



# **UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO**

## **FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS**

### **CARRERA INGENIERÍA EN ALIMENTOS**

Unidad de integración curricular previo a la  
obtención del título de Ingeniera en  
Alimentos

#### **Título de la Unidad de Integración Curricular:**

**“Adición de mucílago de cacao nacional (*Theobroma cacao* L.) como inoculante en la  
elaboración de queso semiduro”**

#### **Autora:**

**Indira Tatiana Macías Salazar**

#### **Tutor de la Unidad de Integración curricular:**

**Ing. Nelson Villegas Soto PhD.**

**Mocache - Los Ríos –Ecuador**

**2019**



## **DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS**

Yo, **Indira Tatiana Macias Salazar**, declaro libremente que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en el documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

---

**Macias Salazar Indira Tatiana**  
C.C.: 120583216-3

## **CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR**

El suscrito, Ing. Nelson Ramiro Villegas Soto, PhD; docente de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que la Srta. Indira Tatiana Macias Salazar, realizó la unidad de integración curricular titulada: “**ADICIÓN DE MUCÍLAGO DE CACAO NACIONAL (*Theobroma cacao* L.) COMO INOCULANTE EN LA ELABORACIÓN DE QUESO SEMIDURO**” previo a la obtención del título de Ingeniera en Alimentos; bajo mi dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

---

**Ing. Nelson Ramiro Villegas Soto, PhD.**

**DIRECTOR DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR**

## CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO

**Ing. Nelson Villegas Soto PhD.**, docente de la Facultad de Ciencias Pecuarias y como director certifico que la unidad de integración curricular de la estudiante Indira Tatiana Macias Salazar, titulada: **“ADICIÓN DE MUCÍLAGO DE CACAO NACIONAL (*Theobroma cacao* L.) COMO INOCULANTE EN LA ELABORACIÓN DE QUESO SEMIDURO”** fue ingresado a la herramienta informática URKUND producto del análisis se obtuvo una similitud de un 9%, lo cual está considerado dentro de los parámetros aceptables que establecen el reglamento e instructivos de la unidad de integración curricular de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

URKUND	
Documento	<a href="#">Unidad de integracion curricular-INDIRA MACIAS.docx</a> (D58767493)
Presentado	2019-11-12 21:00 (-05:00)
Presentado por	indira.macias2014@uteq.edu.ec
Recibido	jverac.uteq@analysis.urkund.com
Mensaje	UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR-INDIRA MACIAS SALAZAR <a href="#">Mostrar el mensaje completo</a>
9% de estas 8 páginas, se componen de texto presente en 10 fuentes.	

---

**Ing. Nelson Ramiro Villegas Soto PhD.**

**DIRECTOR DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR**



**UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS**  
**INGENIERÍA EN ALIMENTOS**

**UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR**

**Título:**

“ADICIÓN DE MUCÍLAGO DE CACAO NACIONAL (*Theobroma cacao* L.) COMO INOCULANTE EN LA ELABORACIÓN DE QUESO SEMIDURO”.

Presentado a la Comisión Académica como requisito previo a la obtención del título de Ingeniera en Alimentos.

Aprobado por:

**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**

Ing. Christian Vallejo Torres MSc.

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

Ing. Jaime Vera Chang MSc.

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

Ing. Cyntia Erazo Solórzano MSc.

**MOCACHE- LOS RÍOS -ECUADOR**

**2019**

## **AGRADECIMIENTO**

*Agradezco primeramente a Dios por su amor, salud, protección y sabiduría, por haberme guiado a lo largo de mi carrera permitiendo culminar esta unidad integradora curricular y por brindarme una familia maravillosa.*

*A mis padres Pedro Macias y Rosa Salazar por sus consejos, experiencias, confianza, por su excelente manera de instruirme y por el sacrificio que han realizado siempre para cumplir uno de mis sueños.*

*A mis hermanos Samuel y Jeckson quienes me alentaron a seguir adelante y por estar siempre conmigo en los momentos difíciles, espero convertirme en su ejemplo a seguir.*

*A mi novio Carlos Zapata por ser una persona incondicional en mi vida por su apoyo en cada momento, por alentarme cuando sentía que se perdían las esperanzas, por su paciencia y sobre todo por su amor.*

*Agradezco a esas personas extraordinarias que brindaron su ayuda en esta investigación como el Ing. Christian Vallejo, Ing. Cyntia Erazo, Ing. Jaime Vera a mi tutor el Ing. Nelson Villegas y a mi amiga Gema Muñoz que siempre estuvo apoyándome no sólo en el transcurso de esta investigación sino en toda mi carrera universitaria.*

***Indira Macias***

## **DEDICATORIA**

*Mi trabajo de investigación lo dedico con  
mucho amor, cariño y gratitud.*

*A Dios por darme sabiduría y guiarme  
siempre.*

*A esas personas maravillosas mi Mamá, mi  
Papá, mis hermanos y a mi novio,  
que sin ellos no lo hubiera  
logrado.*

***Indira Macias S.***

## RESUMEN

El objetivo de la presente investigación consistió en la elaboración queso semiduro inoculado con diferentes porcentajes de mucílago de cacao nacional al 5%, 10% y 15% para la mejora de las características físicoquímicas, microbiológicas y organolépticas, las BAL provenientes del mucílago fueron inoculadas en la leche para la obtención del queso semiduro tipo Danbo, se aplicó un DCA, con cuatro tratamientos y cuatro repeticiones, se utilizó la prueba Tukey ( $p \leq 0,05$ ), como resultado se obtuvo que el T3 con el 15% de mucílago de cacao fue el más destacado a diferencia de los otros tratamientos que fueron estadísticamente diferentes, se realizó análisis físicoquímicos al queso semiduro (pH, acidez, humedad, sólidos totales, ceniza, grasa, proteína), análisis microbiológicos para determinar E.coli, coliformes totales, mohos y levaduras, también se evaluó las características organolépticas (sabor, olor, color, textura, aceptabilidad); se determinó mediante la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis que los atributos color y textura no hubo diferencia estadística entre tratamientos. De tal manera se cumplió con los parámetros establecidos por la Norma INEN 068, se concluye que el tratamiento que obtuvo mejores valores en pH (5,36%), acidez (0,69%), grasa (35,87%) y proteína (18,39%) en relación a otros tratamientos fue el T3 con el 15% de mucílago de cacao, en el análisis microbiológico presentó  $3.5 \times 10^2$  de coliformes,  $1 \times 10^2$  de mohos y levaduras,  $<10$  de E.coli cumpliendo con la norma INEN 1529, y presentó mayor contenido de BAL ( $1,1 \times 10^8$ ).

**Palabras claves:** Leche, queso semiduro, mucílago de cacao, bacterias lácticas inoculación, fermentación.

## ABSTRACT

The objective of this research was to produce semi-hard cheese inoculated with different percentages of national cocoa mucilage at 5%, 10% and 15% for the improvement of physicochemical, microbiological and organoleptic characteristics, BALTs mucilage were inoculated in the milk for obtaining the Danbo-type semi-hard cheese, a DCA was applied, with four treatments and four repetitions, the Tukey test was used ( $p < 0.05$ ), as a result that T3 with 15% cocoa mucilage was obtained was the most prominent unlike the other treatments that were statistically different, physicochemical analyses were performed on semi-hard cheese (pH, acidity, moisture, total solids, ash, fat, protein), microbiological analysis to determine E.coli, total coliforms, molds and yeasts, organoleptic characteristics (taste, smell, color, texture, acceptability) were also evaluated; it was determined by Kruskal Wallis non parametric test that the color and texture attributes had no statistical difference between treatments. In this way it was met with the parameters established by INEN 068, it is concluded that the treatment that obtained better values in pH (5,36%), acidity (0,69%), fat (35,87%) protein (18,39%) in relation to other treatments was T3 with 15% cocoa mucilage, in the microbiological analysis presents  $3,5 \times 10^2$  coliforms  $1 \times 10^2$  molds and yeasts,  $< 10$  of E.coli complying with INEN 1529, and presented higher BAL content ( $1,1 \times 10^8$ ).

**Keywords:** Milk, semi-hard cheese, cocoa mucilage, inoculation lactic bacteria, fermentation.

## TABLA DE CONTENIDO

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS .....	i
CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR .....	ii
CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO .....	iii
AGRADECIMIENTO .....	v
DEDICATORIA .....	vi
RESUMEN .....	vii
ABSTRACT .....	viii
CÓDIGO DUBLÍN .....	xvi
INTRODUCCIÓN .....	1
<b>CAPÍTULO I .....</b>	<b>3</b>
<b>CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN .....</b>	<b>3</b>
1.1. Problema de la investigación. ....	4
1.1.1. Planteamiento del problema. ....	4
1.1.2. Formulación del problema. ....	5
1.1.3. Sistematización del problema. ....	5
1.2. Objetivos.....	6
1.2.1. Objetivo General. ....	6
1.2.2. Objetivos Específicos.....	6
1.3. Justificación.....	6
<b>CAPÍTULO II .....</b>	<b>8</b>
<b>FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN .....</b>	<b>8</b>
2.1. Marco conceptual. ....	9
2.2. Marco Referencial. ....	10
2.2.1. La leche. ....	10
2.2.2. Calidad de leche para quesería. ....	13
2.2.3. El queso.....	14
2.2.4. Tipos de Quesos. ....	14
2.2.5. Clasificación del queso según el contenido de humedad y grasa. ....	15
2.2.6. Propiedades nutricionales del Queso. ....	16
2.2.7. Queso semiduro. ....	16

2.2.8. El Cacao Nacional.....	22
2.2.9. Mucílago de cacao. ....	22
2.2.10. Bacterias ácido lácticas (BAL). ....	23
2.3. Investigaciones realizadas.....	24
2.4. Marco Legal. ....	25
<b>CAPÍTULO III</b> .....	<b>26</b>
<b>METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN</b> .....	<b>26</b>
3.1. Localización .....	27
3.1.1. Condiciones meteorológicas. ....	27
3.2. Tipos de Investigación. ....	27
3.3. Métodos de Investigación.....	28
3.4. Fuentes de recopilación de información.....	29
3.5. Diseño de la Investigación. ....	29
3.5.1. Esquema del ANDEVA. ....	29
3.5.2. Modelo matemático. ....	30
3.5.3. Esquema del experimento. ....	30
3.6. Procedimiento Experimental.....	32
3.6.1. Flujograma de extracción del mucílago de cacao nacional.....	32
3.6.2. Descripción de la extracción del mucílago de cacao nacional.....	33
3.6.3. Descripción del flujograma de queso semiduro.....	36
3.6.4. Formulación del queso semiduro tipo Danbo. ....	38
3.7. Instrumentos de la investigación. ....	38
3.7.1. Viabilidad microbiológica de las bacterias ácido lácticas (BAL).....	38
3.7.2. Variables físicas-químicas. ....	39
3.7.3. Variables microbiológicas. ....	41
3.7.4. Variables organolépticas. ....	41
3.8. Tratamiento de los datos.....	42
3.9. Análisis económico. ....	43
3.10. Recursos humanos y materiales.....	44
3.10.1. Recursos humanos. ....	44
3.10.2. Materia prima. ....	44
3.10.3. Insumos.....	44
3.10.4. Equipos .....	45

3.10.5. Materiales .....	45
3.10.6. Reactivos .....	46
3.10.7. Materiales de oficina. ....	46
<b>CAPITULO IV</b> .....	<b>47</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>47</b>
4.1. Análisis fisicoquímicos de las materias primas.....	48
4.1.1. Análisis del mucílago fermentado.....	48
4.1.2. Análisis de la leche cruda.....	48
4.2. Análisis fisicoquímicos del queso semiduro tipo Danbo.....	49
4.2.1. pH.....	50
4.2.2. Acidez.....	51
4.2.3. Humedad .....	52
4.2.4. Sólidos Totales .....	53
4.2.5. Ceniza.....	54
4.2.6. Grasa.....	55
4.2.7. Proteína.....	56
4.3. Análisis organoléptico del queso semiduro inoculado con mucilago de cacao nacional.....	58
4.3.1. Sabor .....	60
4.3.1.1. Sabor /Ácido: .....	60
4.3.2. Olor.....	60
4.3.2.1. Olor/ Queso maduro: .....	60
4.3.2.2. Olor/Mucílago de cacao .....	61
4.3.3. Color.....	61
4.3.3.1. Color/amarillo .....	61
4.3.3.2. Color/Marfil .....	61
4.3.4. Textura .....	62
4.3.4.1. Textura/Semidura .....	62
4.3.4.2. Textura /Dura .....	62
4.3.5. Aceptabilidad .....	63
4.4. Análisis microbiológico del queso semiduro inoculado con mucílago de cacao nacional.....	63
4.5. Análisis microbiológico de las bacterias ácido lácticas y coliformes en el mucílago de cacao nacional fermentado. ....	65

4.6.	Viabilidad de bacterias ácido lácticas en el queso semiduro inoculado con mucílago de cacao nacional. ....	65
4.7.	Análisis económico. ....	67
<b>CAPITULO V</b> .....		68
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b> .....		68
5.1.	Conclusiones .....	69
5.2.	Recomendaciones .....	70
<b>CAPITULO VI</b> .....		71
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....		71
<b>CAPITULO VII</b> .....		80
<b>ANEXOS</b> .....		80

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Valores promedios de la composición de la leche.....	12
<b>Tabla 2.</b> Requisitos fisicoquímicos de la leche cruda.....	13
<b>Tabla 3.</b> Requisitos fisicoquímicos de la leche cruda.....	15
<b>Tabla 4.</b> Clasificación del queso según su contenido de grasa.....	15
<b>Tabla 5.</b> Requisitos Fisicoquímicos del queso Danbo.....	17
<b>Tabla 6.</b> Requisitos microbiológicos del queso Danbo.....	18
<b>Tabla 7.</b> Composición química del mucílago de cacao.....	23
<b>Tabla 8.</b> Condiciones meteorológicas aproximadas del cantón Mocache.....	27
<b>Tabla 9.</b> Esquema del ANDEVA.....	30
<b>Tabla 10.</b> Esquema experimental.....	31
<b>Tabla 11.</b> Formulaciones para 1 kg de queso semiduro inoculado con mucílago de cacao en diferentes niveles.....	38
<b>Tabla 12.</b> Atributos sensoriales.....	42
<b>Tabla 13.</b> Descripción de los tratamientos.....	42
<b>Tabla 14.</b> Análisis fisicoquímicos del mucilago de cacao nacional.....	48
<b>Tabla 15.</b> Análisis fisicoquímicos de la leche cruda.....	48
<b>Tabla 16.</b> Análisis fisicoquímicos pH, acidez, humedad, sólidos totales, ceniza, grasa y proteína en el queso semiduro inoculado con diferentes niveles de mucílago de cacao nacional.....	57
<b>Tabla 17.</b> Análisis organolépticos de los atributos: sabor, olor, color y textura del queso semiduro tipo Danbo inoculado con mucílago de cacao nacional.....	59
<b>Tabla 18.</b> Análisis microbiológico del queso semiduro inoculado con mucílago de cacao nacional.....	64
<b>Tabla 19.</b> Análisis microbiológico de BAL y coliformes en el mucilago de cacao nacional.....	65
<b>Tabla 20.</b> Viabilidad de las BAL en el queso semiduro.....	66
<b>Tabla 21.</b> Análisis económico del queso semiduro al mejor tratamiento FCP-UTEQ 2019.....	67

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1.</b> Análisis de pH en los tratamientos del queso semiduro inoculado con diferentes porcentajes de mucílago de cacao nacional. ....	50
<b>Gráfico 2.</b> Análisis de acidez en los tratamientos del queso semiduro inoculado con diferentes porcentajes de mucílago de cacao nacional. ....	51
<b>Gráfico 3.</b> Análisis de Humedad en los tratamientos del queso semiduro inoculado con diferentes porcentajes de mucílago de cacao nacional. ....	52
<b>Gráfico 4.</b> Análisis de sólidos totales en los tratamientos del queso semiduro inoculado con diferentes porcentajes de mucílago de cacao nacional. ....	53
<b>Gráfico 5.</b> Análisis de ceniza en los tratamientos del queso semiduro inoculado con diferentes porcentajes de mucílago de cacao nacional. ....	54
<b>Gráfico 6.</b> Análisis de grasa en los tratamientos del queso semiduro inoculado con diferentes porcentajes de mucílago de cacao nacional. ....	55
<b>Gráfico7.</b> Análisis de proteína en los tratamientos del queso semiduro inoculado con diferentes porcentajes de mucílago de cacao nacional. ....	56
<b>Gráfico8.</b> Aceptabilidad del queso semiduro inoculado con diferentes porcentajes de mucílago de cacao nacional. ....	63

## INDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Norma INEN 176:2006 Requisitos del mucílago de cacao. ....	81
<b>Anexo 2.</b> Norma INEN 009:2012 Leche cruda .Requisitos. ....	82
<b>Anexo 3.</b> Norma INEN 068:2010 Requisitos del queso Danbo.....	83
<b>Anexo 4.</b> Técnica de análisis para la determinación de la acidez titulable. ....	84
<b>Anexo 5.</b> Técnica para la determinación del porcentaje de Humedad .....	85
<b>Anexo 6.</b> Técnica para la determinación del porcentaje de grasa. ....	87
<b>Anexo 7.</b> Técnica de análisis para la determinación de proteína bruta. ....	89
<b>Anexo 8.</b> Norma INEN 1529-8 Determinación de E.coli. ....	93
<b>Anexo 9.</b> Norma INEN 1529-10 Determinación de mohos y levaduras.....	94
<b>Anexo 10.</b> Formato de la evaluación sensorial y preferencia del queso inoculado con mucílago de cacao nacional. ....	95
<b>Anexo 11.</b> Análisis fisicoquímicos realizados en el queso semiduro en el Laboratorio de Química de la UTE 2019. ....	96
<b>Anexo 12.</b> ANDEVA de los análisis fisicoquímicos (pH, acidez, humedad, sólidos totales, cenizas, grasas, proteína). ....	98
<b>Anexo 13.</b> ANDEVA de los análisis organolépticos; sabor, color, olor, textura.....	101
<b>Anexo 14.</b> Análisis microbiológico de bacterias patógenas en el queso semiduro.....	103
<b>Anexo 15.</b> Viabilidad de las bacterias ácido lácticas en el queso semiduro. ....	105
<b>Anexo 16.</b> Costos de materias primas empleadas en la elaboración del queso semiduro del mejor tratamiento.....	107
<b>Anexo 17.</b> Costos de materiales directos empleados en la elaboración del queso semiduro del mejor tratamiento.....	107
<b>Anexo 18.</b> Costo de insumos empleados en la elaboración del queso semiduro al mejor tratamiento. ....	107
<b>Anexo 19.</b> Mano de obra requerida en la elaboración del queso semiduro del mejor tratamiento. ....	108
<b>Anexo 20.</b> Costos de distribución en la elaboración del queso semiduro al mejor tratamiento. ....	108
<b>Anexo 21.</b> Equipos y materiales utilizados en la elaboración de queso semiduro del mejor tratamiento. ....	108
<b>Anexo 22.</b> Fotos del experimento.....	109

## CÓDIGO DUBLÍN

<b>Título:</b>	Adición de mucílago de cacao nacional ( <i>theobroma cacao</i> L.) como inoculante en la elaboración de queso semiduro.
<b>Autora:</b>	Índira Tatiana Macías Salazar
<b>Palabras claves:</b>	Leche, queso semiduro, mucílago de cacao, bacterias lácticas inoculación, fermentación.
<b>Fecha de publicación:</b>	
<b>Editorial:</b>	Quevedo. UTEQ, 2020
<b>Resumen:</b>	<p>El objetivo de la presente investigación consistió en la elaboración queso semiduro inoculado con diferentes porcentajes de mucílago de cacao nacional al 5%, 10% y 15% para la mejora de las características físicoquímicas, microbiológicas y organolépticas, las BAL provenientes del mucílago fueron inoculadas en la leche para la obtención del queso semiduro tipo Danbo, se aplicó un DCA, con cuatro tratamientos y cuatro repeticiones, se utilizó la prueba Tukey (<math>p \leq 0,05</math>), como resultado se obtuvo que el T3 con el 15% de mucílago de cacao fue el más destacado a diferencia de los otros tratamientos que fueron estadísticamente diferentes, se realizó análisis físicoquímicos al queso semiduro (pH, acidez, humedad, sólidos totales, ceniza ,grasa, proteína), análisis microbiológicos para determinar E.coli, coliformes totales, mohos y levaduras, también se evaluó las características organolépticas (sabor, olor, color, textura, aceptabilidad); se determinó mediante la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis que los atributos color y textura no hubo diferencia estadística entre tratamientos. De tal manera se cumplió con los parámetros establecidos por la Norma INEN 068, se concluye que el tratamiento que obtuvo mejores valores en pH (5,36%), acidez (0,69%), grasa (35,87%) y proteína (18,39%) en relación a otros tratamientos fue el T3 con el 15% de mucílago de cacao, en el análisis microbiológico presentó <math>3.5 \times 10^2</math> de coliformes,</p>

	<p>1 x 10<sup>2</sup> de mohos y levaduras, &lt;10 de E.coli cumpliendo con la norma INEN 1529 , y presentó mayor contenido de BAL (1,1x 10<sup>8</sup>).</p> <p>The objective of this research was to produce semi-hard cheese inoculated with different percentages of national cocoa mucilage at 5%, 10% and 15% for the improvement of physicochemical, microbiological and organoleptic characteristics, BALTs mucilage were inoculated in the milk for obtaining the Danbo-type semi-hard cheese, a DCA was applied, with four treatments and four repetitions, the Tukey test was used (p-0.05), as a result that T3 with 15% cocoa mucilage was obtained was the most prominent unlike the other treatments that were statistically different, physicochemical analyses were performed on semi-hard cheese (pH, acidity, moisture, total solids, ash, fat, protein), microbiological analysis to determine E.coli, total coliforms, molds and yeasts, organoleptic characteristics (taste, smell, color, texture, acceptability) were also evaluated; it was determined by Kruskall Wallis no parametric test that the color and texture attributes had no statistical difference between treatments. In this way it was met with the parameters established by INEN 068, it is concluded that the treatment that obtained better values in pH (5,36%), acidity (0,69%), fat (35,87%) protein (18,39%) in relation to other treatments was T3 with 15% cocoa mucilage, in the microbiological analysis presents 3,5x10<sup>2</sup> coliforms 1x10<sup>2</sup> molds and yeasts, &lt;10 of E.coli complying with INEN 1529, and presented higher BAL content (1,1x10<sup>8</sup>).</p>
<b>Descripción :</b>	
<b>URL:</b>	

## INTRODUCCIÓN

El queso es un alimento de consumo masivo que se puede clasificar de diversas maneras, entre estas se encuentra el queso semiduro, que es el resultado de la coagulación ácida y enzimática de la leche pasteurizada para su posterior fermentación, es un tipo de quesos que contiene un gran valor nutritivo, no solo por la alta cantidad de proteína y grasa, sino también por el contenido de minerales que posee, siendo las características de estos quesos muy variables de acuerdo a los procesos físicos, microbiológicos o al tiempo de maduración que son sometidos. (1).

En nuestro país la producción lechera se centra en la región sierra, lugar donde se encuentran mayores productores de leche, según datos del censo agropecuario la industria láctea procesa 5,8 millones de litros de leche de lo cual la tercera parte corresponde a la elaboración de quesos; en la actualidad son pocas las empresas que se dedican a la fabricación y comercialización de quesos semiduros (2).

El cacao Ecuatoriano tradicionalmente es conocido como “Cacao Nacional Fino de Aroma”, el cual posee características propias que lo diferencian de aquellos producidos en otras regiones del mundo (3). Actualmente el Ecuador exporta la almendra a distintos países sin transformar e innovar los derivados del mismo, entre estos derivados se encuentra el mucílago de cacao que es rico en bacterias ácido lácticas (BAL) y nutrientes; éstas bacterias son conocidas por brindar beneficios a la salud, además de mejorar las características organolépticas y conservación en los alimentos siendo empleadas en la elaboración de quesos, yogurt, bebidas y vino (4).

Las BAL cumplen muchas funciones entre ellas la inhibición de microorganismos indeseables, coagulación de leche, sinéresis de lactosuero; mientras que en la elaboración de quesos producen gas y la degradación de proteínas para la formación de hoyos durante la maduración (5), por otra parte las BAL presentes en el mucílago se las obtienen mediante la fermentación, especialmente aquellas del género *Lactococcus spp*, que empiezan su desarrollo luego de 24 horas, y las del género *Enterococcus spp* a las 48 horas, disminuyendo su crecimiento ambas bacterias a las 72 horas (6).

Por lo anteriormente expuesto, la presente investigación tuvo como fin aprovechar el mucílago de cacao, en la elaboración del queso semiduro tipo Danbo, valorando el contenido de bacterias ácido lácticas que están presentes en el mismo, ayudando a mejorar las características físico-químicas, organolépticas, microbiológicas y así brindar un queso que sea aceptable por la población en general, que favorezca a los productores de la zona y que sea una alternativa para la industria láctea.

**CAPÍTULO I**  
**CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN**

## **1.1. Problema de la investigación.**

### **1.1.1. Planteamiento del problema.**

El queso es un alimento que se consume a nivel mundial, contiene características nutritivas, funcionales, sensoriales que difieren según el tipo de queso; es un medio para el desarrollo de bacterias contribuyendo la bioconservación y fermentación de productos lácteos (7).

El queso que más se expende en el Ecuador es el queso fresco quedando rezagados la amplia variedad de quesos que existen en el mercado, por otra parte en la elaboración de queso fresco no se utilizan bacterias ácido lácticas a diferencia del queso semiduro, por esto se dará un valor agregado al derivado lácteo, convirtiéndolo en un queso propio de la zona con características idóneas.

El Ecuador es uno de los exportadores de cacao nacional más importantes para los países europeos gracias a la excelente calidad que posee, es por esto que crece la demanda por ser único (8). Por otro lado, el cacao a pesar de sus características, no es aprovechado en su totalidad debido a la deficiente información por parte de los productores y la industria alimentaria sobre la actividad microbiológica y propiedades que contiene el mucílago de cacao, desechándolo en fuentes de agua que derivan en problemas ambientales como la generación de malos olores y pérdidas económicas a los sistemas productivos de cacao.

### **Diagnóstico.**

Se considera al queso el producto lácteo más importante en el país, la leche que se destina industrialmente para la elaboración de queso semiduro es el 30%, ya que la mayoría del mercado está orientado al consumo de quesos frescos, por otra parte la baja producción de quesos semiduros se debe al desconocimiento de tecnologías y técnicas adecuadas para su elaboración por parte de pequeños y medianos productores. Se debe conocer que existe un gran potencial para la producción de estos quesos, debido a la disponibilidad de materia prima y tendencia de consumo (9).

Actualmente en el país los esfuerzos por el aprovechamiento del mucílago de cacao es mínima, ya que la explotación de mayor interés es la semilla, lo que representa el 10% del peso del fruto, por lo tanto el 90% restante es desechado. Dentro de éste desecho se encuentra el mucílago que es una fuente de bacterias con características de poca utilización, a pesar de que posee propiedades fisicoquímicas y sensoriales agradables (10).

### **Pronóstico.**

En la presente investigación se utilizó el mucílago de cacao asignándole una valoración importante como inóculo en la elaboración de queso semiduro para garantizar características idóneas físicas, químicas, microbiológicas y organolépticas aptas para el consumo que permitan obtener un queso competitivo a nivel nacional, mejorando la economía de los agricultores.

### **1.1.2. Formulación del problema.**

¿Cuál será el nivel óptimo del mucílago de cacao para la obtención de un queso semiduro que presente características físico-químicas y organolépticas que se encuentren dentro de las normas establecidas y que generen beneficios económicos?

### **1.1.3. Sistematización del problema.**

- ¿Cuáles serán los parámetros fisicoquímicos del queso semiduro inoculado con mucílago de cacao al 5%,10% y 15%?
- ¿Cómo se evaluará el mejor tratamiento del queso semiduro inoculado con diferentes niveles de mucílago de cacao?
- ¿Cuál es la viabilidad de las bacterias ácido lácticas provenientes del mucílago de cacao (*Theobroma cacao L.*) nacional en el queso semiduro?
- ¿Cuál será el costo de producción del queso semiduro?

## **1.2. Objetivos**

### **1.2.1. Objetivo General.**

- Desarrollar queso semiduro inoculado con mucílago de cacao Nacional (*Theobroma cacao* L.).

### **1.2.2. Objetivos Específicos.**

- Analizar los parámetros fisicoquímicos del queso semiduro inoculado con mucílago de cacao Nacional al 5%,10% y 15%.
- Establecer el mejor tratamiento mediante pruebas sensoriales y microbiológicas de bacterias patógenas en el queso semiduro inoculado con diferentes niveles de mucílago de cacao Nacional al 5%, 10% y 15%.
- Determinar la viabilidad de las bacterias ácido lácticas provenientes del mucílago de cacao nacional en el queso semiduro.
- Calcular los costos de producción del queso semiduro al mejor tratamiento.

## **1.3. Justificación.**

Hoy en día el consumo de productos enriquecidos con bacterias ácido lácticas está en auge por la aportación de nutrientes y por los beneficios para la salud de los consumidores, el queso semiduro es un producto que ya se encuentra en el mercado, aunque en el Ecuador no es consumido de una manera masiva debido al costo de producción en relación al queso fresco, por esta razón se utilizó el mucílago de cacao que no es aprovechado en su totalidad por los agricultores como inoculante en el queso semiduro.

El propósito de esta investigación es determinar la viabilidad del uso del mucílago rico en bacterias lácticas en la cadena de elaboración del queso en distintos niveles (5%, 10% y 15%), con fin de potenciar las características físicoquímicas, microbiológicas y

organolépticas del queso semiduro, siendo una alternativa para la industria láctea e ingreso económico para los productores.

**CAPÍTULO II**  
**FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN**

## **2.1. Marco conceptual.**

### ➤ **La leche.**

Es un producto de color blanquecino adquirida por la secreción de las glándulas mamarias en bovinos, está constituida por agua, grasa, proteínas, lactosa, vitaminas y minerales, se la obtiene higiénicamente por uno o varios ordeños de forma ininterrumpida (11).

### ➤ **El queso.**

Es un derivado lácteo, se define por ser blanco, semiduro o que haya pasado por un proceso de maduración, puede estar recubierto cuando la proteína (caseína) y el suero no sean superior a la leche, es obtenido mediante un cuajo responsable de la coagulación de la caseína y el escurrimiento del suero (12).

### ➤ **Queso semiduro.**

Se entiende por queso semiduro aquellos quesos que el proceso de fermentación es corto manteniéndose a una determinada temperatura y tiempo en ciertas condiciones para obtener los cambios físicos y bioquímicos que lo caracterizan (13).

### ➤ **Mucílago de cacao.**

Se le llama mucílago a la pulpa que envuelve a la almendra de cacao, es de color blanca rica en azúcares, posee características fisicoquímicas como vitaminas y minerales que le confieren propiedades sensoriales agradables y es una fuente para el desarrollo de microorganismos (10,14).

### ➤ **Bacterias lácticas.**

Son microorganismos representados por varios géneros con características fisiológicas, metabólicas en común, que se emplean en diversos campos, entre ellas la fermentación de alimentos como la leche, carnes, produciendo el ácido láctico (5).

➤ **Inoculación.**

Es la introducción de una porción de muestra ya sea de forma accidental o voluntaria en un medio adecuado en condiciones ideales de temperatura con el fin de empezar un cultivo para su desarrollo y posterior proliferación (15).

➤ **Fermentación.**

Es el proceso donde los microorganismos utilizan la energía positiva acumulada después de varios cambios bioquímicos que sufren las sustancias orgánicas, la cual es utilizada para el desarrollo de su metabolismo (16).

## **2.2. Marco Referencial.**

### **2.2.1. La leche.**

Desde el punto de vista legal, es el producto fresco de ordeño completo de una o varias vacas sanas, bien alimentadas y en reposo, exento de calostro, cumpliendo todas las características físicas, microbiológicas e higiénicas establecidas. Estas características se deben tomar en cuenta para medir la calidad de la leche como densidad, acidez, grasa, sólidos no grasos, presencia de antibióticos, índice de refracción (17).

Dietéticamente la leche es el alimento casi perfecto, su primordial proteína es la caseína, que contiene los aminoácidos esenciales y es fuente de calcio, fósforo y riboflavina, contribuye a los requerimientos de vitamina A y B1, por otra parte los lípidos que contiene la leche y la lactosa son importantes en la contribución de energía (11).

La definición física señala que la leche es un líquido de color blanco opalescente característico debido a la refracción de la luz, cuando los rayos inciden sobre las partículas coloidales de la leche en suspensión, por otro lado, cuando la leche presenta un color cremoso indica la alta cantidad de grasa y cuando contiene menor grasa se torna un color ligeramente azulado (18).

### 2.2.1.1. Composición de la leche.

La composición de la leche depende de muchos factores entre ellos las prácticas de producción, manejo, raza, alimentación y clima. La leche se compone por agua, grasa, proteínas, lactosa, minerales, siendo en mayor cantidad el agua y el restante en sólidos totales (19).

- a) **El agua:** es el componente más abundante, allí se encuentran los demás componentes de la leche en estados diferentes, el sodio y potasio en dispersión iónica, la lactosa en dispersión molecular y la caseína con el fosfato en dispersión coloidal y en forma de emulsión la materia grasa (20).
- b) **Proteínas:** están conformadas por 3 grupos, en mayor cantidad la caseína con un 3%, ésta no se coagula a temperaturas mayores a 100 ° C, la lactoalbúmina con un 0.5% y la lactoglobulina en un 0,05%. En ellas se encuentran más de veinte aminoácidos esenciales (20).
- c) **Grasa:** se encuentra en estado de suspensión, formando miles de glóbulos , cuando se deja en reposo la leche, éstos glóbulos ascienden formando una capa llamada nata, un centímetro cubico de leche contiene cerca de 3000 a 4000 millones de glóbulos de grasa, éstos están protegidos por membranas, evitando ataques enzimáticos (19).
- d) **Ácidos grasos:** se originan por la alimentación o la actividad bacteriana del rumen, la leche está compuesta aproximadamente por 70% de ácidos grasos saturados, el 26% corresponde a los ácidos grasos monoinsaturados, el 4% de ácidos grasos poliinsaturados, por otra parte en la leche los 3 ácidos que se encuentran en mayor cantidad es el palmítico, mirístico y esteárico (21).
- e) **Lactosa:** es el carbohidrato que se encuentra en la leche en mayor cantidad aproximadamente un 4.5%. Es un 85% menos dulce que la sacarosa, junto con las sales minerales contribuye en el sabor característico de la leche, la lactosa fácilmente se transforma por medio de las bacterias en ácido láctico (22).
- f) **Minerales:** la leche aporta minerales esenciales para el organismo humano entre ellos el calcio, por esto se considera que la leche de vaca es la mejor fuente para el

mantenimiento de la integridad ósea, contiene alrededor de 7 gramos de minerales por litro, los minerales se encuentran en dos fases; en la fase acuosa se encuentra el potasio, magnesio, sodio, en menor cantidad hierro y en la fase coloidal hierro, cobre, zinc y manganeso (22).

- g) Vitaminas:** las vitaminas juegan un papel importante en la actividad metabólica de los microorganismos, en la leche se encuentran las vitaminas hidrosolubles (B1, B6, B12) y las liposolubles (A, D, E, y K), la vitamina A es soluble en grasa, el tratamiento térmico causa poca pérdida de ésta vitamina en la leche, por otra parte, la vitamina B6 es resistente a la pasteurización y es esencial en los procesos metabólicos del queso en proceso de maduración (23).
- h) Enzimas:** en la leche se encuentran enzimas en mínima cantidad, pero tienen una velocidad de actividad lenta que permanece por largo tiempo, entre las principales enzimas que se encuentran en la leche son: la catalasa, lactasa, fosfatasa, amilasas, proteasas, lactoperoxidasa y reductasas (23).

La Tabla 1, indica los valores promedios de los componentes en la leche.

**Tabla 1.** *Valores promedios de la composición de la leche*

Componente	Valor medio (%)
<b>Agua</b>	86.9
<b>Proteína</b>	3.5
<b>Grasa</b>	4.0
<b>Lactosa</b>	4.9
<b>Cenizas</b>	0.7

**Fuente:** Mora & Wing (2013) (24).

### 2.2.1.2. Requisitos específicos de la leche

El color de la leche debe ser blanco opalescente o ligeramente amarillo, su olor debe ser característico, suave y libre de olores extraños; su aspecto homogéneo y libre de materias extrañas (25).

### 2.2.1.3. Parámetros fisicoquímicos de la leche.

Los parámetros fisicoquímicos que tiene la leche cruda destinada a su procesamiento se indican en la Tabla 2 de acuerdo a los requisitos por la NTE INEN 009.

**Tabla 2.** *Requisitos fisicoquímicos de la leche cruda.*

<b>Requisitos</b>	<b>Unidad</b>	<b>MIN.</b>	<b>MAX.</b>	<b>Método de ensayo</b>
Densidad relativa:				
a15°C	-	1.029	1.033	NTE INEN 11
A 20°C		1.028	1.032	
Materia grasa	%(fracción de masa)	3.0	-	NTE INEN 12
Acidez titulable como ácido láctico	%(fracción de masa)	0.13	0.17	NTE INEN 13
Sólidos totales	%(fracción de masa)	11.2	-	NTE INEN 14
Sólidos no grasos	%(fracción de masa)	8.2	-	*
Cenizas	%(fracción de masa)	0.65	-	NTE INEN 14
Proteínas	%(fracción de masa)	2.9	-	NTE INEN 16

**Fuente:** INEN 009:2012 (25).

### 2.2.2. Calidad de leche para quesería.

La calidad de la leche depende de varios factores, como la actividad metabólica de las bacterias, las cuales producen acidificación que intervienen en las características de

coagulación de las caseínas, por otro lado la calidad química (sustancias extrañas e inhibidoras) está relacionada con la leche destinada a la elaboración de quesos. Cualquiera de estos factores detendrán el desarrollo de bacterias lácticas influyendo en la rentabilidad del queso, por lo tanto la calidad de la leche está definida por la generación de quesos rentables (26).

### **2.2.3. El queso.**

Es un derivado lácteo que ha perdurado a lo largo de los siglos, su elaboración se realiza desde la época de la colonia, esto incidió cuando los españoles trajeron a la nueva España hatos de bovinos. Por otro lado Estados Unidos es el principal país productor de quesos a nivel mundial, aunque el primordial exportador es Alemania y los países como Reino Unido e Italia son considerados como los países que realizan más importaciones de quesos (27).

De acuerdo al Codex Alimentarius de la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (2008), el queso es un producto sólido o semisólido, fresco o que haya pasado por un proceso de fermentación, donde el valor de la relación suero proteínas/ caseína no es mayor a la leche, este derivado lácteo es obtenido por coagulación por un agente coagulante, con un escurrido del suero (12).

Según Ramírez & Vélez (2012) es el producto obtenido por coagulación de la leche cruda o pasteurizada (entera, semidescremada y descremada), está constituido principalmente de la proteína de la leche (caseína) en forma de gel. Por medio de este proceso se preserva ciertos componentes de la leche como las grasas, proteínas, generando el sabor que lo caracteriza al queso (7).

### **2.2.4. Tipos de Quesos.**

Existen más de 18 tipos de quesos y más de 400 nombres, pero pueden clasificarse en grupos: Duros, semiduros y blandos, entre los quesos duros se encuentra el Parmesano y Emmental, los semiduros se clasifican por el tipo de fermento utilizado para la maduración, con bacterias (Andino) y hongos (Roquefort); y los quesos blandos se clasifican en madurados y no madurados. Por otra parte los quesos también se puede clasificar de acuerdo al animal

(vaca, oveja, cabra, etc.), por el tipo de coagulación (cuajo, acidez y mixto), por el porcentaje de humedad en duros, semiduros y blandos y por el contenido de grasa en: Grasos, semigrasos y magros (28).

### 2.2.5. Clasificación del queso según el contenido de humedad y grasa.

Según el INEN 1528:2012 los quesos se pueden clasificar de acuerdo a las características físicas y composición debido a varias combinaciones posibles, obteniendo quesos de menor o mayor contenido de agua, indicado en la Tabla 3.

**Tabla 3.** *Requisitos fisicoquímicos de la leche cruda.*

Clases	Humedad % max
Semiduro	55
Duro	40
Semiblando	65
Blando	80

**Fuente:** INEN 1528:2012 (29).

De acuerdo al contenido de grasa o extracto seco en el queso es otra de las infinidades de clasificación, según la norma INEN 1528-2012, lo cual indica en la Tabla 4.

**Tabla 4.** *Clasificación del queso según su contenido de grasa.*

Clases	Contenido de grasa (%m/m) mínimo
Rico en grasa	60
Entero o grasa	45
Semidescremado o bajo en grasa	20
Descremado o magro	0.1

**Fuente:** INEN 1528:2012 (29).

### **2.2.6. Propiedades nutricionales del Queso.**

El queso contiene casi las mismas características nutricionales de la leche, excepto en el contenido de grasas y proteínas que es superior a la leche; el queso es un derivado lácteo rico en cuanto a las vitaminas A, D y del grupo B, gracias a todos los nutrientes y minerales como el calcio y fósforo es considerado una fuente necesaria para la remineralización ósea, si es consumido de manera equilibrada (30).

El queso se compone de 3 elementos:

- Agua 60%
- Materia grasa 20%
- Proteínas y sales 20% (31).

### **2.2.7. Queso semiduro.**

El queso semiduro puede ser elaborado con leche entera o leche estandarizada (leche cuyo porcentaje de grasa es el 3%), acidificada por cultivos de bacterias lácticas y coaguladas por enzimas. Algunos quesos pueden presentar agujeros pequeños o medianos, el tiempo de maduración varía según el tipo de queso entre 1 mes y 3 meses. La técnica de elaboración de estos quesos es la misma del queso fresco solo varía en el tiempo de maduración y peso del queso (32).

A este grupo de quesos semiduros pertenece el Gruyere, éste tipo de queso tiene un peso mayor a 50 kg, cuando es menor a esta cantidad se le llama Gruyero y cuando el tiempo de maduración es mayor a 3 meses se denomina Emmenthal. También pertenecen a este grupo el Queso Gouda, Holanda, Cheddar, Danbo, Fontina (32).

El proceso de maduración en estos quesos presenta inconvenientes como desarrollo de hongos, pérdida de humedad y la formación de corteza que puede deteriorarse ocasionando pérdidas en el valor comercial del mismo y bajo rendimiento (33).

### 2.2.7.1. Queso Danbo.

Es un queso semiduro, su cuerpo presenta un color que varía de casi blanco o marfil a amarillo claro, su textura es firme que se puede cortar, presenta abundantes agujeros ocasionados por el gas, redondos, suaves, su forma puede ser cuadrada o paralelepípedo, se elabora y se vende con recubrimiento de cera ya sea roja o amarilla (34).

El procedimiento de maduración para desarrollar las características de sabor y cuerpo, es normalmente de 3 semanas a 12- 20°C, según el nivel de madurez deseado; se puede utilizar distintas maneras de maduración ( incluida la adición de enzimas para intensificar el proceso), siempre que el queso muestre las propiedades físicas, bioquímicas y organolépticas óptimas (34).

### 2.2.7.2. Requisitos del queso Danbo según la norma INEN 68.

El queso debe presentar consistencia semidura y de color amarillento en forma de bloques de base cuadrada con caras planas, la textura debe ser firme y fácil de cortar, el tamaño máximo del diámetro de los agujeros es de 10mm uniformemente distribuidos, la prueba de fosfatasa será negativa cuando el queso se elabore con leche pasteurizada (35). En la Tabla 5 se indica los parámetros fisicoquímicos del queso Danbo.

*Tabla 5. Requisitos Fisicoquímicos del queso Danbo.*

Requisitos	MIN	MAX	Método de ensayo
Grasa láctea en extracto seco, %(m/m)	20	-	NTE INEN 063
Extracto seco	Según el contenido de grasa en el extracto seco		NTE INEN 064

**Fuente:** INEN 68:2011.

Al realizar los análisis microbiológicos, no debe existir presencia de microorganismos patógenos ni toxinas en el queso Dambo, lo cual se detalla en la Tabla 6.

**Tabla 6.** *Requisitos microbiológicos del queso Danbo.*

<b>Requisitos</b>	<b>n</b>	<b>m</b>	<b>M</b>	<b>c</b>	<b>Método de ensayo</b>
Enterobacteriaceas, ufc/g	5	$2 \times 10^2$	$10^3$	2	NTE INEN 1529-13
Staphylococcus aureus UFC/g	5	$10^2$	$10^3$	1	NTE INEN 1529-14

**Fuente:** INEN 68:2011.

### **2.2.7.3. Tecnología de producción de queso.**

La fabricación del queso tiene como principio la concentración de la caseína y grasa en un rango de 6 a 11, la concentración se determina por la coagulación de la caseína, ésta forma un gel que se rompe y libera al lactosuero que es rico en proteínas solubles, lactosa y una parte de componentes salinos y los iones de calcio (36).

#### **a) Recepción de la leche.**

En esta etapa de debe determinar que la leche sea de buena calidad y esté dentro de los parámetros de la Norma INEN 009, no debe existir presencia de antibióticos, calostro, ni adición de agua ni otra sustancia extraña, para posteriormente pasar a la fase de filtrado (36).

#### **b) Preparación de la leche.**

La leche es sometida a operaciones de filtración, centrifugación para eliminar impurezas sólidas, no se debe prolongar mucho tiempo la refrigeración o almacenamiento de la leche lo cual provoca modificaciones en la caseína, luego se procede a la etapa de estandarización donde se ajusta la relación entre la grasa y extracto seco (37).

#### **c) Pasteurización.**

El proceso de la pasteurización consiste en inactivar las bacterias patógenas y aquellas bacterias que pueden influir en las características fisicoquímicas,

nutricionales y organolépticas del queso, la temperatura no debe superar 72 a 75°C, durante 15 a 20 segundos donde la enzima fosfatasa es destruida por combinación de temperatura y tiempo (37).

Existen 3 tipos de pasteurización para la destrucción de microorganismos(4).

- Pasteurización baja, consiste en el calentamiento de la leche a 60°-65°C durante 30 minutos.
- Pasteurización intermedia, a una temperatura de 72°C-75°C durante 15-30 segundos.
- Pasteurización alta consiste en el calentamiento de 80°-95°C durante 15-20 segundos.

#### **d) Premaduración de la leche.**

Una vez pasteurizada la leche se deja enfriar hasta 6 a 12°C, a esta temperatura es posible iniciar una maduración, se añade a la leche bacterias lácticas (cultivos iniciadores), estos cultivos son muy importantes en la fabricación de quesos, entre ellos el cultivo mesófilo con una temperatura entre 20 y 40°C y los termófilos varían entre 45 y 60°C, éstos cultivos producen ácido láctico, componentes aromáticos y también CO<sub>2</sub> (38).

Los cultivos iniciadores están compuestos por bacterias lácticas de los géneros *Leunostoc*, *Streptococcus* o *Lactobacillus*; su misión es:

- Transformar la lactosa en ácido láctico
- Potenciar la acción del cuajo
- Favorecer el desuerado
- Disminuir el pH hasta 5-5.2 inhibiendo el crecimiento bacteriano
- Liberar sustancias que confieren a cada queso su aroma y sabor característico (39).

**e) Adición de sales de calcio y otros aditivos.**

Una vez que se ha producido la maduración con fermentos en la leche se adiciona 25 ml por cada 100 litros de cloruro de calcio para garantizar una buena coagulación, puesto que en la pasteurización se altera el contenido de calcio en la leche (38).

**f) Coagulación.**

Es un paso muy importante dentro de la elaboración de quesos , el cual la leche ya tratada y acondicionada, se le adiciona el cuajo líquido, el mismo que ayuda al desenvolvimiento de las proteínas y enzimas de la leche, formando coágulos de caseína, al que comúnmente es llamado cuajada donde el pH debe estar hasta 4,6 (40).

**g) Corte de la cuajada.**

Este proceso consiste en el corte de la cuajada en tamaños muy pequeños con el objetivo de abrir la porosidad, esto permite la salida del agua sin perder materia grasa, un tamaño de grano óptimo significará máximo desuerado, por esta razón es esencial cortar siempre con el mismo nivel de permeabilidad de gel (41).

**h) Desuerado.**

Los granos de la cuajada llegan al fondo del recipiente, permitiendo que el suero se elimine, por medio de jarras, mangueras; para los quesos semiduros luego de cortarse la cuajada se eleva la temperatura lentamente de 36° hasta alcanzar 41°C (42).

**i) Lavado de Cuajada.**

Este proceso se lo realiza con salmuera o agua con el fin de diluir los componentes del lactosuero, la temperatura del agua determinará la humedad, textura del queso y evita la acidificación de la cuajada (43).

**j) Batido de la cuajada.**

Se realiza el batido para que la humedad que se encuentra en la cuajada salga de su interior, mientras más se realice este proceso el grano disminuye de volumen y aumenta su densidad por la pérdida de suero (1).

**k) Salado.**

Esta etapa consiste en complementar el desuerado del queso, se la puede realizar de algunas maneras, directa en la leche en la cuajada o por inmersión de la salmuera, en los quesos semiduros el tiempo de salado dependerá del tipo de queso y el tamaño (40).

**l) Moldeo.**

La cuajada debe ser distribuida en los moldes para darle forma al queso, el proceso debe ser inmediato para que la cuajada compacte, una vez puesta la cuajada en los moldes se realiza el volteo para que el queso se preñe uniformemente y que el suero se escurra rápidamente (43).

**m) Prensado.**

En quesos semiduros o maduros se realiza el auto prensado, se prensa los quesos por 24 horas.

**n) Maduración.**

La maduración es el resultado del rompimiento de las proteínas, lípidos y carbohidratos, este proceso puede variar de unos días a meses o incluso hasta años, el sabor del queso maduro proviene de los sabores presentes en la leche, sabores provocados por la adición de enzimas o por bacterias inoculadas (44).

#### **o) Empaquetado y Almacenado.**

Para evitar que el queso se contamine con partículas extrañas se debe empaquetar al vacío, se debe conservar a una temperatura de 4 °C ya que en esta temperatura se detiene la acción de los microorganismos (45).

### **2.2.8. El Cacao Nacional.**

El nombre científico que recibe el árbol de cacao es *Theobroma cacao* L, en griego significa “alimento de los dioses”, el centro de origen del cacao según investigaciones es al noroeste de América del Sur en zonas altas amazónicas, actualmente se extiende desde Brasil hasta México en zonas tropicales, su producción comienza a los 4 o 5 años, puede llegar a una altura que varía de 5 a 8 metros, las hojas son alargadas y de un color oscuro; los frutos del cacao varían en color, tamaño y forma (46).

En el Ecuador se produce el cacao en la zona ecuatorial terrestre, en las planicies de la Costa y del Oriente Ecuatoriano, ha sido considerado como un cacao con propiedades organolépticas especiales que lo diferencian de los demás cacao y por esta razón es apetecido por mercados especializados (47).

Es el producto que a través de los años ha mostrado un grande dinamismo para la exportación, desde la época colonial hasta la actualidad, la economía del Ecuador ha estado fuertemente ligada a la producción del cacao(46).

El cacao nacional o comúnmente llamado cacao de Arriba presenta una maduración más larga, la calidad de la semilla es más fina, su aroma particularmente es suave y contiene menos cantidad de grasa que otras variedades, por lo tanto es utilizado en la industria alimentaria (47).

### **2.2.9. Mucílago de cacao.**

Está compuesto por una sustancia viscosa, generalmente hialina que se encuentra en el interior de las mazorcas de cacao, las mazorcas se componen de 30 a 50 semillas o

almendras, su forma es aplanada y están rodeadas por una envoltura blanca, la pulpa mucilaginosa contiene células esponjosas que son ricas en azúcar, ácido cítrico y sales (48), por otra parte el mucílago provee las condiciones adecuadas para el proceso de fermentación y para la formación de las sustancias potencializadoras de aroma y sabor (49).

### 2.2.9.1. Composición química del mucílago de cacao.

A continuación se detalla en la Tabla 7 los componentes que se encuentran en el mucílago de cacao.

**Tabla 7.** Composición química del mucílago de cacao.

Componente	%p/p (base húmeda)
Agua	79.2-84.2
Proteína	0.09-0.11
Azúcares	12.50-15.9
Glucosa	11.6-15.32
Pectinas	0.9-1.19
Ácido cítrico	0.77-1.52
Cenizas	0.40-0.50

**Fuente:** Ortiz, K.2015 (50).

### 2.2.10. Bacterias ácido lácticas (BAL).

Son cocos o bacilos Gram positivos y no generan esporas, comprenden un grupo heterogéneo de microorganismos que se encuentran en varios géneros, ellas se encargan de producir el ácido láctico, poseen características fisiológicas, morfológicas y metabólicas, pueden ser anaeróbicas, microaerófilos o aerotolerantes (51).

Este grupo de bacterias es el más abundante en la naturaleza por su capacidad para desarrollarse en una variedad de sustratos, ellas no necesitan oxígeno para crecer, son tolerantes a pH bajos, nitritos, humos y concentraciones de sal muy altas, el crecimiento en

medios aerobios forma el peróxido de hidrogena y radicales libres que poseen un efecto bactericida en la flora láctica (52).

#### **2.2.10.1. Importancia de las bacterias.**

El conocimiento de cultivos lácticos comenzó en el siglo XVIII cuando productores observaron el comportamiento de la leche en temporada cálida, la leche presentaba un sabor agradable, debido a esto los agricultores seleccionaron las BAL para inocular en la leche, por otra parte las bacterias ácido lácticas cumplen un papel importante en la fermentación, se emplean en la industria alimentaria en la elaboración de quesos, mantequilla, embutidos, ensilajes, cerveza, preservando y potencializando las características organolépticas (39).

#### **2.2.10.2. Clasificación de las bacterias ácido lácticas.**

Las BAL pueden estar contenidas en los cultivos iniciadores, su función es la formación de ácidos grasos, y están constituidos alrededor de 20 géneros, las bacterias del género cocos: *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, y bacilos del género *Lactobacillus* y *Carnobacterium*, tienen la capacidad de producir sustancias con actividad microbiana y son las que tienen mayor incidencia en los alimentos (52,53).

### **2.3. Investigaciones realizadas.**

Según *Mendoza T*,(54), en su trabajo de investigación *Elaboración de queso crema con bacterias del mucílago de cacao (teobroma cacao L.) fino de aroma*, evaluó el efecto de temperaturas 30, 35 y 40°C en la incubación de bacterias lácticas, lo que determinó que la temperatura de 40°C fue la óptima para la inhibición de bacterias patógenas y presentó mejores características bromatológicas.

Según *Chávez J*, (4) , en su proyecto de investigación “*Utilización de bacterias lácticas provenientes del mucílago de cacao nacional para mejorar el sabor y textura del queso mozzarella*”, evaluó 3 niveles de mucílago al 5, 10 y 15%, lo cual determinó que el mejor

tratamiento fue con el 5%, en este nivel el queso tuvo un buen rendimiento y presentó mejores características físico-químicas.

También *Calderón A,(38)*, en su proyecto de investigación “*Desarrollo de un queso semiduro con chocho*” ,desarrolló un queso semiduro tipo Danbo con diferentes niveles de chocho, la adición de chocho incrementó la humedad y disminuyó el nivel de grasa, los consumidores prefirieron que el chocho troceado sea del 1% al 3%.

## **2.4. Marco Legal.**

Se determinó los parámetros físicos-químicos del mucílago de cacao nacional (pH, acidez, densidad y °Brix) de acuerdo a los parámetros de las siguientes normas:

- a) pH norma técnica INEN 0389
- b) Acidez norma técnica INEN 1092:2013
- c) Densidad norma técnica INEN 0856
- d) °Brix NTE INEN 0273:2012

Se realizó análisis físicos-químicos de la leche cruda como pH, acidez titulable, densidad, materia grasa fueron analizados bajo los parámetros establecidos.

- a) El análisis de pH se realizó utilizando la NTE INEN 2623:2012.
- b) Acidez titulable bajo la norma INEN 13
- c) Densidad relativa NTE INEN 11
- d) Materia grasa NTE INEN 12.

**CAPÍTULO III**  
**METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

### 3.1. Localización

La presente investigación se realizó en la planta de lácteos en la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, ubicada en la entrada del cantón Mocache Km 7.5 vía Quevedo- El Empalme, Provincia de Los Ríos, los análisis físico-químicos se realizaron en la misma y en la Universidad Tecnológica Equinoccial sede Santo Domingo y los análisis microbiológicos se realizaron en el laboratorio AGROLAB.

#### 3.1.1. Condiciones meteorológicas.

Las condiciones meteorológicas del cantón Mocache, se detallan en la Tabla 8.

*Tabla 8. Condiciones meteorológicas aproximadas del cantón Mocache.*

Datos meteorológicos	Valores promedio
Humedad relativa (%)	85,84
Temperatura °C	25,47
Precipitación (mm anual)	2223,85
Heliofania (horas luz-año)	898,66
Zona ecológica	Bosque semi húmedo tropical

**Fuente:** Estación Meteorológicas del INAMHI ubicada en la Estación Experimental Tropical Pichilingue del INIAP (2013)

### 3.2. Tipos de Investigación.

Se aplicó una investigación exploratoria, descriptiva y experimental; porque no se encontró datos sobre la elaboración de un queso semiduro tipo Danbo inoculado con mucílago de cacao nacional.

### **Investigación exploratoria.**

La investigación exploratoria se dedica a examinar o explorar un problema de investigación que es poco estudiado, novedoso o no ha sido abordado anteriormente, permitiendo conocer y ampliar conocimientos sobre un fenómeno para precisar de mejor manera el problema (55).

### **Investigación descriptiva.**

En este tipo de investigación se seleccionan una serie de conceptos o variables y se mide cada una de ellas independientemente de la otra con el fin de describirlas. La investigación responde a las preguntas qué, quién, cómo, cuándo (55).

### **Investigación Experimental.**

La presente investigación es experimental porque se realizaron ensayos, para analizar el efecto del mucílago de cacao nacional en la elaboración del queso semiduro tipo Danbo.

## **3.3. Métodos de Investigación.**

Los métodos que se utilizó en la presente investigación son los siguientes:

### **Método inductivo-deductivo:**

Éste tipo de investigación se aplicó para dar solución a un problema, gracias a esto se obtuvo un queso semiduro tipo Danbo, evaluando las características físico-químicas y sensoriales que son influenciadas por los diferentes niveles de mucílago de cacao nacional.

### **Métodos estadísticos.**

Por medio de un software estadístico (Infostat), se cuantificó, se tabuló y ordenó los datos obtenidos en los análisis realizados, los mismos que permitieron interpretar los resultados.

### **3.4. Fuentes de recopilación de información.**

En la presente investigación de elaboración del queso semiduro inoculado con mucílago de cacao nacional, se utilizó las siguientes fuentes:

#### **Fuentes primarias.**

- Pre- ensayos.
- Trabajo de campo.
- Investigación de laboratorio.

#### **Fuentes secundarias.**

- Artículos y revistas científicos
- Tesis
- Libros

### **3.5. Diseño de la Investigación.**

El diseño experimental es una técnica que se utiliza para identificar y cuantificar los resultados obtenidos dentro de un estudio experimental.

En la presente investigación, se elaboró el queso semiduro con diferentes niveles de mucílago de cacao empleando un diseño completamente al azar (DCA), con 4 tratamientos y 4 repeticiones. Para la comparación de medias en los tratamientos se utilizó la prueba de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

#### **3.5.1. Esquema del ANDEVA.**

En la Tabla 9 se muestra el análisis de varianza que se utilizó en la investigación.

**Tabla 9.** Esquema del ANDEVA.

Fuente de variación (FV)		Grados de libertad(GL)	
Tratamiento	(t-1)	(4-1)	3
Error Experimental	t (r-1)	4(4-1)	12
<b>Total</b>	<b>t* r-1</b>	<b>4*4-1</b>	<b>15</b>

**Elaborado por:** Indira Macias 2019.

### 3.5.2. Modelo matemático.

Las fuentes de variación para la presente investigación se efectuó con el siguiente modelo matemático, cuyo esquema corresponde a:

$$Y_{ij} = \mu + Ti + \varepsilon_{ij}$$

**Dónde:**

$Y_{ij}$  = Total, de las observaciones en estudio.

$\mu$  = Efecto de la media general

$Ti$  = Efecto de los tratamientos en estudio.

$\varepsilon_{ij}$  = Efecto aleatorio o error experimental.

### 3.5.3. Esquema del experimento.

En la Tabla 10, se plantea el esquema del experimento con los tratamientos, repeticiones y unidades experimentales de una manera detallada. Se evaluó 4 tratamientos: el testigo y 3 niveles de adición del mucílago al 5%, 10%,15%, donde cada repetición está conformada por 500gr de queso semiduro tipo Danbo, dando un subtotal de 2 kg de queso semiduro por cada tratamiento.

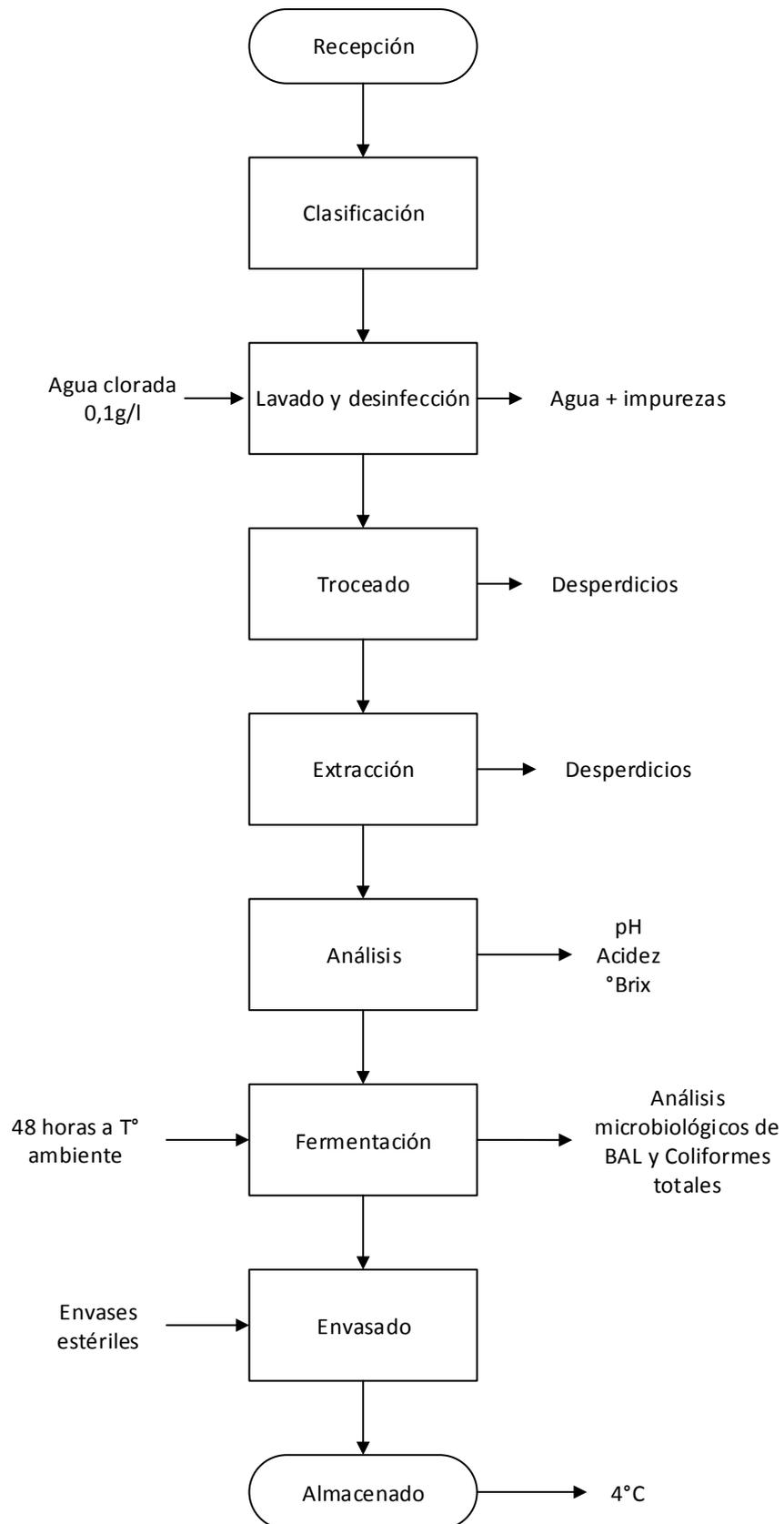
**Tabla 10.***Esquema experimental.*

Tratamientos	Repeticiones	Unidad Experimental (g)	Subtotal (kg)
T0 (Queso semiduro sin mucílago).	4	500	2
T1 (Queso semiduro inoculado con 5% de mucílago de cacao).	4	500	2
T2 (Queso semiduro inoculado con 10% de mucílago de cacao)	4	500	2
T3 (Queso semiduro inoculado con 15% de mucílago de cacao)	4	500	2
<b>Total</b>			<b>8</b>

**Elaborado por:** Indira Macias 2019.

### 3.6. Procedimiento Experimental.

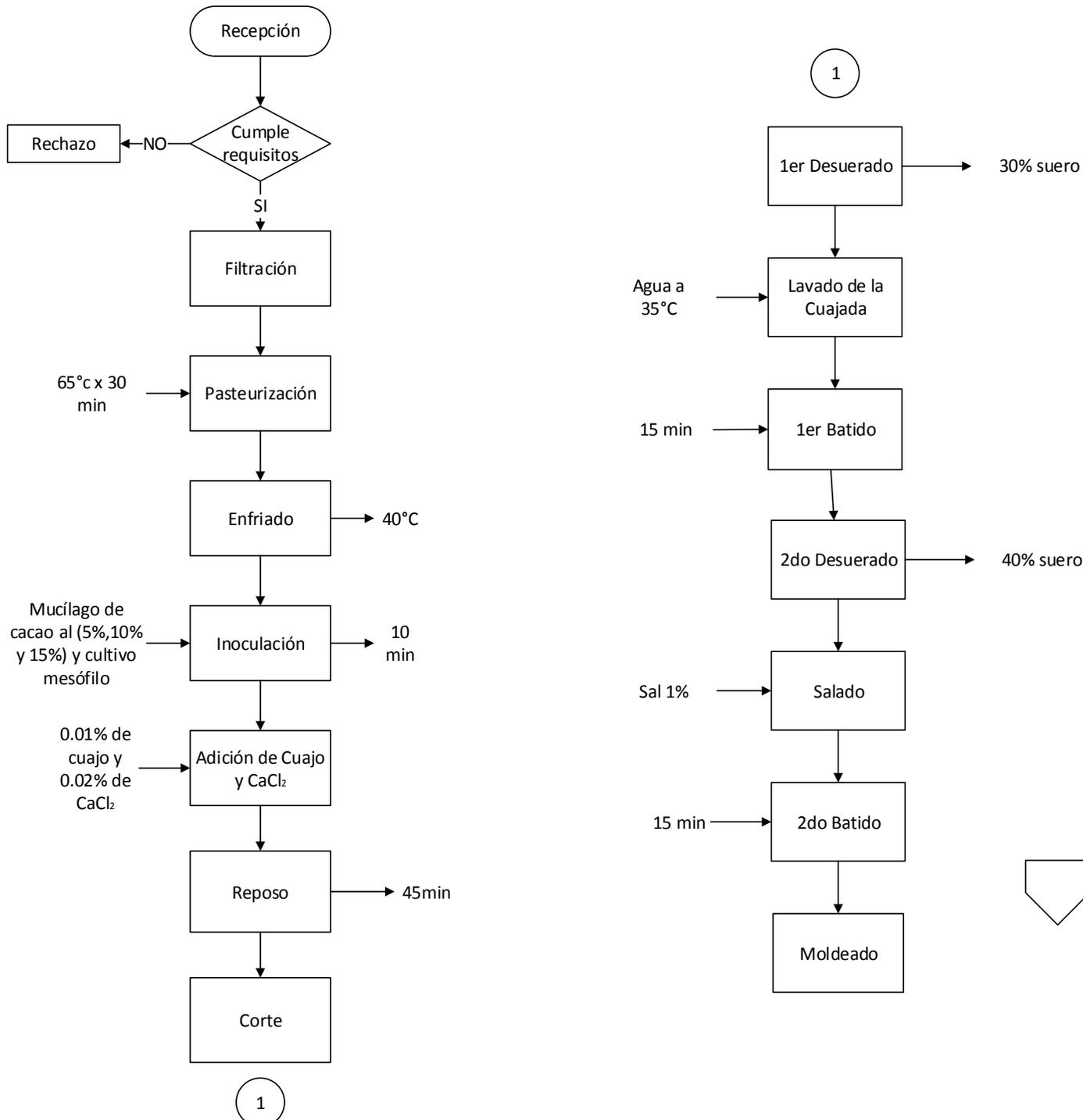
#### 3.6.1. Flujograma de extracción del mucílago de cacao nacional.

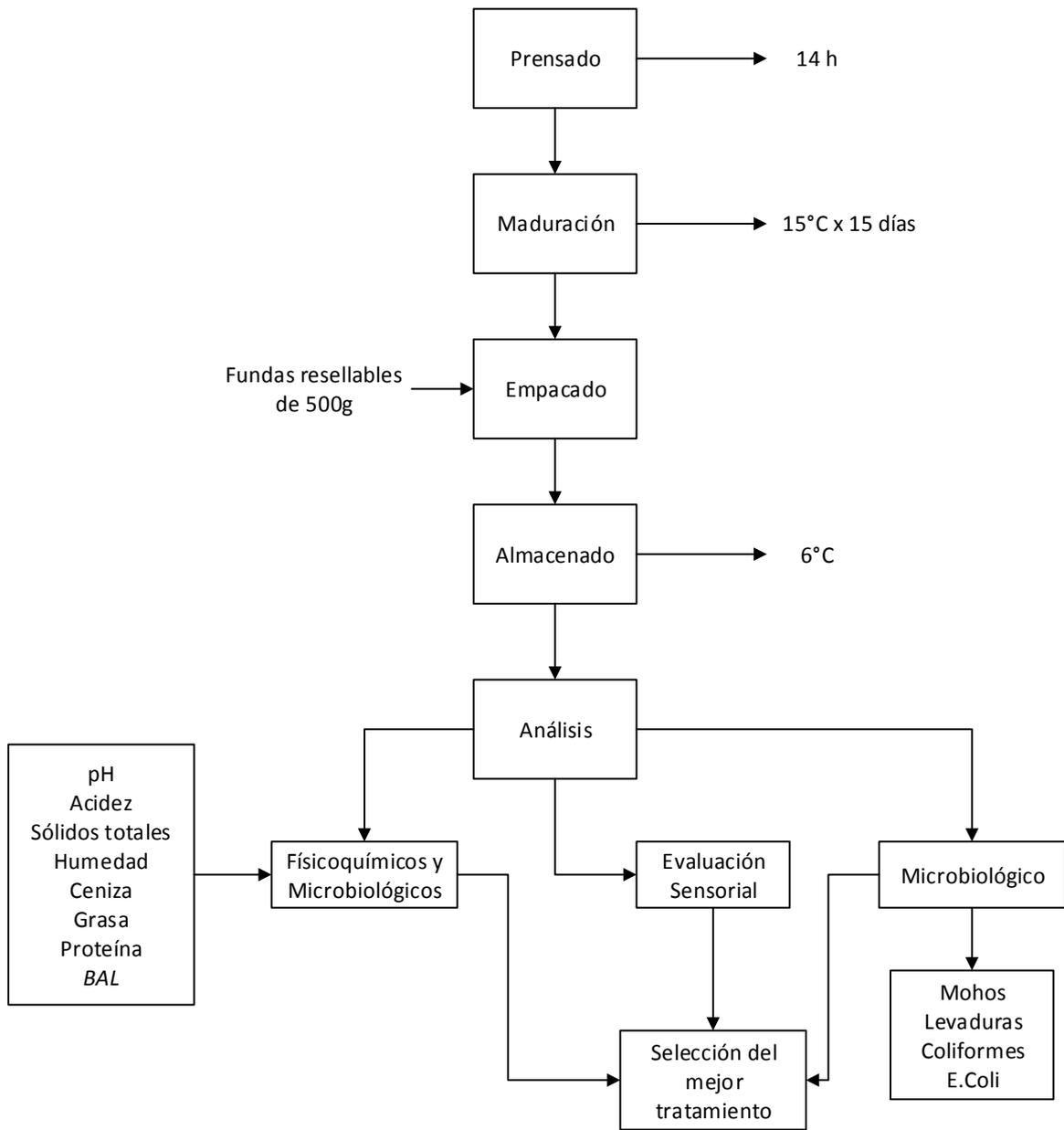


### **3.6.2. Descripción de la extracción del mucílago de cacao nacional.**

Se obtuvo las mazorcas de cacao nacional del cantón La Concordia recinto “Monterrey” de Santo Domingo, las mismas que fueron desinfectadas con agua clorada (0.1 g / litro) para su previa utilización, luego se realizó cortes en los lados de la mazorca y de forma manual se abrieron cada una de ellas, luego se utilizó un lienzo en el cual se colocaron las almendras de cacao y se ejerció presión con el fin de obtener el mucílago, para sus respectivos análisis fisicoquímicos (pH, acidez, densidad y °Brix) que se realizaron de acuerdo a la Norma INEN 176:2006, se colocó en envases estériles para su fermentación por 48 horas a temperatura ambiente para la obtención de las bacterias ácido lácticas y se realizó análisis microbiológico de *coliformes totales* 1529-7 para su posterior almacenamiento a 4°C.

### 3.6.3. Flujograma de elaboración del queso semiduro tipo Danbo.





**Elaborado por:** Indira Macias 2019.

### 3.6.3. Descripción del flujograma de queso semiduro.

**Recepción:** se recibió la materia prima (leche) proveniente de la Finca Experimental “La María” de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

**Control de Calidad:** en este proceso se realizó los análisis como: pH, acidez, densidad relativa y materia grasa a la leche para su posterior proceso, cumpliendo los requisitos de la norma INEN 009.

**Filtración:** la materia prima se filtró con el fin de eliminar partículas y material externo que procedan desde el ordeño utilizando un lienzo.

**Pasteurización:** este proceso se realizará a una temperatura de 65°C por 30 min con agitación continua.

**Enfriado:** la leche se enfría hasta que llegue a una temperatura de 40°C.

**Inoculación:** se agregó el mucílago de cacao, cultivo mesófilo homofermentativo y se dejó en reposo durante 5 a 10 min para incrementar la acidez.

**Adición de Cuajo y CaCl<sub>2</sub>:** se añadió 12 ml de cuajo en forma líquida para separar la caseína de la leche y 20 ml de CaCl<sub>2</sub>.

**Reposo:** una vez que el cuajo se ha mezclado con la leche se dejó reposar durante 45 minutos.

**Corte:** la cuajada se cortó con la lira en cubitos de 1 cm para su posterior reposo de 5 minutos.

**1er Desuerado:** se realizó mediante una malla plástica, la cantidad extraída del suero es el 30% con relación a la materia prima.

**Lavado de la cuajada:** en este proceso se adicionó lentamente agua a 35°C en cantidad equivalente al suero retirado, obteniendo un pH final de 5 a 5,2.

**Batido de la cuajada:** la cuajada se batió por 10 minutos dejando reposar para eliminar el exceso de suero durante 15 minutos.

**2do Desuerado:** se retiró el segundo suero, la cantidad extraída es del 40%.

**Salado:** la adición de sal fue del 1% con respecto a la cantidad de materia prima.

**2do Batido:** se realizará por 15 minutos.

**Moldeado:** La masa obtenida se colocó en moldes cuadrados.

**Prensado:** Este proceso duró 14 horas con un prensado uniforme.

**Maduración:** Se la realizó en una cámara fría a una temperatura de 15°C, durante los 15 días se aplicó salmuera a 20°Baumé, todos los días se limpió y se desinfectó la superficie de maduración del queso.

**Empacado:** Luego de los 15 días de maduración se empacó al vacío empleando fundas resellables.

**Almacenado:** El queso semiduro tipo Danbo se almacenó en refrigeración a una temperatura de 6°C.

**Análisis:** Una vez que el queso pasó su proceso de maduración, se realizaron los análisis físicos químicos de acuerdo a la norma INEN 2604:2012, se determinó la viabilidad microbiológica de las BAL y el mejor tratamiento mediante el análisis sensorial de acuerdo a lo establecido en la norma INEN 68, y los análisis microbiológicos de las bacterias patógenas de acuerdo a la Norma INEN 1529-8 y 1529-10.

### 3.6.4. Formulación del queso semiduro tipo Danbo.

El proceso de elaboración del queso semiduro inoculado con mucílago de cacao se realizó en base a 4 formulaciones, las cuales se detallan en la tabla 11.

*Tabla 11. Formulaciones para 1 kg de queso semiduro inoculado con mucílago de cacao en diferentes niveles.*

Materia prima e insumos	Formulación 1		Formulación 2		Formulación 3		Formulación 4	
	%	Cant.	%	Cant.	%	Cant.	%	Cant.
Leche (lt)	-	10	-	10	-	10	-	10
Cultivo								
Danbo(ml)	0.5	50	0.5	50	0.5	50	0.5	50
Mucílago de								
cacao (lt)	-	-	5%	0.5	10%	1.0	15%	1.5
Cuajo (ml)	0.01	1	0.01	1	0.01	1	0.01	1
CaCl <sub>2</sub>	0.02	2	0.02	2	0.02	2	0.02	2
Sal (g)	1	100	1	100	1	100	1	100

**Elaborado por:** Indira Macias 2019.

### 3.7. Instrumentos de la investigación.

Los instrumentos de la investigación a aplicarse en el presente experimento son las siguientes:

#### 3.7.1. Viabilidad microbiológica de las bacterias ácido lácticas (BAL).

Se determinó mediante pruebas microbiológicas, el desarrollo de las bacterias ácido lácticas en el mucílago de cacao fermentado por 48 horas y la viabilidad de las mismas en el queso inoculado con mucílago en un lapso de cada 8 días durante y después del proceso de maduración (15 días), se estableció si las bacterias se encuentran en el rango establecido de la norma INEN 2395:2011.

### **3.7.2. Variables físicas-químicas.**

#### **3.7.2.1. Variable independiente.**

- a) Se determinó al mucílago de cacao nacional los análisis físico-químicos (pH, acidez, densidad y °Brix) de acuerdo a la Norma INEN 176:2006 ver Anexo 1.
- b) Se realizaron los análisis físicos- químicos de la leche cruda como pH, acidez titulable, densidad, materia grasa que fueron analizados bajo los parámetros de la Norma INEN 009 ver anexo 2.

#### **3.7.2.2. Variable dependiente.**

Los análisis físicos- químicos que se evaluaron a los tratamientos en estudio en el queso semiduro tipo Danbo son pH, acidez, humedad, sólidos totales, materia grasa, proteína, ceniza, siguiendo las técnicas establecidas en la NTE INEN 068:2012 ver anexo 3.

- Análisis de pH.
- Análisis de Acidez Titulable.
- La humedad se realizó con el método establecido en la norma INEN 63.
- El porcentaje de grasa se determinó empleando los requisitos establecidos por la norma INEN 64.
- El análisis de proteína se lo realizó siguiendo el procedimiento establecido en la norma INEN 16.
- El análisis de sólidos totales se lo estableció siguiendo los procedimientos de la norma INEN 14.

- **pH:**

El análisis de pH determina la acidez o alcalinidad de una sustancia, se realizó con un pHmetro colocando el electrodo en la muestra de queso semiduro (20g) una vez diluida en 100 ml de agua destilada y se conoció el valor.

- **Acidez:**

Es un parámetro muy importante basado en la acidez titulable en elaboración de quesos, la muestra se valora con una solución de hidróxido de sodio al 0.1 N utilizando como indicador la fenolftaleína obteniendo un color que varía de rosa a morado, los equipos y fórmulas se detallaran en el anexo 4.

- **Humedad:**

La humedad en quesos semiduros es un parámetro de vital importancia, lo cual permite identificar la calidad del producto durante su maduración, el contenido de humedad máximo según la norma INEN 68 es del 55%, el procedimiento e instrumentales a utilizar se describe en el anexo 6 bajo lo establecido en la norma 63.

- **Sólidos Totales:**

Es un análisis que consiste en la desecación mediante evaporación del queso semiduro en procesos normales; para la obtención de ceniza se incineran los sólidos totales, el procedimiento, materiales y reactivos a utilizar se detallarán en el anexo 5.

- **Grasa:**

Para determinar el contenido de grasa en el queso semiduro se realizó bajo lo establecido en la norma INEN 64, este método se basa en la digestión parcial de los componentes del queso excepto la grasa, expresándose en porcentajes de masa con un valor mínimo de 20%; el procedimiento, reactivos e instrumentos a utilizar se indican en el anexo 7.

- **Proteína:**

Se utilizó el método de Kjeldahl, que se define por la destrucción de la materia orgánica y reducción del nitrógeno mediante la utilización de ácido sulfúrico concentrado para la determinación de proteínas en el queso semiduro se realizó por 3 procesos: Digestión, destilación y titulación que se indican en el Anexo 6.

### **3.7.3. Variables microbiológicas.**

El análisis microbiológico se lo realizó a todos los tratamientos del queso semiduro inoculado con mucílago de cacao; por medio de este análisis se conoció la presencia de bacterias como *E. coli*, *coliformes totales*, *mohos* y *levaduras*, lo cual se tomó como referencia la norma 1529-8 y 1529-10 (ver anexo 8-9).

### **3.7.4. Variables organolépticas.**

La valoración sensorial se estableció en el efecto que tendrá la adición de mucílago de cacao en diferentes niveles del queso semiduro tipo Danbo. Los atributos a medir fueron color, olor, sabor, textura; el perfil sensorial se lo realizó bajo la metodología de la Norma ISO 13299 y la Norma INEN 68 con una escala de cuatro puntos donde el número 1 significa “nada” hasta la escala 4 que significa “mucho”, se aplicó la prueba de preferencia y se determinó la mejor cualidad organoléptica entre los 4 tratamientos. Estos resultados se obtuvieron con la ayuda de 30 panelistas no entrenados, entre los cuales se encuentran docentes y estudiantes de la carrera de Ingeniería en Alimentos de la UTEQ, a cada panelista se le entregó 4 muestras de queso semiduro, codificadas en orden aleatorio con su respectiva hoja de respuesta (ver anexo 10 ).

Escala de intervalo de cuatro puntos:

- 1 Nada
- 2 Ligero
- 3 Moderado
- 4 Mucho

En la Tabla 12 se detalla los atributos sensoriales que se evaluaron en cada tratamiento. Para la interpretación de los datos organolépticos se utilizó una prueba no paramétrica (Kruskall Wallis) que mide las medias entre tratamientos con un 5% de probabilidad.

**Tabla 12.** *Atributos sensoriales.*

Sabor	Olor	Color	Textura
Ácido	Queso	Marfil	Semidura
Salado	Mucílago de cacao	Amarillo	Dura

**Elaborado por:** Indira Macias 2019.

### 3.8. Tratamiento de los datos.

En la Tabla 13 se muestra los tratamientos en estudio que se realizaron en la investigación para la obtención del queso semiduro tipo Danbo inoculado con mucílago de cacao nacional en diferentes niveles.

**Tabla 13.** *Descripción de los tratamientos.*

Tratamiento	Descripción	Código
1	Queso semiduro tipo Danbo sin adición de mucílago de cacao nacional	QSD0FC
2	Queso semiduro tipo Danbo inoculado con el 5% de mucílago de cacao nacional	QSD5MC
3	Queso semiduro tipo Danbo inoculado con el 10% de mucílago de cacao nacional	QSD10MC
4	Queso semiduro tipo Danbo inoculado con el 15% de mucílago de cacao nacional	QSD15MC

**Elaborado por:** Indira Macias 2019.

### 3.9. Análisis económico.

El análisis económico se realizó al mejor tratamiento, se determinó los costos de producción mediante el programa Excel, se utilizó un flujo de caja detallando materia prima, insumos, mano de obra, gastos administrativos, gastos de venta que intervienen en la elaboración del queso semiduro tipo Danbo, a continuación se describe las fórmulas que se utilizaron:

#### Fórmulas:

- **COSTO PRIMARIO:  $MPD + MOD$**

#### Donde:

MPD= Materia prima directa

MOD= Mano de obra directa

- **COSTO CONVERSIÓN:  $MOD + CIF$**

#### Donde:

MOD= Mano de obra directa

CIF= Costos indirectos de fabricación

- **COSTO PRODUCCIÓN:  $MOD + MPD + CIF$**

#### Donde:

MOD= Mano de obra directa

MPD= Materia prima directa

CIF= Costos indirectos de fabricación

- **COSTO DISTRIBUCIÓN:  $GA + GV$**

#### Donde:

GA= Gastos administrativos

GV= Gastos de venta

***COSTO TOTAL: C.P + C.D***

**Donde:**

CP= Costos de producción

CD= Costos de distribución

### **3.10. Recursos humanos y materiales.**

#### **3.10.1. Recursos humanos.**

La presente investigación se realizó con los siguientes recursos humanos:

- Ing. Nelson Villegas PhD ya que con él se estableció el tema.
- Ing. Christian Vallejo Msc, Coordinador de la Carrera de Ingeniería en Alimentos.
- Ing. Jaime Vera Msc, se realizó los análisis estadísticos.

#### **3.10.2. Materia prima.**

- Leche
- Cacao nacional

#### **3.10.3. Insumos.**

- Mucílago de cacao nacional
- Sal
- Cuajo
- Cultivo homofermentativo

#### **3.10.4. Equipos**

- Mufla
- Estufa
- Refrigeradora
- Cocina
- Equipo Kjeldahl
- Desecador
- Balanza analítica
- Balanza gramera
- Extractor de grasa
- pH-metro
- Lactodensímetro
- Termómetro
- Computadora
- Impresora

#### **3.10.5. Materiales**

- Lienzo
- Bandejas plásticas
- Cuchillo
- Envases estériles
- Ollas
- Lira
- Jarra plástica
- Malla plástica
- Moldes
- Fundas resellables
- Cuchara
- Bureta graduada y accesorios.
- Vasos de precipitación

- Espátula
- Crisoles de porcelana.
- Matraces Erlenmeyer
- Vasos Becker para grasa
- Dedales de extracción
- Porta dedales
- Cofia
- Mandil
- Guantes de látex
- Mascarilla
- Algodón

### **3.10.6. Reactivos**

- Fenolftaleína.
- Solución de hidróxido de sodio al 0.1% y al 40%
- Ácido sulfúrico concentrado 96%.
- Solución de Ácido Bórico al 2%
- Solución de ácido clorhídrico 0.1N
- Indicador Kjeldahl
- Agua destilada.
- Alcohol
- Agua clorada 100 ppm
- Éter de petróleo

### **3.10.7. Materiales de oficina.**

- Pendrive
- Cuaderno
- Carpeta

**CAPITULO IV**  
**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## 4.1. Análisis fisicoquímicos de las materias primas.

### 4.1.1. Análisis del mucílago fermentado.

Los análisis físico-químicos (pH, acidez y °Brix) se realizaron al mucílago de cacao nacional una vez que cumplió su proceso de fermentación (48 horas), los cuales están dentro de los parámetros establecidos por la norma INEN 176:2006 que se detallan en la Tabla 14.

**Tabla 14.** *Análisis fisicoquímicos del mucilago de cacao nacional.*

Parámetros Físicoquímicos			
	pH	Acidez	°Brix
Mucílago	3,58	0,78%	17

**Elaborado por:** Indira Macias 2019.

### 4.1.2. Análisis de la leche cruda.

En la operación de recepción de la leche se realizó los análisis fisicoquímicos, los valores obtenidos en la leche cruda como pH, acidez (expresada en ácido láctico), densidad, grasa y sólidos totales, se encuentran dentro del rango establecido por la norma INEN 009:2012 detallados en la Tabla 15.

**Tabla 15.** *Análisis fisicoquímicos de la leche cruda.*

Parámetros Físicoquímicos					
	pH	Acidez	Densidad	Grasa	Sólidos Totales
Leche	6.52	16°Dornix	1.029 (15°C)	3.78%	11.75%

**Elaborado por:** Indira Macias 2019.

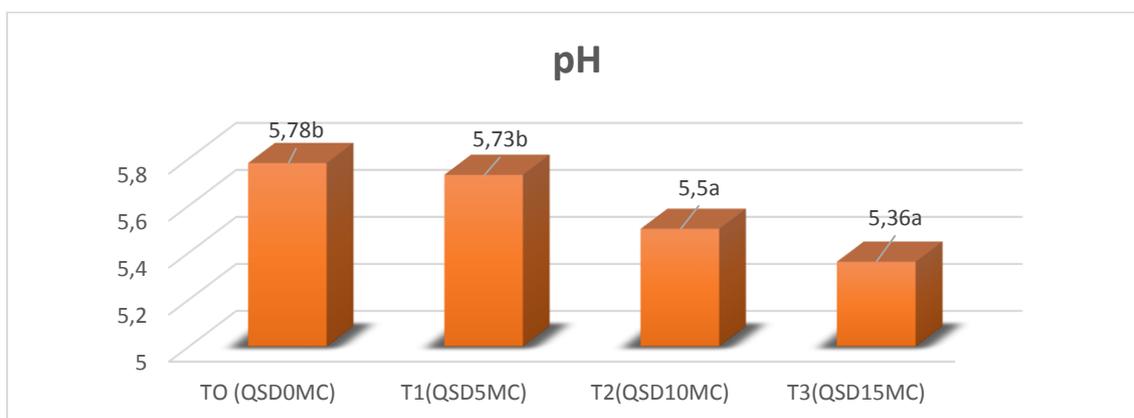
## **4.2. Análisis fisicoquímicos del queso semiduro tipo Danbo.**

En la Tabla 16 se detallan los análisis fisicoquímicos realizados al queso semiduro tipo Danbo inoculado con diferentes porcentajes de mucílago de cacao (pH, acidez, humedad, sólidos totales, ceniza, grasa y proteína encontrando diferencia significativa estadísticamente entre los tratamientos evaluados según el rango múltiple de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

### 4.2.1. pH

De acuerdo al esquema ANDEVA en la tabla 16 se determinó que el análisis de pH en el queso semiduro existe diferencia significativa en la prueba Tukey ( $p \leq 0,05$ ) entre tratamientos, siendo el T0 sin adición de mucílago el de mayor pH (5,78) que fue estadísticamente diferente al T1, T2 y T3, mientras que el T3 con 15% de mucílago de cacao en el queso semiduro presentó menor valor (Gráfico 1). Los resultados obtenidos en la investigación concuerdan con lo expresado por Castillo *et al.*(2008) (56) el valor de pH es mayor a 5.25. López & García (2014) (57) expresa que el pH en quesos semiduros varía de 5,3 a 6,2 de acuerdo al tiempo de maduración; la disminución del pH entre los tratamientos se debe a la fermentación ácido láctica que interviene en la regulación del desarrollo de los microorganismos implicados en la producción de enzimas durante la maduración.

La actividad proteolítica en los quesos maduros está influenciada por el contenido de pH y humedad de los mismos, mayor contenido de pH aumenta la actividad microbiana acelerando los procesos de degradación, así lo indica Arteaga (2014)(58) en su investigación de evolución de maduración en quesos semiduros.

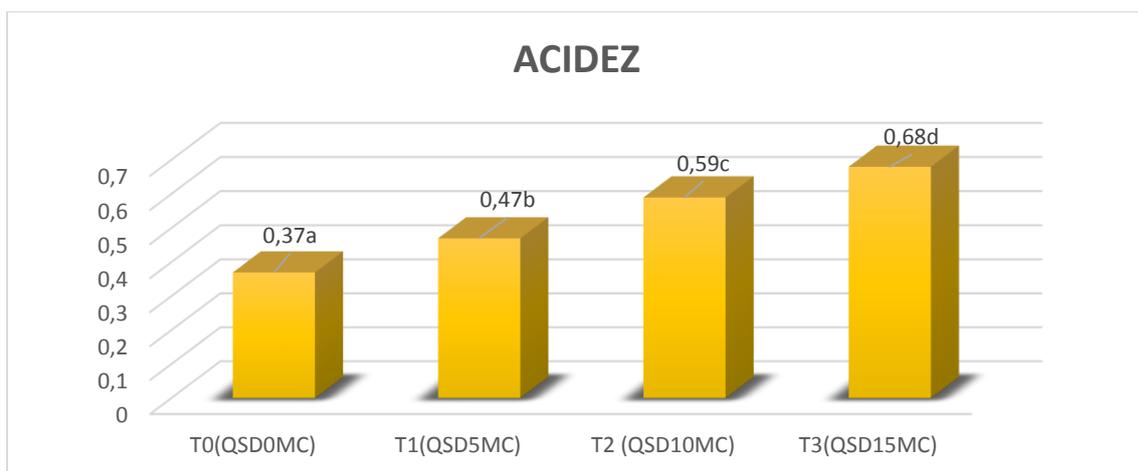


**Gráfico 1.** Análisis de pH en los tratamientos del queso semiduro inoculado con diferentes porcentajes de mucílago de cacao nacional.

### 4.2.2. Acidez

En el esquema del ANDEVA (Tabla 16) del queso semiduro inoculado con diferentes niveles de mucílago de cacao existió diferencia significativa en la acidez ( $p \leq 0.05$ ) entre tratamientos, sin embargo el valor más bajo de acidez expresada en ácido láctico presentó el tratamiento que no contenía mucílago de cacao nacional (T0) con un 0.37% y el T3 inoculado con 15% de mucílago presentó el valor más alto (0,68%) (Gráfico 2), debido a la cantidad de bacterias ácido lácticas presentes en el mismo. Castillo *et al.*(2008)(56) establece que el rango de acidez en quesos es de 0.39-0.93%; en la investigación realizada por Díaz *et al.*(2009) (59), en procesos productivos de quesos maduros la acidez varía de 0,6-0,8; indica que las condiciones de proceso permiten un nivel de lactosa que favorece a la fermentación; el grado de maduración y acidez son importantes en los quesos, pues son procesos que continúan aunque su velocidad disminuya durante todo el periodo de maduración.

Según Antezana (2015)(60), afirma que la acidez es un factor que no solo tiene incidencia en el sabor, sino también en los cambios de la red proteica del queso, Narváez *et al.* (2017) (61) señala que la acidez reduce la posibilidad de crecimiento microbiano no deseable siendo un medio para el desarrollo de las bacterias ácido lácticas como se observa en el T3.

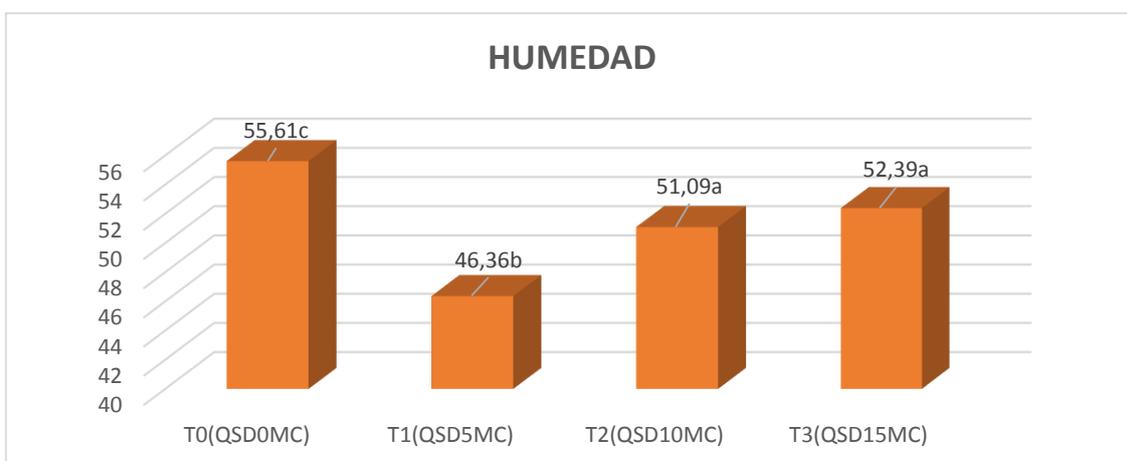


**Gráfico 2.** Análisis de acidez en los tratamientos del queso semiduro inoculado con diferentes porcentajes de mucílago de cacao nacional.

### 4.2.3. Humedad

En el análisis de humedad (Gráfico 3) del queso semiduro tipo Danbo existió diferencia significativa entre tratamientos evaluados ( $p \leq 0.05$ ), el tratamiento T0 sin adición de mucílago presentó los valores más altos en humedad (57.36%) y el de menor valor fue el tratamiento inoculado con el 5% de mucílago de cacao (T1) con el 45.36%. De acuerdo a la Norma INEN 68 el contenido de humedad máximo en quesos semiduros es del 55%, entre los tratamientos estudiados se determinó que el T2 y T3 están dentro del rango establecido, detallado en la tabla 16; según en la investigación realizada por Ramírez & Vélez (2012) (7) la humedad varía de 49,3 a 52,4 en quesos semiduros.

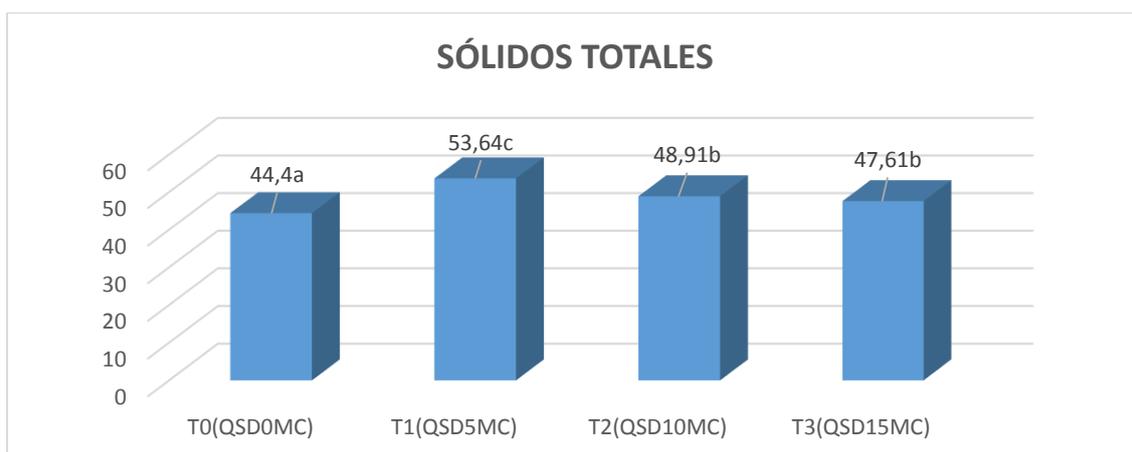
El contenido de humedad va disminuyendo de acuerdo al tiempo de maduración en el queso, siendo el tiempo de maduración un factor importante en la disminución de humedad; según Panizzolo *et al.* (2011)(62), indica que cuando ocurre una acidificación más lenta con poca expulsión de suero se obtienen quesos de mayor humedad.



**Gráfico 3.** Análisis de Humedad en los tratamientos del queso semiduro inoculado con diferentes porcentajes de mucílago de cacao nacional.

#### 4.2.4. Sólidos Totales

En el contenido de sólidos totales o materia seca del queso semiduro existió estadísticamente diferencia significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre tratamientos evaluados expresados en la tabla 16, siendo el tratamiento con mayor cantidad de sólidos el T1 inoculado con el 5% de mucílago de caco nacional (54,64%) que fue estadísticamente diferente a los otros tratamientos estudiados (Gráfico 4), éstos datos obtenidos son similares a los reportados por Arteaga (2014)(58), lo cual indica en su investigación de evolución de maduración en quesos semiduros que el contenido de sólidos totales o materia seca varían proporcionalmente a la cantidad de humedad obteniendo un 52,84% y de acuerdo al tiempo de maduración en los quesos, según la SERNAC (2015) (63) en los quesos semiduros como el Gouda la cantidad máxima de materia seca o sólidos totales es del 52%.

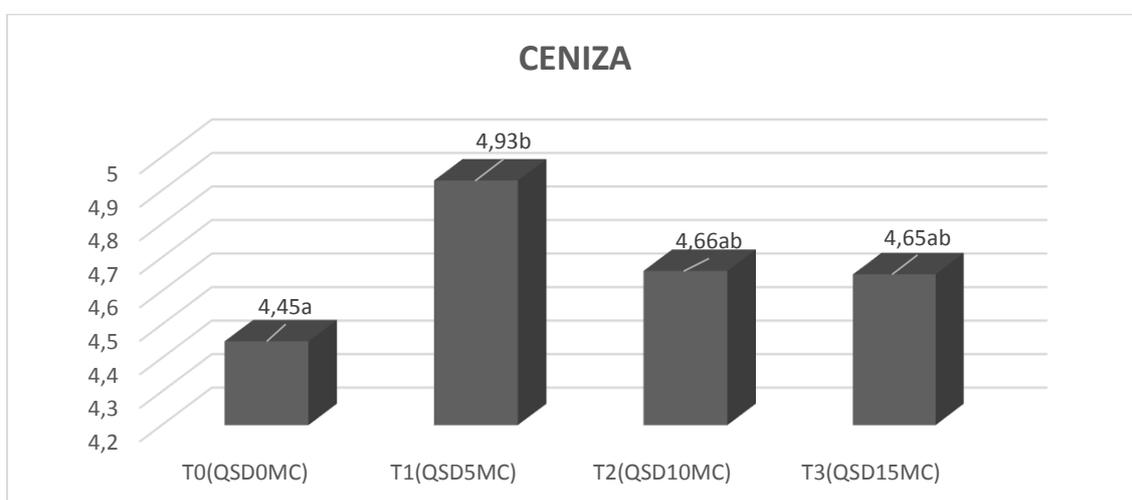


**Gráfico 4.** Análisis de sólidos totales en los tratamientos del queso semiduro inoculado con diferentes porcentajes de mucílago de cacao nacional.

### 4.2.5. Ceniza

En el análisis de varianza existió diferencia significativa según el de rangos múltiples de Tukey ( $p \leq 0,05$ ), en los tratamientos estudiados (Tabla 16) siendo el T1 inoculado con 5% de mucílago el que presenta mayor contenido de cenizas (4,93%) debido a la cantidad de sólidos totales que contiene en relación con los otros tratamientos siendo iguales estadísticamente el T2 y T3 (Gráfico 5); los resultados obtenidos concuerdan con Villa (2010)(64), quien al evaluar un queso semiduro tipo andino el contenido de cenizas varía de 4,3 a 4,70%, estos parámetros son de menor contenido a diferencia de Velasco (2012) (1), quien indica en su investigación que el queso semimaduro registra valores de 5,60 a 5,80%, se determina que los diferentes valores citados pudieron verse influenciados por las características fisicoquímicas de las materias primas utilizadas.

Según Arteaga (2014)(58), los parámetros generales que afectan al contenido de ceniza en los quesos semiduros o madurados es el pH durante la coagulación, composición de leche, tiempo de salado y humedad; la intensidad de acidificación es un factor importante en el grado de mineralización de un queso.

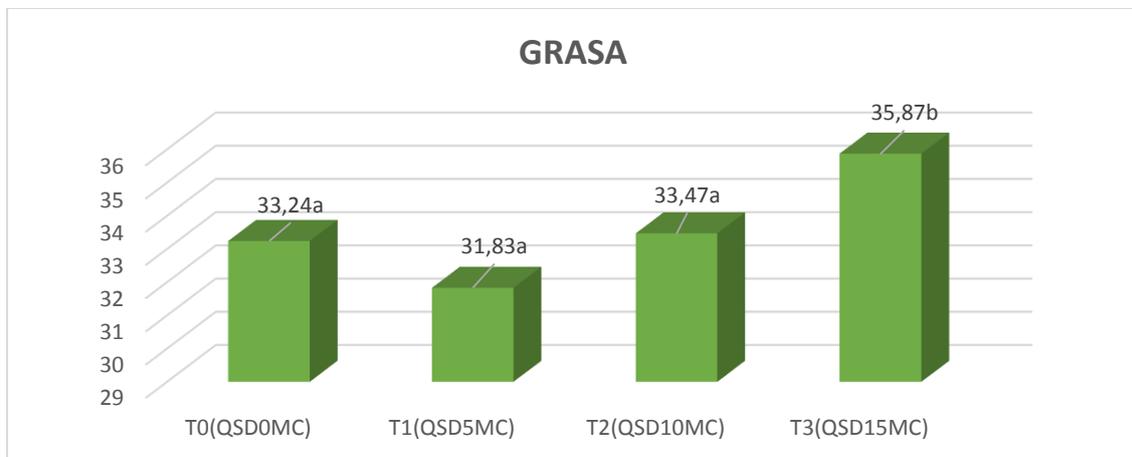


**Gráfico 5.** Análisis de ceniza en los tratamientos del queso semiduro inoculado con diferentes porcentajes de mucílago de cacao nacional.

#### 4.2.6. Grasa

Según el ANDEVA (Tabla 16) el análisis de grasa presentó diferencias significativas en el queso semiduro ( $p \leq 0.05$ ) entre los tratamientos evaluados, siendo el de mayor contenido el T3 inoculado con el 15% de mucílago de cacao (39.37%) (Gráfico 6) que fue estadísticamente al T0 (33.24%), T1 (31.83%) y T2 (33.47%) con una media general (35,22%). De acuerdo a la norma INEN 68 el contenido de materia grasa en extracto seco en quesos semiduros es del 30-40%, lo cual determina que todos los tratamientos están dentro de los parámetros establecidos convirtiéndolos en quesos semigrasos, en la investigación realizada por Dalla (2015)(65) la cantidad de materia grasa en extracto seco en quesos semiduros varía de 25 a 44.9%.

Según Portilla & Caballero (2009) (66) la grasa cumple una función importante en los quesos, pues no permite que la caseína dentro del queso se endurezca, mientras menor contenido de grasa como se presenta en el T1 hay mayor rapidez de evaporación de humedad durante la maduración provocando resequeidad y endurecimiento.

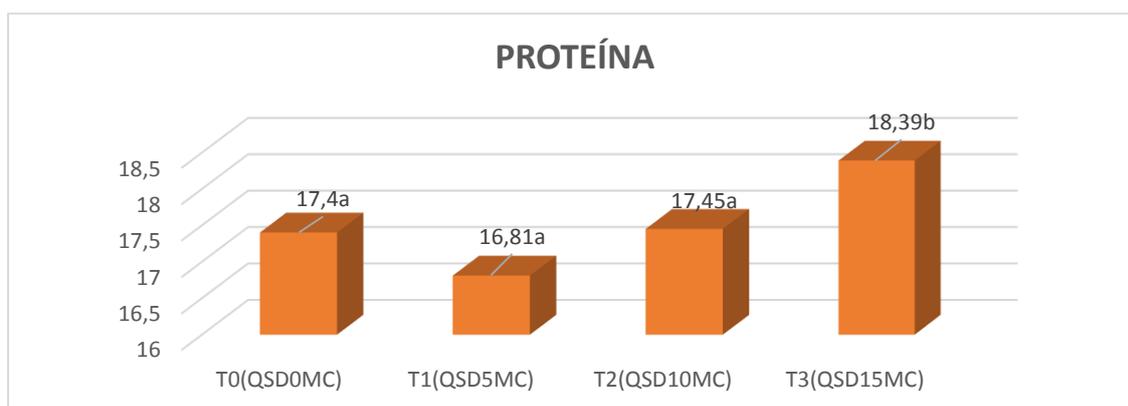


**Gráfico 6.** Análisis de grasa en los tratamientos del queso semiduro inoculado con diferentes porcentajes de mucílago de cacao nacional.

### 4.2.7. Proteína.

En el esquema ANDEVA (Tabla 16) el análisis de proteína en el queso semiduro presentó diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre los tratamientos evaluados, siendo el T3 con 15% de mucílago de cacao inoculado en el queso semiduro presentó mayor contenido de proteína 18,39% (Gráfico 7) a diferencia de los demás tratamientos, se determina que el T0 (17,4%) y T2 (17,45%) son iguales con una media general (4,67%); los valores descritos por Arteaga (2014) (58) en su investigación de caracterización de queso Chanco determinó que entre los tratamientos estudiados la proteína presentó un contenido de valores entre 18,20 y 19,95 una vez madurado el queso, éstos datos concuerdan con la presente investigación donde el T3 con el 15% de mucílago de cacao se encuentra dentro de los parámetros establecidos a diferencia de Acevedo *et al.* (2016) (67) que presentó datos superiores (19,15%) en la proteína debido a la adición de lactosuero en el amasado del queso.

Según Tabón *et al.* (2014) (68) la proteína va disminuyendo levemente de acuerdo al tiempo de maduración, solo el 30% es hidrolizada en quesos semiduros y duros, debido a la calidad de la leche utilizada en la elaboración de quesos.



**Gráfico 7.** Análisis de proteína en los tratamientos del queso semiduro inoculado con diferentes porcentajes de mucílago de cacao nacional.

**Tabla 16.** *Parámetros fisicoquímicos pH, acidez, humedad, sólidos totales, ceniza, grasa y proteína del queso semiduro tipo Danbo inoculado con mucílago de cacao nacional.*

Parámetros Fisicoquímicos							
Tratamientos	pH (%)	Acidez (%)	Humedad (%)	Sólidos totales (%)	Ceniza (%)	Grasa (%)	Proteína (%)
<b>T0</b>	5,78 b	0,38 a	55,61 c	44,40 a	4,45 a	31,83 a	17,40a
<b>T1</b>	5,73 b	0,48 b	46,36 a	53,64 c	4,93 b	33,24 a	16,81a
<b>T2</b>	5,50 a	0,59 c	51,09 b	48,91 b	4,66 ab	33,47 a	17,45a
<b>T3</b>	5,36 a	0,69 d	52,39 b	47,61 b	4,65 ab	35,87 b	18,39b
<b>Promedio</b>	5,59	0,53	51,36	47,26	4,67	35,22	17,51
<b>C.V. (%)</b>	1,22	5,13	1,54	1,63	3,46	2,55	2,27
<b>E.E</b>	0,03	0,01	0,45	0,45	0,08	0,35	0,20
<b>p-valor</b>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	<0,0001	0,0097	<0,0001	0,0010
<b>s.e.</b>	**	**	**	**	**	**	**

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes según la prueba de Tukey ( $p \geq 0,05$ ). T0: (Queso semiduro sin mucílago): T1 (Queso semiduro inoculado con 5% de mucílago de cacao): T2 (Queso semiduro inoculado con 10% de mucílago de cacao): T3 (Queso semiduro con 15% de mucílago de cacao).

C.V.: Coeficiente de variación.

p.: Probabilidad asociada a valores mayores o iguales a 0.05%

s.e.. Significancia estadística (n.s.= no significativo, \*=significativo y \*\*=muy significativo).

**Elaborado por:** Indira Macias 2019.

### **4.3. Análisis organoléptico del queso semiduro inoculado con mucilago de cacao nacional.**

En la Tabla 17, se detallan las medias de cada variable del análisis organoléptico en el queso semiduro inoculado con diferentes porcentajes de mucílago de cacao, se determinó el efecto en los atributos (sabor, olor, color, textura) en una escala de intervalo de 1 a 4. Para la tabulación de los datos se empleó la prueba no paramétrica Kruskall Wallis ( $p \leq 0,05$ ) usando un software libre.

**Tabla 17.** Análisis organolépticos de los atributos: sabor, olor, color y textura del queso semiduro tipo Danbo inoculado con mucílago de cacao nacional.

TRATAMIENTOS	SABOR		OLOR		COLOR		TEXTURA	
	Ácido	Salado	Queso maduro	Mucílago de cacao	Amarillo	Marfil	Semidura	Dura
T0 (Queso semiduro sin mucílago)	1,63 a	3,50 c	3,37 a	1,17 a	3,00 a	1,57 a	2,90 b	2,27 a
T1 (Queso semiduro con el 5%de mucilago).	2,00 ab	2,70 b	3,40 a	1,73 b	3,40 ab	1,30 a	2,07 a	3,23 b
T2 (Queso semiduro con el 10%de mucílago).	2,33 b	2,40 ab	3,43 a	2,10 c	3,50 b	1,37 a	2,73 b	2,97 b
T3 (Queso semiduro con el 15%de mucílago)	3,30 c	2,17 a	3,67 a	2,60 d	3,53 b	1,43 a	3,50 c	2,93 b
<b>Promedio</b>	2,31	2,69	3,47	1,9	3,36	1,42	2,8	2,85
<b>LI (0,05)</b>	1,18	1,77	3,25	0,94	2,97	1,23	1,86	2,20
<b>LS (0,05)</b>	3,45	3,62	3,69	2,86	3,75	1,60	3,74	3,50
<b>p-valor</b>	<0,001	<0,001	0,2297	<0,001	0,0048	0,2173	<0,001	<0,001

Según prueba paramétrica de Kruskal Wallis ( $p \leq 0,05$ ).

**Elaborado por:** Indira Macias 2019.

### **4.3.1. Sabor**

#### **4.3.1.1. Sabor /Ácido:**

Según el análisis estadístico de Kruskal- Wallis (Tabla 17), se determinó que existió diferencia estadística entre tratamientos, el T3 con el 15% de mucílago de cacao presentó el mayor valor de 3,30 seguido del T2 con 10% de mucílago de cacao (2,33) con una media general de 2,31 un límite inferior de 1,18 y límite superior 3,45, registrándose los valores del T3 en la escala de intervalo 3 (moderado).

#### **4.3.1.2. Sabor /Salado:**

En el análisis estadístico no paramétrico de Kruskal-Wallis, las medias de los tratamientos presentaron diferencia estadística, se encontró que el T0 sin adición de mucílago presentó el mayor valor (3,50) considerándolo en la escala como moderado, el T3 con el 15% de mucílago de cacao obtuvo el menor valor (2,17) esto se debe al porcentaje de mucílago inoculado en el queso semiduro, con una media general 2,69 un límite inferior 1,77 y un límite superior 3,62.

### **4.3.2. Olor**

#### **4.3.2.1. Olor/ Queso maduro:**

En el atributo olor/queso maduro según la prueba de Kruskal-Wallis no presentó diferencia significativa estadísticamente entre las medias de tratamientos, los valores obtenidos se indican en la Tabla 11 siendo el de mayor valor el T3 inoculado con el 15% de mucílago de cacao, valorando en la escala de intervalo 3(moderado) a todos los tratamientos con una media general de 3,47 un límite inferior de 3,25 y límite superior 3,69.

#### **4.3.2.2. Olor/Mucílago de cacao**

Según la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, en el atributo olor/mucilago se observó que existe diferencia significativa entre tratamientos siendo el de menor valor el T0 sin mucilago de cacao nacional a diferencia del T3 inoculado con el 15% de mucilago que presentó mayor valor (2,60) con una media general de 1,9 y un límite inferior de 0,94 y límite superior 2,86, perteneciendo el T3 a una escala de intervalo 2 indicando que el queso semiduro presenta leve olor a mucilago de cacao nacional(Tabla 17).

#### **4.3.3. Color**

En la Norma INEN 068 establece que el color del queso Danbo varía de marfil a amarillo o amarillo claro.

##### **4.3.3.1. Color/amarillo**

De acuerdo al análisis estadístico no paramétrico Kruskal-Wallis (Tabla 17), se observó que entre tratamientos las medias presentan diferencia, siendo iguales el T2 inoculado con el 10% de mucílago de cacao (3,50) y T3 con el 15% de mucílago de cacao (3,53) con una media general de 3,36 con un límite inferior 2,97 y límite superior 3,75, determinado que todos los tratamientos en la escala de intervalo 3 indican color amarillo moderado.

##### **4.3.3.2. Color/Marfil**

El atributo color/marfil en quesos semiduros según la prueba de Kruskal-Wallis ( $p \leq 0,05$ ), la Tabla 11 indica que no existió diferencia estadística entre tratamientos, se determina que en todos los tratamientos no presentaron color marfil, en la escala de intervalos 1(nada), sin embargo el T0 expresa mayor valor (1,57) con una media general 1,42 un límite inferior de 1,23 y límite superior de 1,60.

#### **4.3.4. Textura**

La textura en el queso Danbo debe ser firme que se pueda cortar según la norma INEN 068 dentro de sus parámetros.

##### **4.3.4.1. Textura/Semidura**

Según la prueba estadística de Kruskal-Wallis ( $p \leq 0,05$ ) en la Tabla 17 existió diferencia significativa entre tratamientos siendo el T3 inoculado con el 15% de mucilago de cacao nacional presentó mayor valor 3,50 mientras que el T0 (2,90) y T2 (2,73) son iguales, con una media general 2,8 un límite inferior 1,86 y límite superior 3,74, determinando al T3 en la escala 3 como textura semidura moderada.

##### **4.3.4.2. Textura /Dura**

En el atributo textura/dura las medias de los tratamientos presentaron diferencia significativa según la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis ( $p \leq 0,05$ ), el T0 muestra el menor valor 2,27, mientras que el T1 (3,23), T2 (2,97) y T3 (2,93) son iguales, con una media general 2,20 un límite inferior 2,20 y límite superior 3,50, considerando al T0 en la escala de intervalos de 3 (moderado).

### 4.3.5. Aceptabilidad

La aceptabilidad en el queso semiduro tipo Danbo se realizó mediante una prueba de preferencia, siendo el T3 inoculado con el 15% de mucílago de cacao como se aprecia en la Gráfico 8 obtuvo una mayor aceptabilidad (47%) por los panelistas no entrenados, seguido del tratamiento T2 inoculado con el 10% de mucílago de cacao con el 30% de aceptabilidad, el T1 (13%) y T0 (10%) obtuvieron menor aceptabilidad.



*Gráfico 8. Aceptabilidad del queso semiduro inoculado con diferentes porcentajes de mucílago de cacao nacional.*

### 4.4. Análisis microbiológico del queso semiduro inoculado con mucílago de cacao nacional.

En la Tabla 18 se detallan los resultados del conteo microbiológico de bacterias patógenas como coliformes, E.coli, mohos y levaduras en el queso semiduro con los diferentes porcentajes de mucílago de cacao nacional.

**Tabla 18.** Análisis microbiológico del queso semiduro inoculado con mucílago de cacao nacional.

Parámetro (UFC/G)	T0 (QSD0MC)	T1 (QSD5MC)	T2 (QSD10MC)	T3 (QSD15MC)	Cumple
Coliformes	$7,5 \times 10^2$	$5,2 \times 10^2$	$3,9 \times 10^2$	$3,5 \times 10^2$	si
E.coli	<10	<10	<10	<10	si
Mohos y levaduras	$1,8 \times 10^2$	$1,2 \times 10^2$	$1 \times 10^2$	$1 \times 10^2$	si

**Fuente:** Laboratorio AGROLAB 2019.

**Elaborado por:** Indira Macias 2019.

En la tabla 18 del análisis microbiológico de *coliformes totales* se observa que el T0 presentó mayor valor de coliformes en relación con los otros tratamientos en ufc/g, en la normativa nacional de quesos frescos y maduros no existen niveles de exigencias para este parámetro, por esta razón se realizó una comparación con la norma PERUANA NTS 71 MINSA se menciona que el límite mínimo es  $2 \times 10^2$  y el máximo  $10^3$ . Según Tirado *et al.*(2016)(67) en el análisis microbiológico de queso costeño las coliformes totales fueron similares con un máximo de  $1 \times 10^3$ , se determina que todos los tratamientos se encuentran dentro del rango establecido debido a las buenas prácticas de manufactura durante su elaboración, considerando un producto apto para el consumo.

En el análisis microbiológico de la bacteria *Escherichia coli* (Tabla 18), se demostró la poca presencia de la bacteria patógena en todos los tratamientos, en comparación con la Norma INEN 1529-8, se determina que los valores en la investigación se encuentran dentro del rango establecido con valor (<10) y máximo (10) estableciendo un queso de buena calidad, los resultados son similares a la investigación realizada por Mendoza (2017)(54) que presentó ausencia en el queso crema inoculado con bacterias lácticas.

Se realizó el análisis de *mohos y levaduras* en el queso semiduro detallado en la tabla 18, determinando que entre todos los tratamientos el T0 sin adición de mucílago obtuvo mayor valor de mohos y levaduras ( $1,8 \times 10^2$ ). De acuerdo a la norma COLOMBIANA NTC 750 el valor máximo es de 500 ufc/g garantizando el consumo del queso semiduro,

se estableció que los tratamientos evaluados están dentro del rango establecido por la norma, éstos resultados fueron comparados con Martínez *et al.*(2017) (69) que determinó mohos y levaduras a varios quesos artesanales semiduros con valor de  $2.3 \times 10^2$ . La presencia de éstas bacterias patógenas se pueden generar durante el proceso o almacenamiento por microorganismos dispersos en el aire(70).

#### **4.5. Análisis microbiológico de las bacterias ácido lácticas y coliformes en el mucílago de cacao nacional fermentado.**

Se realizó análisis microbiológico de bacterias ácido lácticas homofermentativas y heterofermentativas presentes en el mucílago de cacao una vez fermentado por 48 horas, los datos obtenidos fueron de  $2 \times 10^5$  similares a lo expresado por Verdezoto(2017) (6) que presentó  $2,47 \times 10^5$  ufc/g de BAL en el mismo tiempo de fermentación. Las bacterias patógenas como coliformes presentaron ausencia en el mucílago de cacao debido a la manipulación adecuada y aséptica (Tabla 19).

**Tabla 19.** *Análisis microbiológico de BAL y coliformes en el mucilago de cacao nacional.*

<b>Parámetro (UFC/G)</b>	<b>Mucílago de cacao</b>	<b>Método Referencial aplicado</b>
<b>BAL</b>	$2 \times 10^5$	AOAC 990.12
<b>Coliformes</b>	Ausencia	AOAC 990.12

**Fuente:** Laboratorio AGROLAB 2019.

**Elaborado por:** Indira Macias 2019.

#### **4.6. Viabilidad de bacterias ácido lácticas en el queso semiduro inoculado con mucílago de cacao nacional.**

En la tabla 20 se expresa la viabilidad que tuvo las bacterias ácido lácticas en el queso durante la maduración (15 días) presentando una alta viabilidad de las BAL en los diferentes tratamientos siendo el T3 con el 15% de mucílago de cacao de mayor valor a diferencia de otros tratamientos; en el proceso de almacenamiento a 6°C las BAL se mantuvieron en estado latente, en la Norma INEN 2395:2011 indica que el valor mínimo

de BAL es  $10^6$ , resultados similares presentaron Lovayová *et al* (2015) (71) quienes cuantificaron las BAL en quesos semiduros con valor de  $10^7$  ufc/g y que esta cantidad permanece estable durante el almacenamiento; Gutiérrez *et al.* (2007)(72) , evaluaron la viabilidad en un queso crema obteniendo después de los 15 días un recuento de  $1,1 \times 10^8$ , se determina que los tratamientos inoculados con mucílago de cacao, están dentro del rango, el aumento en el tiempo de quesos inoculados con BAL conlleva a una disminución de pH y aumento de acidez como lo refleja el tratamiento T3; según Ramírez.*et al.*(2011)(5)el desarrollo de las BAL en quesos tiene valores de pH entre 4,5-6 deteniéndose su actividad en rangos inferiores convirtiendo la lactosa en ácido láctico.

**Tabla 20.** Viabilidad de las BAL en el queso semiduro.

	<b>Día 0</b>	<b>Día 8</b>	<b>Día 15</b>	<b>Día 22</b>	<b>Cumple</b>
<b>T0(QSD0MC)</b>	$1 \times 10^7$	$2 \times 10^7$	$3,5 \times 10^7$	$3,5 \times 10^7$	si
<b>T1(QSD5MC)</b>	$2,5 \times 10^7$	$4,2 \times 10^7$	$6,3 \times 10^7$	$6,3 \times 10^7$	si
<b>T2(QSD10MC)</b>	$6 \times 10^7$	$8 \times 10^7$	$9,2 \times 10^7$	$9,3 \times 10^7$	si
<b>T3(QSD15MC)</b>	$7 \times 10^7$	$9 \times 10^7$	$1 \times 10^8$	$1,1 \times 10^8$	si

**Fuente:** Laboratorio AGROLAB 2019.

**Elaborado por:** Indira Macias 2019.

#### 4.7. Análisis económico.

Los resultados emitidos en el análisis económico realizado al queso semiduro (Tabla 21), indican los costos de producción al mejor tratamiento (T3) de 500g con un precio de venta 4,56\$ con utilidad del 20%.(Anexo 16).

**Tabla 21.** *Análisis económico del queso semiduro al mejor tratamiento.*

<b>Detalle</b>	<b>T3</b>
Unidades producidas (500 g)	16
Precio	4,56
<b>Total Ingresos</b>	<b>\$72,96</b>
<b>Egresos</b>	
<b>Costos Variables</b>	
Materia prima directa	\$40
Materia prima indirecta	\$8,7
Mano de obra	\$3,17
Gastos de distribución	\$5,00
Total de costos variables	\$57,87
<b>Costos fijos</b>	
Depreciación de maquinaria y equipos	\$1,49
Servicios básicos	\$4,51
Total de costos fijos	\$6,00
<b>Total Egresos</b>	<b>\$ 62,87</b>
<b>Egresos/ unidades producidas</b>	<b>\$3,93</b>
<b>Utilidad (20%)</b>	<b>0.79</b>
<b>P.V.P</b>	<b>\$4.72</b>

**Elaborado por:** Indira Macias 2019.

**CAPITULO V**  
**CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

## 5.1. Conclusiones

- Los parámetros físicos químicos fueron analizados en el queso semiduro inoculado con diferentes porcentajes de mucílago de cacao nacional presentando diferencias significativas estadísticamente entre tratamientos, el tratamiento que obtuvo mejores valores fue el T3 en pH (5,36), acidez (0,69), grasa (35,87) y proteína (18,39) en relación a otros tratamientos cumpliendo los parámetros establecidos por la norma INEN 068.
- El mejor tratamiento (T3) se estableció mediante una prueba no paramétrica de Kruskall Wallis demostrando que hay diferencias significativas entre los atributos de sabor, color y textura, valorados con una calificación de 3 puntos, dentro de la escala de 4. En el análisis microbiológico presentó  $3.5 \times 10^2$  de coliformes,  $1 \times 10^2$  de mohos y levaduras, E.coli  $<10$ , cumpliendo con la norma INEN 1529.
- La viabilidad de las bacterias ácido lácticas se determinó mediante pruebas microbiológicas presentando un aumento en el transcurso de los 15 días de maduración, siendo el T3 con mayor contenido de BAL ( $1,1 \times 10^8$ ), debido al porcentaje de mucílago de cacao nacional inoculado en el queso semiduro, obteniendo un pH de 5,36 y acidez de 0,60%, convirtiéndose en un medio idóneo para desarrollarse, manteniéndose estables durante la conservación, evitando el aumento de bacterias patógenas.
- Los costos de producción del mejor tratamiento (T3) inoculado con el 15% del mucílago de cacao fue de \$4,72 con una rentabilidad de 20%.

## **5.2. Recomendaciones**

- Utilizar las bacterias ácido lácticas provenientes del mucílago de cacao nacional como inóculos en nuevos productos para la mejora de sus características.
- Retirar la placenta en el cacao y reposar por 3 horas para la obtención de mayor mucílago.

**CAPITULO VI**  
**BIBLIOGRAFÍA**

1. Jacho MLV. "Evaluación de quesos semimaduros con la utilización de fermento casero (kéfir)". 2012;5:13–5.
2. Torres X. Estudio de la producción de la industria láctea del cantón Cayambe en el período 2009-2015. 2018;116.
3. Vasallo M. Diferenciación y agregado de valor en la cadena ecuatoriana del cacao. Primera Ed. Romero M, editor. Instituto de Altos Estudios Nacionales. Quito-Ecuador: IAEN; 2015. 156 p.
4. Chávez J. "Utilización de las bacterias lácticas provenientes del mucílago de cacao (*Theobroma Cacao L.*) nacional para mejorar el sabor y textura del queso mozzarella". Universidad Técnica Estatal de Quevedo; 2019.
5. Ramírez J, Ulloa P, Velásquez M, Ulloa J, Romero F. Bacterias Lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la salud. Rev Fuente. 2011;7:1–16.
6. Verdezoto C. Aislamiento e identificación de bacterias ácido lácticas (BAL) presentes en el mucílago de cacao (*Theobroma cacao.L*) trinitario y nacional. Universidad Técnica Estatal de Quevedo; 2017.
7. Ramírez C, Vélez J. Quesos frescos: propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad. Temas Sel Ing Aliment [Internet]. 2012;2:131–48. Disponible en: <http://web.udlap.mx/tsia/files/2013/12/TSIA-62Ramirez-Lopez-et-al-2012.pdf>
8. Marquez A, Salazar E. Análisis de los niveles de desperdicio del mucílago de cacao y su aprovechamiento como alternativa de biocombustible. Universidad Estatal de Milagro; 2015.
9. Maria Iza Narváez. Desarrollo de un queso semimaduro con hierbas aromáticas para la granja experimental UDLA. Universidad de las Américas; 2017.
10. Arana A, Rugel E. Propuesta de aprovechamiento del desecho mucílago de cacao en la hacienda Santa Rita [Internet]. Universidad de Guayaquil; 2017. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/20609>
11. Agudelo D, Bedoya O. Composición nutricional de la leche de ganado vacuno. Rev Lasallista Investig [Internet]. 2005;2(1):38–42. Disponible en:

- <http://www.redalyc.org/pdf/695/69520107.pdf>
12. FAO. Leche y Productos Lácteos Leche y Productos Lácteos. Segunda. CODEX Alimentarius. Roma; 2011. 267 p.
  13. González Villarreal M. Tecnología para la Elaboración de Queso Blanco , Amarillo y Yogurt. República de Panamá. 2002;1–16.
  14. Peña D. Extracción y aprovechamiento del mucílago de cacao (*Theobroma cacao*) como materia prima en la elaboración de vino. Universidad Tecnológica Equinoccial; 2012.
  15. Lopardo HA. Introducción a la microbiología clínica [Internet]. Plata E de la U de la, editor. Argentina; 2016. 358 p. Disponible en:  
[http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/52389/Documento\\_completo.pdf?sequence=1](http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/52389/Documento_completo.pdf?sequence=1)
  16. Lagarda G. Microbiología industrial. Rev Latinoam Microbiol. 2010;48(2):91.
  17. Manzano M. “ Evaluacion De Tres Tipos De Acidificante ( Acido Cítrico , Jugo De Limón Y Vinagre ) En La Elaboracion de Requeson Excelso”. Escuela superior politécnica de Chimborazo; 2013.
  18. Castillo P, Ortega R. “Determinación de la alteración-adulteración de leche cruda mediante análisis físico- químicos en medios de transporte legalizados, provenientes de la Parroquia Tarqui, Cantón Cuenca.” Tesis. 2014;1–63.
  19. Zavala J. Aspectos Nutricionales Y Aspectos Tecnológicos De La Leche. Minist Agric Dir crianzas Dir Gen promocin Agrar DGPA Lima Per [Internet]. 2005;60. Disponible en:  
[http://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con3\\_uibd.nsf/7AE7E7AB111562710525797D00789424/\\$FILE/Aspectosnutricionalesytecnológicosdelaleche.pdf](http://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con3_uibd.nsf/7AE7E7AB111562710525797D00789424/$FILE/Aspectosnutricionalesytecnológicosdelaleche.pdf)
  20. Castillos J, Chaves J. Implementacion De La Documentacion De Las Buenas Prácticas De Manufactura Y Establecimiento De Los Manuales De Procedimiento De Las Pruebas Fisicoquimicas En La Planta De Enfriamiento. Tesis de grado [Internet]. 2008;75. Disponible en:  
<http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis132.pdf>
  21. García C, Montiel R, Borderas T. Grasa y proteína de la leche de

- vaca:componentes, síntesis y modificación. 2014;63:85–105.
22. Maza M, Legorreta P. El libro blanco de la leche y los productos lácteos. Primera ed. Martínez ME, editor. México , D.F.: Camara Nacional de Industriales de la leche.; 2011. 26 p.
  23. Murieles R. Elaboración de queso de capa a partir de leche ganado vacuno con adición de cultivos lácticos para mejorar su calidad y productividad industrial. Universidad de Cartagena; 2001.
  24. WingChing R, Mora E. Composición de la leche entera cruda de bovinos antes y después del filtrado. Agron Mesoam [Internet]. 2013;24(1):203–7. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43726204019>
  25. INEN. NTE:INEN 009:2012 Leche cruda.Requisitos. Primera ed. Revisión Q, editor. Vol. 0009. Quito-Ecuador; 2012. p. 9.
  26. Bolaños K. Elaboración de queso semi-maduro tipo andino utilizando bacterias probióticas( *Bifidobacterium* spp). Universidad Tecnológica Equinoccial; 2015.
  27. Narváez B. Aislamiento, identificación y caracterización de bacterias ácido lácticas del queso del queso de cabra artesanal del sureste de Coahuila para su uso como cultivos iniciadores en quesos pasteurizados. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro; 2015.
  28. Bustamante M. Efecto de la utilización de culantro, orégano y ají en la elaboración de queso mozzarella [Internet]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2012. Disponible en: <http://dspace.espace.edu.ec/bitstream/123456789/2182/1/27T0188.pdf>
  29. INEN. NTE:INEN 1528 Quesos Frescos no madurados. Requisitos. 2012;1528:11.
  30. Espinosa F. Universidad Nacional De Loja Autor [Internet]. Universidad Nacional de Loja; 2015. Disponible en: [http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/17025/1/TESIS\\_WILSON\\_FERNANDO.pdf](http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/17025/1/TESIS_WILSON_FERNANDO.pdf)
  31. Jácome E, Molina S. Efecto de la leche concentrada por microfiltración por tangencial en la calidad de queso semimaduro para sanduche, utilizando dos

- liquidos de lavado y diferente tipos de grasa. 2008;13.
32. MAGP. Nutrición y Educación alimentaria ficha n°38 quesos: Concentración de nutrientes. 2015;1–5. Disponible en:  
<http://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol19num3/articulos/chia/>
  33. Torres Y, Nuñez M, Rodriguez I, Banguela S, Gómez M. Obtencion de un queso semiduro madurado en el envase sellado al vacío. Cienc y Tecnol Aliment. 2015;25(1):22–5.
  34. Stan C. Norma Del Codex Para El Danbo. 2008;1–5.
  35. INEN. NTE: INEN 68 Queso Danbo. Requisitos. Vol. 003. Quito, Ecuador; 2011.
  36. Turpo R. “Efecto de la acidez y fermentos lácticos termófilos en la elaboración y maduración del queso tipo paria”. Universidad Nacional del Altiplano Puno; 2014.
  37. Medina M, Aragundi E. "Determinacion de los costos de calidad en el proceso productivo del queso”. Escuela Superior Politécnica del Litoral; 2007.
  38. Calderón A. Desarrollo de un queso semiduro con chocho. Universidad Tecnológica Equinoccial; 2014.
  39. Huertas RAP. Bacterias ácido lácticas: Papel funcional en los alimentos. Fac Ciencias Agropecu. 2010;8(1):93–105.
  40. N.Sigcho. Reingeniería de los procesos para la elaboración artesanal de quesos semimaduros, aplicando técnicas de seguridad alimentaria. Universidad de Guayaquil; 2013.
  41. Gauna A. Elaboracion de Quesos de pasta semidura con ojos. Delegación de la comisión Europea, editor. Cuaderno Tecnológico N°3. Buenos Aires- Argentina; 2005.
  42. Saa M. Desarrollo de un Queso embutido semimaduro tipo Danbo. Universidad Tecnológica Equinoccial; 2012.
  43. Llangari P. Tecnologia Para La Elaboracion De Productos Lacteos [Internet]. Estación experimental “Santa Catalina”; 1991. Disponible en:

- <http://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/814/1/iniapscm14t.pdf>
44. Torres A, Gudiño H. “Evaluación del tiempo de prensado y tiempo de maduración en queso semimaduro tipo Cheddar” [Internet]. Universidad Técnica del Norte; 2008. Disponible en: <http://www.uninorte.edu.co/web/sobre-nosotros/nuestra-historia>
  45. Serrano P. "Elaboración de Queso Mozzarella basado en tres tipos de Fermentación: Enzimática, ácida y ácida-enzimática. Universidad de Cuenca; 2017.
  46. Morales J. “Propuesta de diseño de proceso industrial para la elaboración de té de cascarilla de cacao en la provincia de Santa Elena”. Tesis. Universidad Estatal península de Santa Elena; 2017.
  47. FAO. Estudio de caso: denominación de origen “cacao arriba”. IICA y FAO [Internet]. 2007;70. Disponible en: [http://www.fao.org/fileadmin/templates/olq/documents/Santiago/Documentos/Estudios de caso/Cacao\\_Ecuador.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/templates/olq/documents/Santiago/Documentos/Estudios de caso/Cacao_Ecuador.pdf)
  48. Arteaga Y. Estudio del desperdicio del mucílago de cacao en el cantón Naranjal (Provincia del Guayas). 2013;4:49–59.
  49. Alvarez C, Pérez E, Lares M. Morfología de los frutos y características físico-químicas del mucílago de cacao de tres zonas del Estado Aragua. *Agronomía Tropical* [Internet]. 2002 [citado el 24 de julio de 2019];52(4):497–506. Disponible en: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0002-192X2002000400006&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002-192X2002000400006&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
  50. Ortiz K, Alvarez Rr. Efecto del vertimiento de subproductos del beneficio de cacao ( *Theobroma cacao* L .) sobre algunas propiedades químicas y biológicas en los suelos de una finca, municipio de Yaguará (Huila, Colombia). *Bol Cient.* 2015;19(1):65–84.
  51. Salazar G. Aislamiento y caracterización de microorganismos durante el proceso de fermentación de *Theobroma Cacao* L. de la variedad “Chuncho” obtenida en Cuzco, Perú [Internet]. Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2017. Disponible en: [http://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/upch/1436/Aislamiento\\_SalazarA](http://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/upch/1436/Aislamiento_SalazarA)

lvarez\_Lilian.pdf?sequence=1&isAllowed=y

52. Vásquez, S.; Suárez, H. y Zapata S. Utilización De Sustancias Antimicrobianas Producidas Por Bacterias Acido Lácticas En La Conservación De La Carne. Rev Chil Nutr [Internet]. 2009;36(1):64–71. Disponible en:  
<http://www.scielo.cl/pdf/rchnut/v36n1/art07.pdf>
53. Alvarado Rivas C, Chacón Rueda Z, Otoniel Rojas J, Guerrero Cárdenas B, López Corcuera G. Aislamiento, Identificación y Caracterización de Bacterias Ácido Lácticas de un Queso Venezolano Ahumado Andino Artesanal. Su Uso Como Cultivo Iniciador. Rev Científica [Internet]. 2007 [citado el 24 de julio de 2019];17(3):301–8. Disponible en:  
[http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-22592007000300014&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-22592007000300014&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
54. Mendoza T. “Elaboración de queso crema con bacterias lácticas provenientes del mucílago de cacao(Theobroma cacao L.) fino de aroma”. Universidad Técnica Estatal de Quevedo; 2017.
55. Cazau P. Introducción a la investigación en Ciencias Sociales. Tercera Ed. Buenos Aires- Argentina; 2006. 1\_-197.
56. Maritza Castillo; Dolores Tandaza; Lady Piedra; Eliza Pineda. 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. CETTIA [Internet]. 1385;8. Disponible en:  
[http://www.ghbook.ir/index.php?name=هدی ر سانه و ف ر هنگ&option=com\\_dbook&task=readonline&book\\_id=13650&page=73&chkhashk=ED9C9491B4&Itemid=218&lang=fa&tmpl=component](http://www.ghbook.ir/index.php?name=هدی ر سانه و ف ر هنگ&option=com_dbook&task=readonline&book_id=13650&page=73&chkhashk=ED9C9491B4&Itemid=218&lang=fa&tmpl=component)
57. Pianta C, López Díaz T, García Fernández M. Composición físico-química del queso colonial ( Brasil). An Vet Murcia. 2014;20(0):113–22.
58. Arteaga Marquez M. Evolución de la maduración del queso Chanco elaborado con adición de suero en polvo. Tesis Magister en Cienc y Tecnol la leche Univ Austral Chile. 2014;1–236.
59. Meneses MHM, Arango FD, Barrera LEP, Agatòn LL, Vélez APC, Gonzáles ALJ. Developing ripened cheese production in three municipalities in the Caldas

- department of Colombia. *Ing e Investig.* 2009;29(3):42–7.
60. Antezana CI. Efecto de la hidrólisis enzimática de la lactosa en el perfil de textura de queso fresco normal y bajo en grasa [Internet]. Universidad Nacional Agraria La Molina; 2015. Disponible en: [http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/1789/Q04\\_A558\\_TBAN\\_UNALM.pdf?sequence=1](http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/1789/Q04_A558_TBAN_UNALM.pdf?sequence=1)
  61. Verastegui F, Marcela MI, Vázquez M, Gabriela D, Ortega R, Sarahí C, et al. Selección de bacterias ácido lácticas del queso artesanal de leche de cabra de Coahuila para su uso como cultivo iniciadores. *Investig y Cienc la Univ Autónoma Aguascalientes.* 2017;72:45–52.
  62. Ltda J, Helvecia N. Evolución de la proteólisis durante la maduración de quesos Danbo elaborados con distintos cultivos iniciadores. *Innotec.* 2011;0(6):24–7.
  63. SERNAC. Determinacion de la composicion nutricional en quesos Gouda, Mantecoso y Chanco y su contenido de Sodio. *Dep Calid y Segur Prod* [Internet]. 2015;28. Disponible en: [www.odepa.gob.cl](http://www.odepa.gob.cl)
  64. Villa D. "Utilización de la Lisozima como conservante natural en la elaboración de quesos semi-maduros en la planta de lácteos Molestina". Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2010.
  65. Dalla C. Rendimiento quesero teórico y real de la leche de la cuenca de villa María, Córdoba. 2015;21–30. Disponible en: [http://pa.bibdigital.uccor.edu.ar/665/1/Tesis\\_RQ\\_Final\\_CDC\\_15\\_IMPRIMIR.pdf#page=38&zoom=100,0,277](http://pa.bibdigital.uccor.edu.ar/665/1/Tesis_RQ_Final_CDC_15_IMPRIMIR.pdf#page=38&zoom=100,0,277)
  66. Portilla Martínez M, Caballero Pérez L. Influencia de la materia grasa y acidez de la leche sobre las características físico-químicas del queso pera tipo Chitagá. *Bistua Rev la Fac Ciencias Básicas.* 2009;7(2):8–16.
  67. Tirado D, Acevedo D, Montero P. Estudio de la transferencia de NaCl durante el salado del queso costeño picado. *Entre Cienc e Ing.* 2016;10(20):52–6.
  68. Tobón JFO, 1, Velásquez ; Héctor José Ciro, 2, Restrepo y LGM. Caracterización textural y fisicoquímica del queso Edam. *SciELO* [Internet]. 2014;11. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v57n1/a09v57n1.pdf>

69. Alejo-Martínez K, Ortiz-Hernández M, Recino-Metelin BR, González-Cortés N, Jiménez-Vera R. Tiempo de maduración y perfil microbiológico del queso de poro artesanal. *Rev Iberoam Ciencias*. 2015;2(5):15–24.
70. Martínez P. Impacto de tres alternativas de corte y moldeo del queso amasado. *Journal of Chemical Information and Modeling*. UDLA; 2018.
71. Lovayová V, Dudriková E, Rimárová K, Siegfried L. Quantity of selected probiotic cultures in semi-hard cheese with low-cooking curd during the maturation process. *J Food Sci Technol*. 2015;52(8):4697–702.
72. Adriana Gutiérrez Ramírez L, Johana Gómez Ospina A, Marcela Arias Jaramillo L, Tangarife Patiño B. Artículo original Evaluation of the feasibility of a probiotic vine native of lactobacillus casei in creamcheese Avaliação da viabilidade de uma cepa pro-biótica nativa de Lactobacillus casei em requeijão. 2007;4(2):37–42.

## **CAPITULO VII**

### **ANEXOS**

## Anexo 1. Norma INEN 176:2006 Requisitos del mucílago de cacao.

NTE INEN 176

2006-10

**3.8 Grano de buena fermentación.** Grano fermentado cuyos cotiledones presentan en su totalidad una coloración marrón o marrón rojiza y estrías de fermentación profunda. Para el tipo CCN51 la coloración variará de marrón a marrón violeta.

**3.9 Grano infestado.** Grano que contiene insectos vivos en cualquiera de sus estados biológicos.

**3.10 Grano seco.** Grano cuyo contenido de humedad no es mayor de 7,0% (cero relativo).

**3.11 Impureza.** Es cualquier material distinto a la almendra de cacao (maguey, vena y corteza de la mazorca de cacao).

**3.12 Cacao en baba.** Almendras de la mazorca del cacao recubiertas por una capa de pulpa mucilaginosa.

**3.13 Fermentación del cacao.** Proceso a que se somete el cacao en baba, que consiste en causar la muerte del embrión, eliminar la pulpa que rodea a los granos y lograr el proceso bioquímico que le confiere el aroma, sabor y color característicos.

### 4. CLASIFICACION

**4.1** Los cacaos del Ecuador por la calidad se clasifican, de acuerdo a lo establecido en la tabla 1, en ARRIBA y CCN51.

### 5. REQUISITOS

#### 5.1 Requisitos específicos.

**5.1.1** El cacao beneficiado debe cumplir con los requisitos que a continuación se describen y los que se establecen en la tabla 1.

**5.1.2** El porcentaje máximo de humedad del cacao beneficiado será de 7,0% (cero relativo), el que será determinado o ensayado de acuerdo a lo establecido en la NTE INEN 173.

**5.1.3** El cacao beneficiado no debe estar infestado.

**5.1.4** Dentro del porcentaje de defectuosos el cacao beneficiado no debe exceder del 1% de granos partidos.

**5.1.5** El cacao beneficiado debe estar libre de: olores a moho, humo, ácido butírico (podrido), agroquímicos, o cualquier otro que pueda considerarse objetable.

**5.1.6** El cacao beneficiado, hasta tanto se elaboren las regulaciones ecuatorianas correspondientes debe sujetarse a las normas establecidas por la FAO/OMS, en cuanto tiene que ver con los límites recomendados de aflatoxinas, plaguicidas y metales pesados.

**5.1.7** El cacao beneficiado debe estar libre de impurezas y materias extrañas.

(Continúa)

## Anexo 2. Norma INEN 009:2012 Leche cruda .Requisitos.

NTE INEN 9

2012-01

4.5 Los límites máximos de residuos de medicamentos veterinarios para la leche serán los que determine el Codex Alimentario CAC/MRL 2.

### 5. REQUISITOS

#### 5.1 Requisitos específicos

##### 5.1.1 Requisitos organolépticos (ver nota 1)

5.1.1.1 *Color.* Debe ser blanco opalescente o ligeramente amarillento.

5.1.1.2 *Olor.* Debe ser suave, lácteo característico, libre de olores extraños.

5.1.1.3 *Aspecto.* Debe ser homogéneo, libre de materias extrañas.

##### 5.1.2 Requisitos físicos y químicos

5.1.2.1 La leche cruda, debe cumplir con los requisitos físico-químicos que se indican en la tabla 1.

**TABLA 1. Requisitos fisicoquímicos de la leche cruda.**

REQUISITOS	UNIDAD	MIN.	MAX.	MÉTODO DE ENSAYO
Densidad relativa: a 15 °C A 20 °C	-	1,029 1,028	1,033 1,032	NTE INEN 11
Materia grasa	% (fracción de masa) <sup>1</sup>	3,0	-	NTE INEN 12
Acidez titulable como ácido láctico	% (fracción de masa)	0,13	0,17	NTE INEN 13
Sólidos totales	% (fracción de masa)	11,2	-	NTE INEN 14
Sólidos no grasos	% (fracción de masa)	8,2	-	*
Cenizas	% (fracción de masa)	0,65	-	NTE INEN 14
Punto de congelación (punto crioscópico) **	°C °H	-0,536 -0,555	-0,512 -0,530	NTE INEN 15
Proteínas	% (fracción de masa)	2,9	-	NTE INEN 16
Ensayo de reductasa (azul de metileno)***	h	3	-	NTE INEN 018
Reacción de estabilidad proteica (prueba de alcohol)	Para leche destinada a pasteurización: No se coagulará por la adición de un volumen igual de alcohol neutro de 68 % en peso o 75 % en volumen; y para la leche destinada a ultrapasteurización: No se coagulará por la adición de un volumen igual de alcohol neutro de 71 % en peso o 78 % en volumen			NTE INEN 1500
Presencia de conservantes <sup>1)</sup>	-	Negativo		NTE INEN 1500
Presencia de neutralizantes <sup>2)</sup>	-	Negativo		NTE INEN 1500
Presencia de adulterantes <sup>3)</sup>	-	Negativo		NTE INEN 1500
Grasas vegetales	-	Negativo		NTE INEN 1500
Suero de Leche	-	Negativo		NTE INEN 2401
Prueba de Brucelosis	-	Negativo		Prueba de anillo PAL (Ring Test)
RESIDUOS DE MEDICAMENTOS VETERINARIOS <sup>5)</sup>	ug/l	---	MRL, establecidos en el CODEX Alimentarius CAC/MRL 2	Los establecidos en el compendio de métodos de análisis identificados como idóneos para respaldar los LMR del codex <sup>6)</sup>

\* Diferencia entre el contenido de sólidos totales y el contenido de grasa.

\*\* °C= °H · f, donde f= 0,9656

\*\*\* Aplicable a la leche cruda antes de ser sometida a enfriamiento

1) Conservantes: formaldehído, peróxido de hidrógeno, cloro, hipocloritos, cloraminas, lactoperoxidasa adicionada y dióxido de cloro.

2) Neutralizantes: orina, carbonatos, hidróxido de sodio, jabones.

3) Adulterantes: Harina y almidones, soluciones azucaradas o soluciones salinas, colorantes, leche en polvo, suero de leche, grasas vegetales.

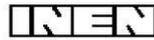
4) \*Fracción de masa de B, W<sub>L</sub>. Esta cantidad se expresa frecuentemente en por ciento, %. La notación "% (m/m)" no deberá usarse.

5) Se refiere a aquellos medicamentos veterinarios aprobados para uso en ganado de producción lechera.

6) Establecidos por el comité del Codex sobre residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos

NOTA 1. Se podrán presentar variaciones en estas características, en función de la raza, estación climática o alimentación, pero estas no deben afectar significativamente las características sensoriales indicadas.

**Anexo 3. Norma INEN 068:2010 Requisitos del queso Danbo.**



CDU: 637

AL 03.01-405

<b>Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria</b>	<b>QUESO DANBO. REQUISITOS.</b>	<b>NTE INEN 68:1973 1973-10</b>
--	-------------------------------------	---

**1. OBJETO**

1.1 Esta norma tiene por objeto establecer los requisitos que debe cumplir el queso Danbo.

**2. REQUISITOS DEL PRODUCTO**

**2.1 Requisitos generales**

2.1.1 *Forma.* El queso Danbo deberá presentarse en forma de bloques de base cuadrada con caras planas y podrá tener diversas dimensiones.

2.1.2 *Corteza.* La corteza del queso Danbo deberá presentar consistencia dura y aspecto seco, y podrá estar recubierta de cera o envuelta en plástico. Su color deberá ser amarillento.

2.1.3 *Pasta.* La pasta del queso Danbo deberá presentar textura firme y ser fácil de cortar; deberá presentar pocos o abundantes agujeros distribuidos regularmente, de forma redonda, aspecto liso y con tamaño aproximado de 5 mm a 8 mm de diámetro. Su color deberá ser uniforme y amarillento.

**2.2 Requisitos de fabricación**

2.2.1 *Materia prima.* El queso Danbo deberá fabricarse con leche fresca o con leche pasteurizada.

2.2.2 *Proceso.* El queso Danbo deberá elaborarse en condiciones sanitarias adecuadas, y su proceso de fabricación deberá ajustarse a las características esenciales de fabricación indicadas en el anexo A.

2.2.3 *Aditivos.* Además de los aditivos permitidos en la norma INEN 66 para los quesos madurados, al queso Danbo podrá añadirse achiote, caroteno y/o granos de comino.

**2.3 Especificaciones**

2.3.1 El queso Danbo, ensayado de acuerdo con las normas ecuatorianas correspondientes, deberá cumplir con los requisitos establecidos en la tabla 1.

**TABLA 1. Requisitos del queso Danbo**

REQUISITO	Mín. (%)	Máx. (%)	METODO DE ENSAYO
Humedad	-	46	INEN 63
Grasa en el extracto seco	45	-	INEN 64

(Continúa)

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN - Casilla 17-01-3999 - Baquerizo Moreno E8-29 y Almagro - Quito-Ecuador - Prohibida la reproducción

#### **Anexo 4. Técnica de análisis para la determinación de la acidez titulable.**

##### **Instrumental**

- Balanza
- Probeta de 100 ml
- Matraz Erlenmeyer de 250 ml
- Bureta graduada de 25 ml
- Soporte universal y accesorios
- Varilla de vidrio

##### **Reactivos**

- NaOH 0.1N
- Fenolftaleína
- Agua destilada

##### **Procedimiento:**

1. Pesar 20g de muestra y mezclar con 100 ml de agua destilada.
2. Agregar 5 gotas de fenolftaleína y titular con la solución de NaOH a 0.1N.
3. Agitar la mezcla hasta que se torne un color rosa morado y registrar el volumen consumido en la solución.

##### **Cálculos:**

El porcentaje de acidez va en función del ácido predominante (ácido láctico) se determina mediante la siguiente ecuación:

$$Acidez (\%) = \frac{a * N * meq}{b} x 100$$

**Donde:**

**a:** Volumen consumido de solución de NaOH 0.1 N expresado en ml.

**N:** Normalidad de la solución de NaOH.

**meq:** Masa molar expresada en g/mol, para el ácido láctico (meq=0.090 g/mol)

**b:** Masa en gramos de la muestra.

**Fuente:** UTEQ-FCP- Laboratorio de Bromatología

**Anexo 5. Técnica para la determinación del porcentaje de Humedad****Instrumental**

- Balanza analítica, sensible al 0.1 mg.
- Estufa, con regulador de temperatura
- Desecador con silicagel u otro deshidratante
- Crisoles de porcelana
- Espátula
- Pinza

**Preparación de la muestra.**

- Cortar el queso semiduro en trozos de forma rectangular; para el ensayo deben estar acondicionadas en recipientes herméticos, limpios y secos (vidrio, plástico u otro material inoxidable), para evitar que se formen espacios de aire se debe llenar completamente.
- La cantidad extraída no debe exponerse al aire por mucho tiempo.
- Se homogeniza la muestra invirtiendo al recipiente que la contiene varias veces.

**Procedimiento:**

1. Realizar el análisis por duplicado.
2. Calentar el crisol de porcelana durante 30 min en la estufa, donde se colocará la muestra, posteriormente dejar enfriar a temperatura ambiente y pesar.
3. Homogenizar la muestra y pesar 1g con aproximación al 0.1mg en la balanza analítica.
4. Llevar a la estufa a 130°C por 2 horas o 105°C por 12 horas.
5. Retirar la muestra de la estufa y dejar enfriar en el desecador por 30 minutos, transcurrido este tiempo se procede a pesar.

**Cálculos:**

$$\text{Humedad total (\%)} = \frac{W_2 - W_1}{W_0} \times 100$$

**Donde:**

**W<sub>0</sub>**= Peso de la muestra (g).

**W<sub>1</sub>**= Peso del crisol más la muestra seca.

**W<sub>2</sub>**= Peso del crisol vacío más la muestra húmeda.

La diferencia entre el 100% y el valor obtenido en el análisis de humedad, permite conocer el contenido de materia seca o sólidos totales en el queso semiduro, mediante la siguiente ecuación:

$$\%MS = 100 - \text{Humedad total \%}$$

**Fuente:** UTEQ-FCP- Laboratorio de Bromatología.

## **Anexo 6. Técnica para la determinación del porcentaje de grasa.**

### **Instrumental**

- Vasos Beacker para grasa
- Aparato Golfish
- Dedales de extracción
- Porta dedales
- Vasos para recuperación del solvente
- Balanza analítica
- Estufa (105°C)
- Desecador
- Espátula
- Pinza universal
- Algodón liofilizado e hidrolizado

### **Reactivo**

- Éter de petróleo

### **Preparación de la muestra**

- Las muestras para el ensayo deben estar acondicionadas e recipientes herméticos, limpios secos (vidrio, plástico u otro material inoxidable), completamente llenos para evitar que se formen espacios de aire.
- La cantidad de la muestra extraída no debe exponerse por mucho tiempo.
- Se homogeniza la muestra invirtiendo varias veces el recipiente que lo contiene.

### **Procedimiento:**

1. La determinación debe realizarse por duplicado sobre la misma muestra

2. Secar los vasos beakers en la estufa a  $100 \pm$  °C, por el tiempo de una hora.
3. Transferir al desecador y pesar con aproximación al 0.1mg, cuando haya alcanzado la temperatura ambiente.
4. Pesar aproximadamente 1g de muestra sobre un papel filtro y colocarlos en el interior del dedal, taponar con suficiente algodón hidrófilo, luego introducirlo en el porta dedal.
5. Colocar el dedal y su contenido en el vaso beaker, llevar a los ganchos metálicos del aparato de golfish.
6. Colocar el dedal y su contenido en el vaso beaker, llevar a los ganchos metálicos del aparato de golfish.
7. Adicionar en el vaso beaker 40ml de solvente, al mismo tiempo abrir el reflujo de agua.
8. Colocar el anillo en el vaso y llenar la hornilla del aparato golfish, ajustar el tubo refrigerante el extractor. Levantar las hornillas y graduar la temperatura a 5.5 (55°C).
9. Cuando existe sobre presión abrir las válvulas de seguridad 2 o 3 veces.
10. El tiempo óptimo para la extracción de grasa es de 4 horas, mientras tanto se observa que el éter no se evapore caso contrario se colocará más solvente.
11. Terminada la extracción, bajar con cuidado los calentores, retirar momentáneamente el vaso con el anillo, sacar la porta dedal con el dedal y colocar el vaso para recuperar el solvente.
12. Levantar los calentadores, dejar hervir hasta que el solvente está casi todo en el vaso de recuperación, no quemar la muestra.

13. Bajar los calentadores, retirar los Becker, con el residuo de la grasa, el solvente transferir al frasco original.
14. El vaso con la grasa llevar a la estufa a 105°C hasta completar la evaporación del solvente por 30 minutos.
15. Colocar los vasos Becker que contiene la grasa, durante 30 min, en la estufa calentada a 100± 5 °C, enfriar hasta temperatura ambiente en desecador, pesar y registrar.

**Cálculo:**

$$W_2 G = \frac{W_2 - W_1}{W_0} * 100$$

**Dónde:**

**G:** Porcentaje de grasa.

**W<sub>0</sub>**= Peso de la muestra.

**W<sub>1</sub>**= Peso del vaso Becker vacío.

**W<sub>2</sub>**= Peso del vaso más la grasa.

**Fuente:** UTEQ- FCP Laboratorio de Bromatología.

**Anexo 7. Técnica de análisis para la determinación de proteína bruta.**

Esta norma establece el método para determinar el contenido de proteína bruta por el método de Kjeldahl (Método directo), en diferentes tipos de muestras de origen agropecuario y productos terminados.

**Instrumental.**

- Balanza analítica, sensible al 0.1mg.
- Unidad digestora J.P SELECTA, s.a (Block 40 plazas-Digest)
- Sorbona o colector/extractor de humos (unidad scrubber y bomba de vacío de

circulación de agua).

- Unidad de Destilación FISHER DESTILLING Unit DU 100
- Plancha de calentamiento con agitador magnético
- Micro-tubos de destilación de 100 ml
- Matraz Erlenmeyer de 250 ml
- Gotero
- Bureta graduada y accesorios
- Espátula
- Gradilla

### **Reactivos**

- Ácido sulfúrico concentrado 96% (d=1,84)
- Solución de hidróxido de sodio al 40%
- Solución de ácido bórico al 2%
- Solución de ácido clorhídrico 0.1N (HCL), debidamente estandarizada
- Tabletas catalizadoras
- Indicador Kjeldahl
- Agua destilada

### **Preparación de la muestra.**

- Moler aproximadamente 100g de muestra, en un micro molino que contenga un tamiz de abertura de 1mm y que a través pase un 95% del producto.
- Transferir rápidamente la muestra molida y homogenizada a un recipiente herméticamente cerrado, hasta el momento de análisis.
- Se homogeniza la muestra interviniendo varias veces el recipiente que lo contiene.

## **Procedimiento.**

### A. Digestión:

1. Pesar aproximadamente 0.3g de muestra preparada sobre un papel exento de Nitrógeno y colocarle en el micro-tubo digestor.
2. Añadir al micro-tubo una tableta catalizadora y 5 ml de ácido sulfúrico concentrado.
3. Colocar los tubos de digestión con las muestras en el block-digest con el colector de humos funcionando.
4. Realizar la digestión a una temperatura de 350 a 400°C en un tiempo que puede variar de 1 a 2 horas.
5. Al finalizar, el líquido obtenido es de un color verde o azul transparente dependiendo del catalizador utilizado.
6. Dejar enfriar la muestra a temperatura ambiente.
7. Evitar la precipitación agitando de vez en cuando.

### B. Destilación:

1. En cada micro-tubo y adicionar 15 ml de agua destilada.
2. Colocar el micro-tubo y el matraz de recepción con 50 ml de ácido bórico al 2% en el sistema de destilación kjeltec.
3. Encender el sistema y adicionar 30ml de hidróxido de sodio al 40% cuidando que exista un flujo normal de agua.
4. Recoger aproximadamente 200ml de destilado, retirar el sistema los accesorios y apagar.

C. Titulación:

1. Del destilado recogido en el matraz colocar 3 gotas de indicador.
2. Titular con Ácido Clorhídrico 0.1N utilizando un agitador mecánico.
3. Registrar el volumen de ácido consumido.

**Cálculos:**

$$\%PB = \frac{(VHCL - Vb) * 1,401 * NHCL * F}{g \text{ muestra}}$$

**Dónde:**

**1,401**= Peso atómico del nitrógeno

**NHCL**= Normalidad de Ácido Clorhídrico 0,1N

**F**= Factor de conversión (6.25)

**VHCL**= Volumen de Ácido Clorhídrico consumido en la titulación

**Vb**= Volumen del Blanco (0.3)

**Fuente:** UTEQ-FCP Laboratorio de Bromatología.

Anexo 8. Norma INEN 1529-8 Determinación de E.coli.

CDU: 663.1



AL 01.05-306

<p><b>Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria</b></p>	<p><b>CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS. DETERMINACIÓN DE COLIFORMES FECALES Y <u>E. coli</u></b></p>	<p><b>INEN 1 529-8</b> 1990-02</p>
<p style="text-align: center;"><b>1. OBJETO</b></p> <p><b>1.1</b> Esta norma establece la técnica del número más probable para la determinación de coliformes fecales y las pruebas confirmatorias de <u>Escherichia coli</u> e identificación de las especies del grupo coliforme fecal.</p> <p style="text-align: center;"><b>2. TERMINOLOGIA</b></p> <p><b>2.1 Coliformes fecales.</b> Es un grupo de coliformes que en presencia de sales biliares u otros agentes selectivos equivalentes fermenta la lactosa con producción de ácido y gas a temperatura entre 44 y 45,5°C. Este grupo contiene una alta proporción de <u>E. coli</u>, tipo I y II y que en general puede considerarse como equivalente a <u>E. coli</u>, siendo por ello útiles como indicadores de contaminación fecal en los alimentos.</p> <p><b>2.2 E. coli.</b> Es una especie bacteriana que a más de presentar las características del grupo coliforme fecal, produce indol a partir del triptófano; es positivo a la prueba del rojo de metilo y negativo a la de Voges Proskauer; no utiliza el citrato como única fuente de carbono. Las cepas indol positivas se llaman <u>E. coli</u> Tipo I y se supone que su hábitat natural primario es el intestino.</p> <p><b>2.3 Recuento de coliformes fecales.</b> Es la determinación del número de coliformes fecales por gramo ó cm<sup>3</sup> de muestra de alimento.</p> <p><b>2.4 Diferenciación de las especies del grupo coliforme fecal.</b> Es el proceso realizado para confirmar la presencia de <u>E. coli</u> y diferenciar las especies y variedades del grupo coliforme fecal mediante el conjunto de pruebas bioquímicas conocidas como "IMVEC".</p> <p><b>2.5 IMVEC.</b> Es una designación mnemónica de un grupo de cinco pruebas bioquímicas que consiste en:</p> <p>I = Verificación de la producción de indol a partir del triptófano  M = Reacción del RM (rojo de metilo) para comprobar el descenso del pH del caldo glucosa tamponado  V = Reacción de VP (Voges-Proskauer); para comprobar la producción de acetoina a partir de glucosa.  E = Prueba de Eijkman, para comprobar la termotolerancia o crecimiento a 44 - 45,5 ± 0,2°C.  C = Utilización del citrato como fuente de carbono.</p> <p style="text-align: center;"><b>3. RESUMEN</b></p> <p><b>3.1</b> Este método se basa en la prueba de Eijkman modificada para detectar la fermentación de la lactosa con producción de gas a 44 - 45,5 ± 0,2°C y complementada con la prueba de indol a esta temperatura, estos ensayos se realizan en caldo brillante-bilis lactosa y en caldo triptona partiendo de un inóculo tomado de cada tubo gas positivo del cultivo para coliformes totales, (ver INEN 1 529-6) e incubados a 45,5 ± 0,2°C. La confirmación de <u>E. coli</u> y la diferenciación de las especies y variedades del grupo coliforme fecal, se realizan mediante los ensayos para indol, rojo de metilo, Voges-Proskauer y citrato sódico.</p> <p style="text-align: right;">(Continúa)</p>		

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN – Casilla 17-01-3999 – Baquerizo Moreno EB-29 y Almagro – Quito-Ecuador – Prohibida la reproducción

Anexo 9. Norma INEN 1529-10 Determinación de mohos y levaduras.

CDU: 614.31:579.67:582.28  
ICS: 07.100.30



CIRU: 9320  
AL 01.05-308

Norma Técnica Ecuatoriana Opcional	<b>CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS. MOHOS Y LEVADURAS VIABLES. RECUENTO EN PLACA POR SIEMBRA EN PROFUNDIDAD</b>	<b>NTE INEN 1 529-10:98</b> 1998-01
<p style="text-align: center;"><b>1. OBJETO</b></p> <p><b>1.1</b> Esta norma describe el método para cuantificar el número de unidades propagadoras de mohos y levaduras en un gramo ó centímetro cúbico de muestra.</p> <p style="text-align: center;"><b>2. ALCANCE</b></p> <p><b>2.1</b> Esta norma especifica el método de recuento, en placa, por siembra en profundidad, para el recuento de mohos y levaduras.</p> <p style="text-align: center;"><b>3. DEFINICIONES</b></p> <p><b>3.1 Mohos.</b> Son ciertos hongos multicelulares, filamentosos, cuyo crecimiento en los alimentos se conoce fácilmente por su aspecto aterciopelado o algodonoso. Están constituidos por filamentos ramificados y entrecruzados, llamados "hifas", cuyo conjunto forma el llamado "micelio" que puede ser coloreado o no. Los mohos pueden formar, sobre ciertos alimentos, toxinas, llamadas micotoxinas. Provocan la alteración de productos alimenticios, especialmente los ácidos: yogur, jugos, frutas, etc., o los de presión osmótica elevada: productos deshidratados, jarabes, algunos productos salados, etc.</p> <p><b>3.2 Levaduras.</b> Son hongos cuya forma de crecimiento habitual y predominante es unicelular. Poseen una morfología muy variable: esférica, ovóidea, piriforme, cilíndrica, triangular o, incluso, alargada, en forma de micelio verdadero o falso. Su tamaño supera al de las bacterias. Al igual que los mohos, causan alteraciones de los productos alimenticios, especialmente los ácidos y presión osmótica elevada.</p> <p><b>3.3 Recuento de mohos y levaduras viables.</b> Es la determinación del número de colonias típicas de levaduras y mohos que se desarrollan a partir de un gramo o centímetro cúbico de muestra, en un medio adecuado e incubado entre 22°C y 25°C.</p> <p style="text-align: center;"><b>4. RESUMEN</b></p> <p><b>4.1</b> Este método se basa en el cultivo entre 22°C y 25°C de las unidades propagadoras de mohos y levaduras, utilizando la técnica de recuento en placa por siembra en profundidad y un medio que contenga extracto de levadura, glucosa y sales minerales.</p> <p style="text-align: center;"><b>5. MATERIAL Y MEDIOS DE CULTIVO</b></p> <p><b>5.1 Materiales.</b> La vidriería debe resistir esterilizaciones repetidas y todo el material debe estar perfectamente limpio y estéril.</p> <p style="text-align: right;"><i>(Continúa)</i></p> <p>DESCRIPTORES: Productos alimenticios. Análisis microbiológico, conteo, mohos y levaduras</p>		

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN - Casilla 17-01-3999 - Baquerizo Moreno E9-29 y Almagro - Quito-Ecuador - Prohibida la reproducción

**Anexo 10. Formato de la evaluación sensorial y preferencia del queso inoculado con mucílago de cacao nacional.**

Nombre: \_\_\_\_\_

Edad: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

Frente a usted se presentan cuatro muestras de queso semiduro. Las cuales debe observar y probar cada una de ellas, para luego indicar el grado de intensidad en que percibe cada atributo de cada muestra, de acuerdo a la escala y categoría, marcando con una X.

**Escala:**

1 = Nada 2 = Ligero 3 = Moderado 4 = Mucho

**ESCRIBA EL NÚMERO CORRESPONDIENTE EN LA LÍNEA DEL CÓDIGO DE LA MUESTRA, PARA CADA MUESTRA INDIQUE EL NÚMERO CORRESPONDIENTE DE ACUERDO A LA ESCALA.**

CÓDIGO:					
Atributos		1	2	3	4
Sabor	Ácido				
	Salado				
Olor	Queso				
	Mucílago de cacao				
Color	Crema				
	Amarillo				
Textura	Semidura				
	Dura				

CÓDIGO:					
Atributos		1	2	3	4
Sabor	Ácido				
	Salado				
Olor	Queso				
	Mucílago de cacao				
Color	Crema				
	Amarillo				
Textura	Semidura				
	Dura				

CÓDIGO:					
Atributos		1	2	3	4
Sabor	Ácido				
	Salado				
Olor	Queso				
	Mucílago de cacao				
Color	Crema				
	Amarillo				
Textura	Semidura				
	Dura				

CÓDIGO:					
Atributos		1	2	3	4
Sabor	Ácido				
	Salado				
Olor	Queso				
	Mucílago de cacao				
Color	Crema				
	Amarillo				
Textura	Semidura				
	Dura				

**DE LAS CUATRO MUESTRAS QUE TIENE ANTE USTED, DIGA CUÁL DE ELLAS PREFIERE.**

Prefiero la muestra: \_\_\_\_\_

**Anexo 11. Análisis físicoquímicos realizados en el queso semiduro en el Laboratorio de Química de la UTE 2019.**



**SEDE SANTO DOMINGO**

**REPORTE DE ANÁLISIS BROMATOLOGICO**

SOLICITANTE: SRTA. INDIRA MACIAS SALAZAR  
 TIPO DE MUESTRA: QUESO SEMI MADURO (TESTIGO)  
 DIRECCION: CANTÓN QUEVEDO  
 IDENTIFICACIÓN: 3211  
 FECHA DE INGRESO: 23/09/2019  
 FECHA DE ENTREGA: 28 / 9/2019

**RESULTADOS:**

N° DE MUESTRA	IDENTIFIC.	HUMEDAD	MATE. SECA	CENIZA	GRASA	PROTEINA
		%	%	%	%	%
3211	TOR1	55,25	44,75	4,20	33,75	17,25
	TOR2	55,78	44,22	4,82	34,07	17,53
	TOR3	55,09	44,91	4,51	33,12	17,15
	TOR4	56,30	43,70	4,25	32,01	17,68

**METODOLOGÍA EMPLEADA**  
 HUMEDAD: Estufa -Secado a 105°C  
 CENIZA: Mufla 550°C  
 GRASA: Gerber  
 PROTEINA: Kjeldahl factor es 6,25

ING. ELSA BURBANO C.  
 JEFE DE LABORATORIOS



**SEDE SANTO DOMINGO**

**REPORTE DE ANALISIS BROMATOLOGICO**

SOLICITANTE: SRTA. INDIRA MACIAS SALAZAR  
 TIPO DE MUESTRA: QUESO CON MUCILAGO DE CACAO  
 DIRECCION: CANTÓN QUEVEDO  
 IDENTIFICACIÓN: 3212  
 FECHA DE INGRESO: 23/09/2019  
 FECHA DE ENTREGA: 28 / 9/2019

**RESULTADOS:**

N° DE MUESTRA	IDENTIFIC.	HUMEDAD	MATE. SECA	CENIZA	GRASA	PROTEINA
		%	%	%	%	%
3212	T1R1	46,13	53,87	5,01	31,62	16,66
	T1R2	44,64	55,36	4,90	32,68	16,96
	T1R3	46,88	53,12	4,88	31,46	16,71
	T1R4	47,80	52,20	4,92	31,55	16,89

**METODOLOGÍA EMPLEADA**  
 HUMEDAD: Estufa -Secado a 105°C  
 CENIZA: Mufla 550°C  
 GRASA: Gerber  
 PROTEINA: Kjeldahl factor es 6,25

ING. ELSA BURBANO C.  
 JEFE DE LABORATORIOS





## SEDE SANTO DOMINGO

### REPORTE DE ANALISIS BROMATOLOGICO

SOLICITANTE: SRTA. INDIRA MACIAS SALAZAR  
 TIPO DE MUESTRA: QUESO CON MUCILAGO DE CACAO  
 DIRECCION: CANTON QUEVEDO  
 IDENTIFICACION: 3213  
 FECHA DE INGRESO: 23/09/2019  
 FECHA DE ENTREGA: 28 / 9/2019

#### RESULTADOS:

N° DE MUESTRA	IDENTIFIC.	HUMEDAD	MATE. SECA	CENIZA	GRASA	PROTEINA
		%	%	%	%	%
3213	T2R1	50,92	49,08	4,62	33,21	16,54
	T2R2	51,83	48,17	4,57	35,15	17,88
	T2R3	50,46	49,54	4,80	32,48	17,55
	T2R4	51,15	48,85	4,63	33,02	17,84

#### METODOLOGÍA EMPLEADA

HUMEDAD: Estufa -Secado a 105°C  
 CENIZA: Mufla a 550°C  
 GRASA: Gerber  
 PROTEINA: Kjeldahl factor es 6,25

ING. ELSA BURBANO C.  
 JEFE DE LABORATORIOS



## SEDE SANTO DOMINGO

### REPORTE DE ANALISIS BROMATOLOGICO

SOLICITANTE: SRTA. INDIRA MACIAS SALAZAR  
 TIPO DE MUESTRA: QUESO CON MUCILAGO DE CACAO  
 DIRECCION: CANTON QUEVEDO  
 IDENTIFICACION: 3214  
 FECHA DE INGRESO: 23/09/2019  
 FECHA DE ENTREGA: 28 / 9/2019

#### RESULTADOS:

N° DE MUESTRA	IDENTIFIC.	HUMEDAD	MATE. SECA	CENIZA	GRASA	PROTEINA
		%	%	%	%	%
3214	T3R1	52,19	47,81	4,68	35,83	18,06
	T3R2	52,80	47,20	4,52	35,18	18,19
	T3R3	52,46	47,54	4,76	35,71	18,97
	T3R4	52,12	47,88	4,63	36,74	18,35

#### METODOLOGÍA EMPLEADA

HUMEDAD: Estufa -Secado a 105°C  
 CENIZA: Mufla a 550°C  
 GRASA: Gerber  
 PROTEINA: Kjeldahl factor es 6,25

ING. ELSA BURBANO C.  
 JEFE DE LABORATORIOS



**Anexo 12. ANDEVA de los análisis fisicoquímicos (pH, acidez, humedad, sólidos totales, cenizas, grasas, proteína).**

**pH**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
pH	16	0.89	0.87	1.22

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.47	3	0.16	33.52	<0.0001
Tratamientos	0.47	3	0.16	33.52	<0.0001
Error	0.06	12	4.7E-03		
Total	0.53	15			

**Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.14348**

Error: 0.0047 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
3	5.36	4	0.03	A
2	5.50	4	0.03	A
1	5.73	4	0.03	B
0	5.78	4	0.03	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

**Acidez**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Acidez	16	0.96	0.95	5.13

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.22	3	0.07	98.28	<0.0001
Tratamientos	0.22	3	0.07	98.28	<0.0001
Error	0.01	12	7.4E-04		
Total	0.23	15			

**Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.05717**

Error: 0.0007 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
0	0.38	4	0.01	A
1	0.48	4	0.01	B
2	0.59	4	0.01	C
3	0.69	4	0.01	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

### Humedad

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Humedad	16	0.96	0.95	1.54

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	176.54	3	58.85	93.86	<0.0001
Tratamientos	176.54	3	58.85	93.86	<0.0001
Error	7.52	12	0.63		
Total	184.06	15			

### Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=1.66221

Error: 0.6269 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
1	46.36	4	0.40	A
2	51.09	4	0.40	B
3	52.39	4	0.40	B
0	55.61	4	0.40	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

### Sólidos totales

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Sólidos totales	16	0.96	0.95	1.63

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	176.54	3	58.85	93.86	<0.0001
Tratamientos	176.54	3	58.85	93.86	<0.0001
Error	7.52	12	0.63		
Total	184.06	15			

### Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=1.66221

Error: 0.6269 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
0	44.40	4	0.40	A
3	47.61	4	0.40	B
2	48.91	4	0.40	B
1	53.64	4	0.40	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

### Ceniza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Ceniza	16	0.60	0.50	3.46

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.47	3	0.16	6.01	0.0097
Tratamientos	0.47	3	0.16	6.01	0.0097
Error	0.31	12	0.03		

Total	0.78	15
-------	------	----

**Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.33913**

Error: 0.0261 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.		
0	4.45	4	0.08	A	
3	4.65	4	0.08	A	B
2	4.66	4	0.08	A	B
1	4.93	4	0.08		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

### Grasa

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Grasa	16	0.79	0.74	2.55

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	33.69	3	11.23	15.33	0.0002
Tratamientos	33.69	3	11.23	15.33	0.0002
Error	8.79	12	0.73		
Total	42.48	15			

**Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=1.79681**

Error: 0.7326 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.		
1	31.83	4	0.43	A	
0	33.24	4	0.43	A	
2	33.47	4	0.43	A	
3	35.87	4	0.43		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

### Proteína

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Proteína	16	0.73	0.66	2.27

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5.16	3	1.72	10.85	0.0010
Tratamientos	5.16	3	1.72	10.85	0.0010
Error	1.90	12	0.16		
Total	7.07	15			

**Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.83612**

Error: 0.1586 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.		
1	16.81	4	0.20	A	
0	17.40	4	0.20	A	
2	17.45	4	0.20	A	
3	18.39	4	0.20		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

### Anexo 13. ANDEVA de los análisis organolépticos; sabor, color, olor, textura.

#### Prueba de Kruskal Wallis

##### Sabor

Variable	Tratamiento	N	Medias D.E.	Medianas	H	p
Ácido	0	30	1.63 0.72	1.50	46.49	<0.0001
Ácido	1	30	2.00 0.69	2.00		
Ácido	2	30	2.33 0.66	2.00		
Ácido	3	30	3.30 0.70	3.00		

Variable	Tratamiento	N	Medias D.E.	Medianas	H	p
Salado	0	30	3.50 0.57	4.00	39.56	<0.0001
Salado	1	30	2.70 0.70	3.00		
Salado	2	30	2.40 0.62	2.00		
Salado	3	30	2.17 0.70	2.00		

##### Olor

Variable	TRATAMIENTO	N	Medias D.E.	Medianas	H	p
QUESO MADURO	0	30	3.37 0.61	3.00	4.07	0.1560
QUESO MADURO	1	30	3.40 0.56	3.00		
QUESO MADURO	2	30	3.43 0.73	4.00		
QUESO MADURO	3	30	3.67 0.55	4.00		

Variable	TRATAMIENTO	N	Medias D.E.	Medianas	H	p
MUCÍLAGO	0	30	1.17 0.38	1.00	53.65	<0.0001
MUCÍLAGO	1	30	1.73 0.45	2.00		
MUCÍLAGO	2	30	2.10 0.55	2.00		
MUCÍLAGO	3	30	2.60 0.62	3.00		

##### Color

Variable	TRATAMIENTOS	N	Medias D.E.	Medianas	H	p
MARFIL	0	30	1.57 0.50	2.00	3.84	0.1532
MARFIL	1	30	1.30 0.53	1.00		
MARFIL	2	30	1.37 0.49	1.00		
MARFIL	3	30	1.43 0.50	1.00		

Variable	TRATAMIENTOS	N	Medias D.E.	Medianas	H	p
AMARILLO	0	30	3.00 0.74	3.00	8.95	0.0119
AMARILLO	1	30	3.40 0.56	3.00		
AMARILLO	2	30	3.50 0.68	4.00		
AMARILLO	3	30	3.53 0.51	4.00		

##### Textura

Variable	TRATAMIENTOS	N	Medias D.E.	Medianas	H	p
SEMIDURA	0	30	2.90 0.76	3.00	29.97	<0.0001
SEMIDURA	1	30	2.07 1.05	2.00		
SEMIDURA	2	30	2.73 0.74	3.00		
SEMIDURA	3	30	3.50 0.51	3.50		

Variable	TRATAMIENTOS	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
DURA	0	30	2.27	0.58	2.00	21.29	<0.0001
DURA	1	30	3.23	0.63	3.00		
DURA	2	30	2.97	0.81	3.00		
DURA	3	30	2.93	0.78	3.00		

**Intervalos de confianza en los análisis organolépticos (Sabor, olor, color, textura) .**

Bilateral  
Estimación paramétrica

Variable	Parámetro	Estimación	E.E.	n	LI (95%)	LS (95%)
Ácido	Media	2.32	0.36	4	1.18	3.45
Salado	Media	2.69	0.29	4	1.77	3.62
Queso maduro	Media	3.47	0.07	4	3.25	3.69
Mucílago de cacao	Media	1.90	0.30	4	0.94	2.86
Amarillo	Media	3.36	0.12	4	2.97	3.75
Marfil	Media	1.42	0.06	4	1.23	1.60
Semidura	Media	2.80	0.29	4	1.86	3.74
Dura	Media	2.85	0.20	4	2.20	3.50

Anexo 14. Análisis microbiológico de bacterias patógenas en el queso semiduro.



RESULTADOS: ANALISIS MICROBIOLÓGICO

Datos del cliente	Referencia
Solicitante: SRTA. INDIRA MACIAS	Número de muestra: 698
Tipo de muestra: QUESO MADURO <sup>(TQ)</sup>	Fecha ingreso: 23/09/2019
Envase: polietileno	Fecha de impresión: 30/09/2019
Muestreo: Particular	Fecha de entrega: 30/09/2019

ANALISIS MICROBIOLÓGICO

PARAMETRO	UNIDAD	RESULTADO	MAXIMO PERMISIBLE*	METODO REFERENCIAL APLICADO
Coliformes totales	u.f.c /g	750	1000	AOAC 991.14
Escherichia Coli.	u.f.c /g	< 10	< 10	AOAC 991.14
Mohos y levaduras	u.p.c /g	180	---	AOAC 997.02

\*: Requisitos microbiológicos para queso fresco, Norma NTE INEN: 1528-2012

Atentamente  
  
Dra. Luz María Martínez  
LABORATORISTA  
AGROLAB

**RESULTADOS: ANALISIS MICROBIOLÓGICO**

Datos del cliente	Referencia
Solicitante: SRTA. INDIRA MACIAS	Número de muestra: 701
Tipo de muestra: QUESO MADURO <sup>(T3)</sup>	Fecha ingreso: 23/09/2019
Envase: polietileno	Fecha de impresión: 30/09/2019
Muestreo: Particular	Fecha de entrega: 30/09/2019

**ANALISIS MICROBIOLÓGICO**

PARAMETRO	UNIDAD	RESULTADO	MAXIMO PERMISIBLE*	METODO REFERENCIAL APLICADO
Coliformes totales	u.f.c /g	350	1000	AOAC 991.14
Escherichia Coli.	u.f.c /g	< 10	< 10	AOAC 991.14
Mohos y levaduras	u.p.c /g	100	---	AOAC 997.02

\*: Requisitos microbiológicos para queso fresco, Norma NTE INEN: 1528-2012

Atentamente  
  
 Dra. Luz María Martínez  
 LABORATORISTA  
 AGROLAB

Anexo 15. Viabilidad de las bacterias ácido lácticas en el queso semiduro.



RESULTADOS: ANALISIS MICROBIOLÓGICO

Datos del cliente		Referencia	
Solicitante:	SRTA. INDIRA MACIAS	Número de muestra:	692-694
Tipo de muestra:	QUESO	Fecha ingreso:	09/09/2019
Envase:	polietileno	Fecha de impresión:	20/09/2019
Muestreo:	Particular	Fecha de entrega:	20/09/2019

RECUENTO BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS TOTALES:  
HOMOFERMETATIVAS Y HETEROFERMENTATIVAS

CODIGO LABORATORIO	IDENTIFICACION DE LA MUESTRA	UNIDAD	RESULTADO	METODO REFERENCIAL APLICADO
692	MUESTRA T1	u.f.c /g	1x10 <sup>2</sup>	Petrifilm-BAL
693	MUESTRA T2	u.f.c /g	2,5x10 <sup>1</sup>	Petrifilm-BAL
694	MUESTRA T3	u.f.c /g	6x10 <sup>1</sup>	Petrifilm-BAL
695	MUESTRA T4	u.f.c /g	7x10 <sup>1</sup>	Petrifilm-BAL

Atentamente  
  
 Dra. Luz María Martínez  
 LABORATORISTA  
 AGROLAB



RESULTADOS: ANALISIS MICROBIOLÓGICO

Datos del cliente		Referencia	
Solicitante:	SRTA. INDIRA MACIAS	Número de muestra:	692-694
Tipo de muestra:	QUESO	Fecha ingreso:	16/09/2019
Envase:	polietileno	Fecha de impresión:	20/09/2019
Muestreo:	Particular	Fecha de entrega:	20/09/2019

RECUENTO BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS TOTALES:  
HOMOFERMETATIVAS Y HETEROFERMENTATIVAS

CODIGO LABORATORIO	IDENTIFICACION DE LA MUESTRA	UNIDAD	RESULTADO	METODO REFERENCIAL APLICADO
692	MUESTRA T1	u.f.c /g	2 x10 <sup>2</sup>	Petrifilm-BAL
693	MUESTRA T2	u.f.c /g	4,2 x10 <sup>1</sup>	Petrifilm-BAL
694	MUESTRA T3	u.f.c /g	8 x10 <sup>1</sup>	Petrifilm-BAL
695	MUESTRA T4	u.f.c /g	9 x10 <sup>1</sup>	Petrifilm-BAL

Atentamente  
  
 Dra. Luz María Martínez  
 LABORATORISTA  
 AGROLAB

**RESULTADOS: ANALISIS MICROBIOLÓGICO**

Datos del cliente		Referencia	
Solicitante:	SRTA. INDIRA MACIAS	Número de muestra:	692-694
Tipo de muestra:	QUESO	Fecha ingreso:	23/09/2019
Envase:	polietileno	Fecha de impresión:	08/10/2019
Muestreo:	Particular	Fecha de entrega:	08/10/2019

**RECUENTO BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS TOTALES:  
HOMOFERMETATIVAS Y HETEROFERMENTATIVAS**

CODIGO LABORATORIO	IDENTIFICACION DE LA MUESTRA	UNIDAD	RESULTADO	METODO REFERENCIAL APLICADO
692	MUESTRA T1	u.f.c /g	$3,5 \times 10^2$	Petrifilm-BAL
693	MUESTRA T2	u.f.c /g	$6,3 \times 10^1$	Petrifilm-BAL
694	MUESTRA T3	u.f.c /g	$9,2 \times 10^1$	Petrifilm-BAL
695	MUESTRA T4	u.f.c /g	$1 \times 10^3$	Petrifilm-BAL

Atentamente  
  
 Dra. Luz María Martínez  
 LABORATORISTA  
 AGROLAB

**RESULTADOS: ANALISIS MICROBIOLÓGICO**

Datos del cliente		Referencia	
Solicitante:	SRTA. INDIRA MACIAS	Número de muestra:	692-694
Tipo de muestra:	QUESO	Fecha ingreso:	30/09/2019
Envase:	polietileno	Fecha de impresión:	08/10/2019
Muestreo:	Particular	Fecha de entrega:	08/10/2019

**RECUENTO BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS TOTALES:  
HOMOFERMETATIVAS Y HETEROFERMENTATIVAS**

CODIGO LABORATORIO	IDENTIFICACION DE LA MUESTRA	UNIDAD	RESULTADO	METODO REFERENCIAL APLICADO
692	MUESTRA T1	u.f.c /g	$3,5 \times 10^2$	Petrifilm-BAL
693	MUESTRA T2	u.f.c /g	$6,3 \times 10^1$	Petrifilm-BAL
694	MUESTRA T3	u.f.c /g	$9,3 \times 10^1$	Petrifilm-BAL
695	MUESTRA T4	u.f.c /g	$1,1 \times 10^3$	Petrifilm-BAL

Atentamente  
  
 Dra. Luz María Martínez  
 LABORATORISTA  
 AGROLAB

**Anexo 16.** *Costos de materias primas empleadas en la elaboración del queso semiduro del mejor tratamiento.*

<b>Materia prima directa</b>	
<b>Descripción</b>	<b>Valor Total</b>
Leche	\$40
Mucílago de cacao	0
<b>Total de MPD</b>	<b>\$40</b>

**Anexo 17.** *Costos de materiales directos empleados en la elaboración del queso semiduro del mejor tratamiento.*

<b>Materia prima indirecta</b>	
<b>Descripción</b>	<b>Valor Total</b>
Cultivo Danbo	3,00
Cloruro de Calcio	1,25
Cuajo	0,75
Sal	0,50
<b>Total de MPD</b>	<b>\$45,50</b>

**Anexo 18.** *Costo de insumos empleados en la elaboración del queso semiduro al mejor tratamiento.*

<b>Insumos</b>			
<b>Descripción</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Costo unitario</b>	<b>Costo Total</b>
Empaques	16	0,08	1,28
Etiqueta	16	0,12	1,92
Cofia y guantes	1	0,25	0,25
<b>Total de MI</b>			<b>\$3,45</b>

**Anexo 19.** *Mano de obra requerida en la elaboración del queso semiduro del mejor tratamiento.*

<b>Mano de obra directa</b>		
Descripción	Personal	Costo por hora
Operario	1	3.17

**Anexo 20.** *Costos de distribución en la elaboración del queso semiduro al mejor tratamiento.*

<b>Costos indirectos de fabricación</b>	
Descripción	Costo Total
Transporte	\$5,00
Servicios básicos	\$4,50
<b>Total</b>	<b>\$9,50</b>

**Anexo 21.** *Equipos y materiales utilizados en la elaboración de queso semiduro del mejor tratamiento.*

Descripción	Costo Total	Depreciación
Marmita	\$1200	0,50
Caldero	\$2000	0,83
Refrigeradora	\$300	0,13
Muebles y encerados	\$20	0,02
<b>Total</b>	<b>\$3700</b>	<b>\$1,49</b>

**Anexo 22. Fotos del experimento.**

**Extracción del mucílago de cacao nacional**



**Obtención del mucílago de cacao nacional**



**Análisis de la leche**



**Análisis de pH y acidez**



**Análisis de sólidos totales**

## Elaboración del queso semiduro tipo Danbo



Pasteurización de la leche



Enfriado



Inoculación y adición de cuajo



Corte de la cuajada



Lavado de la cuajada



Moldeado



Prensado

### Análisis fisicoquímicos del queso semiduro tipo Danbo



Análisis de pH



Análisis de acidez



Análisis de ceniza



Análisis de Humedad

## Análisis Organoléptico

