos como 9.6, y la mayoría crece a pH entre 4 y 4.5, permitiéndoles sobrevivir naturalmente en medios donde otras bacterias no aguantarían la actividad producida por los ácidos orgánicos (Ramírez *et al*, 2011); la fermentación bacteriana contribuye al sabor y a la conservación del queso.

Las bacterias lácticas empleadas en la industria láctea se pueden clasificar también según su temperatura óptima de crecimiento en mesófilas y termófilas. Las primeras crecen a una temperatura de 10°C a 40°C con un óptimo cercano a 30°C (Stanley, 1998 citado por Rodríguez, 2007). En la industria se utilizan principalmente las especies de los géneros *Lactococcus* y *Leuconostoc*: *Lactococcus lactis subsp. Lactis*, *Leuconostoc. Lactis subsp. Lactis biovar diacetylactís*, *Leuconostoc. Lactis subsp. Cremoris*, *Leuconostoc lactis* y *Leuconostoc. cremoris*.

4.4.3. Enterobacterias

Son huéspedes normales del intestino de los mamíferos, por lo tanto su presencia en el agua y en la leche se relacionan con contaminación de origen fecal, estas bacterias tienen gran importancia desde dos puntos de vista; HIGIENICO: ya que varias de estas especies tienen poder patógeno, de los cuales la más temible es la salmonella y otras que pueden provocar trastornos gastrointestinales (*Yersinia*, *E.coli*, *Shigella*). Y TECNOLÓGICO; ya que son bacterias heterofermentativas, grandes productoras de gases, además producen sustancias viscosas y de sabor desagradable, todo lo cual conduce a la alteración de la leche o subproductos. De las Enterobacterias, las más comunes encontradas en los productos lácteos son las del grupo coliformes. La determinación de su presencia indica calidad higiénica de la leche cruda y pasteurizada, las Enterobacterias comunes de la leche cruda y productos lácteos: *E Coli*, *Enterobacter Aerogenes*, *Klebriella*, *Citrobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Serratra* (Celis & Juárez, 2009).

4.5. Manejo y conservación de productos lácteos y derivados

La higiene de los alimentos comprende el conjunto de condiciones y medidas necesarias para garantizar la seguridad y salubridad de los productos alimentarios, incluida la manipulación por el consumidor desde el momento en que adquiere el alimento en un punto de venta hasta que lo prepara y consume (Delgado, 2003).

Entre los indicadores que sirven para evaluar la calidad y estabilidad de los quesos están los fisicoquímicos: humedad, pH, actividad de agua (aw) y los microbiológicos que permiten identificar la existencia de patógenos que por condiciones inadecuadas de elaboración o manipulación pudieran estar presentes en el alimento (Vásquez, 2012).

4.5.1. Empaque

El envasado en atmósferas controladas, modificadas o al vacío es una de las tecnologías de conservación de alimentos más importantes del momento actual. El volumen de alimentos que se distribuyen envasados de esta manera supera al de los distribuidores en bandejas o bolsas tratados por el calor y envasados asépticamente. Las bolsas para envasar al vacío son parte de los elementos necesarios para esta forma de conservación de los alimentos (Brody, 1996 citado por German, 2013).

4.5.1.1. Empaque al vacío

El vacío es un modo de conservación de alimentos muy práctico y sencillo. Se trata de extraer el aire que rodea al producto que se va a envasar. De este modo se consigue una atmósfera libre de oxígeno con la que se retarda la acción de bacterias y hongos que necesitan este elemento para sobrevivir, lo que posibilita una mayor vida útil del producto. El envasado al vacío se complementa con otros métodos de conservación ya que después, el alimento puede ser refrigerado o congelado (López, 2008 citado por German, 2013).

4.5.2. Refrigeración de productos lácteos

Para lograr conservar los productos lácteos es necesario evitar romper la cadena de frío. Además, la conservación está directamente vinculada con otros aspectos, tales como el control de entradas y salidas, con el fin de garantizar la rotación del producto y no prolongar su almacenamiento; igualmente con el control de temperatura y humedad de los lugares de almacenamiento, los cuales deben estar libres de contaminación cruzada y contar con una buena ventilación. En cuanto a las condiciones de envasado y empaquetado, los productos tienen que estar herméticamente sellados y sin golpes.

El quesillo se debe almacenar a temperatura de 2°-5°C y alcanza hasta una vida útil por 30 días de almacenamiento (Romero, 2014).

5. MATERIALES Y METODOS

5.1 Descripción y selección de la muestra

Se trabajó con una muestra de 75 quesillos de 250 g obtenidos en mercados en los municipios del Huila (Yaguará y Neiva), de los cuales 25 corresponden a quesillos elaborados y empacados artesanalmente en hojas de plátano (T1) del municipio de Yaguará, 25 adquiridos en una industria local de Neiva y empacados al vacío (T2) y 25 quesillos también elaborados y empacados artesanalmente en hojas de plátano (T3) en microempresa local de Neiva.



Figura 2. Transporte de las muestras de queso de la fábrica al laboratorio.

Las muestras se transportaron el mismo día de su producción, en termos de icopor (Figura 2) hasta el laboratorio control de calidad y procesos agroindustriales de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Surcolombiana, 5 quesillos de cada tratamiento (T1, T2 y T3) fueron destinados a ensayos de caracterización el mismo día de su arribo al laboratorio (0 días) y el resto fueron analizados en lotes de 5 quesillos a los 5, 10, 15 y 20 días de almacenamiento refrigerado ($4^{\circ}\text{C}\pm 1$).

Los análisis de textura, pH, acidez y humedad se realizaron por triplicado, los de color con cinco réplicas y los microbiológicos por duplicado.

5.2 Análisis Físicoquímicos

5.2.1. Determinación de Humedad.

Se determinó el contenido de humedad de las muestras de queso mediante el método gravimétrico indirecto (García & Fernández, 2012), donde tres recipientes con arena de mar y varilla de vidrio, se secaron en estufa (HUMBOLDT MFG. CO) a $100 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas, las cuales fueron atemperadas en un desecador para luego ser pesadas en una balanza analítica, valor establecido como m_0 . Posteriormente, se añadieron 10 g de queso homogenizando la

muestra con la ayuda de la varilla y la arena, luego se pesó nuevamente el recipiente con la arena, la varilla y la muestra, tomando este valor como m_1 (Figura 3). Las muestras, se mantuvieron en estufa a 103 ± 2 °C durante 24 h, pasado este tiempo, los recipientes se colocaron en desecador y se tomó su peso (m_2). El porcentaje de humedad expresado en g de agua por 100 g de muestra, se calculó mediante la ecuación 6:

$$\%H = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} * 100 \quad \text{Ecuación 6.}$$



Figura 3. Determinación del contenido de humedad en muestras de queso.

5.2.2. pH.

La determinación de pH en queso se realizó de acuerdo a Gonzales (2010), tomando una muestra de 1 g realizando un corte desde la corteza hasta el centro de la pieza, diluyéndose en 10 ml de agua destilada con la ayuda de un equipo homogenizador o de dispersión marca IKA Tipo T18 basic ULTRA-TURRAX y posteriormente se determinó la lectura (Figura 3) con potenciómetro (WTW -330) previamente calibrado de acuerdo a la norma (AOAC-981.12-1997).



Figura 4.Determinación de pH en muestras de quesoillo.

5.2.3. Acidez titulable

Se realizó de acuerdo a Meyer *et al.* (1982), citado por Gonzales (2010), en alícuotas de 10 gramos de quesoillo se añade agua destilada, hasta alcanzar 100 ml. La mezcla se homogeniza con la ayuda de un equipo homogenizador o de dispersión marca IKA Tipo T18 basic ULTRA-TURRAX y se filtra la solución, se toman 50 ml del filtrado, se añade 5 gotas de fenolftaleína y se titula con hidróxido de sodio 0.1 N (Figura 5), de acuerdo a la norma (AOAC-942.15-1997); a partir de la ecuación 7 (Anexo C).



Figura 5.Determinación de Acidez titulable de muestras de quesoillo.

5.2.4. Textura.

Se realizaron ensayos de TPA (figura 6) con una sonda cilíndrica TA4/100 acrílico transparente de 38.1 mm de diámetro y una celda de carga de 10 kg comprimiendo dos veces consecutivas la muestra, a una velocidad de 0.8 mm/s con una carga de activación de 5 g y un 50% de

deformación sobre bloques de queso de 3x3 cm de lado con altura variada dependiendo del grosor del queso a analizar; también se realizaron pruebas de compresión simple utilizando sonda esférica TA18 (Figura 7) de diámetro de 6.35 mm sobre los bloques de queso ya mencionados, se utilizó un Analizador de Textura BROOKFIELD CT3.



Figura 6. Análisis de perfil de textura de muestras de queso.

Los parámetros de cada prueba se basaron a lo expuesto por Zúñiga *et al.* (2007) con modificaciones para su aplicación en queso como muestra la Tabla 3.

Tabla 3. Parámetros para determinar el TPA y para la prueba de compresión simple.

Tipo de Test: TPA	Tipo de Test: Compresión
Objetivo: 50.0%	Objetivo: 50.0%
Esperar t.: 0 s	Esperar t.: 0 s
Carga Activación: 5 g	Carga Activación: 5 g
Vel. Test: 0.8 mm/s	Vel. Test: 0.8 mm/s
Velocidad Vuelta: 0.8 mm/s	Velocidad Vuelta: 0.8 mm/s
Contador ciclos: 2	Contador ciclos: 1
Tpo. Recuperación: 0 s	Tpo. Recuperación: 0 s
Fr. Muestreo: 10 puntos/seg	Fr. Muestreo: 10 puntos/seg
Sonda: TA4/100	Sonda: TA18
Elemento: TA-BT-KI	Elemento: TA-BT-KI
Mismo activador: Exacto	Mismo activador: Falso
Velocidad Pretest: 2 mm/s	Velocidad Pretest: 2 mm/s
Celda Carga: 10000g	Celda Carga: 10000g

Fuente: Adaptado de Zúñiga *et al.* (2007).



Figura 7. Ensayos de compresión simple en muestras de queso.

5.2.5. Color

Se determinó de acuerdo a la metodología planteada por Ramírez-Navas & Rodríguez (2012), se realizó sobre la superficie del queso como se muestra en la figura 8; se caracterizó el color utilizando los parámetros L^* , a^* y b^* del sistema CIE (Comisión Internationale de l'Éclairage) y los parámetros de croma métrico (C^*), tonalidad (H^*), diferencia de color (ΔE), índice de blancura

(WI) e índice de amarillo (YI), se utilizó el Colorímetro Konica Minolta CR-410 (Figura 8), N.J. USA.

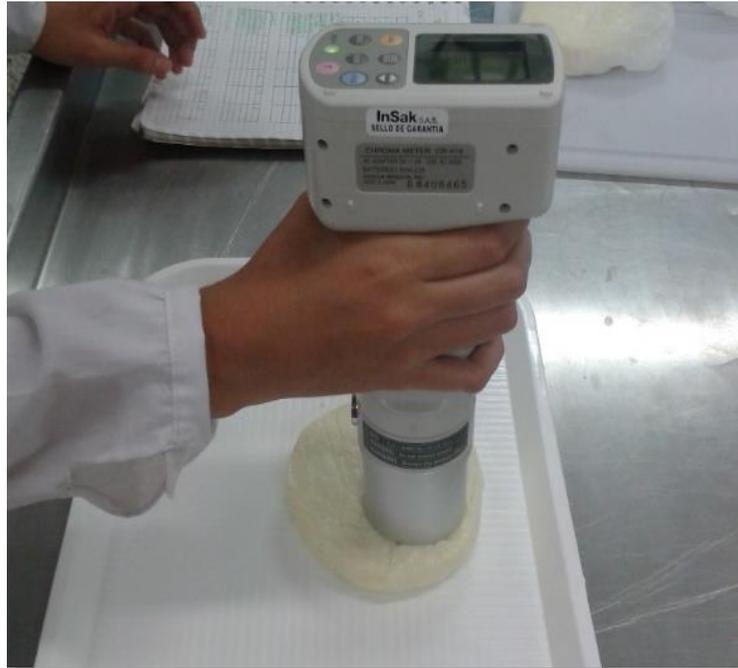


Figura 8. Determinación de coordenadas de color CIELab para muestras de queso.

5.3 Análisis microbiológico

Se tomó 2 muestras de queso de 10 g para cada tratamiento T1, T2 y T3 se homogenizaron en 90 ml de solución estéril de agua de peptona (*Enterobacterias*) (MERCK) (Anexo D) y caldo Man-Rogosa-Sharpe (MRS) (bacterias lácticas) (Dibico) (Anexo D), se efectuaron diluciones seriadas (Figura 9) en tubos con 9 ml con la misma solución tampón para realizar los posteriores recuentos.



Figura 9. Diluciones seriadas y siembra de BAL.

5.3.1. Recuento de BAL

Se sembró en profundidad alícuotas de 1 ml de las respectivas diluciones en medio de cultivo selectivo agar MRS (MERCK) (Figura 9) (

Anexo D) por duplicado e incubados durante 48h a 37°C en condiciones de aerobiosis en la incubadora de precisión digital modelo (10W temperatura 2005) marca VWR. Posteriormente se realizó el respectivo recuento y se hizo una identificación morfológica de las Unidades Formadoras de Colonia (UFC) a las 24 y 48 horas.

5.3.2. Determinación de *Enterobacterias*

Se sembró en doble capa las alícuotas de 1 ml de las diluciones realizadas en agua de peptona en el medio de cultivo selectivo agar Violeta Rojo neutro bilis (VRBA) (MERCK) (Anexo D) por duplicado e incubados durante 48h a 37°C en la incubadora de precisión digital modelo (10W temperatura 2005) marca VWR y después se hizo el recuento de las colonias típicas a las 24 y 48 horas.

5.3.3. Determinación de la presencia–ausencia de coliformes totales y *Escherichia coli*

Para realizar esta prueba se tomó como referencia DBC-*E.coli*; prueba rápida para determinar la Presencia – Ausencia de *E. coli* y coliformes totales y fecales en muestras de agua; con algunas modificaciones para las muestras de queso.

Se tomaron 90 ml de agua de peptona en el frasco y se le agregó 10 ml de la muestra obtenida de la homogenización de 10 g de queso y agua de peptona, que corresponde a la concentración 10^{-1} , posteriormente se agregaron DBC-*E.coli* en polvo en el frasco con la muestra, se agitó hasta completar la disolución e integración del polvo (ligeramente amarillo), se incubaron a 37°C

durante 24 horas en incubadora de precisión digital modelo (10W temperatura 2005) marca VWR; se realizó la interpretación de los resultados: ausencia de coliformes si el medio no presenta cambio en el color o es amarillo, presencia de coliformes totales si se detecta un cambio de color verde-azul, la presencia de *Escherichia coli* se determinó al iluminar el cultivo con luz U.V.366 nm, si hay fluorescencia la prueba es positiva; para realizar la confirmación se agregó 3 gotas de reactivo de Kovac's para detectar la producción de Indol, lo cual confirma la presencia de *E.coli*; si es positiva se torna un anillo rojo cereza en la superficie del medio (Figura 10).

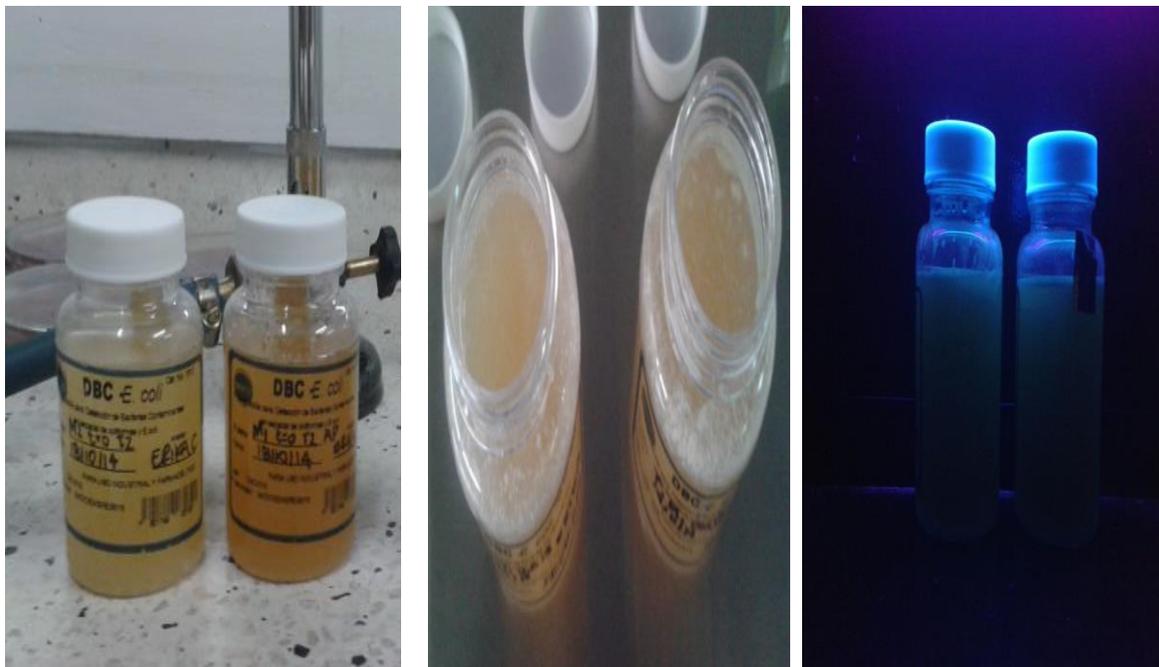


Figura 10. Determinación de la Presencia y ausencia de *E-coli* en muestras de queso.

5.3.4. Tinción Gram

Una vez realizado el conteo de las UFC por gramo, se procedió a efectuar tinción a las colonias más representativas.

De esta manera, se vertió una gota de agua destilada sobre un porta objetos, a la cual se depositó con un asa de platino una pequeña parte de la colonia a examinar, extendiéndola suavemente. Luego, se dejó secar la preparación con calor suave y se fijó la preparación pasando el portaobjetos 3 veces por la llama del mechero. Luego, se cubrió o tñó con Violeta de Genciana (Mollabs) por 30 s, después se reemplazó el colorante por Lugol (Mollabs), dejándolo actuar 1 minuto, posteriormente se lavó con agua, se decoloró con alcohol por 30 s, se lavó con agua destilada, se tñó con Fuchsin (Mollabs) durante 3 min, se lavó y se secó para luego ser observado en un microscopio.

5.3.5. Conservación de BAL

Transcurrido el tiempo de incubación de las BAL se escogió 12 colonias representativas de los tres tratamientos, se sembró en masa los diferentes aislados como se muestra en la figura 11 y se almaceno a -20°C en perlas para preservación de microorganismos para ser empleados en posteriores pruebas. Además, se realizó tinción Gram de cada uno de los aislados y se apreció en microscopio la morfología, tipo de agrupación e identifico si el microorganismo era Gram positivo o Gram negativo (Tabla 9).

Se marcaron las placas con tres letras y dos números con el siguiente significado: producto, origen, fabricante, día de almacenamiento y numero de colonia como se muestra en la tabla 9.



Figura 11. Método de conservación de BAL.

5.4. Análisis estadístico

Se realizaron análisis estadísticos descriptivos para observar la evolución de los diferentes parámetros y atributos de calidad en función del tiempo de almacenamiento; se realizaron pruebas de ANOVA de una vía para observar el efecto de las variables en los ensayos de textura, color, pH, acidez titulable y recuento microbiológico considerando como variables respuesta el tipo de empaque, el tipo de elaboración y el tiempo de almacenamiento y adicionalmente se realizarán pruebas de ANOVA factorial para observar las interacciones de los parámetros y atributos de calidad en función de tiempo de almacenamiento, tipo de empaque y tipo de elaboración. En todos los análisis se verificaran los supuestos para la aplicación de ANOVA, en todos los casos se utilizo las pruebas LSD Fisher, con un nivel de confianza del 95% y se utilizó el paquete estadístico StatGraphics Plus 5.1 para Windows (Manugistics, Inc., Rockville MD, USA.).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

6.1. Análisis Físicoquímicos

Los resultados de los cambios en parámetros físicoquímicos que experimenta el quesillo elaborado artesanalmente empacado en hoja de plátano (T1 y T3) y semindustrial empacado al vacío (T2), en función del tiempo de almacenamiento refrigerado (4°C) se presentan a continuación.

En la Tabla 4 se muestra las características iniciales del quesillo fresco; se puede observar un pH ligeramente ácido para los tres tratamientos, los valores de humedad obtenidos resultaron más elevados que los reportados para queso fresco (Ramírez & Vélez, 2012); en general, la caracterización inicial encontrada para este tipo de quesillo recién fabricado, presenta variación con respecto a los reportados por Ramírez & Rodríguez (2012) para quesillo colombiano y por Oliszewski *et al* (2007) para quesillo Argentino.

Tabla 4. Características iniciales del quesillo

Parámetros	Tratamiento		
	T1	T2	T3
pH	5.69	5.84	5.78
Acidez(% ácido láctico)	0.4504	0.3603	0.4384
Humedad (%)	60.00	49.33	53.66

En la tabla 5 se presentan los valores de las medias y la diferencia que se encontró en la evolución de los parámetros: pH, acidez y humedad de los tres quesillos estudiados en el tiempo de almacenamiento en refrigeración; la humedad es el parámetro que mantuvo un comportamiento constante en el tiempo de almacenamiento en los tres tratamientos y según los resultados de ANOVA no mostraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) para los tratamientos T2 y T3.

Tabla 5. Valores de pH, Acidez (% ácido láctico) y Humedad (%) de los tratamientos (T1, T2, T3) en el tiempo en almacenamiento de 4°C.

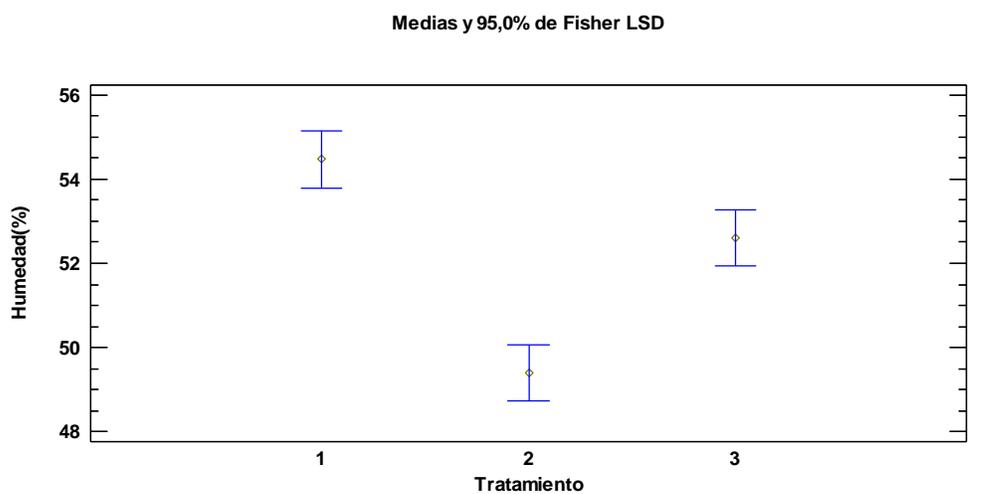
Tratamientos	Tiempo(Días)				
	0	5	10	15	20
pH					
T1	5.69±0.012 ^{ab}	5.71± 0.010 ^b	5.68 ± 0.015 ^a	5.75±0.000 ^c	5.68±0.020 ^a
T2	5.84±0.040 ^a	5.89±0.006 ^a	5.84±0.051 ^a	6.03±0.030 ^a	5.99±0.284 ^a
T3	5.78±0.006 ^b	5.72±0.076 ^{ab}	5.67±0.026 ^a	5.66±0.040 ^a	5.78±0.025 ^b
Acidez (% ácido láctico)					
T1	0.4504±0.000 ^a	0.8107±0.048 ^d	0.5405±0.000 ^b	0.6065±0.028 ^c	0.4864±0.018 ^a
T2	0.3603±0.036 ^a	0.4144±0.036 ^{ab}	0.4444±0.010 ^{ab}	0.5045±0.062 ^{bc}	0.5705±0.092 ^c
T3	0.4384±0.027 ^{ab}	0.4264±0.037 ^a	0.4864±0.031 ^b	0.4504±0.036 ^{ab}	0.4264±0.0208 ^a
Humedad (%)					
T1	60.00±6.083 ^a	53.33±0.577 ^b	53.33±0.577 ^b	53.00±0.000 ^b	52.67±0.577 ^b
T2	49.33±1.155 ^a	49.66±1.155 ^a	49.00±0.000 ^a	48.33±0.577 ^a	49.66±1.528 ^a
T3	53.66±1.528 ^a	52.33±0.577 ^a	52.66±1.528 ^a	52.33±0.577 ^a	52.00±0.000 ^a

Las medias seguidas por la misma letra en la fila no difieren estadísticamente entre sí mediante la prueba de LSD Fisher ($P < 0.05$); $\bar{X} \pm S$.

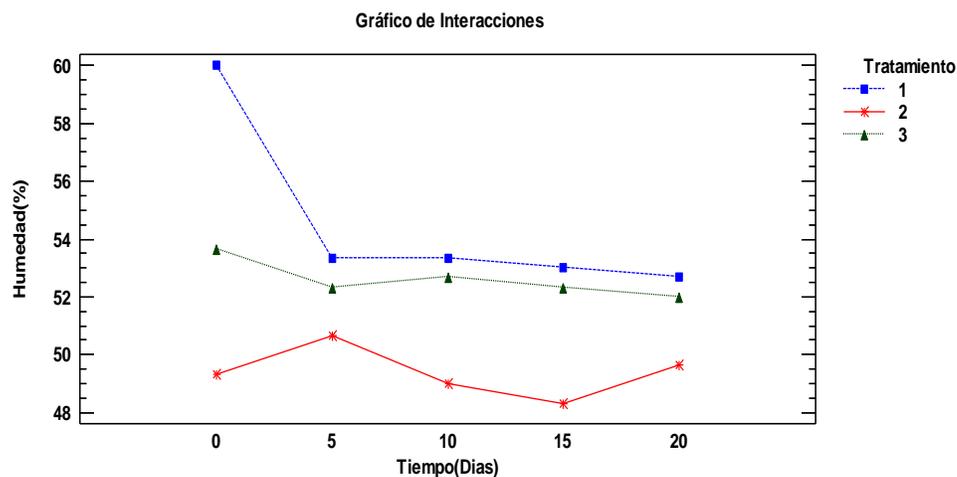
En la figura 12a de medias del contenido de humedad con respecto al factor tratamiento se observa que a un nivel de confianza del 95% se obtuvo diferencia estadísticamente significativa en el porcentaje de humedad entre ellos, el quesillo que mantuvo menor humedad pero constante en los 20 días de almacenamiento fue el T2 el cual estaba empacado al vacío a diferencia de los otros dos tratamientos empacados artesanalmente en hojas de plátano; en la evolución de la humedad del tratamiento 1 se observó la mayor diferencia de humedad entre el día 0 y 5 de almacenamiento, en los demás días se mantuvo por una misma tendencia; se observa que en el tiempo de almacenamiento no hubo pérdidas representativas de humedad entre los tratamientos T2 y T3.

El contenido promedio de humedad entre los tratamientos T1 y T3 es diferente aunque comparten el mismo tipo de empaque, esto pudo ser ocasionado por diferencias en la elaboración, ya que el reposo y aclimatado que se debe realizar después del moldeado como se muestra en la figura 1 no se realizó en el tratamiento 3.

En general, la humedad de los quesillos está en un rango elevado entre 48 y 60% como se observa en la figura 12b, lo que permite clasificarlos como quesos frescos que según su consistencia se clasifican en quesos blandos, dado que tienen una humedad mayor del 45 %. (Ramírez *et al*, 2010).



a



b

Figura 12a y b. Gráfica de medias de porcentaje de humedad según tratamientos (T1,T2 y T3) y Evolución de la humedad con respecto al tiempo de almacenamiento.

A diferencia del porcentaje de la humedad, el mayor pH se observa en el tratamiento T2 (figura 13a) además se mantiene en la misma tendencia de pH durante todo el tiempo de almacenamiento, los quesillos empacados y elaborados artesanalmente mantuvieron el mismo rango de pH durante el tiempo de almacenamiento; la evolución de este se presentó como se observa en la figura 13b en el orden de 5,6 - 5,8 (T1); 5,8-6,00 (T2) y 5,6-5,8 (T3).

En el análisis estadístico en la figura 13a se observa que a un nivel de confianza del 95% se obtuvo diferencia significativa para el factor tratamiento entre el tratamiento T2 con respecto al

T1 y T3 lo que indica que el pH es un parámetro cuyos valores pueden fluctuar de acuerdo a la elaboración y tipo de empaque.

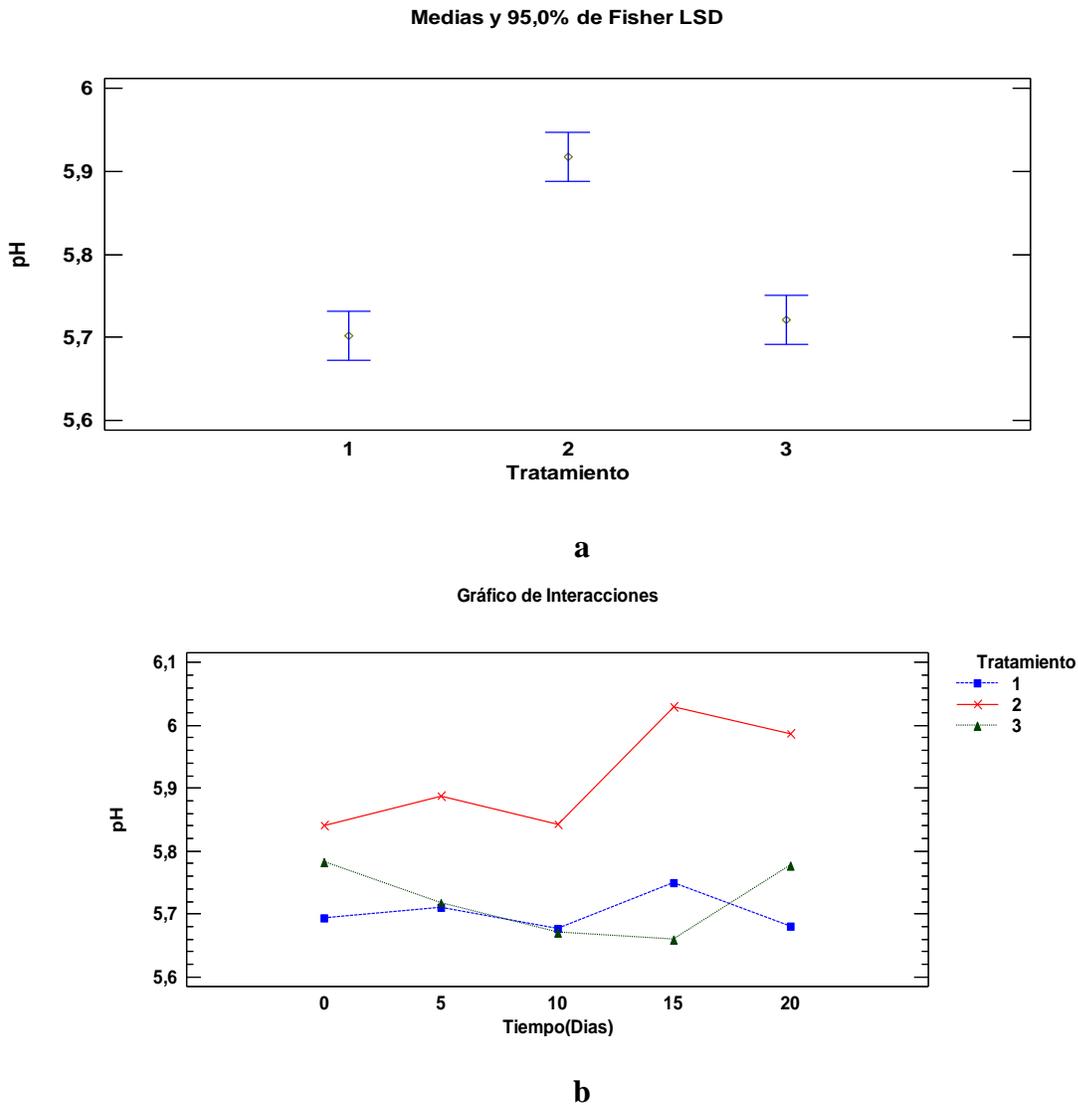


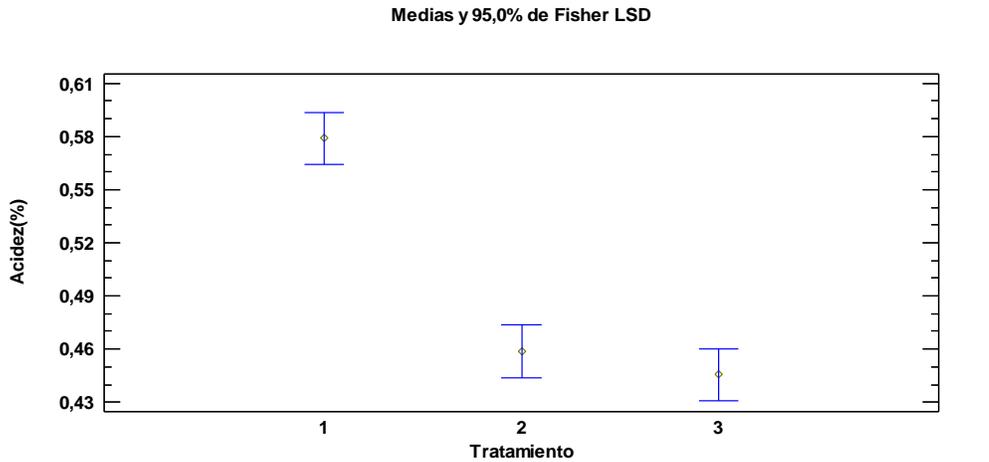
Figura 13.a y b. Gráfica de medias pH-tratamientos (T1, T2 Y T3) y evolución del pH con respecto al tiempo de almacenamiento.

En la figura 14a de medias del porcentaje de ácido láctico con respecto al factor tratamiento se observa que hubo diferencias estadísticamente significativas, el mayor porcentaje de ácido láctico se encontró en el tratamiento T1, el cual además presentó cambios significativos entre los días 0, 5 y 10 de almacenamiento como se observa en la figura 14b; el tratamiento T2 presentó un incremento directamente proporcional al avance del almacenamiento refrigerado.

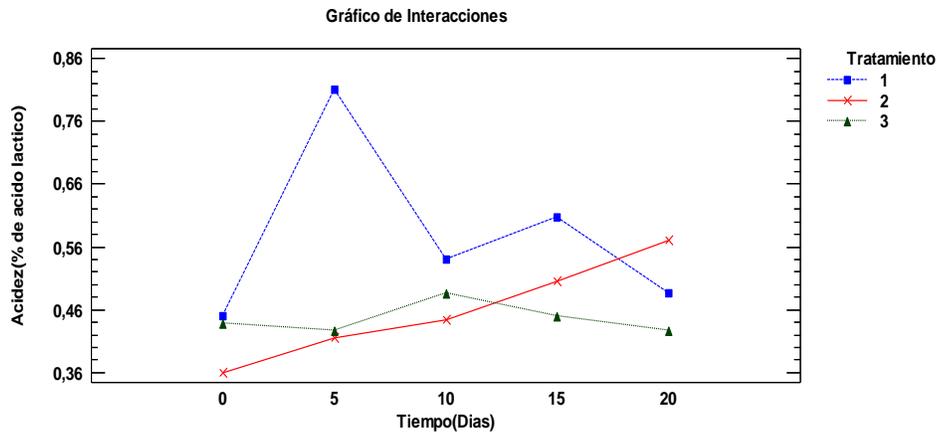
La acidez expresada como contenido porcentual de ácido láctico encontrada para cada tratamiento, se presenta en la figura 14b en los rangos de 0,463 % - 0,834% para T1, 0,310% -

0,620% para T2 y 0,398% - 0,515% para T3, éstos rangos guardan correspondencia con los reportados por Castillo *et al*, (2008) para quesillos de Loja producido en Ecuador.

El mayor contenido de ácido láctico encontrado en el tratamiento T1 se pudo deber a la mayor presencia de microorganismos ácido lácticos como lo reporta Vera *et al* (2008).



a



b

Figura 14a y b. Gráfica de medias Acidez (% de ácido láctico)-tratamientos (T1, T2 y T3) y evolución de la acidez con respecto al tiempo de almacenamiento.

6.2. Evolución de textura y compresión simple

En la Figura 15 se muestra la evolución de la dureza en los ensayos de compresión simple de los tres tratamientos en función del tiempo de almacenamiento en refrigeración. Se observa una diferencia en las evoluciones según tratamiento así: mientras en T1 se presenta una disminución progresiva que inicia con una dureza de 643 ± 22.50 g, en T2 la dureza aumento progresivamente, iniciando con 453 ± 20.95 g hasta llegar a 1004 ± 16.09 g con una leve caída en el día 20 a

8187±7.02 g, para T3 se mantuvo una dureza relativamente baja del orden de 300 g. Los resultados del tratamiento T2 pueden estar asociados a los reportados por Pinho *et al.* (2004) quien comenta que después de 20 días de maduración el queso se vuelve más firme por el incremento de hidrólisis en las caseínas y por la pérdida de agua, dando lugar a un queso con menor elasticidad y cohesividad.

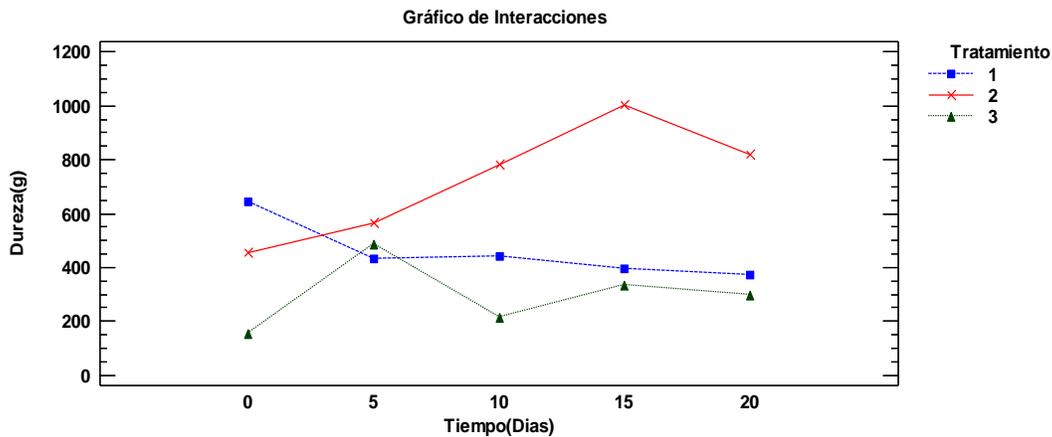


Figura 15. Cambios de la Dureza (g) para los tratamientos T1, T2 y T3 en función del tiempo de almacenamiento.

Como se mencionó en el párrafo anterior, la cohesividad disminuye en quesos que han aumentado su dureza, en la figura 16 se presenta la evolución de la cohesividad según tratamiento en función del tiempo de almacenamiento refrigerado; para el caso del tratamiento T2 se presenta una disminución a medida que avanza el tiempo de almacenamiento, pasando de 0,7 a 0,52, los valores encontrados para el queso empacado al vacío, están del mismo orden de los reportados por García (2006); ésta tendencia no se presentó para los quesillos elaborados y empacados artesanalmente (T1 y T3), en los que la cohesividad mantuvo una evolución constante durante el tiempo de almacenamiento, muy similar para ambos tratamientos.

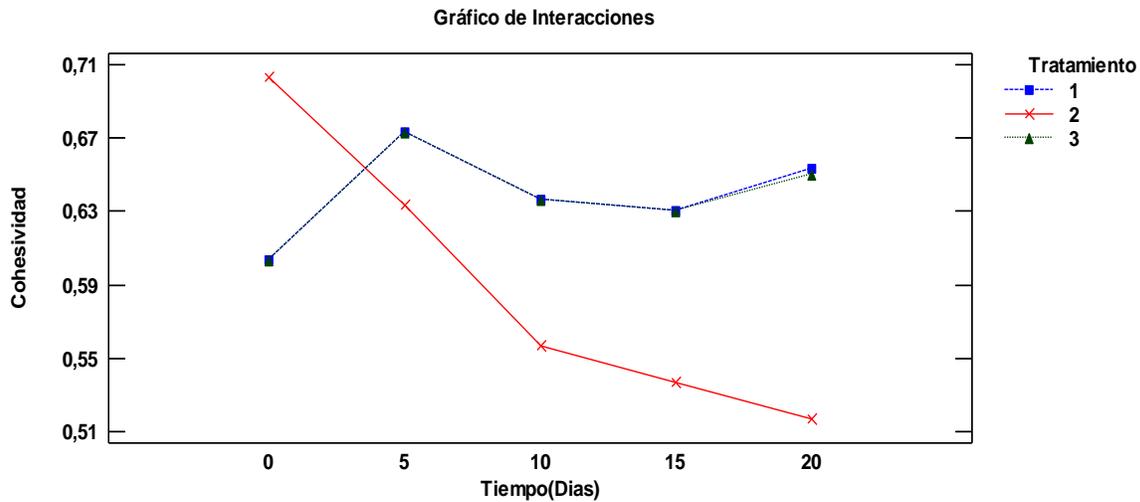


Figura 16. Cambios de la Cohesividad para los tratamientos T1, T2 y T3 en función del tiempo de almacenamiento.

La figura 17, presenta los cambios obtenidos en la adhesividad para T1, T2 y T3 durante al almacenamiento refrigerado. La adhesividad que evalúa el trabajo requerido para retirar el alimento adherido a una superficie, presentó valores entre 1.67 ± 0.25 mJ y 1.27 ± 0.70 mJ en T1, para T2 estuvo entre 0.77 ± 0.15 mJ y 5.57 ± 0.70 mJ y para el T3 se tuvo un pico máximo de 2.43 ± 0.29 mJ para el día 5 y una caída hasta 0.22 ± 0.38 mJ el día 15 (Figura 17), una tendencia similar en la evolución fue reportada por Licon *et al.* (2010), donde registra que en los tiempos estudiados la adhesividad es significativamente mayor ($P \leq 0,01$) en los quesos envasados al vacío.

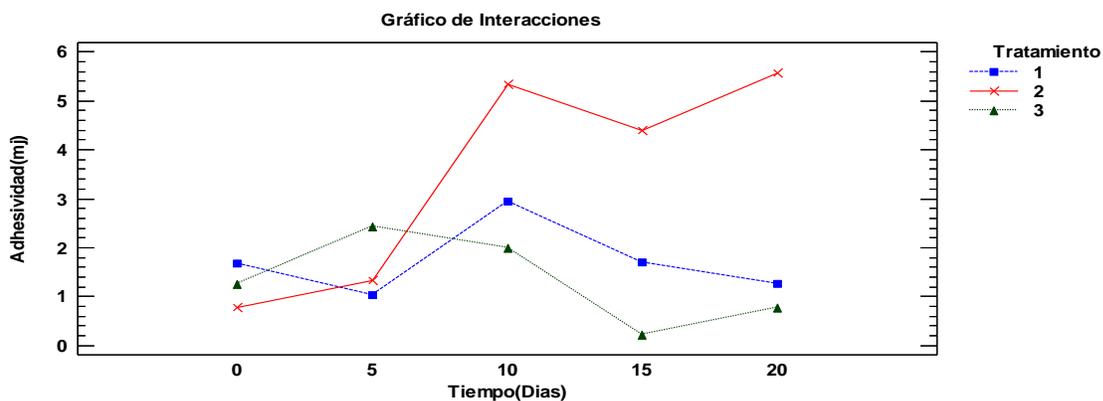


Figura 17. Cambios de la Adhesividad para los tratamientos T1, T2 y T3 en función del tiempo de almacenamiento.

Para la evolución de la elasticidad, característica que describe cómo se comporta el producto al tratar de regresar a su forma original después de una deformación se presenta la figura 18, donde

puede verse que para T1 y T3 que presentaron valores diferentes, mantuvieron la misma tendencia durante el almacenamiento y para el caso del tratamiento T2 la curva que representa el comportamiento de la elasticidad presentó un ascenso más evidente durante los primeros 10 días de almacenamiento, ya que pasó de un valor de 7.64 ± 0.16 mm al inicio del proceso hasta 8.54 ± 0.29 mm al día 10; para el día 15 esta propiedad tuvo un leve descenso registrando un valor de 8.10 ± 0.13 ; estas diferencias fueron estadísticamente significativas, una explicación podría deberse a la cantidad de grasas contenida en el queso ya que según Rivera & De la Ossa (2012) los valores de cohesividad y elasticidad aumentan en función del contenido graso y disminuyeron en función del tiempo.

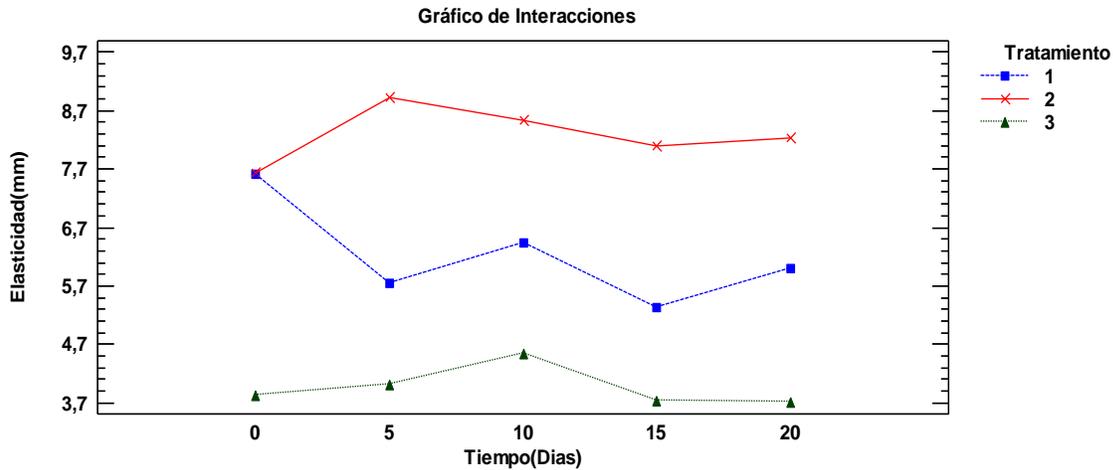


Figura 18. Cambios de la elasticidad para los tratamientos T1, T2 y T3 en función del tiempo de almacenamiento.

La evolución de la firmeza que corresponde a la fuerza necesaria para provocar una deformación programada (50% en todos los casos estudiados), se presenta en la figura 19; para los tratamientos T1 y T3 presentó una evolución descendente, lo que se esperaba debido a que ambos tratamientos estaban empacados de manera artesanal; para el caso de T2, se presentó un incremento desde una firmeza inicial de 1772 ± 69.08 g (día cero) hasta 3023 ± 114.77 g el día 15, equivalente a un aumento del 59% respecto al valor inicial.

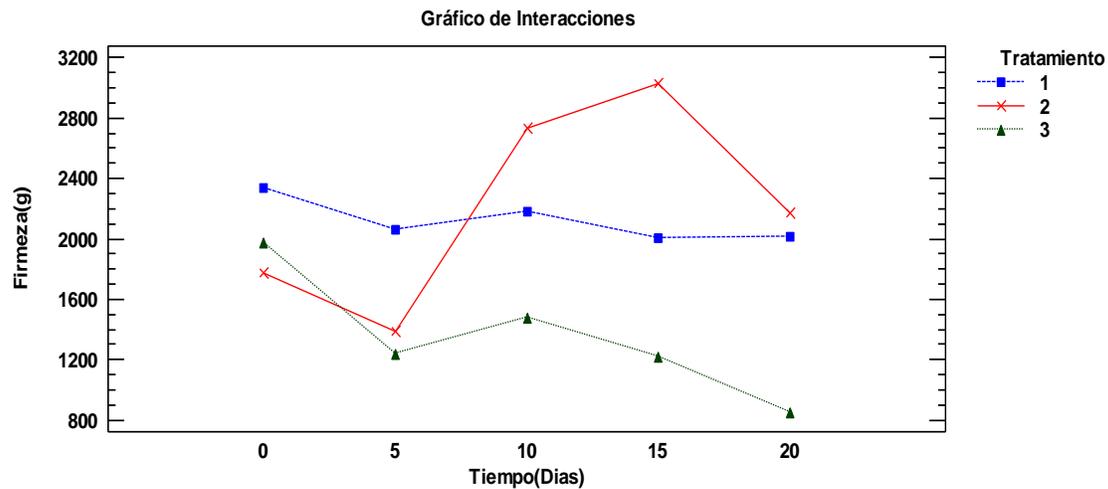


Figura 19. Cambios de la firmeza para los tratamientos T1, T2 y T3 en función del tiempo de almacenamiento.

Finalmente al observar la evolución de la masticabilidad en la figura 20 que corresponde al trabajo necesario para masticar un alimento hasta que esté listo para ser deglutido, presenta una tendencia creciente para el tratamiento T2 y decreciente para los tratamientos T1 y T3, con valores de 161 ± 40.61 mJ disminuyendo en el tiempo hasta 121 ± 17.46 mJ en T1 y valores de 86 ± 14.34 mJ disminuyendo en el tiempo hasta 33 ± 5.76 mJ en T3. Es importante resaltar la similitud en las tendencias entre los parámetros masticabilidad (Figura 20) y dureza (Figura 15), debido a que por definición ambos corresponden a fuerzas necesarias para comprimir el alimento.

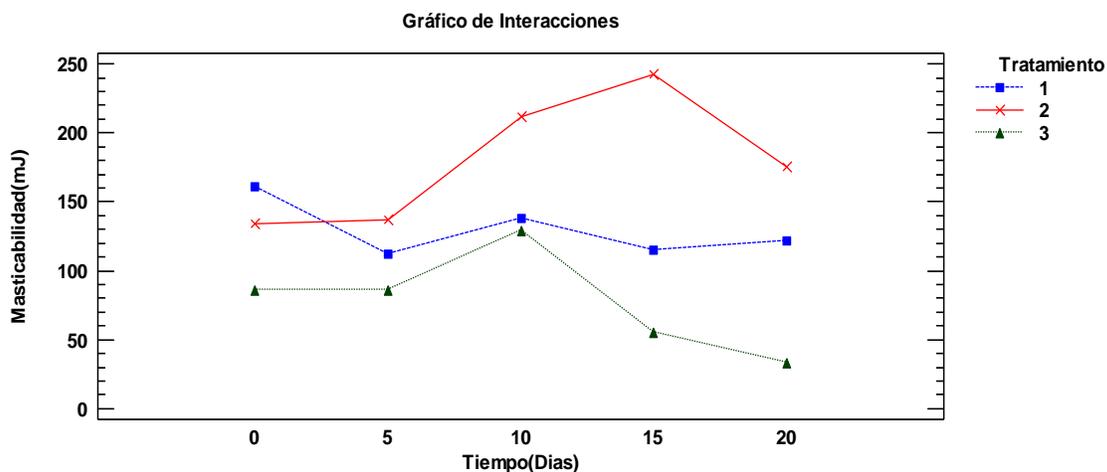


Figura 20. Cambios de la masticabilidad para los tratamientos T1, T2 y T3 en función del tiempo de almacenamiento.

El color de los alimentos es uno de los mayores atributos que afecta la percepción de la calidad por parte de los consumidores y también es una potente herramienta para el control de calidad y mercadeo. El color que se observa en el queso es una combinación de muchos factores (Ramírez-Navas *et al* ,2012); a continuación se presenta la evolución de las coordenadas CIE de los tres tipos de queso a los que se realizó el estudio en 20 días de almacenamiento en refrigeración a 4°C.

En la tabla 6 se muestra los parámetros experimentales encontrados con el colorímetro Konica minolta CR-410 y los parámetros C* y H* calculados a partir de las coordenadas CIE; el análisis estadístico en la tabla 6 permite observar diferencias estadísticamente significativas en las coordenadas L* y b* en función del factor tratamiento, de la misma forma, el parámetro C*, YI y WI presentaron diferencias estadísticamente significativas también en función del tratamiento; también es posible observar en la tabla 6 que este tipo de queso se encuentra en el sector amarillo (+b*), con ligeros tonos de verde (-a*), H* mayor que 90° y C* mayor que 20 como se presentó en el trabajo de Ramirez - Navas *et al* (2012).

Tabla 6. Valores de medias de los parámetros experimentales y calculados de las coordenadas CIELab con respecto al factor tratamiento.

Tratamientos	Parámetros experimentales			Parámetros calculados			
	L*	a*	b*	C*	H*	YI	WI
1	89.08 ^b	-3.87 ^a	28.28 ^{ab}	28.55 ^{ab}	97.82 ^a	45.40 ^a	69.40 ^b
2	89.25 ^b	-3.86 ^a	27.89 ^a	28.16 ^a	97.89 ^a	44.67 ^a	69.84 ^b
3	88.39 ^a	-3.91 ^a	28.81 ^b	29.08 ^b	97.77 ^a	46.66 ^b	68.63 ^a

Las medias seguidas por la misma letra en la columna no difieren estadísticamente entre sí mediante la prueba de LSD Fisher (P < 0.05).

Los tres quesillos son de diferente origen y empaque pero mantienen unos rangos de color similar como se observa en la tabla 6.

En la Figura 21 se observa la evolución de la luminosidad L* con respecto al tiempo de almacenamiento en interacción con el factor tratamiento; se muestran diferencias entre los tres quesillos; en los tratamientos T1 y T3 se observa una diferencia significativa del día 0 al día 5 de almacenamiento; después del día cero de almacenamiento el queso comienza a perder claridad, esto se confirman en la figura 22 donde el índice de amarillamiento comienza aumentar en las mismas condiciones que la luminosidad disminuye; haciendo del queso un queso de color característico del blanco crema al ligeramente amarillo como lo publicó Ramírez,(2010).

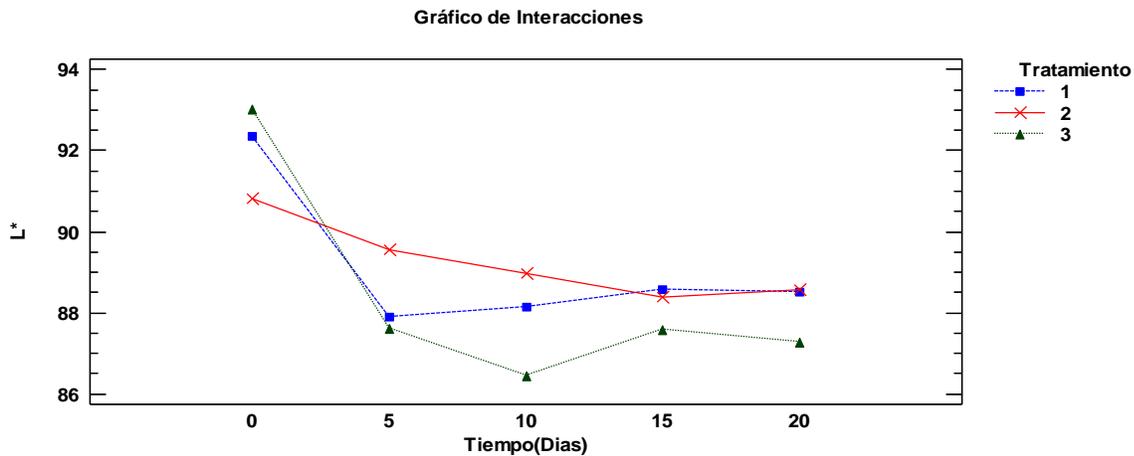


Figura 21. Evolucion de la luminosidad respecto al tiempo con la interacción de los tres tratamientos (T1, T2 y T3).

En la figura 22 se observa la evolución del índice de amarillamiento respecto al tiempo de almacenamiento, los tratamientos T1 y T3 presentan un incremento progresivo a partir del inicio del almacenamiento, manteniéndose continuo hasta el día 20; para el caso del tratamiento T2 se presenta también un incremento progresivo a partir del día 5 generándose un retraso en el inicio de cambio de color, que puede ser consecuencia del tipo de empaque.

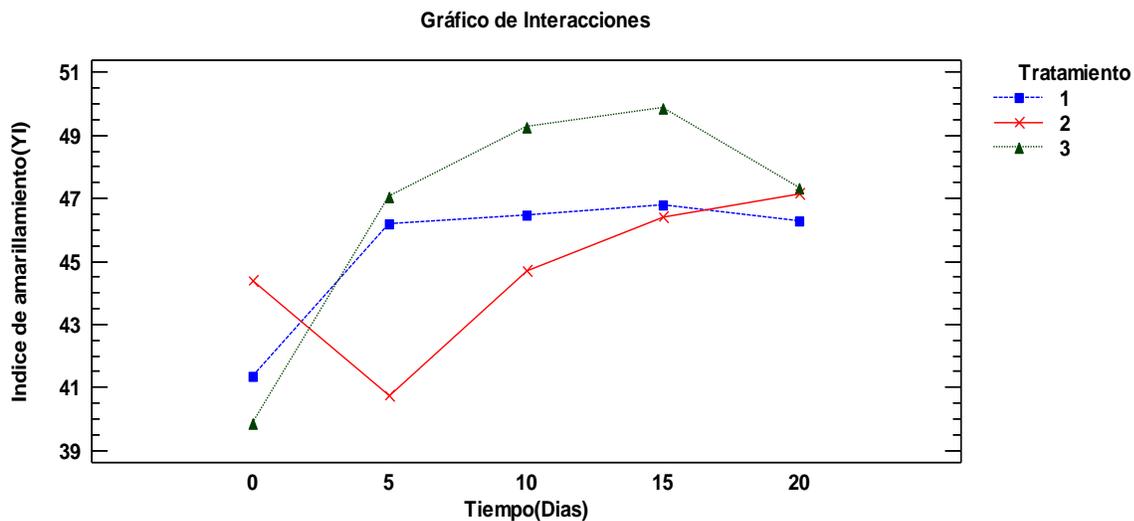


Figura 22. Evolucion del índice de amarillamiento respecto al tiempo con la interacción de los tres tratamientos (T1, T2 y T3).

La Figura 23 que presenta la relación entre el índice de blancura (WI) y el índice de amarillamiento (YI) para los tres quesillos, muestra que a medida que disminuye WI aumenta YI; los valores de YI determinan sólo el nivel de amarillo (+) o azul (-) de las muestras, en este

caso la coloración amarillenta de los quesillos al aumentar el tiempo de almacenamiento presenta incremento; esta relación fue reportada por Ramírez-Navas & Rodríguez (2012), aunque con menor coeficiente de determinación.

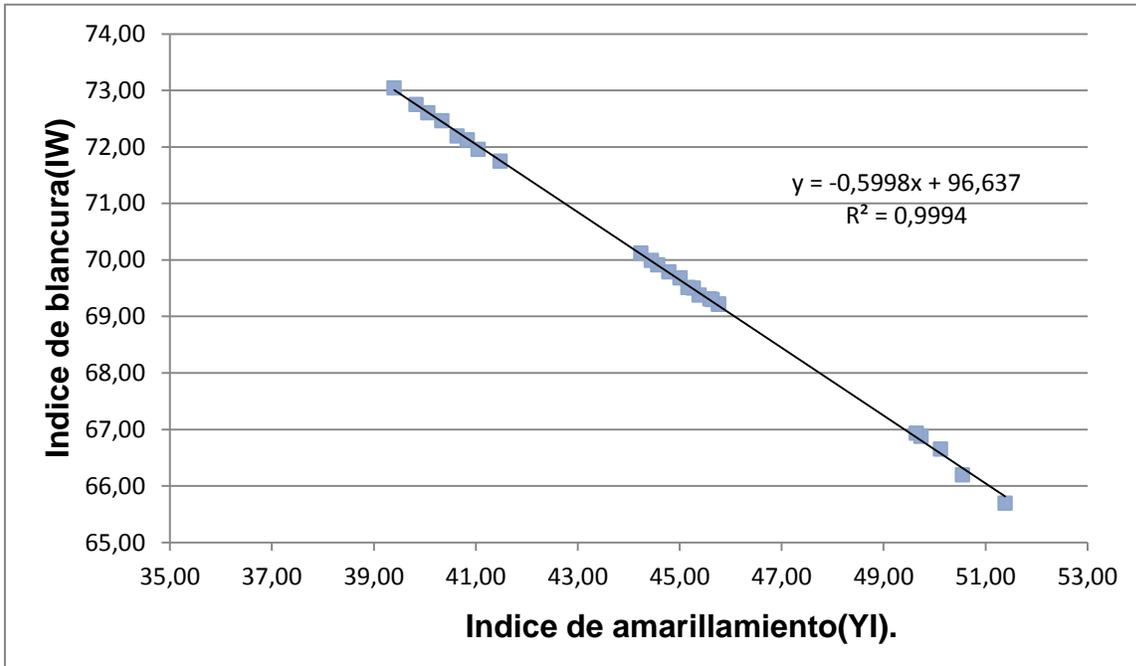


Figura 23. Representación gráfica de amarillez- blancura WI vs. YI ($R^2=0.9994$), para los tres quesillos en estudio.

6.4. Análisis microbiológico

En la figura 25 se observa las medias del crecimiento de BAL Log UFC/g en función del factor tratamiento, se muestra que a un nivel de confianza del 95% se obtuvo diferencia estadísticamente significativas entre el tratamiento T1 con respecto al T2 y T3.

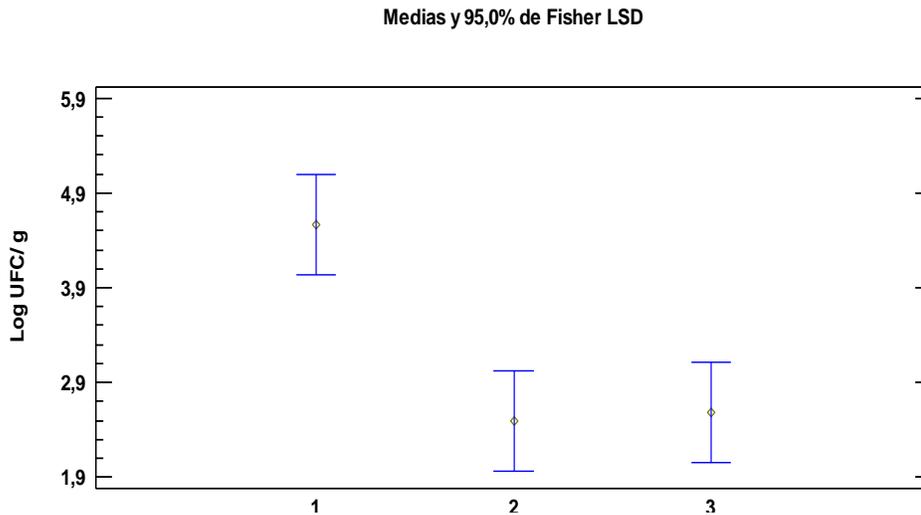


Figura 24 .Crecimiento de BAL-tratamientos (T1, T2 y T3).

A partir del seguimiento de la evolución de las BAL, se encontró el siguiente comportamiento medido en Logaritmo en base 10 unidades formadoras de colonias por gramo (Log_{10} ufc/g); en la figura 26 se observa la evolución del crecimiento de BAL en los 20 días de almacenamiento refrigerado para el tratamiento T1 en el tiempo 0 el número de BAL fue de 6 Log UFC/g y en la medida que transcurrió el tiempo de refrigeración se aprecia descenso en esta población a 3,7 Log UFC/g a los 20 días de almacenamiento, lo cual se atribuye a la disminución de la temperatura; aunque fue el tratamiento que mantuvo el mayor crecimiento de BAL a causa de esto se expresó el mayor contenido de ácido láctico en el tiempo de almacenamiento, además se observa que el crecimiento de las BAL fue descendente a lo largo del almacenamiento (figura 26); esto tiene relación con la temperatura de almacenamiento y los cambios de pH; ya que la mayoría de estas son mesófilas, aunque algunas son capaces de crecer hasta temperatura de 5°C (Mora & García, 2007); esto permitió que se mantuviera cierta cantidad de BAL; el pH se mantuvo en un rango (5,6 - 5,75) valores que muestran que las bacterias no hicieron su metabolismo normal.

En T3 se observa una tendencia de crecimiento de las BAL inversamente proporcional al comportamiento de la dureza del mismo (figura 15). El menor crecimiento se observó en el T3, que aunque comparten el mismo empaque con el tratamiento T1, en su elaboración tuvo una

diferencia, se empaco sin realizar el reposo adecuado esto pudo causar que inhibiera el menciona Rodríguez (2007).

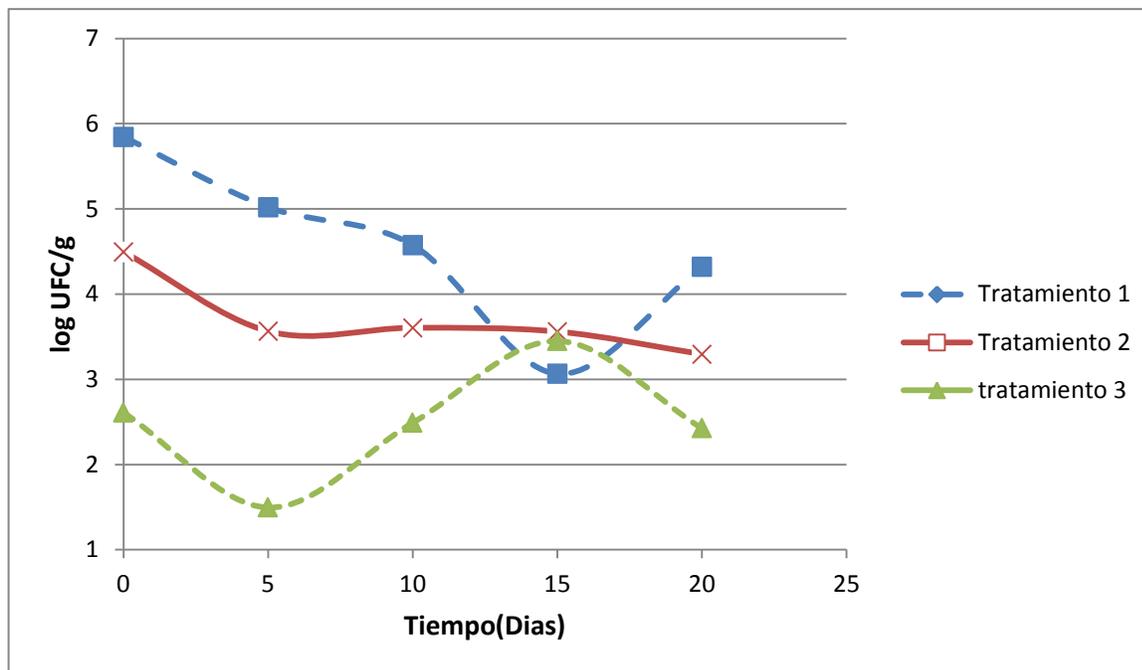


Figura 25. Crecimiento de BAL Log UFC/gr en función del tiempo de almacenamiento.

6.4.1. Caracterización morfológica en placa y Tinción Gram de las BAL.

En la Tabla 9 se presenta la caracterización morfológica de las BAL en placa y las respectivas tinciones de las colonias representativas obtenidas durante el muestreo, se pudo establecer en general que, las muestras de Quesillo en los tres tratamientos (T1, T2, T3), presentaron microorganismos cuya morfología característica corresponde a bacilos, cocos y diplococos y Gram-positivos.

6.4.2. Recuento de Enterobacterias y presencia-ausencia de coliformes totales y *Escherichia coli*.

En cuanto al recuento de Enterobacterias, que se observa en la tabla 7 en el tratamiento T1 solo se identificaron en el día cero una población de 2,66 Log UFC/g, en el tratamiento T2 se observó un crecimiento durante el tiempo de almacenamiento del rango 1,56 -0,5 log UFC/g cantidad que no representa riesgo para la salud según lo establecido por la NTC-750, 2000; en los tres tratamientos no hubo crecimiento de Enterobacterias que represente riesgo para el consumidor.

Tabla 7. Recuento de Enterobacterias en el tiempo de almacenamiento.

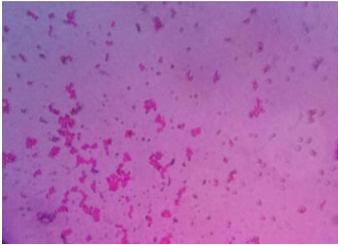
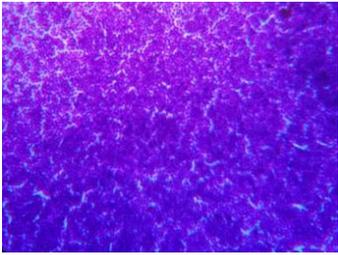
Tratamientos	Tiempo(Días)				
	0	5	10	15	20
	<i>Enterobacterias(Log UFC/g)</i>				
T1	2,66± 0,014	0	0	0	0
T2	1,56± 0,106	0,50± 0,707	0,50± 0,707	0,50± 0,707	0
T3	0	0	0	0,50± 0,707	3,47± 0,000

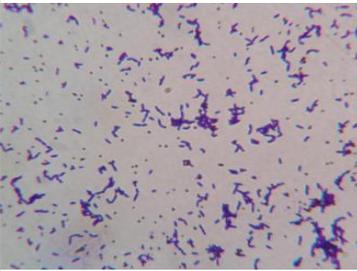
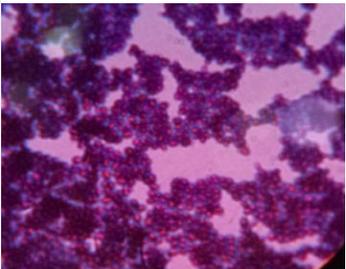
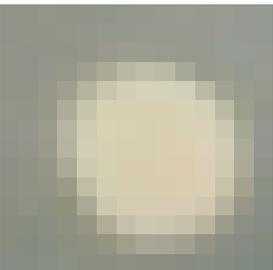
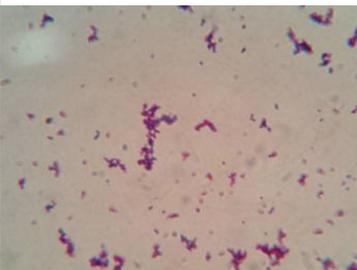
En la tabla 8 se presenta el compilado de la prueba de presencia y ausencia de coliformes totales y *Escherichia coli*, se observa que no hubo presencia de *E. coli* evidenciando un adecuado manejo en la elaboración del producto y condiciones aptas para el consumidor.

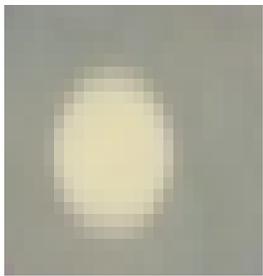
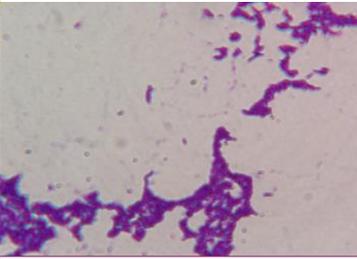
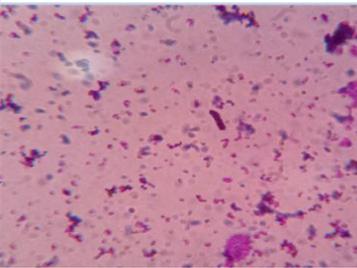
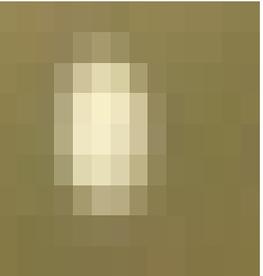
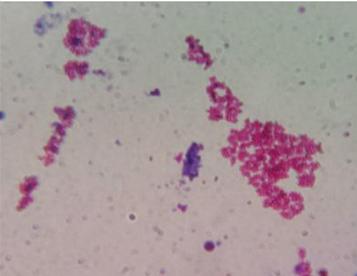
Tabla 8. Presencia-Ausencia de coliformes totales y *Escherichia coli* en los tratamientos (T1, T2, T3) en el tiempo en almacenamiento de 4°C.

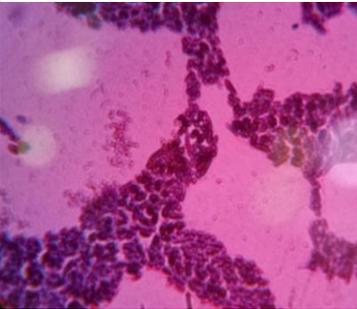
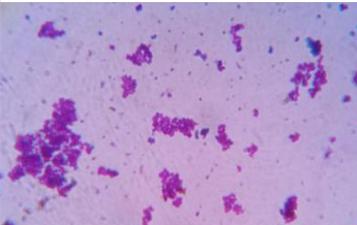
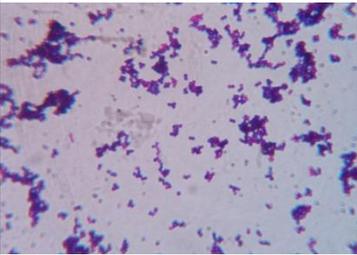
Tratamientos	PRESENCIA-AUSENCIA <i>E. COLI</i>				
	TIEMPO(Días)				
	0	5	10	15	20
T1	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA
T2	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA
T3	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA

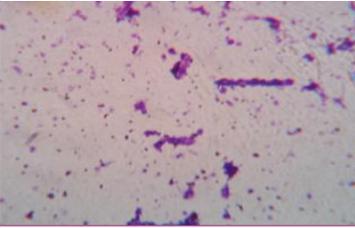
Tabla 9. Identificación de las colonias representativas del recuento de BAL en los tres tratamientos (T1, T2, T3).

COLONIA	COLONIA AISLADA	DESCRIPCIÓN	IMAGEN MICROSCOPIO	IDENTIFICACION MORFOLOGICA	GRAM
A.QYB15-1		Colonia de forma redondeada, de color amarillo lechoso. Diámetro de 6 mm.		Cocos diplococos	(+)
B.QYB0-1		Colonia de forma redondeada de color blanco, con un brillo en la periferia. Diámetro de 1 mm.		Cocos	(+)

D.QYB20-1		<p>Colonia de forma redondeada de color blanco en la periferia, en el centro color lechoso. Diámetro de 3 mm.</p>		Bacilos	(+)
E.QYB15-2		<p>Colonia de forma redondeada de color blanco intenso, con aspecto viscoso. Diámetro de 5 mm.</p>		Cocos diplococos	(+)
F.QYB10-1		<p>Colonia de forma redondeada no uniforme de color blanco brillante en la periferia, en el centro color lechoso. Diámetro de 4 mm.</p>		Cocos diplococos	(+)

G.QYB10-2		<p>Colonia de forma redondeada de color blanco en la periferia, en el centro color lechoso amarillento. Diámetro de 4 mm.</p>		Cocos en cadenas.	(+)
H.QNM10-1		<p>Colonia de forma redondeada de color blanco brillante en la periferia, con un centro de color blanco intenso. Diámetro de 2 mm.</p>		Coco diplococos	(+)
K.QNM0-1		<p>Colonia de forma redondeada de color blanco en la periferia, con un centro de color amarillento lechoso. Diámetro de 2 mm.</p>		Coco diplococos	(+)

L.QNF5-1		<p>Colonia de forma redondeada achatada de color blanco en la periferia, con un centro de color más claro. Diámetro de 7 mm.</p>		Cocos	(+)
M.QNF15-1		<p>Colonia de forma redondeada de color amarillo lechoso en la periferia, con un centro de color más oscuro. Diámetro de 6 mm.</p>		Cocos diplococos	(+)
N.QNF0-1		<p>Colonia de forma redondeada de color blanco brillante Diámetro de 3 mm.</p>		Cocos	(+)

O.QNF20-1		<p>Colonia de forma redondeada achatada de color blanco brillante Diámetro de 1 mm.</p>		<p>Cocos Cadenas de cocos</p>	<p>(+)</p>
-----------	---	---	---	-----------------------------------	------------

7. CONCLUSIONES

La evolución de los diferentes parámetros evaluados permitió detectar cambios significativos que pueden afectar los atributos de calidad en el quesillo, aunque la vida útil del producto se mantuvo en los niveles recomendados para consumo hasta 20 días bajo las condiciones de refrigeración (4°C).

El comportamiento del perfil de textura en los tratamientos elaborados y empacados artesanalmente generaron una tendencia similar, así la dureza, la adhesividad, elasticidad, firmeza y masticabilidad tuvieron tendencia decreciente en el tiempo de refrigeración y los mismos parámetros se comportaron de manera creciente (hasta el día 10 o 15) para el quesillo empacado al vacío (T2).

El análisis del perfil de textura es una técnica instrumental que ayuda a expresar la pérdida de frescura de un alimento, este parámetro fue el que presentó mayores fluctuaciones durante el tiempo de almacenamiento para los tres tipos de quesillo; en todos los parámetros que se midieron en la evolución de la textura hubo diferencias notorias, excepto en la firmeza y la masticabilidad que se mantuvieron casi constantes para uno de los dos tipos de quesillo empacado y elaborado artesanalmente (T1).

El cambio de color en la superficie del quesillo se expresa como el aumento del índice de amarillamiento consecuentemente con una disminución en el índice de blancura, este comportamiento tiene una variación en el inicio del cambio de color para el quesillo empacado al vacío, en el que se generó un retraso en el inicio del amarillamiento mejorando las condiciones de estabilidad y conservación de la apariencia del producto empacado al vacío.

La evolución del recuento de Enterobacterias permitió definir en término de días, la vida útil del alimento, para el quesillo elaborado y empacado artesanalmente y el quesillo elaborado semindustrial y empacado al vacío se puede decir que la vida útil del producto se mantiene hasta el día 20 de almacenamiento, ya que los recuentos estuvieron por debajo del índice máximo permisible para identificar nivel de calidad aceptable en la norma técnica colombiana NTC750.

Los parámetros humedad (%), acidez (% ácido láctico) y pH están directamente relacionados con el crecimiento microbiano y la textura del queso, son factores estrechamente relacionados para identificar la frescura del queso empacado y elaborado artesanalmente, como también el queso elaborado en industria local y empacado al vacío.

En comparación al producto empacado artesanalmente, el empaque al vacío generó un retraso notorio en el inicio del amarillamiento del producto, con esto mejora la aceptación del consumidor, aunque en el empaque artesanal por su mayor acidez expresará el aroma ácido característico de este producto.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Angón G. Pedro, Santos S. Norma F. & Hernandez Carlos G. (2006). Índices para la determinación de las condiciones óptimas de maduración de un fruto. <http://www.utm.mx/temas/temas-docs/ensayo1t30.pdf>. (Consultado: septiembre de 2014)
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). (1997). Methods of Analysis of the AOAC International. 3rd ed. Volumen II. Maryland USA.
- Boun HR & Huxsoll CC. (1991). El control de Mínimamente Procesados Carrot (*Daucus carota*) La decoloración de la superficie por abrasión Peeling. J Food Sci. Págs: 416-422.
- Bruschi.J. Producción De Quesos.S.F. Consideraciones particulares <http://www.vet.unicen.edu.ar/html/Areas/Tecnologia%20y%20calidad%20de%20leche%20y%20productos%20lacteos/2012/Produccion%20de%20quesos,%20consideraciones%20articulares.pdf>. (Consultado: abril de 2015)
- Castañeda R., Cañameras C.,Aranibar G., & Montero H. (2007). La textura del Queso Goya. Comparación entre el método sensorial y métodos reológicos. <http://www4.inti.gov.ar/GD/5jornadas/doc/178.doc> (Consultado: junio 2013).
- Castillo, M; Tandazo, D; Landázuri, A; Piedra, L1; Pineda, E; Riofrio, A; Hualpa, D; Bravo, V; Y Cumbicus, E.(2008). Evaluación De La Calidad Higiénico – Sanitaria Y Determinación De Las Características Organolépticas Y Físico – Químicas Del Quesillo Que Se Expende En Los Mercados De La Ciudad De Loja p. 1-8.
- Celis.M & Juarez.D.(2009). Microbiología de la leche. Seminario de Procesos Fundamentales Físico-Químicos y Microbiológicos p 1-26.
- Cocio J.A. (2006). Elaboración de Quesillo de Leche de Soya (*Glycinemax*) con Adición de Bacterias Probióticas (*Lactobacillus casei shirota* y *Bifidobacterium lactis* Bb12) Tesis presentada como parte de los requisitos para optar al grado de licenciado en Ciencia de los Alimentos. Universidad Austral De Chile, 83 p.
- Cury R. K., Arteaga M. M., Martínez F. G., Luján R. D. & Durango V. A. (2014). Evaluación de la fermentación del lactosuero ácido (entero y desproteínizado) utilizando *Lactobacillus casei*. Revista Colombiana de Biotecnología, Vol. 16, núm.

1.<http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/rt/prINTERfriendly/44281/46048>
(Consultado: junio 2013)

- Delgado. L.R & Murtua. D.J. (2003). Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima, Perú, y la supuesta acción bactericida de *Lactobacillus* spp. Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health 14(3). , p. 1-7.
- Estrada J., Ariño A., Hijazo P. & Estopañán G.(2011). Evolución de la actividad de agua y del pH en la maduración de queso artesano de oveja elaborado con un molde octobulado. VI Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Valencia España, 8 - 10 Junio 2011.
- Figueroa. A.J.(2006).Perfil Textural De Queso Chanco Comercial Elaborado En Tres Regiones De Chile. Chile, 110p. Tesis (Licenciado en Ciencia de los Alimentos.). Universidad austral de Chile. Facultad de ciencias agrarias .Escuela de ingeniería en alimentos.
- García M. E M. & Fernandez S. I. (2012). Determinación de la humedad de un alimento por un método gravimétrico indirecto por desecación. <http://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/16339/Determinaci%C3%B3n%20de%20humedad.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. (Consultado: Julio de 2014).
- German. M.F.(2013). Evaluación Del Empacado Y Sellado Al Vacío En Fundas De Polietileno De Alta Densidad En La Vida De Anaquel De Quesos Frescos Y Semiduros. Ecuador, 191p. Tesis (Ingeniera en Alimentos). Universidad Técnica De Ambato. Facultad De Ciencia E Ingeniería En Alimentos.
- Gonzales, E.P. (2010). Caracterización de la composición fisicoquímica del queso fresco elaborado artesanalmente en Sehualaca municipio de Minatitlan, Veracruz. Tesis Médico veterinario Zootecnista, Universidad Veracruzana,52 p.
- Granados C.C; Urbina O. G & Acevedo C, D. (2010), Tecnificación, Caracterización Fisicoquímica Y Microbiológica Del Queso De Capa De Mompox Colombia. Rev.Bio.Agro [online]. vol.8, n.2, pp. 41-45. ISSN 1692-3561.
- Licon C. Lozoya, S. Molina, A. & Berruga, M. I. (2009). Evolución de la textura en queso puro de oveja envasado al vacío. Memorias XXXIV Congreso Nacional de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC)ISBN 978-84-933556-3-0, págs. 265-270

- Londoño, O.M., (2006). Aprovechamiento del suero ácido de queso doble crema para la elaboración de quesillo utilizando tres métodos de complementación de acidez con tres ácidos orgánicos. Revista Perspectivas en nutrición humana. Número 16. Julio-Diciembre de 2006 págs. 11-20.
- Moncada. M. (2007). Efecto de la acidez y cantidad de suero en las características físico-químicas y sensoriales del quesillo Zamorano. Honduras, 41p. Tesis (Ingeniero Agroindustrial en el Grado Académico de Licenciatura).
- Mora. N & García. A (2007). susceptibilidad de bacterias ácido lácticas (BAL) frente a diversos antibióticos. Tesis licenciado en química de alimentos. <http://www.uaeh.edu.mx/docencia/Tesis/icbi/licenciatura/documentos/Susceptibilidad%20de%20bacterias%20acido%20lacticas.pdf>(Consultado: febrero de 2015).
- Moura A.L, Almeida A. C., Pinho L, de Souza S., & Alves dos Santos C. (2008). Análise microbiológica de queijo minas artesanal comercializado no mercado municipal de Montes Claros-MG. Associação Brasileira de Zootecnistas, 26 a 30 de maio de 2008 João Pessoa, PB – UFPB/ABZ.
- Novoa C. C. F. & Rodriguez C. A.,(1994). Guía para producir quesos colombianos. Banco Ganadero ISBN: 9589406017 v. 1 pags. 140
- Norma técnica Colombiana. (2000). NTC 750: Productos lácteo. Queso
- Oliszewski, R., Cisint, J. C., Vercellone, M. T., & Núñez de Kairuz, M. (2003). Caracterización y estudio de inocuidad del Quesillo, queso regional del Noroeste Argentino. In Trabajo Científico Publicado en Primer Congreso Argentino y Primer Congreso Mercosur de BPM, POES y HACCP. Univ. Nac. de Río Cuarto, Córdoba.
- Oliszewski, R., Cisint, J. C., & Núñez de Kairuz, M. (2007). Manufacturing characteristics and shelf life of Quesillo, an Argentinean traditional cheese. Food control, 18(6), 736-741.
- Ramírez & Navas, J. & Rodríguez, A. (2012). Caracterización del quesillo colombiano por espectrocolorimetría. Vitae, vol. 19, No. 2, pp.178-185.
- Ramírez., C & Vélez. J.F. (2012). Quesos frescos: propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad.

- Ramírez Navas JS. (2010). Espectrocolorimetría: Caracterización de la leche y quesos. *Tecnol LacT Latinoam.* Págs.: 52-58.
- Ramírez., C & Vélez. J.F. (2012). Quesos frescos: propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad.
- Ramírez N. Juan S., Osorio L. Mauricio; Rodríguez de Stouvene Aída. (2010). <file:///C:/Users/SAS02/Downloads/08%202010%20Quesillo.pdf> (Consultado: noviembre de 2014).
- Ramírez Ramírez. C, Ulloa. P.R, Velázquez.M,González. J.A, Romero. A. (2011). Bacterias lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la salud. *Revista Fuente Año 2, No. ISSN 2007 – 0713,p.1-16.*
- Rivera R. Cesar A. & De la Ossa M Yinis J. (2012). Análisis comparativo del perfil de textura de los quesos frescos de cabra y vaca, con relacion al contenido de grasa y tiempo de almacenamiento
- Rodríguez .G., (2007). Aislamiento e identificación de bacterias ácido lácticas a partir de leche cruda y queso Paipa elaborado en los municipios de pacho (Cundinamarca) y Belen (Boyacá). Bogotá, 80 p. Tesis (Zootecnista). Universidad de la Salle.Facultad de Zootecnia.
- Romero Cortés.T & Cuervo Parra. J.A.(2014). <http://www.mundohvacr.com.mx/mundo/2014/08/suministro-de-frio-en-productos-lacteos/>. (Consultado: abril de 2015).
- Urango M. L. A., 2012. Elaboración de queso fresco semigraso, adicionado con fructooligosaccharides(FOS).<http://www.bdigital.unal.edu.co/9155/1/50915454.2012.pdf> (Consultado: Julio 2014)
- Urrea J, Sánchez A. (1996), Producción y comercialización de leche en el departamento de Antioquia. Medellín: Secretaría de Agricultura de Antioquia; p. 325-326.
- Vásquez. N.,L, Sánchez.C & Acevedo. I. (2012). Evaluación de las características fisicoquímicas y microbiológicas del queso blanco a nivel de distribuidores, estado Lara, Venezuela. En *Zootecnia Trop.*, 30(3): 217-223, p. 217-223.
- Vera. J, González-C .N, Magaña-Contreras .A , Lizcano-Cruz .A & Cabrera-Pérez E.(2010). Aislamiento de bacterias lácticas y levaduras de queso de Poro artesanal. En: XII Congreso Nacional De Ciencia Y Tecnología De Alimentos, p. 1-14.

- Watkinson P., Coker C., Crawford R., Dodds C., Johnston K., McKenna A. & White N.(2001). Effect of cheese pH and ripening time on model cheese textural properties and proteolysis. *International Dairy Journal*. 11: 455–464.
- Wenceslao C. M, Dick Z. Arianna K. & Peñafiel U. Jaime F. (2012). “Implementación y Validación de una Metodología Económica para la Medición de Color Aplicada en Alimentos”. <http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/21537/1/TEISIS%20-%20Chuchuca%20%20G.,%20Dick%20A.,%20Pe%C3%B1afiel%20J..pdf> (Consultado: Agosto de 2014).
- Zúñiga L.A., Ciro H.J. & Osorio J.A. (2007). Estudio de la dureza del queso Edam por medio de análisis de perfil de textura y penetrometría por esfera. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*. Vol.60, No.1.pp.3797-3811.

ANEXOS

Anexo A. Curva típica obtenida en el análisis de textura realizado con el texturometro CT3.

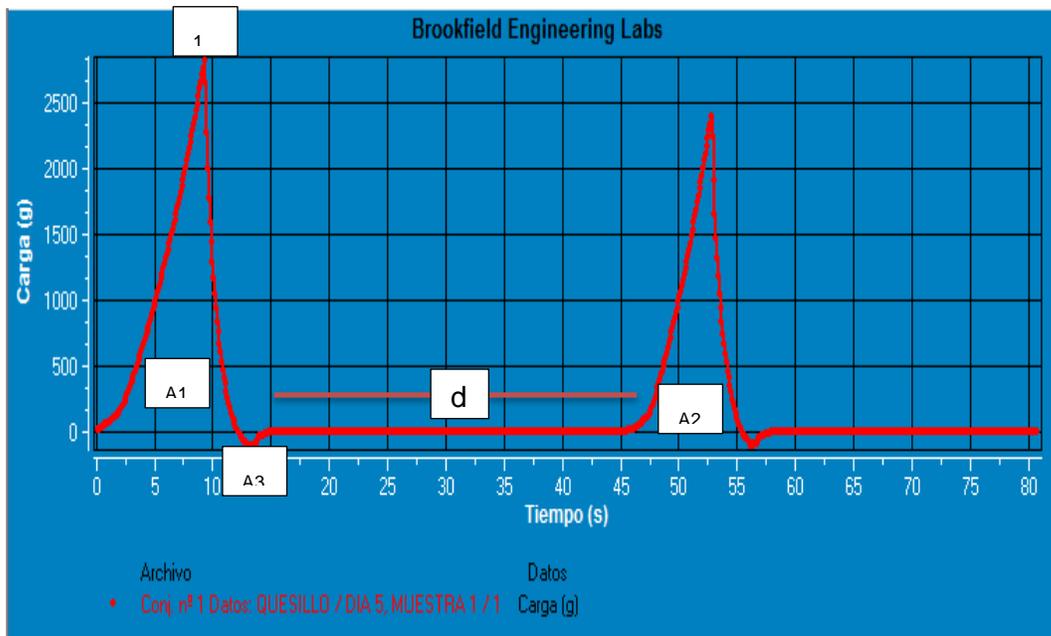


Figura 26. Curva típica obtenida en el análisis de textura realizado con el texturómetro CT3.

Anexo B. Requisitos microbiológicos para queso fresco.

Requisitos	n	m	M	C
Exámenes de rutina				
Coliformes ,UFC/g(30°C)	3	1000	5000	1
Coliformes, UFC/g (45 °C)	3	50	100	1
Recuento de mohos y levaduras, UFC/g	3	500	5000	1
Exámenes especiales:				
Recuento de Estafilococos coagulasa positiva, UFC	3	100	1000	1
Detección de <i>Salmonella</i> /25 g	3	0	-	1
Detección de <i>Listeria monocytogenes</i> /25 g.	3	0	-	1

Dónde:

n : número de muestras por examinar
m : índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad
M : índice máximo permisible para identificar nivel de calidad aceptable
c : número máximo de muestras permisibles con resultados entre m y M

Anexo C. Determinación de acidez (% de ácido láctico)

Para la determinación del porcentaje de ácido láctico se utilizó:

- ❖ Se tomó 50 ml de muestra y se colocó en un vaso de precipitado.
- ❖ Se adiciono 5 gotas de fenolftaleína
- ❖ Se adiciono hidróxido de sodio 0,1N, hasta un pH de 8,2.
- ❖ Se realizó los cálculos utilizando la siguiente formula

$$\%Acidez = \frac{AxBxC}{D} x 100$$

Dónde:

A= volumen de NaOH gastado en la titulación(ml)

B= Normalidad del NaOH: (0,1 eq/litro)

C= Peso molecular del ácido predominante (peso molecular del ácido láctico = 90,08 g/mol)

D= Peso de la muestra en mg.

- Muestra de cálculo:

$$\%Acidez = \frac{2,5ml * 0,1N * 90,08}{5000 mg} * 100 = 0,4504\% A.L$$

Anexo D. Medios de cultivo

Medios de cultivo líquido

Los medios líquidos fueron distribuidos en tubos de ensayo, esterilizados a 121°C por un tiempo de 30 minutos, en autoclave y atemperados a temperatura ambiente y luego, almacenados en el refrigerador a 4°C.

Agua de Peptona (Merck KGaA, ref. 64271 Darmstadt, Alemania)

Se disuelve 25,5 g en un litro de agua desmineralizada

pH : 7,0±0,2 a 25°C

Composición para un litro de agua destilada:

Peptona de Caseína	10.0	g
Cloruro sódico	5.0	g
Dihidrogeno fosfato potásico	1.5	g
Hidrogenofosfato disódico dodecahidrato	9.0	g

Caldo MRS (DIBICO, México)

Se disuelve 55 g en un litro de agua desmineralizada

pH : 6,5

Composición para un litro de agua destilada:

Acetato de sodio	5.0	g
Citrato de armónico	2.0	g
Dextrosa	20.0	g
Extracto de carne	10.0	g

Extracto de levadura	5.0 g
Fosfato disódico	2.0 g
Peptona proteosa N° 3	10.0 g
Polisorbato (Tween 80)	1.0 g
Sulfato de magnesio	0.1 g
Sulfato de Manganeso	0.05 g

Medios de cultivo sólido

Agar MRS (Merck KGaA, ref. 64271 Darmstadt, Alemania)

Se disolvieron 68,2 g en 1 litro de agua desmineralizada se esterilizo a 121°C durante 15 minutos en autoclave y atempero a 50°C y posteriormente, se vertió en placas estériles.

pH:5,7 ± 0,2 a 25 °C

Composición para un litro de agua destilada:

Peptona de Caseína	10.0 g
Extracto de carne	10.0 g
Extracto de levadura	4.0 g
D(+) – glucosa	20.0 g
Dipotasio hidrogenofosfato	2.0 g
Tween 80	1.0 g
Diamonio hidrogenocitrato	2.0 g
Sodio acetato	5.0 g
Magnesio sulfato	0.2 g
Manganeso sulfato	0.04 g
Agar-agar	14.0 g

Agar VRB (Merck KGaA, ref. 64271 Darmstadt, Alemania)

Se disolvieron 39,5 g en 1 litro de agua desmineralizada; se agito con frecuencia hasta la disolución completa.(No hervir durante más de dos minutos).

pH: $7,4 \pm 0,2$ a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Composición para un litro de agua destilada:

Peptona de carne	7.0	g
Extracto de levadura	3.0	g
Cloruro sódico	5.0	g
Lactosa	10.0	g
Rojo neutro	0.03	g
Mezcla de sales biliares	1.5	g
Violeta cristal	0.002	g
Agar-agar	13.0	g