

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 CARACTERIZACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

3.1.1 Ubicación

PROVINCIA:	Carchi
CANTÓN:	Espejo
PARROQUIA URBANA:	El Ángel

3.1.2 Localización

Planta de lácteos	“Industrias Gloria”
-------------------	---------------------

3.1.3 Características climáticas:

Temperatura:	11 – 14 °C
Altitud:	3010 m.s.n.m.
Humedad relativa:	78 %
Pluviosidad:	1000 -2000 mm /año
Latitud:	0° 68’ Norte
Longitud:	2° 18’ Este

Fuente: Publicaciones biblioteca Municipal, sitios turísticos de El Ángel p, 23. 2007.

3.2 MATERIALES Y EQUIPOS

3.2.1 Equipos de laboratorio

3.2.1.1 Instrumentos

- Mesa de acero inoxidable
- Vaso precipitación (50 ml)
- Termolactodensímetro
- Termómetro
- Butirómetro para leche y queso
- Pistola de alcohol volumétrica de 10 y 1 ml
- Probeta 500 ml
- Pipetas de 1 ml, 5 ml, 10 ml
- Gradilla
- Cuchillo
- Lira
- Agitador
- Pala acero inoxidable para batir la cuajada
- Moldes de acero inoxidable
- Tacos de plástico

3.2.1.2 Equipos

- Marmita
- Prensa mecánica
- Balanza analítica
- Balanza Infrarroja
- pH metro
- Acidímetro
- Empacadora al vacío normal
- Reloj digital
- Baño María
- Centrifuga
- Cuarto frío

3.2.2 Materiales

3.2.2.1 Materia prima

- Leche entera

3.2.2.2 Insumos

- Cloruro de calcio
- Cuajo líquido
- Nitrato de potasio
- Cloruro de calcio
- Cloruro de sodio (Sal)
- Agua
- Envase de material coextruido de tres capas (Nylon, adhesivo, PEBD)
- Etiquetas

3.2.2.3 Reactivos

- Hidróxido de sodio al 0,1 N
- Ácido sulfúrico con densidad de 1.812 g / cm^3
- Ácido sulfúrico con densidad de 1.530 g / cm^3
- Fenolftaleína
- Alcohol amílico con densidad de 0.813 g / cm^3
- C.M.T. (Californians Mastitis Test)

3.3 MÉTODOS

3.3.1 Factores en estudio

Los factores en estudio para la evaluación de queso fresco elaborado con dos contenidos de humedad, dos métodos de salado, empacados al vacío utilizando dos espesores de envases, fueron según el orden de utilización.

3.3.1.1 El factor S: Dos métodos de salado

S1 = Salado en sal muera a 20° Baume por tres horas

S2 = Salado directo 0,75% sal adicionado a la leche

3.3.1.2 El factor H: Dos contenidos de humedad

H1 = 57 Rango de aceptación (55 a 59 %)

H2 = 62 Rango de aceptación (60 a 64 %)

3.3.1.3 El factor M: Dos espesores de envase (funda)

M1 = Funda de 70 micras

M1 = Funda de 80 micras

3.3.1.4 Combinación de tratamientos

CUADRO N ° 8. Combinación de tratamientos

Tratamiento	Factor S (Método de salado)	Factor H (Humedad: %)	Factor M (Envase: micras)	Combinaciones
T1	S1= 20 ° Ba	H1= 57	M1= 70	S1H1M1
T2	S1= 20 ° Ba	H1= 57	M2= 80	S1H1M2
T3	S1= 20 ° Ba	H2= 62	M1= 70	S1H2M1
T4	S1= 20 ° Ba	H2= 62	M2= 80	S1H2M2
T5	S2= 0.75% Sal	H1= 57	M1= 70	S2H1M1
T6	S2= 0.75% Sal	H1= 57	M2= 80	S2H1M2
T7	S2= 0.75% Sal	H2= 62	M1= 70	S2H2M1
T8	S2= 0.75% Sal	H2= 62	M2= 80	S2H2M2

3.3.2 Diseño Experimental

El diseño experimental que se utilizó para realizar la “Evaluación de queso fresco elaborado con dos contenidos de humedad, dos métodos de salado, empacados al vacío utilizando dos espesores de envases”; fue un Diseño Completamente al Azar con arreglo Factorial A x B x C.

3.3.3 Características del experimento

Número de tratamientos:	Ocho	(8)
Número de repeticiones:	Tres	(3)
Número de unidades experimentales:	Veinte y cuatro	(24)

3.3.3.1 Características de la unidad experimental

Cada unidad experimental tuvo cuatro quesos de 750 ± 50 g cada uno, elaborado con leche entera y pasteurizada.

3.3.4 Análisis estadístico

CUADRO N ° 9. Esquema de análisis de la varianza

Fuentes de variación	Grados de libertad.
Total	23
Tratamientos	7
Factor S	1
Factor H	1
Interacción S x H	1
Factor M	1
Interacción S x M	1
Interacción H x M	1
Interacción S x H x M	1
Error exp.	16

3.3.4.1 Análisis funcional

Se procedió a calcular el diseño matemático estadístico correspondiente y su coeficiente de variación para determinar si el experimento realizado es válido o no.

Al obtener diferencias significativas estadísticas al 5 % y al 1% se procedió a realizar la prueba de Tukey al 5 % para tratamientos y para factores la prueba de Diferencia Mínima Significativa (D.M.S.).

La Prueba de Friedman se lo aplicó para pruebas no paramétricas, como olor, color, sabor, consistencia, aspecto total.

3.3.5 Variables evaluadas

3.3.5.1 Variables cuantitativas

CUADRO N ° 10. Análisis Físico – Químicos realizado al queso fresco empacado al vacío

Análisis	Método	Momento de evaluación	
		A la 24 horas	A los 15 días
pH	Norma, NTE 389, NTE 783	X	X
Humedad (% masa)	Balanza Infrarroja	X	X
Grasa (% masa)	Norma INEN NTE 0064:74		X
% Extracto seco	Balanza Infrarroja	X	X
% Grasa en extracto seco	Norma INEN NTE 0064:74		X
Pérdida de peso	Evaluación gravitacional	X	X
Presencia de suero	Pesaje (g)		X

CUADRO N ° 11. Análisis Microbiológico realizado al queso fresco empacado al vacío

Análisis	Método	Momento de evaluación	
		A la 24 horas	A los 15 días
Rec. Coliformes y E. coli.	Norma, NTE INEN 765	X	X
Rec. Mohos	Norma. NTE INEN 1529		X
Rec. Levaduras	Norma. NTE INEN 1529		X

3.3.5.2 Variables cualitativas

CUADRO N ° 12. Análisis Organolépticos para el queso fresco empacado al vacío, se evaluó con 10 catadores

Análisis	Método	Momento de evaluación	
		A las 24 horas	A los 15 días
Olor	Evaluación sensorial	X	X
Color	Evaluación sensorial	X	X
Sabor	Evaluación sensorial	X	X
Consistencia	Evaluación sensorial	X	X
Aspecto Total	Evaluación sensorial	X	X

CUADRO N ° 13. Puntuación de los análisis organolépticos

Análisis	Puntuación máximo
Olor	4
Color	4
Sabor	5
Consistencia	4
Aspecto Total	4

3.3.5.3 Descripción de los métodos de evaluación

1 Control de calidad en la leche y procesos en puntos “NO VARIABLES”

Estas pruebas se la realizo a la leche en la recepción; que aunque no se evalúan en el experimento, se requieren para controlar el proceso, para tener un mayor control del experimento.

a) Análisis organoléptico

Color: Blanco a porcelanado.

Sabor: Característico de la leche, sin acidez, desinfectantes, u otros extraños.

Olor: Característico, sin olor a pasto, u otro que denote descuido higiénico.

b) Determinación de la densidad relativa

Para este análisis se utilizó un termo lactodensímetro calibrado a 20 °C, se siguió el procedimiento descrito en la Norma INEN NTE 0011:84.

Se coloco en la probeta una cantidad suficiente de leche cuidando que no forme espuma (haciéndola deslizar por las paredes). Una vez que la leche llegó a estar estable se procedió a sumergir el termo lactodensímetro de forma vertical y dando un leve giro.

Cuando el termo lactodensímetro dejo de girar se procedió a leer la densidad y la temperatura de la leche, ver figura 3.

Figura N° 3. Lectura de la densidad relativa de la leche en recepción



El valor obtenido en el termo lactodensímetro marca 29 y una temperatura de 18 °C. Estos datos se procedieron a corregir.

Variación de temperatura: $(18 - 20) ^\circ\text{C} = - 2^\circ\text{C}$
Factor de corrección: $0,2 \times (-2) = - 0,4$
Valor corregido: $29 - 0,4 = 28,6$
División para mil: $28,6 \div 1000 = 0,0286$
Suma de la unidad: $1 + 0,0286 = 1, 0286\text{g}/\text{cm}^3$ (valor a registrar)

c) Determinación de acidez

La leche debe tener un porcentaje de ácido láctico entre $14 - 16 ^\circ$ Dornic y para realizar el análisis se utilizó 10 ml de leche, 2 gotas de fenolftaleína, luego se agregó lentamente y con agitación hidróxido de sodio 0,1N hasta conseguir un color rosado persistente, Siguiendo el Método Dornic. El consumo del hidróxido de sodio 0,1N fue de $15,82 \text{ cm}^3$



d) Determinación del contenido de grasa

En leche estandarizada debe estar entre $3,0 \pm 0,1 \%$, siguiendo el procedimiento descrito en la Norma INEN NTE 0012:73(Método de Gerber), para realizar este análisis se utilizó 10 ml de ácido sulfúrico ($d=1,815 \text{ g}/\text{cm}^3$), $10,94 \text{ cm}^3$ de leche, 1 ml de alcohol metílico ($d=0,811 \text{ g}/\text{cm}^3$). La lectura obtenida en el butirómetro de grasa para leche fue de $3,6 \%$.



e) Determinación de Sólidos Totales

Se procedió a determinar mediante la fórmula de RICHMOND, que calcula los sólidos totales a partir de la densidad y en contenido de grasa:

$$\% S.T. = (0.25D) + (1.21 * \% G) + 0.66$$

D = densidad

% G = porcentaje de grasa

Se usa el valor de D corregido a la temperatura de calibración del termo-lacto-densímetro usando solo valores milisimales como enteros. Ejemplo si **d = 1.0286**, se usa **28**.

El valor registrado fue: %ST = (0,25*28) + (1,21*3,6)+0.66 = 12,02

2 Descripción del método de análisis de las “VARIABLES” físico – químicas del queso fresco empacado al vacío

a) Determinación del potencial de hidrogeno (pH)

Se realizó a las veinte y cuatro horas de haber elaborado el producto y a los quince días de conservación, se utilizo un pHmetro previamente calibrado, Aplicando la Norma, NTE 389, NTE 783. El procedimiento utilizado para medir el pH en el queso fresco fue con las siguientes indicaciones:

1. Antes de usar el potenciómetro cerciórese de que los componentes que conforman este instrumento de medida este en buen estado.
2. Para proceder a tomar los datos del pH correctamente, se debe calibrar el potenciómetro utilizando por lo mínimo dos soluciones tampón de referencia; en nuestro caso se utilizo tampones de pH 4,00 y 7,00.
3. Introduzca el electrodo en la muestra (queso fresco empacado al vacío) y tome la lectura del pH que mida en el producto; para obtener una minimización de errores es recomendable que la muestra este a la misma temperatura de calibración de pH.

4. Apague el potenciómetro y lave en agua destilada. Siempre se debe tener la precaución de que esté permanezca sumergido en agua destilada durante su uso.
5. Al terminar de utilizarlo desconecte el electrodo. Guarde el electrodo en su capuchón el cual deberá contener una solución de cloruro de potasio 3 molar.

b) Determinación del contenido (%) de humedad

Se determinó con la balanza infrarroja, se ubico 5g de la muestra en la balanza infrarroja, la misma que da un peso inicial con una sensibilidad de 0,01g y procede a secar la muestra, luego se tomo la lectura del peso final (muestra secada), se realizó a las veinte y cuatro horas de haber elaborado el producto empacado al vacío, para establecer el porcentaje de humedad se utilizó la siguiente formula.

$$H[\%] = \frac{PI - PF}{PI} \times 100.$$

Dónde:

H [%]= Porcentaje de humedad

PI = Peso inicial de la muestra

PF = Peso final de la muestra

Ejemplo: PI = 5,07g PF = 2.10g

$$H[\%] = \frac{5,07 - 2,10}{5,07} \times 100.$$

$$H[\%] = 58,57$$

c) Determinación del contenido de grasa en porcentaje de masa

Se aplicó el método Gerber – Van Gulik que expresa el resultado en porcentaje de masa siguiendo el procedimiento descrito en la Norma INEN NTE 0064: 74, se realizo a los quince días de conservación.

1.- Se colocaron 3g de muestra de queso fresco finamente picado; en el vasito del tapón inferior del butirómetro para queso.

2.- Por la extremidad abierta del butirómetro se añade acido sulfúrico con una densidad 1,530g/cm³ hasta cubrir todo el queso.

- 3.- Calentar el butirómetro en baño maría a 65°C por 30 minutos hasta dilución completa del queso.
- 4.- Se agrega alcohol amílico y se agita hasta homogenizar la mezcla.
- 5.- Procedemos a tapar el butirómetro y se calienta en baño maría durante 5 minutos.
- 6.- se coloca en la centrifuga por 5 minutos a 1200 rpm. Para luego volver a calentar en baño maría durante 10 minutos.
- 7.- Se procede a tomar la lectura.

d) Determinación del % Extracto seco

Este análisis se realizó a las veinte y cuatro horas de haberse elaborado el producto y a los quince días de conservación

Se determinó mediante la utilización de la siguiente fórmula

$$ES[\%] = 100 - H[\%]$$

ES [%] = Porcentaje de extracto seco

H [%] = Porcentaje humedad

Ejemplo: H= 58,57%

$$ES[\%] = 100 - 58,57$$

$$ES[\%] = 41,43$$

e) Determinación del % grasa en extracto seco

Se realizó a los quince días de conservación del queso fresco, luego de obtener la determinación del contenido de grasas en porcentaje de masa, se aplicó la fórmula propuesta en la Norma INEN NTE 0064: 74.

$$G' = \frac{G}{100 - H} \times 100$$

Donde:

G' = Contenido de grasa en el extracto seco

G = Contenido de grasa, en porcentaje de masa

H = Contenido de humedad, en porcentaje de masa

f) Pérdida de peso

Para determinar la pérdida de peso del queso, se procedió a abrir la funda que contenía al queso, para que se escurra la totalidad del suero presente en la muestra y se pesó al queso a las 24 horas y a los 15 días, en la balanza analítica con una sensibilidad de 0.1gramos.

g) Presencia de suero

Se midió el volumen del suero escurrido de los empaques que contenían al queso. A los 15 días de conservación del queso en refrigeración, a más de determinar su peso se midió el volumen de sueros que se escurrió dentro del empaque.

3 Descripción del método de análisis microbiológico realizado al queso fresco empacado al vacío

Se evaluó a las 24 horas del producto terminado tomando dos muestras; el primero correspondió a una muestra de salado directo y el segundo correspondió a una muestra de salado en sal muera, los análisis realizados fueron recuento de coliformes y *Escherichia coli*.

Luego se realizó un segundo análisis a los 15 días de su conservación; en este caso se procedió a realizar los análisis a los mejores tratamientos determinados en la evaluación organolépticas, los análisis realizados fueron Recuento de *coliformes*, *Escherichia coli*, *mohos* y *levaduras*.

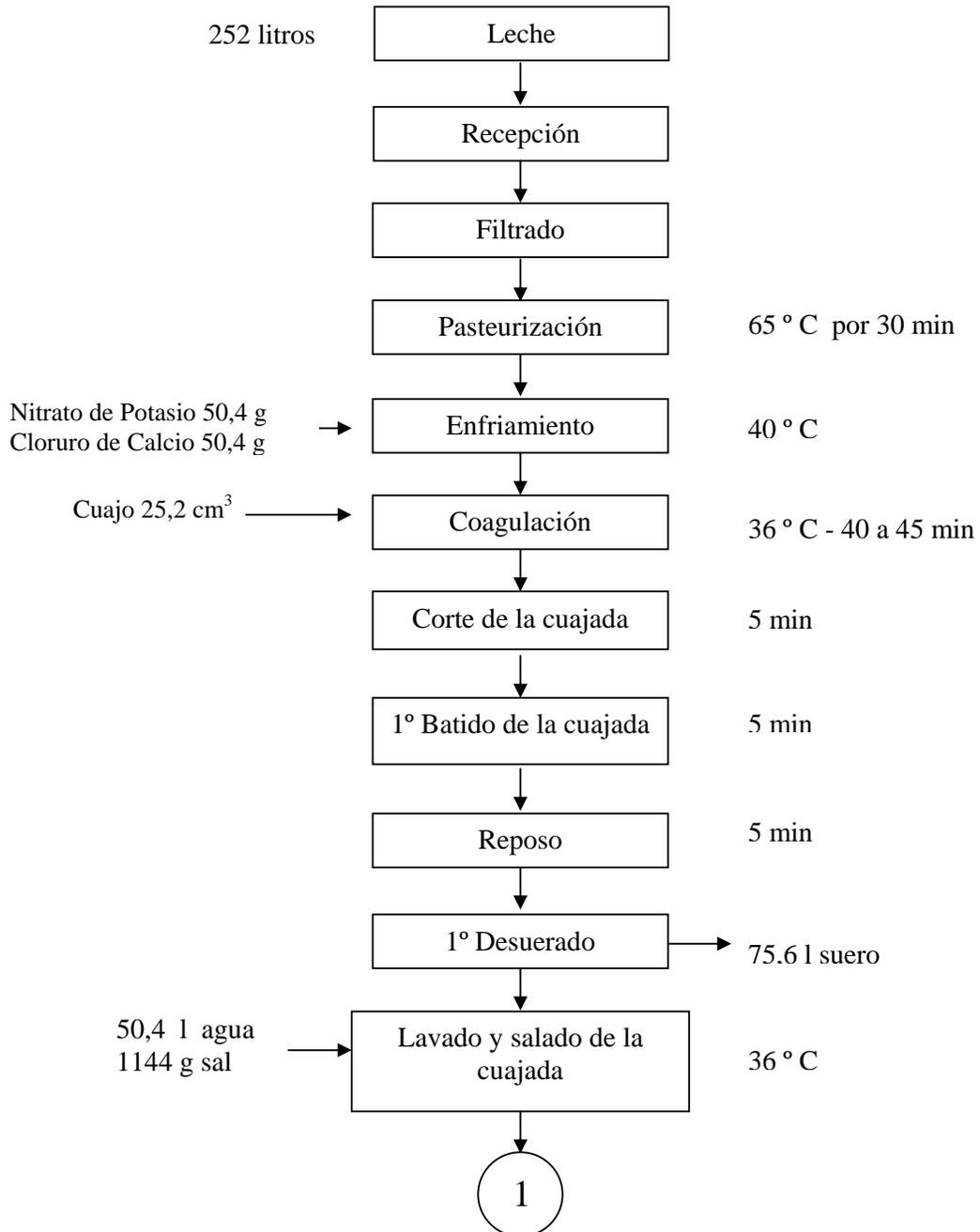
Estos análisis se procedieron a realizar bajo el método señalado en la norma NTE INEN 1529 – 8, que tiene por título “Control microbiológico de los alimentos, determinación de coliformes fecales y escherichia coli”, de acuerdo a las recomendaciones realizadas por la norma CDU 637.3 INEN 1528, que tiene por título “Quesos frescos requisitos”, en la cual hace mención en la tabla N° 2. Requisitos microbiológico del queso fresco p. 2. (1987). Estas dos normas están anexas.

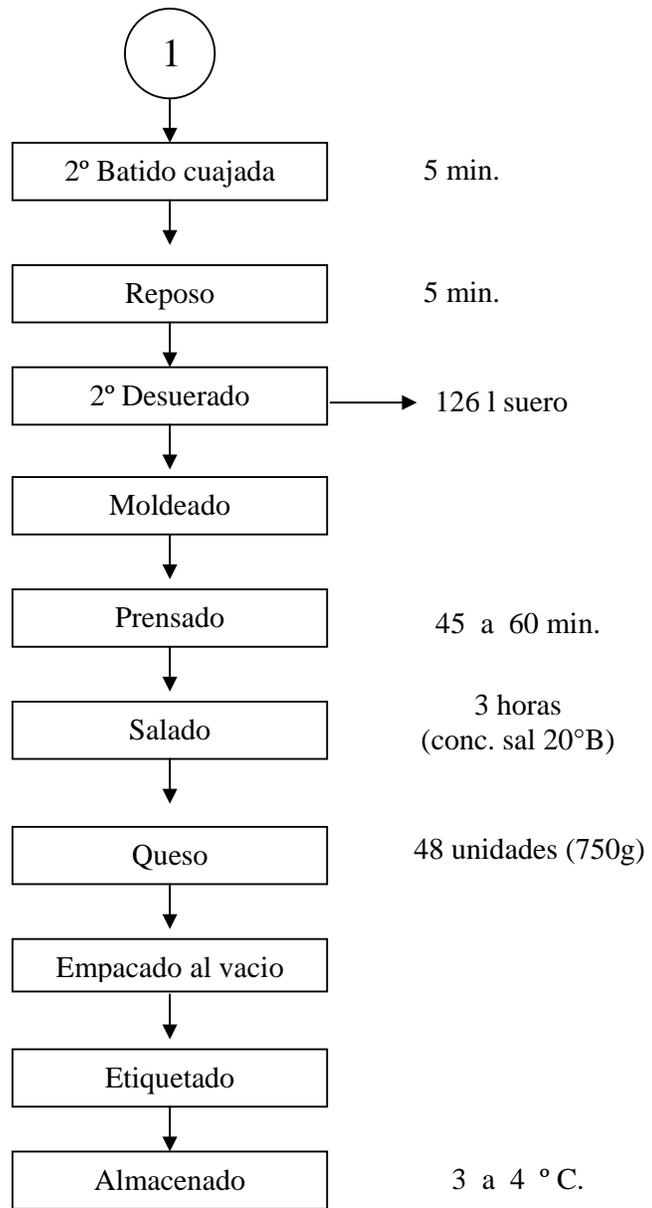
4 Descripción del método de análisis de las variables organolépticas del producto final

Se evaluó en una escala de 1 a 5, correspondiendo el 5 a la muestra que en la variable medida mejor se ajusta a la característica deseada, estos análisis sensoriales se realizó a las veinte y cuatro horas de haberse elaborado el producto y a los quince días de conservación, para su comparación con los tiempos en mención y analizar el por qué de su cambio posterior, el formato de la catación realizada se anexa en la ficha de catación.

3.4 MANEJO ESPECÍFICO DEL EXPERIMENTO

3.4.1 Flujoograma de elaboración de queso fresco





3.4.2 Descripción elaboración de queso fresco

1. Descripción materia prima: Para la elaboración de queso fresco se utilizó leche fresca proveniente de animales sanos.

2. Recepción: en este proceso se verificó y registró el peso y volumen de la leche que llegó a la planta de Lácteos Industrias Gloria. Se examinó y se vació de los recipientes de transporte al tanque de recepción.

3. Filtración: El objetivo de la filtración fue eliminar las impurezas que puedan contener la leche (partículas extrañas)

4. Pasteurización de la leche para quesos: La pasteurización de la leche destinada para la elaboración de quesos se realizó a 65°C por 30 minutos utilizando el tratamiento lento de pasteurización, luego se procedió a enfriarlo hasta 40° C.

5. Adición del cloruro de calcio y nitrato de potasio: En esta etapa se agregó cloruro de calcio, debido a que en el proceso de pasteurización de la leche se precipita el calcio libre, lo que ocasiona que disminuya el poder de coagulación. Por esta razón se añade cloruro de calcio (CaCl_2) a la leche pasteurizada, para la elaboración del queso. Se establece un máximo de 20 gramos por cada 100 litros de leche, igualmente el nitrato de potasio en las mismas cantidades, este compuesto se utiliza para prevenir el defecto conocido como hinchazón tardía en los quesos, su acción es la inhibición de ciertos microorganismos (*clostridium tyrobutiricum* y *Coniformes*), ya que estos sobreviven a la pasteurización de la leche.

6. Adición de cuajo y reposo: La enzima de queso sería utilizada en este estudio es cuajo líquido de la marca holandés “Maxiren”, en dosificaciones recomendadas por el fabricante 10 ml por 100cc.

7. Corte de la cuajada: Se procedió a la división del coaguló de la caseína, por medio de la lira de un centímetro (vertical y horizontal), cuyo objetivo es transformar la masa de cuajada en granos de tamaño pequeño para dejar escapar el suero. El tamaño de los granos de la cuajada depende del contenido de agua que se desea en el queso, en el queso fresco los granos son más grandes, por el contrario en quesos duros los granos son muy pequeños.

8. Primer batido de cuajada: El tiempo de batido de la cuajada es de 5 minutos. El batido de la cuajada es la agitación de los granos de cuajada en el suero caliente, para que salga el suero que posee en su interior.

Es importante sacar gran parte del suero del interior de los granos de la cuajada, de lo contrario el queso tendrá demasiada humedad, disminuyendo su período de conservación, puesto que el agua del queso favorece el crecimiento de microorganismos, además que el agua estará acompañada de lactosa, que es el principal alimento de los microorganismos.

9. Primer desuerado: Al finalizar el batido los granos de cuajada se posan rápidamente en el fondo de la tina en razón de su mayor peso, luego se procedió a sacar aproximadamente el 30 % de suero.

10. Lavado y salado de la cuajada: El lavado, es la mezcla de los granos de la cuajada con agua caliente (35 – 40 ° C), el propósito es sacar y diluir el suero cargado de lactosa y ácido láctico, del interior de ellos, en lo posible remplazarlo con agua. De esta manera diluyendo la lactosa se detiene la acidificación de la cuajada, e ingresa agua al grano para conservar una consistencia blanda o semi-dura en el futuro queso.

Si no se hace este lavado, quedaría mucho suero dentro de los granos de la cuajada, la lactosa sería transformada en ácido láctico, y con el tiempo produciría grietas en el interior del queso.

Se aprovecha el lavado para agregar un poco de sal (4,54g/litro leche), no con el fin de dar sabor sino con el fin de evitar la formación de microorganismos que favorecen a la putrefacción del queso. De esta manera el queso se conserva mejor.

11. Segundo batido de cuajada: Una vez añadido el agua a la cuajada, se procedió a seguir batiendo, para que exista una mezcla total y el grano vaya adquiriendo mayor dureza. En este instante, es decir el tiempo en el que agitamos la cuajada, depende de la consistencia futura del queso, es decir: poca agitación, grano de cuajada suave y por ende queso suave y con demasiada humedad, demasiada agitación grano de cuajada muy dura y queso demasiado seco. Por lo que es conveniente llegar a conocer mediante el contacto la consistencia del grano al final del segundo batido y esto se consigue con la práctica continua.

12. Segundo desuerado: El que transcurre en la segunda agitación es variable y puede ser entre 5 y 10 minutos.

Finalmente se evacua casi la totalidad del suero, para facilitar la recolección de la cuajada y la sacada a la mesa.

13. Moldeado: Es la colocación de los granos de cuajada dentro de los moldes que están en la mesa de acero inoxidable para darle forma al queso, luego que se ha escurrido todo el suero se realiza el primer volteo. Luego se realiza otro volteo del molde con la cuajada con esta operación estamos consiguiendo que la cuajada se vaya compactando y también logrando que el suero se escurra.

Después que la cuajada ha adquirido forma y sin peligro de deformarse se coloca un paño sobre los moldes y se ubica los quesos dentro del molde permitiendo que el paño envuelva el queso.

14. Prensado: Luego del moldeado se coloca los moldes con la cuajada en tablas de aproximadamente 50 x 120 cm. se colocan tapas en acero inoxidable en el molde, y luego se ubica en la prensa, la prensa puede ser de tipo mecánica, hidráulica o cualquier tipo de peso que haga presión en los moldes el queso se lo puede voltear, es decir sacar la tabla que contiene los moldes finales y ubicarlos al inicio. El tiempo de prensado fue de 45 a 65 minutos.

15. Salado: Luego de haber terminado el prensado, se retira las telas de los moldes y se deja los moldes con los quesos en la tina de acero inoxidable, para que se enfríe el queso y siga escurriendo el suero. Transcurrido un tiempo se

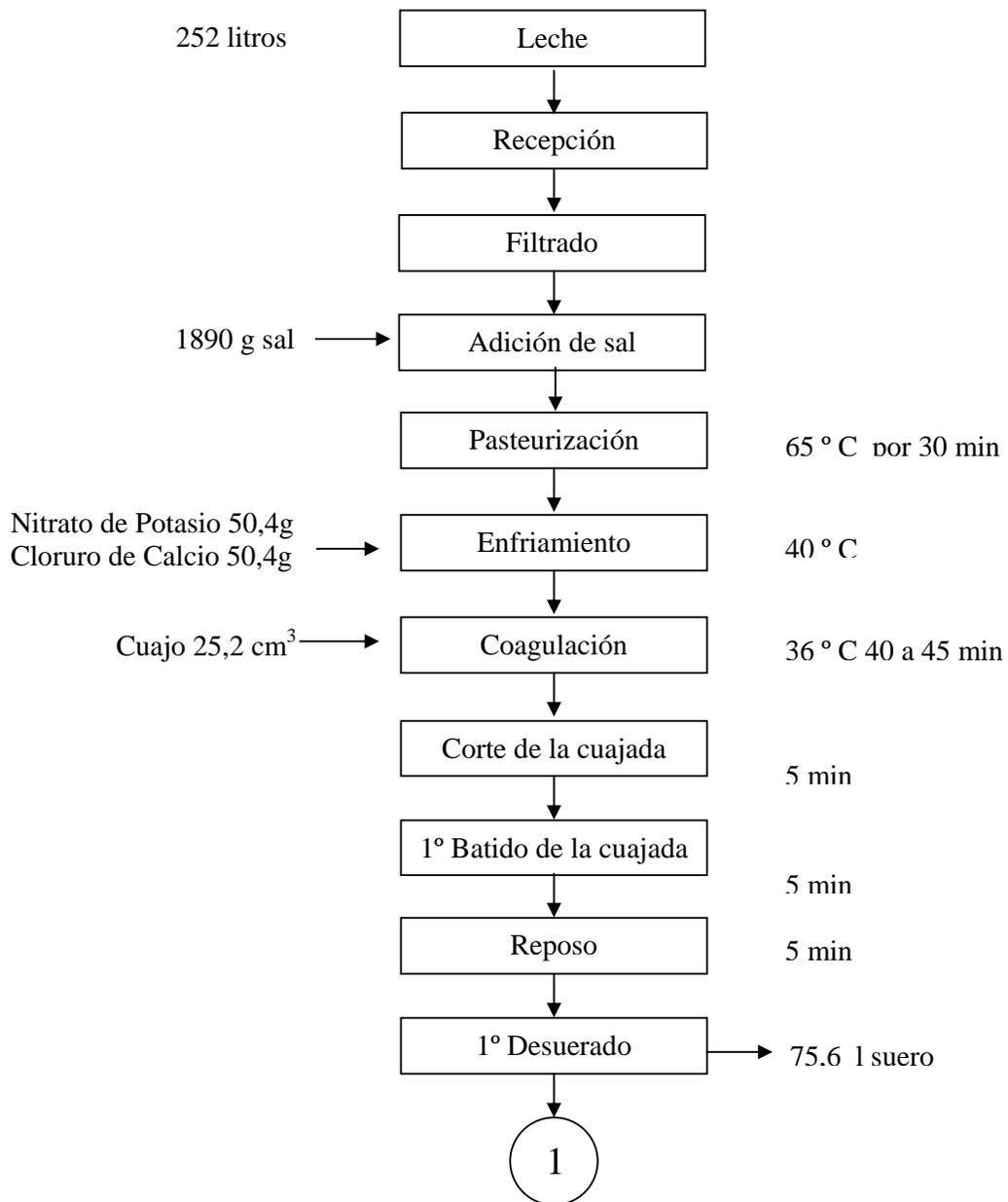
sumerge los quesos en las tinajas de salmuera donde se forma una corteza debido a la salida del suero y entrada de sal. Es recomendable que la salmuera se encuentre a 12 ° C, y deberá tener una salinidad de 20 a 22 ° Baume, los quesos permanecerán por un determinado tiempo de acuerdo a su tamaño y tipo de queso.

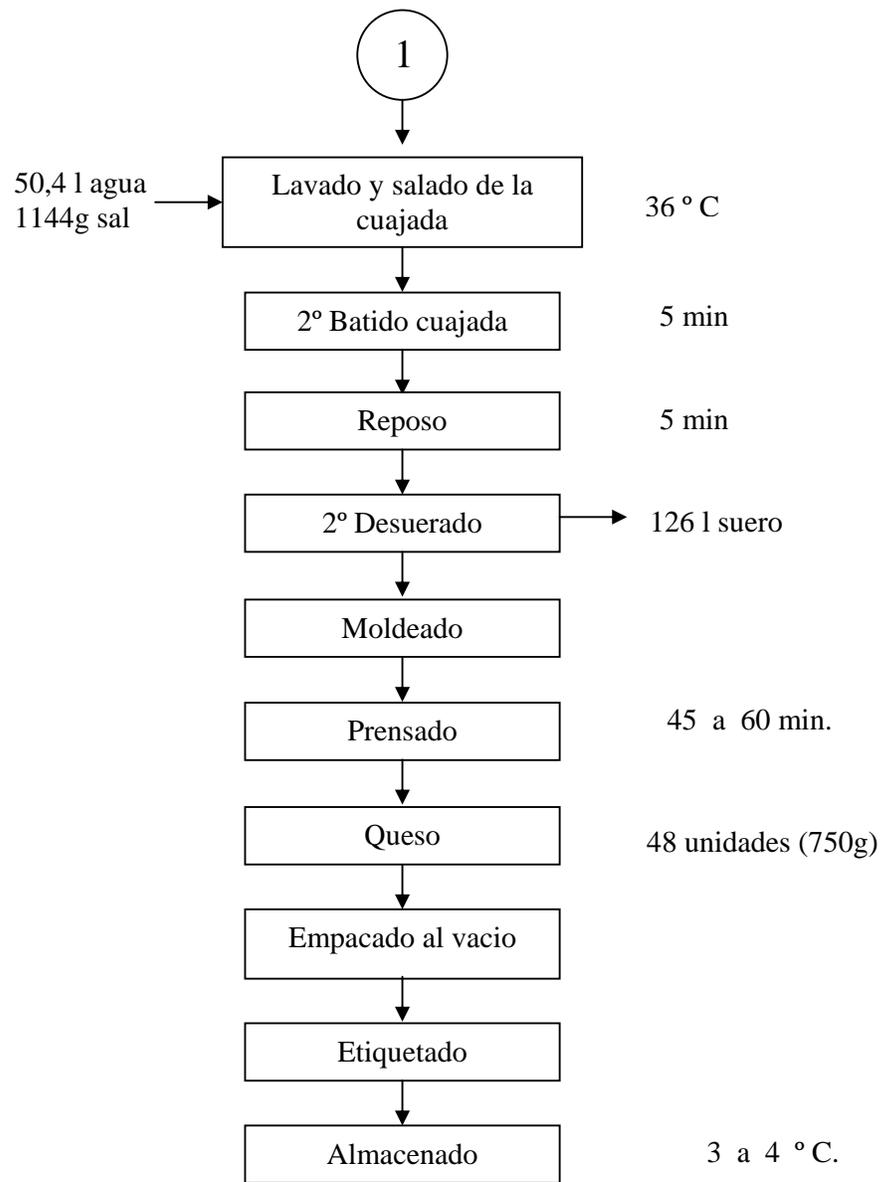
16. Empaque al vacío: Se empacó en una cámara que genera el vacío normal, consiste en succionar el aire interno reduciendo así su presión atmosférica en el interior de la cámara de vacío, con los parámetros recomendados por el fabricante.

17. Etiquetado: La etiqueta del envase debe incluir la siguiente información de acuerdo a la norma INEN 1 334. Designación del producto y tipo, marca comercial, identificación del lote, razón social de la empresa, contenido neto en unidades del SI y de acuerdo a las regulaciones T y M de 1986 -01, número de registro sanitario, fecha de tiempo máximo de consumo, lista de ingredientes, precio de venta al público (P.V.P), país de origen, forma de conservación, norma técnica INEN de referencia.

18. Almacenaje: Se realizó en un cuarto frío a una temperatura de 4 ° C. El tiempo de almacenaje fue de 15 días, tiempo en el que se procedió a realizar los segundos análisis de los quesos.

3.4.3 Flujograma de elaboración de queso fresco salado directo





3.4.4 Diferencia de elaboración de queso fresco

3.4.4.1 Contenido de humedad

Para la humedad 1 (57% rango aceptable ± 2): para obtener esta concentración de humedad se dejó desuerar en la prensa durante 45 minutos.

Para la humedad 2 (62% rango aceptable ± 2): para obtener esta concentración de humedad se dejó desuerar en la prensa durante 60 minutos.

3.4.4.2 Método de salado

1. Método de salado Indirecto

La adición de sal: Se procedió a poner al queso después del proceso de prensado, en salmuera a 20° Baume, durante tres horas.

2. Método de salado directo

La adición de sal: Se procedió a adicionar directamente cloruro de sodio (Sal) en una proporción del 0.75% a la leche, antes de su pasteurización.

3.4.4.3 El espesor de funda

Espesor de funda 1: Se procedió a poner al queso en una funda de un material coextruído de tres capas (nylon, adhesivo y PEBD), de 70 micras para su posterior empacado al vacío.

Espesor de funda 2: Se procedió a poner al queso en una funda de un material coextruído de tres capas (nylon, adhesivo y PEBD) de 80 micras para su posterior empacado al vacío.