



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN**

---

---

**Cinética de Bacterias Ácido Lácticas en el queso manchego artesanal para la determinación de la vida de anaquel.**

**TRABAJO DE TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**INGENIERÍA EN ALIMENTOS**

**PRESENTA:**

MARTHA ALEJANDRA NAGAYA ZAMORA

ASESOR: I.Q. GUADALUPE FRANCO RODRIGUEZ

CO-ASESOR: Dr. CLARA INES ALVAREZ MANRIQUE

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 2016



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Ampliar (Ctrl+0)



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE

ATN: LA. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA  
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales  
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el Trabajo de Tesis.

Cinética de Bacterias Ácido Lácticas en el queso manchego artesanal para la determinación de la vida de anaquel.

Que presenta la pasante: Martha Alejandra Nagaya Zamora  
Con número de cuenta: 306341344 para obtener el Título de la carrera: Ingeniería en Alimentos

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE  
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"  
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 01 de Septiembre de 2016.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	<u>I.Q. Guadalupe Franco Rodriguez</u>	
<b>VOCAL</b>	<u>I.A. Miriam Alvarez Velasco</u>	
<b>SECRETARIO</b>	<u>I.A. Sandra Margarita Rueda Enriquez</u>	
<b>1er. SUPLENTE</b>	<u>M. en C. María Guadalupe Amaya León</u>	
<b>2do. SUPLENTE</b>	<u>I.Q. Guillermo Martínez Morua</u>	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

Con mucho cariño y amor dedico mi tesis:

A mis papás:

Ya que ustedes me enseñaron a salir a delante y me brindaron todo su apoyo.

A mi niño Santi:

Eres mi mayor motor para seguir adelante y gracias a tu inocencia y tus hermosas sonrisas me levanto cada día para salir adelante.

A mi Familia:

Vianey y Adrian los hermanos más divertidos que pude haber tenido gracias por estar hay siempre; a mis sobrinos con sus ocurrencias; a mi abue Pasita y Chucho el gran ángel que tengo en cielo por haber apoyado en mi crianza y darme días de muchas sonrisas.

A una persona especial:

Fredy, por estar a mi lado y no dejarme caer y brindarme el amor que me das.

A mis compañeros:

A Ale, Hugo, Kary, Laura, entre otros muchos por los buenos momentos que pasmos dentro y fuera de las aulas.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece la orientación y conocimientos que me brindaron para poder realizar este trabajo a la I.Q. Guadalupe Franco Rodríguez y la Dr. Clara Inés Álvarez Manrique.

Al Laboratorio de Microbiología por dejarme trabajar en sus instalaciones para poder realizar la parte principal de este trabajo.

Al Laboratorio Experimental Multidisciplinario y a la profesora Zaira Guadarrama Álvarez, por el apoyo y el tiempo que dedico.

Al Laboratorio de Procesos térmicos de Química y al profesor Manuel Paz, por haberme enseñado nuevas técnicas que se pueden aplicar en la Industria de alimentos.

## ÍNDICE

<b>1. Resumen</b>	<b>1</b>
<b>2. Introducción</b>	<b>2</b>
<b>3. Marco Teórico</b>	<b>4</b>
<b>3.1. Queso</b>	<b>4</b>
<b>3.2. Vida de Anaquel</b>	<b>11</b>
<b>3.3. Bacterias Ácido Lácticas</b>	<b>13</b>
<b>3.4. Cinética Microbiana</b>	<b>15</b>
<b>3.5. Parámetros fisicoquímicos y organolépticos que influyen en la vida de anaquel</b>	<b>18</b>
<b>4. Justificación</b>	<b>23</b>
<b>5. Hipótesis</b>	<b>24</b>
<b>6. Objetivos</b>	<b>24</b>
<b>7. Materiales y Métodos</b>	<b>25</b>
<b>8. Resultados y Discusión</b>	<b>30</b>
<b>9. Conclusiones</b>	<b>46</b>
<b>10. Referencias</b>	<b>48</b>
<b>Anexos</b>	<b>52</b>

## INDICE DE GRÁFICAS

<b>Grafico</b>	<b>Titulo</b>	<b>Pág.</b>
1	Desarrollo de BAL en Producto A a diferentes temperaturas de conservación	30
2	Desarrollo de BAL en Producto B a diferentes temperaturas de conservación	31
3	Desarrollo de BAL en Producto C a diferentes temperaturas de conservación	31
4	Tiempo de adaptación de BAL a diferentes temperaturas de conservación	32
5	Tasa de reducción de BAL a diferentes temperaturas de conservación	33
6	Tiempo de generación de BAL a diferentes temperatura de conservación	34
7	Parámetros Cinéticos n y k para la determinación de la vida de anaquel de queso manchego	35
8	Parámetros Cinéticos $K_0$ y $E_a$ para la determinación de la vida de anaquel de queso manchego	36
9	Tiempo de vida de anaquel para queso manchego	37
10	Parámetro $Q_{10}$ para queso manchego	37
11	DSC de muestras A, B y C de queso manchego	38
12	TGA de muestras A, B y C de queso manchego	38
13	Determinación de pH durante la conservación de queso manchego	40
14	Determinación de % de Acidez durante la conservación de queso manchego	41
15	Determinación de actividad de agua durante la conservación de queso manchego	41
16	Determinación de color durante la conservación de queso manchego (Producto A)	42
17	Determinación de color durante la conservación de queso manchego (Producto B)	42
18	Determinación de color durante la conservación de queso manchego (Producto C)	43
19	Determinación de TPA de la muestra A durante la conservación	43
20	Determinación de TPA de la muestra B durante la conservación	44
21	Determinación de TPA de la muestra A durante la conservación	44

## 1. RESUMEN

El Queso Manchego es un producto que se obtiene a partir de leche pasteurizada ya sea de vaca u oveja, sometida a procesos de coagulación, cortado, desuerado, fermentado, salado, prensado y madurado, durante un periodo mínimo de 7 días a temperatura y humedad controladas; sin que hayan empleado en su elaboración grasas o proteínas no provenientes de la leche. (NMX-F-462-1984)

El queso manchego se puede mantener a temperaturas de 10-25°C una vez que concluye la etapa de maduración ya que en esta etapa se tienen cambios físicos en apariencia y desarrollo de Bacterias Ácido Láctica (BAL), por lo cual las bacterias seguirán presentes ya que son microorganismos mesofilos y los cambios sensoriales también se ven presentes. Es importante determinar su vida útil para así mantener las mejores características posibles para su consumo.

El determinar un modelo cinético es una herramienta eficiente para determinar la vida útil de cualquier alimento, ya que permite analizar en forma cuantitativa el comportamiento microbiano en un determinado ambiente o sistema particular. El modelo matemático es realizado generalmente, asumiendo condiciones constantes para determinar los valores de los parámetros cinéticos de crecimiento.

Por lo que en este trabajo se presentaran los modelos matemáticos para determinar el tiempo óptimo de almacenamiento utilizando distintas temperaturas, así mismo se analizarán los cambios sensoriales y fisicoquímicos que el queso manchego presenta durante su almacenamiento.

## 2. INTRODUCCIÓN

El deterioro de alimentos está dado por varios factores como puede ser un mal manejo de almacenamiento, como por ejemplo la ruptura de la cadena de frío o por contaminaciones cruzadas en donde pueden intervenir microorganismos que dañen el alimento. Sin embargo algunos microorganismos no caen dentro del calificativo de deterioradores y por otra parte el deterioro de un alimento puede asociarse a reacciones químicas que dan lugar a lo que se conoce como alteraciones o deterioro aséptico. (Fernández, 2000)

La acción conservadora de las Bacterias Ácido Lácticas (BAL) en el queso se debe a la inhibición de un gran número de microorganismos patógenos y dañinos por varios productos finales de la fermentación; tales como ácido láctico y acético, peróxido de hidrógeno, diacetilo, bacteriocinas y productos secundarios generados por la acción de lactoperoxidasa sobre el peróxido de hidrógeno y tiocianato (Shirai, 1996).

Es importante definir que la velocidad a la que transcurren las reacciones bioquímicas en los alimentos se ven modificadas por la temperatura. El rango de temperaturas absolutas en el almacenamiento de los productos alimenticios es pequeño y la mejor manera de relacionar la vida útil de los alimentos con la temperatura de almacenamiento es representar el logaritmo en función del inverso de la temperatura absoluta o de la propia temperatura de almacenamiento, lo que se resume en la Cinética que presenta cada alimento. (Martinus 2009)

El estudio de la vida útil tiene como objetivo evaluar el comportamiento de los alimentos durante un tiempo determinado y a diferentes temperaturas, las cual se pueden definir según el período de tiempo en que se van a almacenar (Rondon, 2004).

Para la evaluación de los productos se utilizan técnicas de evaluación sensorial, análisis físicos; químicos y microbiológicos.

La cinética microbiana se refiere a cambios en un número de células a lo largo del tiempo y depende del medio químico extracelular como pH, fuerzas iónicas, actividad de agua, presencia de nutrientes y temperatura; y del medio intracelular, como lo son el resultado de numerosas reacciones enzimáticas. (Carr, 2002)

El determinar un modelo cinético en alimentos es una herramienta eficiente para determinar su vida útil, ya que permite analizar en forma cuantitativa el comportamiento microbiano y la influencia que estos tienen para un determinado ambiente o sistema particular. El modelo matemático es realizado generalmente asumiendo condiciones constantes para determinar los valores de los parámetros cinéticos de desarrollo. (Zarate, 2009)

Ya que la vida de anaquel está determinada por tiempos y temperatura de almacenamiento, por lo tanto su carga microbiana también dependen de estos parámetros y los productos llegarán al equilibrio. La termodinámica puede ser usada para caracterizar diferencias en las propiedades físicas de diferentes estados, así como las fuerzas que lo llevan al equilibrio. Los alimentos y materiales biológicos son metaestables y exhiben cambios dependientes del tiempo cuando se aproximan al equilibrio. (Martinus 2009)

Los quesos elaborados artesanalmente por lo general no contienen ningún conservador, por lo cual conocer el desarrollo de las BAL puede ser de utilidad para conocer diversos cambios que el producto tiene y evaluar la calidad de este, así como determinar su vida de anaquel.

### 3. MARCO TEORICO

#### 3.1 Queso

Se entiende por queso el producto fresco o maduro, sólido o semisólido, obtenido por separación del suero después de la coagulación de la leche natural, de la desnatada total o parcialmente, por la acción del cuajo u otros coagulantes apropiados, con o sin hidrólisis previa de la lactosa.

Asimismo, se entiende por queso el conseguido mediante técnicas de la elaboración que comprendan la coagulación de la leche y/o materias obtenidas de la leche y siempre que la relación entre la caseína y las proteínas séricas sean iguales o superiores a la de la leche. (Catillo, 2004)

##### 3.1.1. Queso manchego.

En México el queso Manchego es elaborado con leche entera de vaca, pasteurizada y adicionada con fermentos lácticos mesófilos como *Lactococcus lactis ssp lactis* y *cremoris*. Puede clasificarse como un queso de pasta semi-dura prensada, ligeramente cocida, tajable y madurada. Cuando está maduro este queso presenta un color amarillo pálido, una textura suave; su pasta funde fácilmente. (Villegas, 2008)

El diagrama de proceso para su elaboración se muestra a continuación:

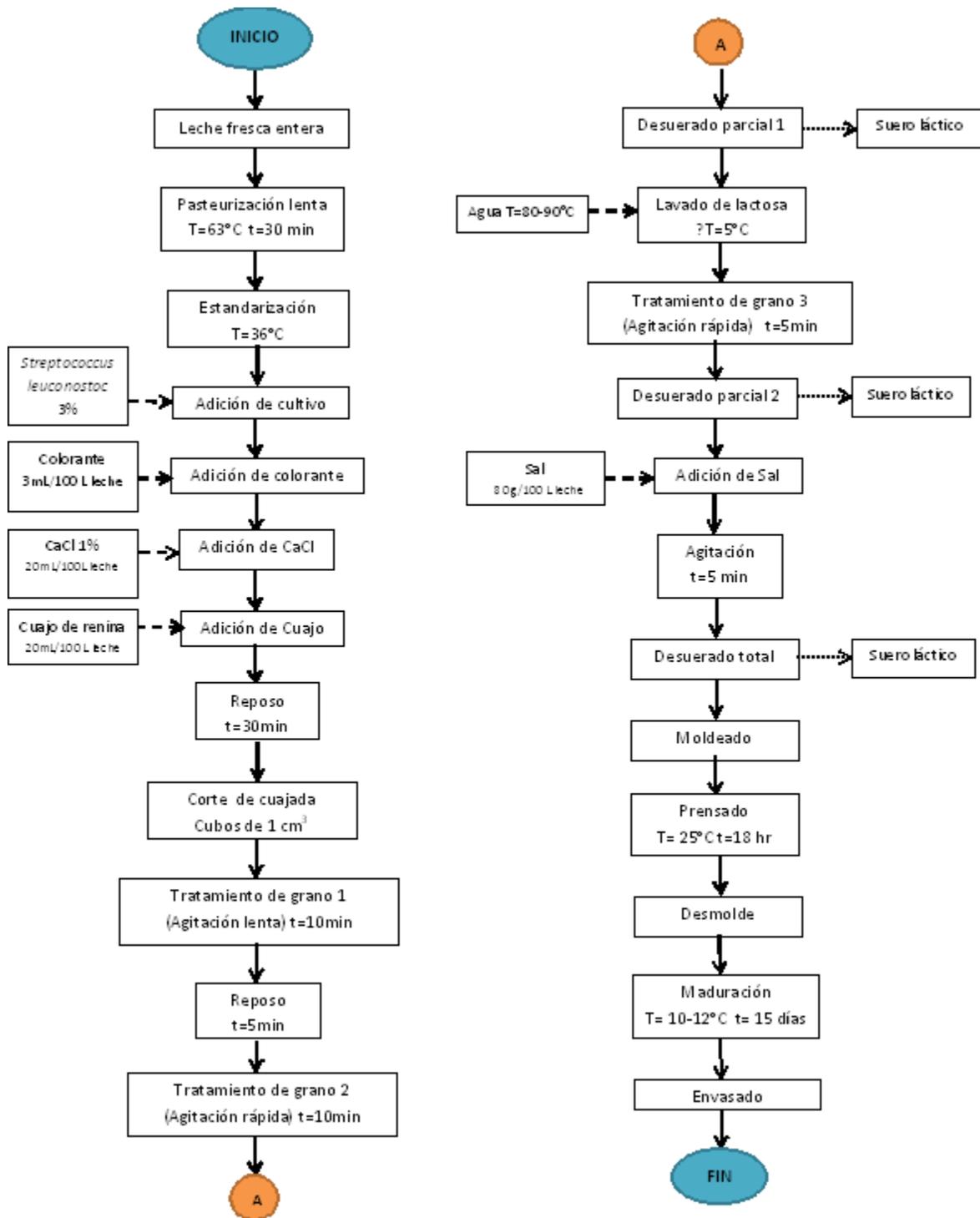


Figura 1. Diagrama de proceso para la elaboración de queso manchego.

### 3.1.2. Elaboración De Queso Manchego

*RECEPCIÓN DE LA LECHE:* Implica el pesado o la medición volumétrica, el muestreo y la administración de la leche cruda en la quesería. Se realizan las pruebas de Andén correspondientes según lo requiera la quesería. (Villegas, 2008)

*ESTANDARIZACION DE LA LECHE:* Uno de los objetivos clave de la estandarización es tener control en el contenido de caseína y grasa para lograr favorecer la elaboración del queso, tomando en cuenta los principales compuestos: grasa, proteína y agua. La estandarización de la leche generalmente se efectúa antes del tratamiento térmico, esto con el fin de evitar una contaminación. (Villegas, 2008)

#### *INCORPORACIÓN DE ADITIVOS:*

**Cloruro de calcio:** Este compuesto se incorpora en dosis que van de unos 10 a 20 g por 100 L de leche pasteurizada, generalmente; se trata de una sal blanca fácilmente soluble. El  $\text{CaCl}_2$  constituye una fuente directa de iones de calcio ( $\text{Ca}^{++}$ ), los cuales se hallan involucrados en la segunda fase de la reacción de cuajado enzimático, es decir, en la formación de la red caseínica constituida por la agregación de las micelas proteicas más o menos modificadas, unidas por puentes cálcicos y fosfocálcicos (puentes salinos), entre otros tipos de enlace.

**Colorante (achiote):** El color natural de la leche y los quesos se debe entre otros componentes destacados, a los carotenos, lípidos especiales asociados a la fase grasa dispersa como glóbulos de grasa. En el queso al concentrarse los sólidos y particularmente la grasa, tras una maduración pronunciada, o en pocos días, en la parte superficial del producto puede desarrollarse un color amarillo que puede ir desde un tono marfil hasta uno intenso. Este color se asocia a la grasa butírica y a los carotenos contenidos en la pasta. La dosis que debe aplicarse en la leche de proceso depende de la concentración efectiva del pigmento en la tintura, del tipo de queso que se elabore y de los gustos del consumidor. (Villegas, 2008)

*TEMPERATURA DE CUAJADO:* La temperatura de cuajado constituye uno de los factores clave en el cuajado enzimático; en principio tiene que ver con que se dé la formación de gel. Al utilizar cuajo de renina, la reacción de coagulación de la leche se puede llevar a cabo entre unos 15-50°C. La temperatura óptima de esa enzima es del orden de 40 a 42°C, en la práctica común se utiliza la temperatura de 40°C; lo normal es cuajar a 28 y 35°C, esto tiene su fundamento en el efecto que esta

variable ejerce sobre la velocidad de cuajado y sobre las propiedades reológicas del gel. (Villegas 2008)

*INCORPORACION DE CULTIVOS LÁCTICOS:* Un cultivo láctico se puede definir como una cepa de microorganismos que se propaga o cultiva para inocularse en la leche de proceso, para poder orientar o controlar una fermentación deseada y obtener propiedades sensoriales atractivas en el producto lácteo. Un cultivo láctico asegura dos funciones esenciales:

1. Abatir el pH del medio, al transformar la lactosa en ácido láctico. La acidificación promueve la gelificación de la leche y la sinéresis en la cuajada quesera.
2. Contribuir con las características sensoriales de los lacticínios, liberando enzimas o metabolitos que participan directamente en la maduración de producto.

Los cultivos lácticos se emplean en quesos frescos y madurados elaborados con leche pasteurizada, en la que se requiere reemplazar a las bacterias Ácido lácticas (BAL) que perecieron durante el tratamiento térmico. Equivale a ciertas unidades de cultivo, según su peso y concentración de células por gramos. (Villegas, 2008)

Existen distintos tipos de cultivos lácticos:

\* Cultivos líquidos frescos: Se presentan en forma líquida, el contenido aproximado de bacterias es del orden de 500 millones por ml. Son utilizados en plantas cercanas a los laboratorios que los producen pues deben mantenerse en refrigeración (2 – 4) °C. Por la dificultad en el manejo; su uso es bastante reducido.

\*Cultivos liofilizados: Preparados mediante desecación a partir del estado de congelamiento. Tienen una humedad inferior al 2%. Son estables por varias semanas a temperatura ambiente y por varios meses a temperatura de 3 a -5°C. El contenido de bacterias se encuentra entre los 2.000 a 3.0000 millones por gramo.

\* Cultivos congelados: Los cultivos congelados son aquellos cultivos que son sometidos a un proceso rápido de congelación a temperatura de -40 a -45°C. Pueden ser no concentrados y concentrados. Los primeros, se pueden mantener de 3 a 8 meses a temperatura de congelación. Para su utilización es necesario descongelar y propagar el cultivo antes de su utilización. Una desventaja es el mantenimiento de la temperatura durante su transporte. (Bedolla, 2004)

*CUAJADO DE LA LECHE:* Existen principalmente dos formas de precipitar las caseínas de la leche:

- a) Vía enzimática. Se basa en el empleo de la enzima llamada renina o quimosina. Esta enzima está presente, activa, en el llamado cuajo comercial.

Este tipo de coagulación se puede dividir en dos etapas:

- La hidrólisis enzimática de la k-caseína, fase enzimática.
- La fase de agregación micelar, o fase no enzimática.

- b) Vía ácida. Se forma un coágulo debido a la acidificación de la fase sérica (plasma, producida por el ácido láctico generado por fermentación o por adición de un ácido orgánico de grado alimenticio.

*CORTE DE CUAJADA:* El corte del coágulo constituye un paso esencial en el proceso de deshidratación del queso o visto de otra manera, de la concentración de la materia seca útil.

Tras la coagulación de la leche, aunque no se de el corte, el gel empieza a sufrir sinéresis, fenómeno de retraimiento o contracción de la red fosfocalcica-caseínica, lo que produce la expulsión de suero. (Castillo 2004)

*TRATAMIENTO DE GRANO:* El trabajo del grano de la cuajada persigue la deshidratación o secado de la pasta. Tras el asentado del gel cortado, las partículas, tendientes a cohesionarse, son resuspendidas en todo el cuerpo del suero por medio de agitación suave impartida por dispositivos mecánicos con el fin de que se individualicen, sufran sinéresis y expulsen suero desde su interior.

Particularmente, en cada grano de cuajada se presenta un complejo fenómeno de difusión de suero, el cual se desplaza desde las zonas centrales hasta la periferia, que constituye una especie de membrana transitoria, reguladora del flujo de suero exudado.

Después de cierto tiempo de trabajo del grano, se genera la pérdida de agua y la modificación de su superficie, las propiedades adhesivas de las partículas permite su asociación en masas cada vez más compactas, pero capaces de permitir el drenado del suero de la pasta durante la operación. (Villegas, 2008)

*LAVADO DE LÁCTOSA:* El contenido de lactosa dentro del grano de cuajada tiene mucho que ver con la textura de la pasta, debido a que el ácido láctico producido por la fermentación del azúcar disminuye el pH, lo que afecta su grado de mineralización. La acidificación no necesariamente se presenta en el grano, si no ya en la masa compacta durante las siguientes fases del proceso como en la maduración. (Villegas, 2008)

*DESUERADO:* El desuerado masivo, constituye un punto crítico que marca decisivamente la evolución que seguirá la pasta en las siguientes operaciones y en el producto final. Para proceder a realizarlo es necesario juzgar si el grano, ya perdió suficiente suero y tiene la consistencia y textura tal que permita integrarse en una masa cohesionada, de cierta humedad, que favorezca la actividad enzimática y microbiana determinante de sus características fisicoquímicas y sensoriales. (Castillo 2004)

*SALADO DE LA PASTA:* El salado del queso cumple, al menos, dos propósitos:

- Impartir cualidades de sabor, que lo hacen atractivo sensorialmente.
- Inhibir o retardar el desarrollo de microorganismos indeseables, y seleccionar la microflora específica para orientar la maduración.

Existen varios métodos para salar el queso:

- a) Por incorporación y mezclado de la sal en la pasta previamente picada; esto es salado en mesa.
- b) Por inmersión de las piezas ya formadas en una salmuera con una concentración salina de 20%.
- c) Por frotación de la superficie con sal fina.
- d) Por un método mixto.

*MOLDEADO:* La operación de moldeado cumple con varios objetivos:

- Impartir forma a la cuajada, con base en las propiedades de cohesividad de la pasta.
- Permitir el prensado.
- Contribuir a la imagen del producto, con base a su forma típica.

*PRENSADO:* El prensado de la pasta busca cumplir con los siguientes objetivos:

- Dar forma a las piezas de queso, según la imagen del producto y sus requerimientos prácticos de manipulación.
- Expulsar el suero intersticial que se halla ocluido entre los granos discretos de cuajada moldeada.
- Consolidar la pasta e impartirle una estructura lo más uniforme posible, de tal manera que sus propiedades composicionales y fisicoquímicas sean homogéneas en toda la pieza.
- Formar una corteza resistente, esto en quesos de pasta semi-dura o dura. Esto tiene que ver también con el uso de piezas de tela que envuelven la cuajada dentro del molde, las cuales absorben y retienen el suero, a menudo salado, lo que favorece la formación de la corteza.

*MADURACIÓN:* La maduración de los quesos conduce a cambios en sus propiedades físicas, de apariencia, de sabor y aroma debido a la combinación de factores que junto con los microorganismos se reconoce que son agentes de importancia.

Un evento clave en el proceso de maduración es la muerte progresiva de millones de bacterias ácido lácticas presentes inicialmente en la cuajada. Después de su muerte, las células bacterianas se desintegran y liberan sus enzimas intracelulares (proteasas, lipasas, endopeptinasas, dipeptinasas). Estas enzimas, junto con la renina y las enzimas nativas de la leche transforman gradualmente las proteínas y la materia grasa. El queso adquiere así con el tiempo, una textura y un gusto característico. El grado de maduración depende de las condiciones de la pasta y de la concentración y tipo de microorganismo existente.

Bioquímicamente, la maduración implica tres fenómenos: la fermentación de la lactosa, la hidrólisis de la grasa butírica y la degradación de las proteínas. (Villegas, 2008)

### 3.2. Vida De Anaquel

El estudio de la vida útil tiene como objetivo evaluar el comportamiento de los alimentos durante un tiempo determinado y a diferentes temperaturas, las cual se pueden definir según el período de tiempo en que se va a almacenar (Rondon, E., 2004).

Aunque la descomposición de los alimentos es una de las consecuencias de la actividad de los microorganismos que los han contaminado, debe quedar establecido, que no en todos los casos el desarrollo de microorganismos implica un daño a las cualidades del alimento, de la misma manera que no todo tipo de deterioro tiene como antecedente la actividad microbiana ya que también influyen parámetros sensoriales, físicos y/o fisicoquímicos.

Algunos microorganismos no caen dentro del calificativo de deterioradores y por otra parte el deterioro de un alimento puede asociarse a reacciones químicas que dan lugar a lo que se conoce como alteraciones o deterioro aséptico. (Fernández, E, E., 2000)

La vida útil de un producto depende de factores ambientales, humedad, temperatura de exposición, del proceso térmico al que se somete y de la calidad de las materias primas, entre otros. El efecto de estos factores se manifiesta como el cambio en las cualidades del alimento como cambios de sabor, color o pérdida de nutrientes.

Para determinar la vida útil de un alimento, primero deben identificarse las reacciones químicas o biológicas que influyen en la calidad y seguridad del mismo, considerando la composición del alimento y el proceso a que es sometido y se procede a establecer las reacciones más críticas en la calidad.

El tiempo de vida útil se puede estimar tomando en cuenta algunos datos importantes como: valores reportados en la literatura especializada de alimentos similares y bajo condiciones similares al producto de nuestro interés; se pueden evaluar atributos de calidad del alimento que varían durante la vida útil en anaquel o mediante pruebas aceleradas.

Los estudios de vida útil acelerados, consisten en incubar el alimento bajo condiciones controladas y a diferentes temperaturas. Estas temperaturas deben ser mayores a las de almacenamiento y las de comercialización para permitir que las reacciones de deterioro se aceleren y se obtengan valores en períodos más cortos (García, 2008).

Es importante definir que la velocidad a que transcurren las reacciones bioquímicas en los alimentos aumentan con la temperatura. El rango de temperaturas absolutas en el almacenamiento de los productos alimenticios es pequeño y la mejor manera de relacionar la vida útil de los alimentos con la temperatura de almacenamiento es representar el logaritmo en función del inverso de la temperatura absoluta o de la propia temperatura de almacenamiento. Lo cual se resume en la obtención de la Cinética del producto para así determinar el tiempo de vida de anaquel. (Brennan, J., 1998).

El estudio de la vida útil tiene como objetivo evaluar el comportamiento de los productos en desarrollo y tradicionales que se han sometido a algún proceso, durante un tiempo determinado y a diferentes temperaturas la cual se puede definir como el período de tiempo durante el cual el producto almacenado no se percibe significativamente distinto al producto inicial o recién elaborado (Rondon, E., 2004). Para la evaluación de los productos se utilizan técnicas de evaluación sensorial, análisis físicos; químicos y microbiológicos.

La determinación de la actividad de agua ayuda a predecir la estabilidad y la vida útil de los alimentos. Las mediciones de la actividad del agua en niveles superiores e inferiores ayudan a establecer cualidades nutricionales, textura, cualidades microbianas, sabor, apariencia, aroma y cualidades de cocción a los alimentos. El control de la actividad de agua ayuda también a mantener la estabilidad química de los productos alimentarios. La condición y el estado de la actividad de agua en los alimentos afectan al biodeterioro, la putrefacción, el moho o al crecimiento de bacterias. (Romero, 2009).

Sin lugar a dudas para el consumidor la textura juega un rol importante en términos de inferir la calidad de un alimento. Particularmente en el queso, la textura es uno de los atributos más importantes que ayudan a determinar la identidad del mismo (López, 2012).

### 3.3 Bacterias Ácido Lácticas

Las bacterias ácido lácticas (BAL) son microorganismos que tienen diversas aplicaciones, siendo una de las principales la fermentación de alimentos como leche para la producción de quesos. Las BAL, además de contribuir en la biopreservación de los alimentos, mejoran las características sensoriales como el sabor, olor, textura y aumentan su calidad nutritiva.

Las bacterias lácticas son un grupo de microorganismos representadas por varios géneros con características morfológicas, fisiológicas y metabólicas en común. En general las BAL son coco o bacilos Gram positivo, no esporulados, no móviles, anaeróbicos; carecen de cotocromos, no reducen el nitrato y producen ácido láctico como el único o principal producto de la fermentación de carbohidratos. (Carr 2002)



*Imagen 1. Lactobacillus Microfotografías tomadas de Ptrescotty, 2000.*

Todas las bacterias ácido lácticas fermentan diversos azúcares, produciendo ácido láctico en cantidades suficientemente elevadas como para inhibir o matar a la mayoría de los otros microorganismos. Con algunas excepciones, que incluyen algunos estreptococos, las BAL son inocuas para la especie humana y, además, sus productos metabólicos y tienen un sabor agradable. Estas propiedades nos permiten utilizar las bacterias del ácido láctico para preparar y conservar alimentos. Los alimentos deben contener suficiente cantidad de azúcares para que las bacterias ácido lácticas produzcan cantidades importantes de inhibidores. (Ingraham, 1998)

#### 3.3.1. Componentes antimicrobianos producidos por Bacterias Ácido Lácticas

La acción conservadora de las BAL es debido a la inhibición de un gran número de microorganismos patógenos y dañinos por varios productos finales de la fermentación. Estas sustancias son ácidos como láctico y acético, peróxido de hidrógeno, diacetilo, bacteriocinas y productos secundarios

generados por la acción de lactoperoxidasa sobre el peróxido de hidrógeno y tiocianato (Shirai, 1996).

La acumulación de ácido láctico y otros ácidos orgánicos producidos por BAL, reduce un pH al ambiente con un efecto inhibitor. En este sentido, la forma no disociada del ácido láctico puede penetrar con mayor facilidad la pared celular microbiana donde el pH más alto del contenido celular promueve la disociación, dando lugar a la liberación de iones hidrógeno y el anión correspondiente; de modo que, ambos iones interfieren en el metabolismo e inhiben el crecimiento celular (Vázquez, 2009).

El dióxido de carbono es un producto final de la fermentación heteroláctica y en ocasiones se obtiene por descarbolxilación de aminoácidos de las BAL. El dióxido de carbono promueve un ambiente anaeróbico, reduce el pH y puede ayudar a destruir la integridad de la pared celular microbiana. (Ouwahand, 1998).

### **3.3.3 Bacterias Ácido Lácticas en el queso.**

La mayoría de los derivados lácteos fermentados más tradicionales se obtienen utilizando bacterias lácticas, que se encuentran presentes en la leche. Las características y sabores de los diferentes productos lácteos fermentados dependen del tipo de bacterias lácticas que produzca la fermentación. (Ingraham, 1998)

Una forma de obtener una mayor carga de Bacterias Ácido Lácticas en el queso es por medio de cultivos.

Los cultivos iniciadores se definen como preparaciones que contienen microorganismos vivos aplicados con el objetivo de hacer uso de su metabolismo microbiano. Estos cultivos están constituidos por bacterias ácido lácticas y principalmente pertenecientes a los géneros *Lactococcus*, *Lactobacillus* y *Leuconostoc*. La primera y principal función de éstos es la formación de ácidos orgánicos, principalmente ácido láctico.

Las bacterias lácticas también tienen la capacidad de producir sustancias con actividad antimicrobiana. El espectro de actividad antimicrobiana de estos antimicrobianos es muy amplio, incluyendo a varias especies pertenecientes al grupo de las BAL, por ello, es muy importante determinar la compatibilidad entre cepas que formen parte de un cultivo iniciador. (Rivas, 2007)

### 3.4 Cinética microbiana

La cinética microbiana se refiere a cambios en un número de células, y la dinámica de la población. La cinética del crecimiento de células microbianas depende del medio químico extracelular (pH, fuerzas iónicas, actividad de agua, presencia de nutrientes y temperatura) y del medio intracelular (la mayoría del resultado de numerosas reacciones enzimáticas).

Hay algunos modelos de crecimiento, en los cuales influyen el efecto del pH, actividad de agua y temperatura, principalmente a través de polinomios obtenidos empíricamente por el mecanismo de penetración disponible, las condiciones extracelular e intracelular. (Martinus, 2009)

#### 3.4.1 Modelos matemáticos de cinética microbiana

El modelado matemático es una herramienta de gran utilidad en tecnología de alimentos, ya que permite analizar en forma cuantitativa el comportamiento microbiano en un determinado ambiente o sistema particular. El modelado matemático es realizado, generalmente, asumiendo condiciones constantes para determinar los valores de los parámetros cinéticos de crecimiento. Sin embargo, condiciones tales como temperatura, pH o composición de la atmósfera gaseosa no se mantienen constantes durante el almacenamiento refrigerado de los alimentos. Debido a este hecho, en la actualidad el modelado matemático está orientado a la obtención de modelos dinámicos, es decir, modelos que permitan predecir la seguridad o vida útil de los alimentos bajo condiciones fluctuantes. (Zarate, 2009)

Los modelos propuestos, ya sean primarios o secundarios, pueden ser de tipo empírico o de tipo mecánico. Los primeros son ecuaciones que expresan el comportamiento de los datos experimentales y por lo tanto, describen el desarrollo microbiano, los de tipo mecánico tienen además la ventaja de ser útiles para condiciones diferentes a aquellas para las que fueron desarrollados.

La propiedad más importante de un modelo primario es que describa de forma adecuada el crecimiento de los microorganismos y permita obtener estimaciones precisas de los parámetros que caracterizan dicho crecimiento. La variabilidad de las estimaciones depende de la técnica usada para monitorear el crecimiento y del modelo usado (Dalgaard, 2001).

Dada la existencia de diferentes modelos primarios, se hace necesario comparar el comportamiento de los mismos a fin de seleccionar el que asegure mejores resultados para un conjunto determinado de datos.

### **Modelo de Gompertz**

El modelo Modificado de Gompertz es uno de modelos primarios empleados en microbiología predictiva para el ajuste de datos de la curva de crecimiento.

La ecuación modificada de Gompertz se expresa de la siguiente manera, utilizando parámetros microbiológicos relevantes:

$$\log N = A + C \cdot \exp[\exp(-b(\text{tiempo} - M))] \quad \text{Ec. (1)}$$

Dónde:

$\log N$ : es el logaritmo común de poblaciones bacterianas (UFC/mL).

*Tiempo*: Es el periodo de incubación, es la variable independiente.

$A$ ,  $C$ ,  $b$  y  $M$ : son los parámetros de ajuste del modelo y representan a la curva de crecimiento.

$A$  es el logaritmo común de la población inicial en UFC/ml.

$C$  es el logaritmo común de la diferencia entre la población inicial y final en la fase estacionaria.

$b$  representa la pendiente de la curva y describe la tasa de crecimiento.

$M$  es el tiempo en el cual la tasa de crecimiento es de mayor magnitud.

Utilizando los ajustes del modelo de Gompertz, es posible calcular la fase de adaptación ( $\lambda$ ), la tasa máxima de crecimiento ( $\mu_{\max}$ ) y el tiempo de generación ( $Tg$ ), como descriptores microbiológicos a ser utilizados para efecto de predicción de la población en un tiempo dado y en cada temperatura incluida en el rango de estudio, a tal efecto, se utilizaron las siguientes expresiones matemáticas:

Fase de latencia o adaptación ( $\lambda$ ):

$$(\lambda) = M - \frac{1}{B} + \left( \frac{\log N - A}{\frac{b \cdot C}{\exp(1)}} \right) \quad \text{Ec. (2)}$$

Tasa específica de crecimiento ( $\mu_{max}$ ):

$$\mu_{max} = b * \frac{c}{\exp(1)} = \left[ \frac{\log\left(\frac{UFC}{mL}\right)}{h} \right] \quad \text{Ec. (3)}$$

Tiempo de generación (Tg):

$$T_g = \exp(1) * \frac{\log(2)}{b} * C = [h] \quad \text{Ec. (4)}$$

### **Modelo de Arrhenius**

El modelo de Arrhenius es útil para determinar el tiempo de vida de anaquel ya que la constante de velocidad de reacción es función de la temperatura, este modelo matemático describe la relación de la constante de velocidad de reacción con la temperatura.

Las reacciones de pérdida de calidad de los alimentos han mostrado que siguen un comportamiento de Arrhenius con la temperatura, dado por la siguiente ecuación:

$$K = K_o * \exp\left(-\frac{Ea}{RT}\right) \quad \text{Ec. (5)}$$

Donde K es la constante de velocidad de la reacción, Ko es la constante de la ecuación de Arrhenius y Ea la energía de activación que se necesita para vencer la degradación de productos.

Al calcular la energía de activación, se logra determinar la sensibilidad que cada microorganismo presenta frente a los cambios térmicos. Los cambios térmicos que se presenten en los alimentos que contienen microorganismos que les son útiles para su conservación son de suma importancia.

La vida de anaquel se puede determinar a partir de Arrhenius por una ecuación que involucre la energía de activación, obteniendo:

$$t_s = t_0 e^{-\frac{Ea}{R}\left(\frac{1}{T_0} - \frac{1}{T_s}\right)} \quad \text{Ec. (6)}$$

Dónde:

$t_s$ : Tiempo de vida de anaquel a la temperatura  $T_s$ ,

$t_0$ : Tiempo a la temperatura  $T_0$ ,  $R$  es la constante de los gases ideales

$E_a$ : Energía de activación para la reacción de deterioro. (Giraldo, 1999)

### 3.5 Parámetros fisicoquímicos y organolépticos que influyen en la vida de anaquel.

#### Análisis Térmicos

Ya que la vida de anaquel está determinada por tiempos y temperatura de almacenamiento, por tanto su carga microbiana también dependen de estos parámetros y los productos llegarán al equilibrio. La termodinámica puede ser usada para caracterizar diferencias en las propiedades físicas de diferentes estados, así como las fuerzas que lo llevan al equilibrio. Los alimentos y materiales biológicos son metaestables y exhiben cambios dependientes del tiempo como se aproximan al equilibrio. (Ross, 1995)

La calidad de los alimentos engloba muchos aspectos, como sus características físicas, químicas, microbiológicas y sensoriales. Es por ello que los análisis fisicoquímicos son de suma importancia para relacionar cual es la calidad del alimento durante su vida de anaquel.

#### Análisis Termogravimétrico (TGA)

La variable adicional a esta técnica es la masa. Ésta consiste en la comparación de fuerzas externas de gravedad sobre las masas que son comparadas. TGA se utiliza para caracterizar cualquier material que muestre pérdida o ganancia de masa para detectar cambios de fase debido a su descomposición, oxidación o deshidratación, además, ayuda a la determinación de las condiciones de análisis en el calorímetro diferencial de barrido y a la interpretación de los resultados. (Dallas, 2006).

TGA da información acerca de: estabilidad térmica de materiales, estabilidad de oxidación de materiales composición de sistemas multicomponentes, tiempo de vida estimado de un producto,

cinética de descomposición de materiales, efecto de atmósferas corrosivas o reactivas en materiales, contenido de humedad y volátiles de materiales. (Cabrero 2011).

El análisis termogravimétrico se encuentra en la medición exacta del peso perdido o ganado en un intervalo de temperatura o tiempo de análisis bajo una atmósfera inerte; para ello el analizador termogravimétrico cuenta con una balanza controlada por fotodiodos. (Saninger, 2010)

Ya que este análisis involucra la pérdida de masa con la de humedad, este parámetro ayudará a comparar como se ve favorecido o no el crecimiento de las BAL.

### **Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)**

Calorimetría diferencial de barrido (DSC) se puede definir como la medida del calor entre las temperaturas de una muestra y una referencia para dar su respuesta de barrido ya que crea un perfil térmico del material analizado en un rango de temperaturas. DSC consiste en someter una muestra a un aumento o disminución de temperatura para obtener la medición de la temperatura y energía asociada a una serie de transiciones de la muestra bajo una atmosfera controlada. (Brown, 1998).

Para fines de la determinación de vida de anaquel este estudio nos servirá para conocer cuál es la fuerza que tiene la red proteica que forma el queso y así conocer las temperaturas en las cuales habrá una descomposición de las redes que se forman.

### **Actividad de agua (aw)**

Se entiende como actividad de agua, la humedad en equilibrio de un producto, determinada por la presión parcial del vapor de agua en su superficie. El valor aw depende de la composición, la temperatura y el contenido en agua del producto. Tiene incidencia sobre las características de calidad, tales como: textura, sabor, color, gusto, valor nutricional de los alimentos y su tiempo de conservación. Los microorganismos necesitan la presencia de agua, en una forma disponible, para crecer y llevar a cabo sus funciones metabólicas. (Boatella, 2004)

Para la medición de aw se utiliza un instrumento que tiene un sensor basado en un electrolito (generalmente Cloruro de Litio), depositado entre dos electrodos, que mide el cambio de impedancia (resistencia aparente de un circuito eléctrico al paso de la corriente alterna) eléctrica producida por el

cambio de la humedad relativa de una cámara en la que se encuentra la muestra a una temperatura determinada. (Boatella, 2004)

### **pH**

El pH es una medida de la acidez o alcalinidad y se expresa como el logaritmo negativo en base 10 en la actividad de iones de hidrógeno.

El pH es uno de los parámetros que afecta sobre todo las propiedades texturales del alimento, en el caso de los quesos el efecto que se tiene sobre la red de proteínas y tiene un efecto importante en el crecimiento de microorganismos. Un pH cercano al punto isoeléctrico provoca fuertes fuerzas iónicas e hidrófobas, que resultan en una red de caseína compacta típica de los quesos duros, mientras que en el caso de un pH más alto las caseínas presentan una carga negativa, lo que genera repulsión entre los agregados proteicos, generándose un queso con mayor humedad, más elástico y menos compacto. (López 2012).

### **Acidez**

La acidez en los alimentos se deriva básicamente de los ácidos orgánicos e inorgánicos que pudiesen estar presentes. La acidez está asociada con los grupos carboxílicos presentes y normalmente se determinan mediante titulación

El cálculo de la acidez titulable se expresa como el porcentaje de peso del ácido que se encuentra en la muestra.

$$\%Acidez = \left( A * B * \frac{C}{D} \right) * 100 \quad \text{Ec. (7)}$$

Dónde:

A es la cantidad en mililitros del álcali

B la normalidad del álcali utilizado

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

D el peso de la muestra en miligramos (NMX-F-206-1986)

### Análisis de Perfil de Textura (TPA)

Sin lugar a duda para el consumidor la textura juega un rol importante en términos de inferir la calidad de un alimento, en especial en el queso este es uno de los atributos más importantes y que lo definen.

Al análisis de textura se le define como una muestra imitativa en el cual se pretende reproducir el masticado de un producto siendo útil en el proceso de control de calidad. Las propiedades texturales de los alimentos son aquellas que están relacionadas con el flujo, deformación y desintegración del producto y las cuales pueden ser evaluadas mediante un Análisis de Perfil de Textura (TPA). (Sharma, 2000)

El TPA consiste en una prueba de doble compresión en las cuales se someten muestras del producto a una compresión del 80 a 90% de su altura inicial, la cual resulta casi siempre en la ruptura del alimento. Los principales parámetros texturales obtenidos con el análisis de perfil de textura son: fractura, dureza, cohesión, adhesividad, gomosidad y masticabilidad. (Bourne, 2002).

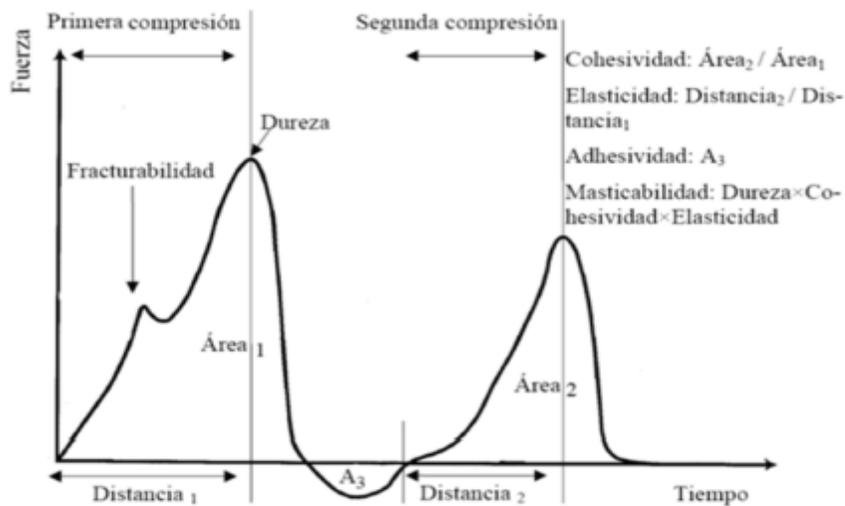
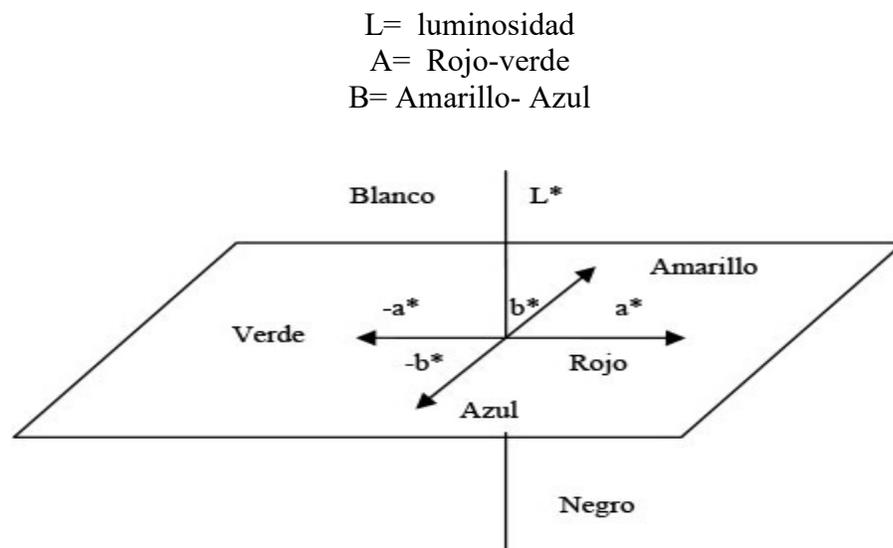


Figura 2. Gráfico general de Análisis de Perfil de Textura.

### Colorimetría

La colorimetría es el estudio de los parámetros del color. El modelo cromático usado normalmente para describir todos los colores que puede percibir el ojo humano está dado de la siguiente manera. (Alvarado, 2001)



*Figura 3. Coordenadas colorimétricas, sistema CIELAB*

Ya que el color y la apariencia son el primer contacto que tiene el consumidor con un alimento. El color está relacionado con las cualidades sensoriales, la composición química y, por lo tanto, uno de los factores que define la calidad de un producto alimentario.

#### 4. JUSTIFICACIÓN

Por sus características las Bacterias Ácido Lácticas (BAL), principalmente el *Lactobacillus* es utilizado en la industria láctea como agente fermentador. La eficiencia en su utilización se puede mejorar en la medida que se conozcan sus reacciones a los cambios en las condiciones ambientales. (Villegas, 2008). El establecer modelos cinéticos para conocer su comportamiento es una herramienta útil, ya que las BAL influyen notablemente en los cambios químicos, bioquímicos, fisicoquímicos y sensoriales durante la maduración y/o almacenamiento de los quesos.

Van de la mano otros deterioros como sinéresis (pérdida de fuerza de las redes de caseína), pérdida de humedad, cambios en pH y acidez, cambios de color y cambios en la textura del queso. Estos cambios también ayudarán a determinar la vida útil del producto, ya que la apariencia del queso es un rubro importante en la determinación de la vida útil del producto.

Ya que los quesos elaborados artesanalmente por lo general no contienen ningún conservador, por lo cual conocer el desarrollo de las BAL puede ser de utilidad para conocer diversos cambios que el producto tiene y evaluar la calidad de este, así como determinar su vida de anaquel.

## 5. HIPÓTESIS

El deterioro del Queso Manchego se verán afectadas por la variación de la composición causada por la fermentación láctea, que modificará características texturales así como de color y cambios en la humedad esto se vera afectados por la temperatura y tiempos de almacenamiento; los cuales permitirán crear una cinética de desarrollo de BAL a través del conteo en placa (UFC/ mL).

## 6. OBJETIVOS

### 6.1 Objetivo general

Establecer el tiempo y temperatura de vida de anaquel óptimo de tres diferentes marcas de Queso Manchego, a través del estudio de la cinética de desarrollo de Bacterias Ácido Lácticas (BAL).

### 6.2 Objetivos particulares

- Determinar la cinética de deterioro mediante el desarrollo de BAL para hacer una posible predicción del tiempo y temperatura en el que se alcance la mínima degradación del Queso Manchego.
- Detectar mediante Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) la fuerza de la red que forma el Queso Manchego para determinar la calidad del producto.
- Evaluar la pérdida de humedad a diferentes temperaturas mediante Análisis Termogravimétrico (TGA) para conocer la estabilidad y apoyarse de esta para la determinación de la vida útil del producto.
- Determinar la actividad de agua ( $a_w$ ) y pH para así conocer el efecto que tiene sobre el crecimiento de BAL y sobre efectos sensoriales del Queso Manchego.
- Valorar la textura mediante Texturómetro y cambios de color mediante colorimetría para conocer el efecto del tiempo y temperatura de almacenamiento.

## 7 MATERIALES Y METODOS

### A) Tratamiento de muestras.

Se trabajó con tres muestras de Queso Manchego elaborado artesanalmente (A, B y C). Se almacenaron a tres distintas temperaturas (6, 10 y 25°C) y el análisis se realizó cada 10 días durante un mes, con tres réplicas.

Se utilizó el método recomendado por la Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos (ICMSF). El cual recomienda que la muestra sea un queso entero o una parte sustancial del mismo. Por lo que se usaron partes de 250 g cada muestra.

En la Tabla se muestra la codificación que se utilizó para cada una de las muestras:

*Tabla 1. Codificación de las muestras de Queso Manchego*

PRODUCTO	TEMPERATURA DE ALMACENAMIENTO	TIEMPO DE ALMACENAMIENTO
A1, B1, C1	4-6°C	30 días, realizando lecturas cada 10 días.
A2, B2, C2	10-12°C	
A3, B3, C3	23-25 °C	

### B) Determinación De Bacterias Ácido Lácticas.

#### Preparación de la solución primaria

Se pesó una cantidad de 10 a 11 g de la muestra por analizar en una bolsa plástica estéril. Se adicionó un volumen de 9 mL del diluyente (Solución salina NaCl al 0.85%) llevado a una temperatura similar a la de la muestra. Se homogenizó la muestra hasta obtener una suspensión completa y homogénea y se mantuvo en reposo hasta que las partículas grandes se sedimentaron y se transfirió 1 mL de la capa superior de la suspensión a tubos con solución salina. (NOM-110-SSA1-1994)

### **Preparación de las diluciones decimales adicionales.**

Se transfirió 1 mL de la dilución primaria, en otro tubo de ensayo conteniendo 9 mL de NaCl al 0.85% estéril, evitando el contacto entre la pipeta y el diluyente. Se mezcló cuidadosamente cada tubo de ensayo del diluyente, realizando 6 diluciones. (NOM-110-SSA1-1994)

### **Preparación de medio de Cultivo**

Se utiliza el medio Agar Láctico con la composición que se muestra en la Tabla 2.

*Tabla 2. Composición de Agar Láctico.*

<b>Compuesto</b>	<b>Cantidad (g)</b>
Triptona	20.0
Extracto de Levadura	5.0
Gelatina	2.5
Lactosa	5.0
Cloruro de Sodio	4.0
Acetato de Sodio	1.5
Ácido ascórbico	0.5
Agar base	15
Agua destilada	1000

Se ajusta el pH a 7.0 +/- 0.2 y se esterilizó en autoclave a 121°C durante 15 min.

### **Método Miles and Misra**

Se utilizó el método Miles and Misra este es un conteo de gota en superficie. Se dividieron en 4 sectores las cajas Petri, en los cuales se colocaron 0.02 mL de dilución en forma de gota en un área aproximada de 1.5 a 2 cm de diámetro.

La incubación se llevó a cabo durante 18-24 horas a 37°C. Se realizó el método Gram para identificar la morfología característica de las Bacterias Ácido Lácticas y así poder cuantificar solo las colonias viables. (Allaert, 2002)

### C) Parámetros Cinéticos para la Determinación de Vida de Anaquel.

Utilizando el modelo de Gompertz, se determinaron parámetros de la curva de crecimiento microbiano, los datos para esta predicción se obtuvieron del conteo de UFC/mL de BAL que se desarrollaron en cada una de las muestras.

- Fase de adaptación ( $\lambda$ ) utilizando la siguiente expresión matemática:

$$(\lambda) = M - \frac{1}{B} + \left( \frac{\log N - A}{\frac{b \cdot C}{\exp(1)}} \right) \quad \text{Ec. (2)}$$

- Tasa específica de crecimiento ( $\mu_{max}$ ):

$$\mu_{max} = b * \frac{C}{\exp(1)} = \left[ \frac{\log\left(\frac{UFC}{mL}\right)}{h} \right] \quad \text{Ec. (3)}$$

- Tiempo de generación (Tg):

$$T_g = \exp(1) * \frac{\log(2)}{b} * C = [h] \quad \text{Ec. (4)}$$

Para determinar la vida de anaquel de las muestras se utilizó el Modelo de Arrhenius, se determinó la  $E_a$  para así poder utilizar la siguiente expresión matemática:

$$t_s = t_0 e^{-\frac{E_a}{R} \left( \frac{1}{T_0} - \frac{1}{T_s} \right)} \quad \text{Ec. (6)}$$

Se obtuvo el valor  $Q_{10}$  para definir la velocidad de la reacción de deterioro utilizando la siguiente expresión:

$$Q_{10} = \exp^{10 \cdot b} \quad \text{Ec. (8)}$$

#### **D) Determinación de Parámetros Físicos y Fisicoquímicos.**

##### **Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) y Análisis Termogravimétrico (TGA)**

Se utilizaron los instrumentos DSC Q2000 y TGA Q500 de TA Instruments<sup>TM</sup>, en el cual se colocó una muestra entre 10-20 mg. La velocidad de calentamiento a la cual se sometieron las muestras fue de 10°C/min.

Iniciando a una temperatura de -10°C programando a una temperatura final de 120°C para DSC y para TGA se inició una temperatura ambiente de entre 25-30°C hasta llegar a 120°C.

##### **Actividad de agua (aw)**

Se utilizó el equipo AquaLab Serie 3 en cual se colocó la muestra en las cajas Petri hasta llegar a la mitad evitando que la muestra tocara los bordes. Se introdujo la muestra al equipo y se tomó la lectura dada.

##### **pH**

Se tomaron 2 g de la muestra se homogenizó y diluyó con 20 mL de agua destilada.

Se calibró el potenciómetro Conductronic pH 120 con la solución Buffer, posteriormente se realizó la lectura en el potenciómetro provisto de un electrodo de membrana de vidrio que se introdujo en el la muestra disuelta y una vez que la lectura se mantuvo esta se tomó.

##### **Acidez**

Se tomaron 10 g de muestra finamente molidos. Se colocaron en un frasco volumétrico de 100 mL. Se añadió agua destilada a 40° C. La mezcla se agitó vigorosamente, se filtró y con una pipeta se tomaron 50 ml del filtrado.

Se llenó una bureta con una solución de Hidróxido de Sodio (NaOH) al 0.1 N. Se colocó en un matraz Erlenmeyer con la muestra en forma de solución. Se adicionaron 5 gotas de Fenolftaleína al 1 % como indicador y se agitó lentamente; se adicionó gota a gota la solución de NaOH 0.1 N, al mismo tiempo se agitó lentamente el Erlenmeyer con la muestra. Cuando apareció el color rosa, se siguió agitando el frasco durante 15 segundos para ver si el color permanecía. En caso necesario, se

adiciono cada vez una gota extra del NaOH 0.1 N y cuando el color permaneció por 15 segundos, se terminó la titulación.

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

$$\%Acidez = \left( A * B * \frac{C}{D} \right) * 100 \quad \text{Ec. (7)}$$

### **Análisis de Perfil de Textura**

Las muestras utilizadas en esta determinaciones tuvieron una geometría específica de entre 35-40 mm, para que su deformación fuera controlada a fin de permitir definir lo más exactamente posible la respuesta reológica del producto.

La muestra se sometió a un Análisis de perfil de textura (TPA) en el texturómetro Shimadzu Universal Tester en el cual se obtuvieron datos de dureza, elasticidad y masticabilidad

### **Colorimetría**

Se utilizó el colorímetro Minolta CR-400 del cual se obtuvieron los valores de espectro de color en coordenadas L\*, a\*, b\*, de las cuales se obtuvo un promedio para conocer la degradación que tuvo el color durante el almacenamiento.

La caracterización objetiva del color de los quesos se realizó considerando las coordenadas colorimétricas del espacio CIEL\*a\*b\*, siendo L\* la luminosidad (con valores comprendidos entre 0 y 100), a\* la desviación hacia el rojo (+) y el verde (-) y b\* la desviación hacia el amarillo (+) y el azul (-). Para ello se utilizó un espectrocolorímetro (Minolta, CM 3600D, Japón) tomando como referencia el observador 10° e iluminante D65. Las lecturas se realizaron a temperatura ambiente (22±1°C) directamente sobre la superficie de muestras cilíndricas de 10 mm de altura y 20 mm de diámetro.

## 8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

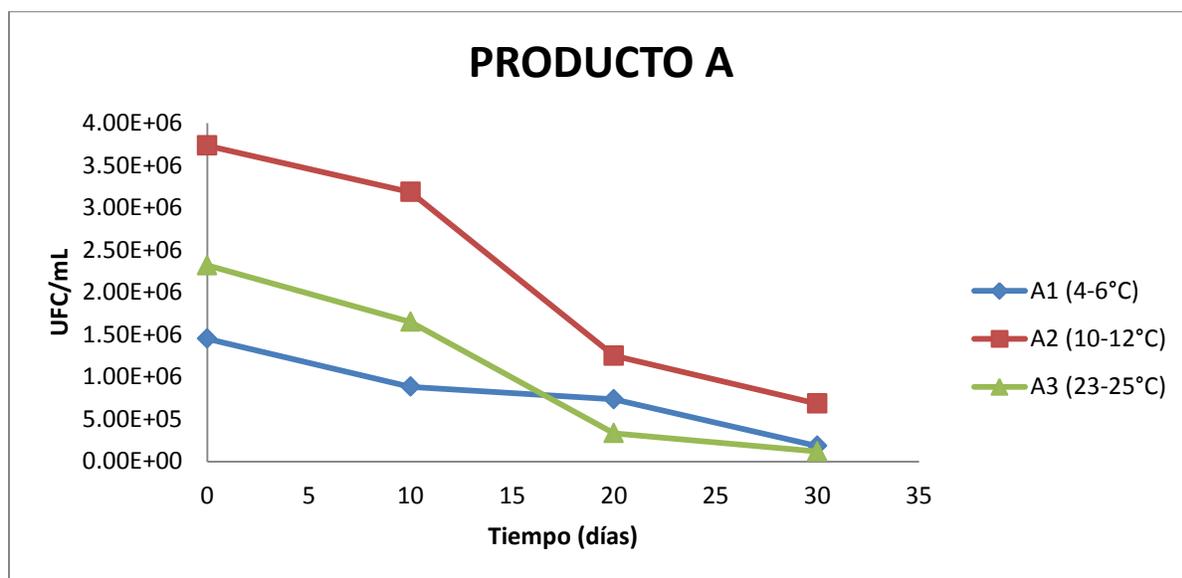
### A) Parámetros Cinéticos para la Vida de Anaquel.

En la determinación de Bacterias Ácido Lácticas en el agar Láctico se presentaron diversas morfologías de colonias. Las cuales fueron pequeñas, medianas, grandes elevadas y cremosas; se encontró otra morfología la cual fue radial, plana y cremosa.

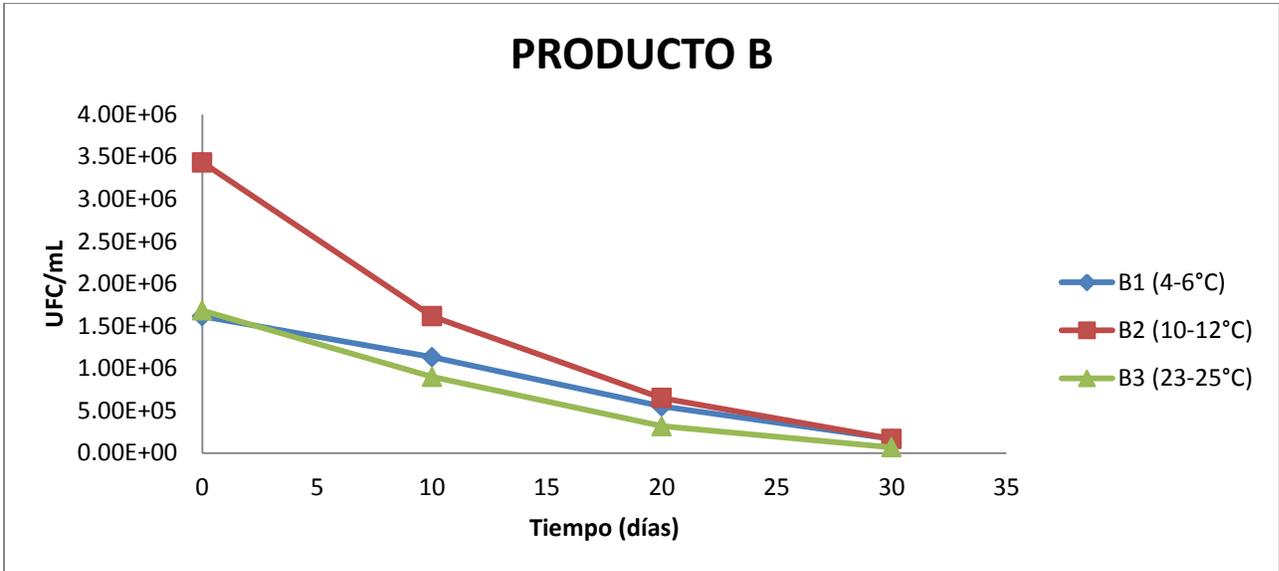
Estas colonias se identificaron mediante la prueba de Gram, encontrando en la morfología radial, plana, cremosa y estructura de cocos, Gram (-). Por lo cual esta se descartó debido a que no cumplió con las características propias de una BAL.

Obteniendo que las estructuras pequeñas, medianas, grandes, elevadas y cremosas se consideraron bacilos y cocos Gram (+), siendo estas colonias las que se tomaron en cuenta para realizar la cuenta en placa.

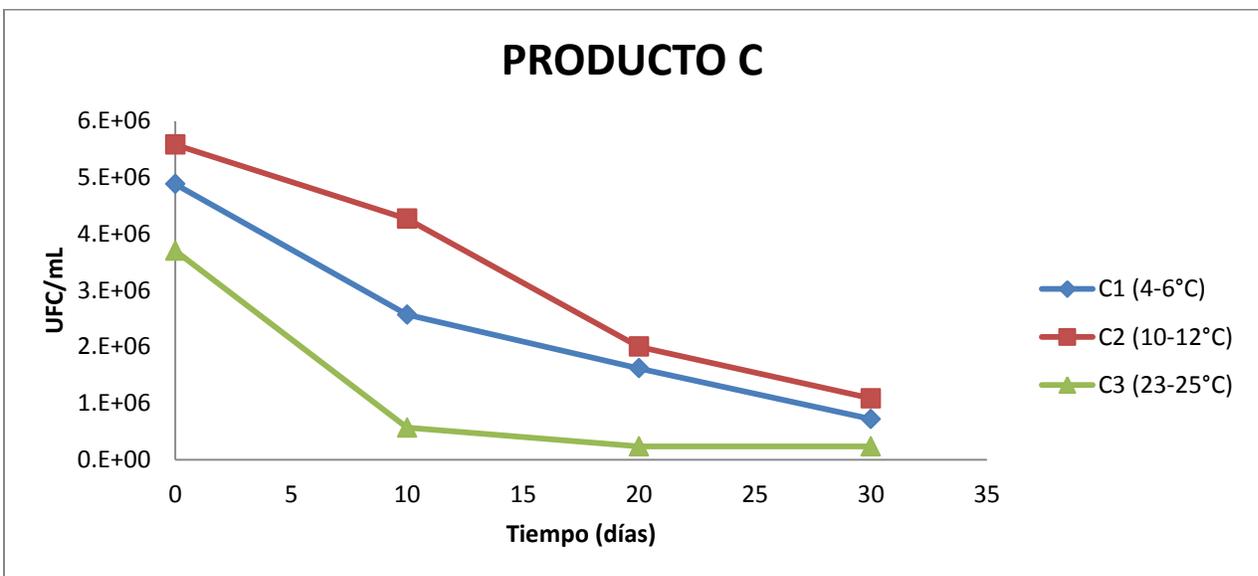
Posteriormente se cuantificaron las colonias en los distintos tiempos establecidos, en los cuales la carga de BAL fue disminuyendo en la Gráfica 1, 2 y 3 se muestra el comportamiento que se tuvo en cada tipo de muestra.



Gráfica 1. Desarrollo de BAL en producto A a diferentes temperaturas de conservación



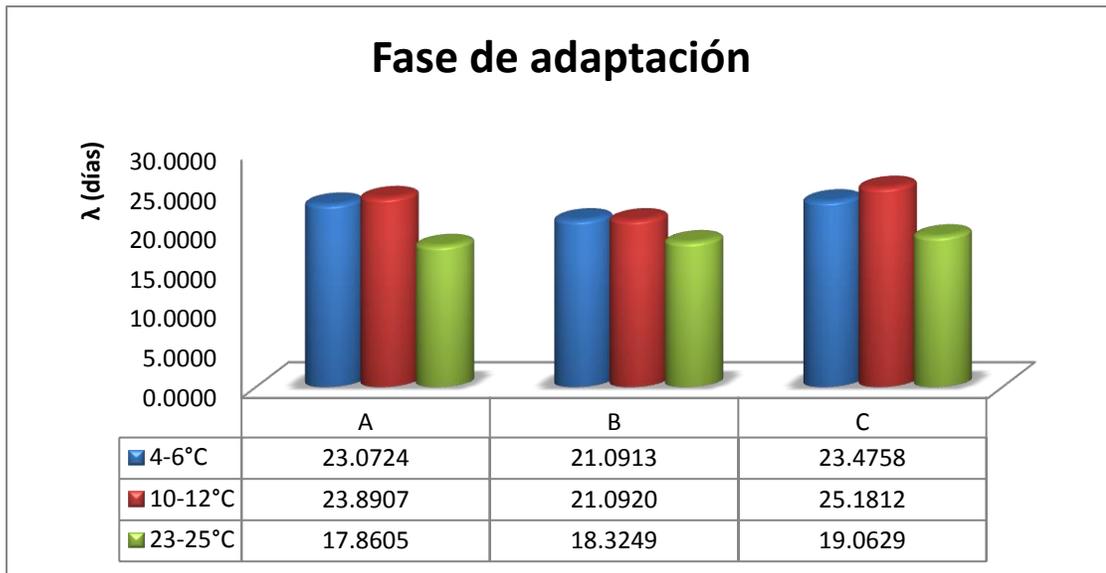
Gráfica 2. Desarrollo de BAL en producto B a diferentes temperaturas de conservación



Gráfica 3. Desarrollo de BAL en producto C a diferentes temperaturas de conservación

La disminución de bacterias ácido lácticas se debe a la pérdida gradual de las condiciones óptimas para que las BAL se mantuvieran, ya que los principales factores que afectan su desarrollo como el pH y acidez se fueron modificando y afectando su proliferación. En el almacenamiento a 10°C (A2, B2 y C2) fue en donde se observó una mayor cantidad de estas Bacterias debido a que las condiciones en las que se almacenaron fueron favorables para los microorganismos biopreservadores.

Para la determinación de los parámetros cinéticos se utilizaron los valores de UFC/mL



**Gráfica 4. Tiempo de adaptación de BAL a diferentes temperaturas de conservación**

En el gráfico 4 se muestra la fase de adaptación o lag de las Bacterias Ácido Lácticas presentes en las muestras, esta fase representa el tiempo de vida de anaquel determinado por el método de Gompertz ya que en esta fase es donde las bacterias se están adaptando a las condiciones de desarrollo.

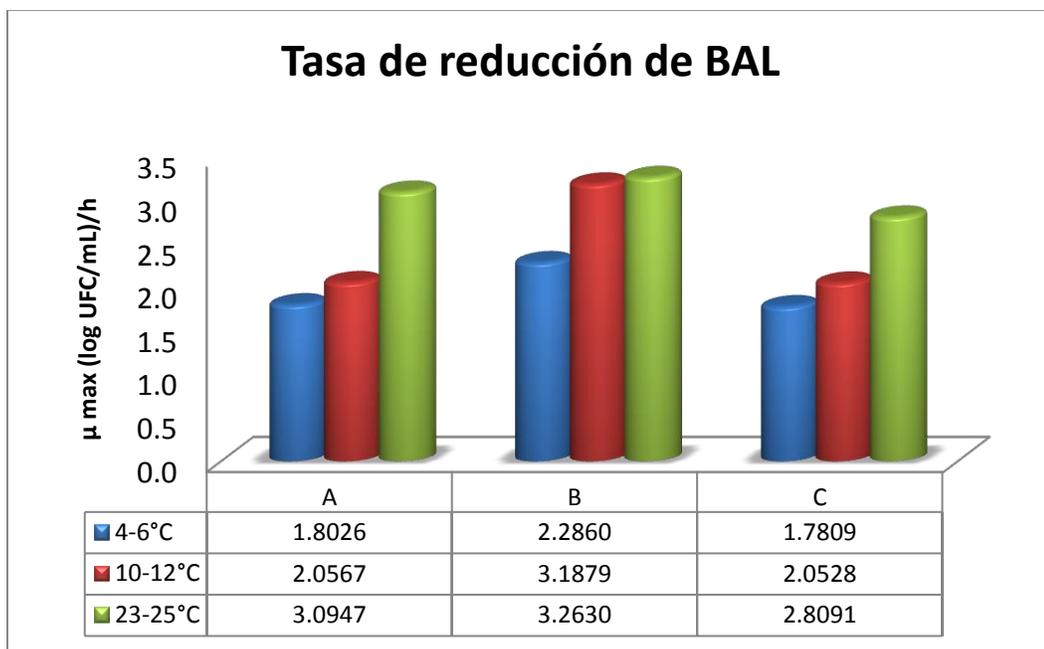
Mientras se conservan a mayores temperaturas el tiempo de adaptación de las BAL disminuye por lo tanto su vida de anaquel será menor. Como se muestra en la gráfica 4 al aplicar la ecuación de Fase de latencia (Ec. 2)  $\lambda$  indica que a temperatura de entre 23 y 25 °C las bacterias se adaptan alrededor de los 17 y 19 días, por lo que estas entrarán a la etapa de muerte antes que las bacterias que se encuentran en las muestras almacenadas a 4-6°C y 10-12°C afectando las características del queso.

Se aplicó la ecuación de tasa específica de crecimiento  $\mu_{maz}$  (Ec. 3) los resultados obtenidos se muestran en la gráfica 5. En este caso se expresa como tasa de reducción ya que el comportamiento de desarrollo que se tuvo de las bacterias fue decreciente, por lo tanto se obtuvo que a mayor temperatura de almacenamiento se tiene una mayor pérdida de bacterias por lo que a temperatura de 23-25°C se tendrá una descomposición más rápida del producto.

El tiempo de descomposición y tasa de reducción se ve aumentada a temperatura de 25 °C, por lo que su tiempo de vida de anaquel será menor ya que la muerte de las bacterias biopreservadoras ocurre en un menor tiempo.

En la fase lag las bacterias se están adaptando y estas se encuentra latentes por lo tanto favorecerán a la calidad y apariencia del queso manchego, ya en esta etapa se conservara la propiedad de las BAL de ser un conservador lo cual contribuirá a prolongar su vida de anaquel.

El tiempo de generación (Ec. 4) se muestra en el gráfico 6. En donde la temperatura de almacenamiento es directamente proporcional con la tasa de reducción y tiempo de deterioro el cual representa la velocidad con la cual se va descomponiendo el producto. Por lo tanto podemos utilizar a las BAL como un indicador de calidad en donde se puede ir relacionando las características organolépticas del queso.



**Gráfica 5. Tasa de reducción de BAL a diferentes temperaturas de conservación**

Se observa que a mayor temperatura se tiene una mayor reducción ya que como en la ecuación de tasa de crecimiento involucra la relación del desarrollo de las bacterias y como se ha estado observando a temperatura de 23-25°C es donde se obtuvo una mayor disminución de las bacterias.



**Gráfica 6. Tiempo de Generación de BAL a diferentes temperaturas de conservación**

En la fase de adaptación, las BAL a una temperaturas de almacenamiento a 10 °C se tiene un mayor tiempo de adaptación lo cual se ve relacionado con el tiempo de descomposición y la tasa de reducción, permaneciendo en un punto medio, obteniendo los siguientes resultados; para el producto A disminuyo 2.0567 BAL en 0.1181 horas, B de 3.1879 BAL en 0.1630 horas y en C 2.0528 BAL en 0.1019 horas como se observa en las Gráficas 5 y 6.

Según los resultados obtenidos se puede decir que en la fase de adaptación las BAL tendrán un mayor efecto conservador lo cual ayudara en las propiedades organolépticas del queso, sobre todo se verán favorecidas estas características a temperaturas que oscilen entre los 10 y 12°C. (Zarate, 2009)

Para la determinación de los parámetros cinéticos por el modelo de Arrhenius, se planteó la siguiente ecuación cinética:

$$\frac{d \text{UFC}}{dt} = K \text{UFC}^n \quad \text{Ec. (9)}$$

Linealizando la ecuación se tiene:

$$\text{Ln} \left( \frac{d \text{UFC}}{dt} \right) = \text{Ln} K + n \text{Ln} \text{UFC} \quad \text{Ec. (10)}$$

Se construyó un gráfico de  $\ln(dUFC/dt)$  vs  $\ln(UFC)$  para cada una de las muestras (A, B y C), donde la pendiente corresponde al valor de  $n$  y la ordenada al origen corresponde a  $\ln K$ .  $(dUFC/dt)$  fue encontrado graficando UFC vs tiempo de almacenamiento. Esto se muestra en el gráfico 7.

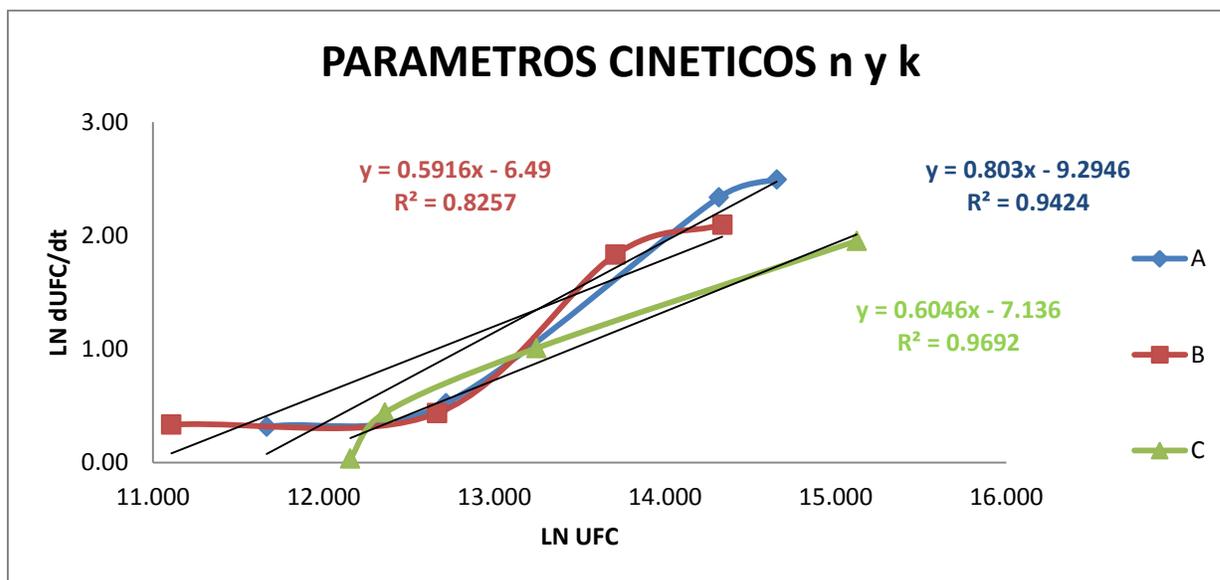
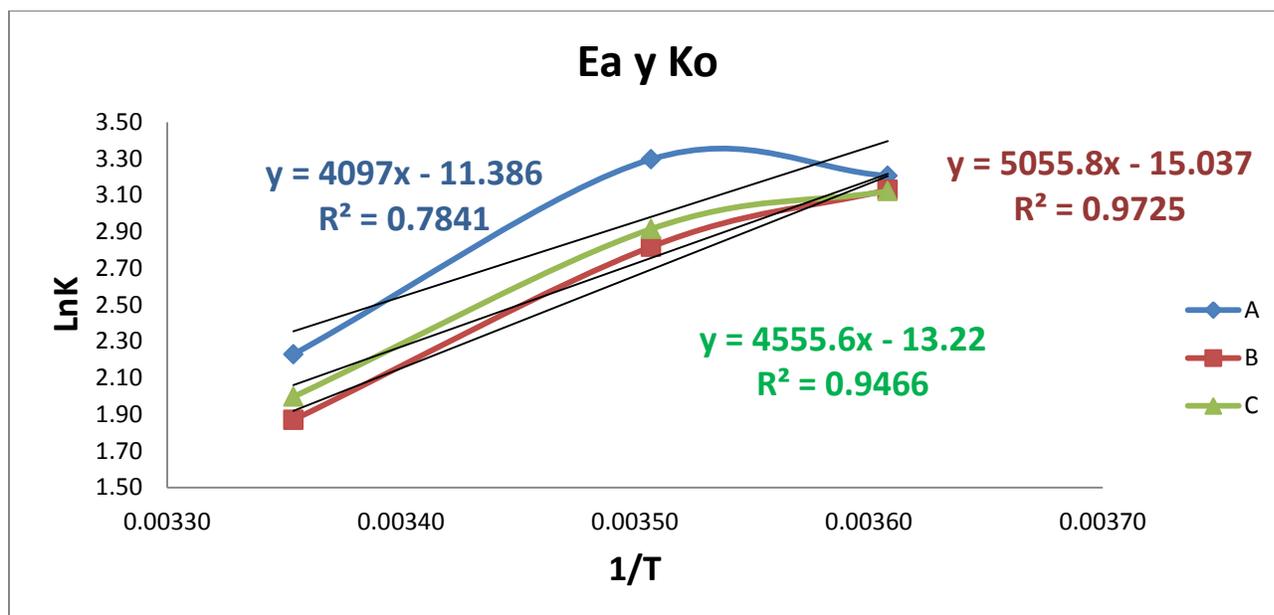


Gráfico 7. Parámetros cinéticos  $n$  y  $K$  para la determinación de la vida de anaquel de queso manchego

El orden de reacción obtenido para cada producto, se adapta a la teoría de la cinética química para el deterioro de los alimentos, el cual puede estar entre cero, uno o dos; para este caso se observa que se tiene un orden de tipo cero para las tres muestras, por lo que se adaptan a la teoría de la cinética química, también se puede observar que  $K$  es menor en las temperaturas de almacenamiento mayores.

Linealizando la ecuación del modelo de Arrhenius se tiene que la pendiente corresponde al valor  $E_a/R$  y la ordenada al origen corresponde a  $\ln K_0$  (Gráfico 8).



Gráfica 8. Parámetros Cinéticos  $K_o$  y  $E_a$  para la determinación de la vida de anaquel de queso manchego

Los valores de  $K_o$  muestran la degradación que tiene el producto, teniendo un comportamiento de una forma relativamente alta. Esto se confirma ya que los lácteos son alimentos altamente perecederos, debido a las características que estos presentan.

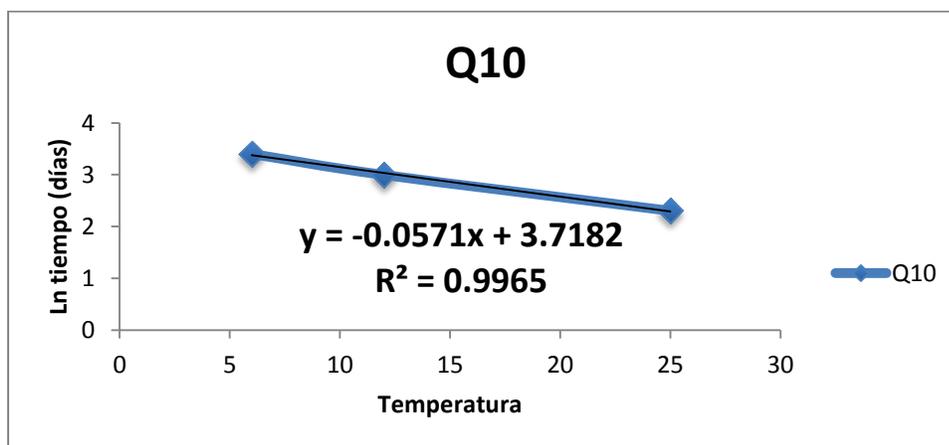
Una vez determinados los parámetros cinéticos, se calculó la vida de anaquel a las diferentes condiciones de almacenamiento. Obteniendo los datos plasmados en la gráfica 9.



*Gráfica 9. Tiempo de Vida de anaquel para queso manchego*

En el gráfico 10 se muestra Ln del tiempo de vida de anaquel vs temperatura, del cual se obtiene la pendiente (b) para el cálculo de Q10, obteniéndolo de la siguiente ecuación:

$$Q_{10} = e^{10xb} \quad \text{Ec. (8)}$$



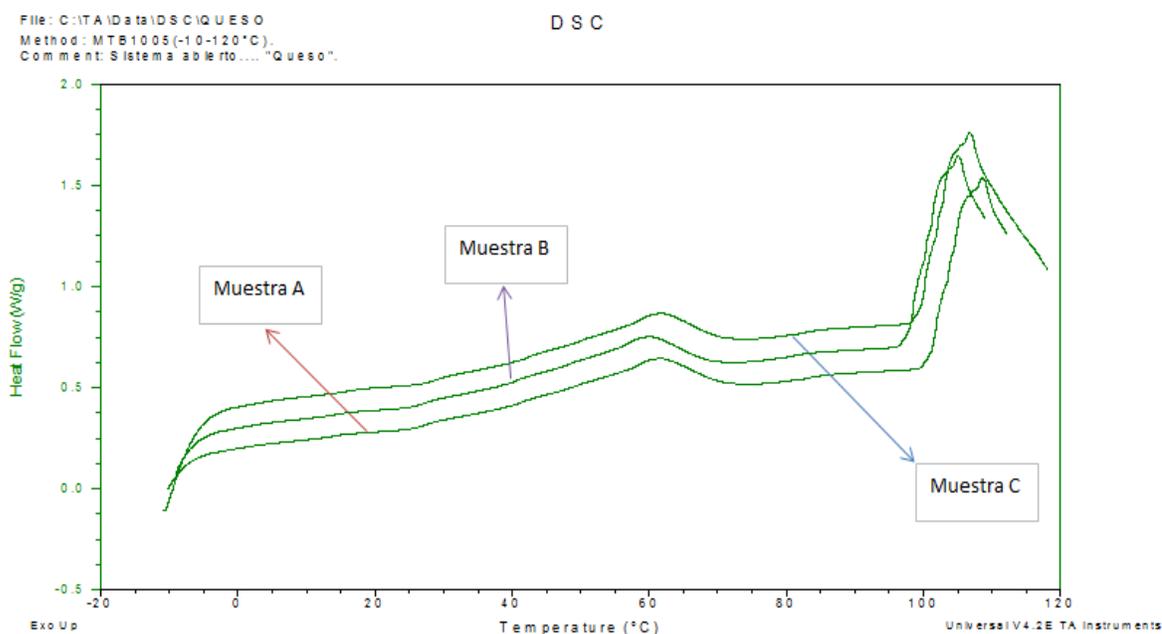
*Gráfica 13. Parámetro Q<sub>10</sub> para queso manchego*

El valor de Q10 corresponde a 1.77 para el queso manchego, esto significa que la velocidad de la reacción de deterioro se acelera 1.77 días por cada 10° de temperatura que se aumenten.

Al utilizar el Modelo de Arrhenius se puede realizar una mejor predicción de la vida de anaquel del queso manchego ya que en este modelo matemático se involucra el desarrollo de las bacterias ácido láctico así como la temperatura a la cual se almaceno.

### B) Determinación de Parámetros Físicos y Fisicoquímicos para la Vida de Anaquel.

Ya que los parámetros físicos y fisicoquímicos de igual manera son importantes para la determinación de la Vida de anaquel y el crecimiento de las Bacterias ácido lácticas. Por lo cual se determinó DSC y TGA (gráfico 11 y 12), pH (gráfico 13), %Acidez (gráfico 14), Colorimetría (gráfico 16, 17 y 18) y Análisis de perfil de textura (gráfico 19,20 y 21).



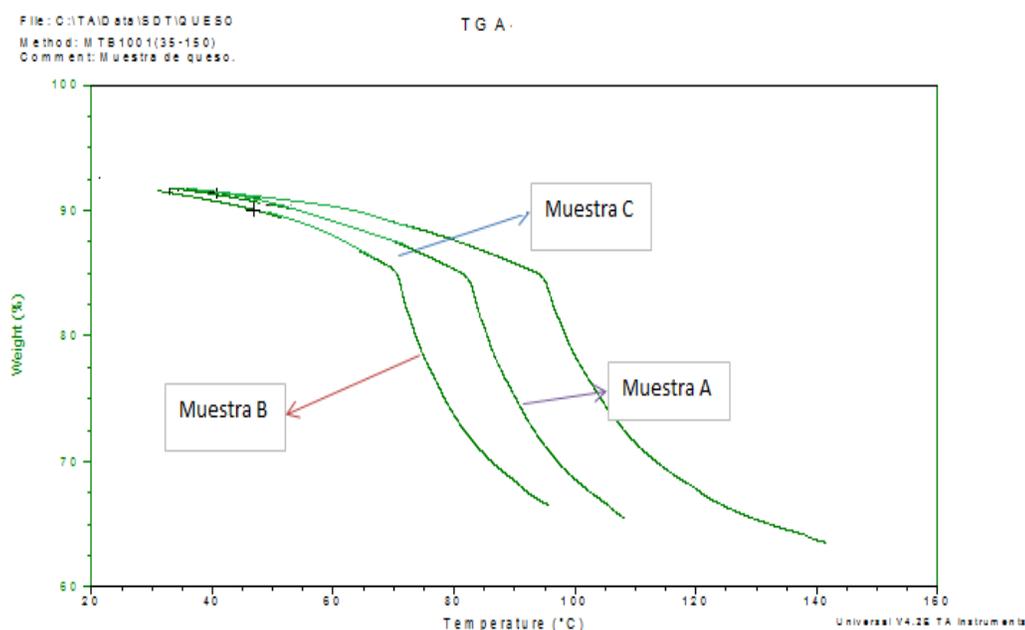
*Gráfica 11. DSC de muestra A, B y C de queso manchego*

El comportamiento de la fuerza de la red proteica del gráfico 11 se mantiene estable ya que el mayor cambio que se muestra en el termograma se muestra hasta la temperatura de 60°C, presentando el primer pico y posteriormente se observa un mayor cambio hasta llegar aproximadamente a los 100°C.

López, 2004 reporta que los fermentos lácticos metabolizan la lactosa, las caseínas y el citrato de la leche para originar ácido láctico, péptidos, aminoácidos y otra serie de compuestos como diacetilo,

CO<sub>2</sub> y acetato que determinan las características organolépticas y la textura del queso, por lo que al llegar a la temperatura de 60°C, es donde se da la degradación de la caseína presente en el queso generando aminoácidos. Al llegar a esta temperatura se generara un sabor amargo en el queso a causa de la proteólisis que se lleva a cabo.

En el pico que se observa aproximadamente a los 110°C ocurre la descomposición de la lactosa, Celis, 2009 reporta que al tener altas temperaturas se degrada la lactosa hidratada ( $\alpha$ -lactosa) perdiendo agua y transformándose en lactosa anhídrido lo cual se observa en segundo pico de la gráfica 11. A temperaturas superiores a 130°C se produce la caramelización de la lactosa, lo cual hace que se genere la Reacción de Mailard.



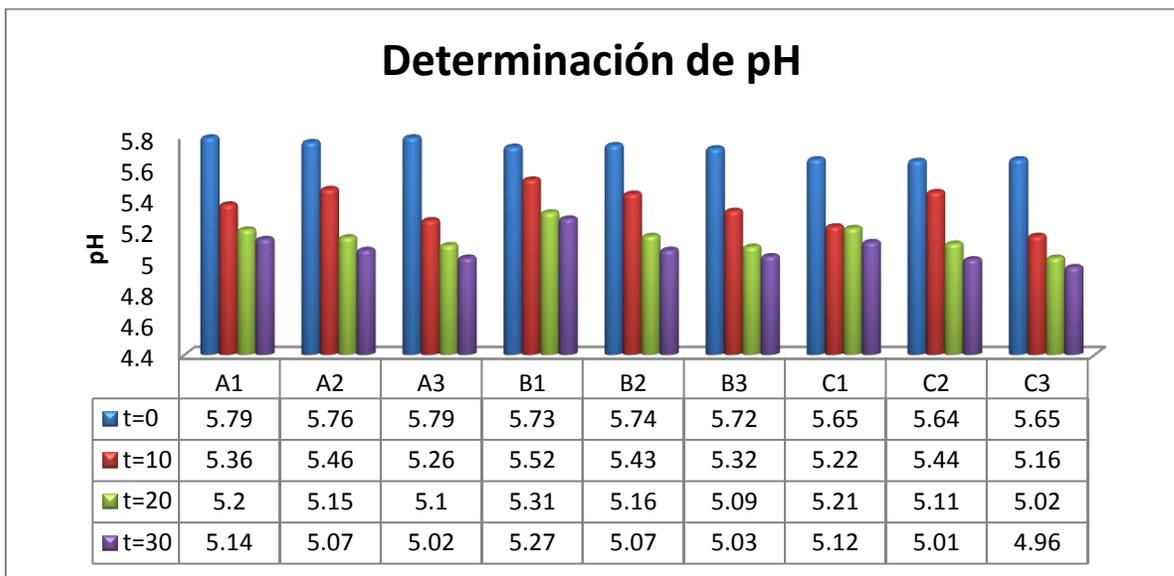
**Gráfica 12. TGA de muestra A, B y C de queso manchego**

La estabilidad de las muestras se da a temperatura de aproximadamente 40°C conserva un 90% de humedad, presentando un disminución importante hasta llegados los 60°C. (Gráfica 12)

Al perder agua en el alimento los microorganismos en este caso las BAL no pueden multiplicarse y por lo tanto dejaron de actuar como conservadores en el queso ocasionando la descomposición de este.

Con la disminución de la humedad también se presentarían cambios en las propiedades fisicoquímicas. Con la pérdida de humedad se provoca una disminución en la hidratación de las proteínas lo que conduce a una mayor interacción de las mismas provocando el aumento de la firmeza de la matriz proteica.(Ramírez, 2012 ). Esto se ve reflejado en los análisis de textura realizados. (Gráficas 19,20 y 21)

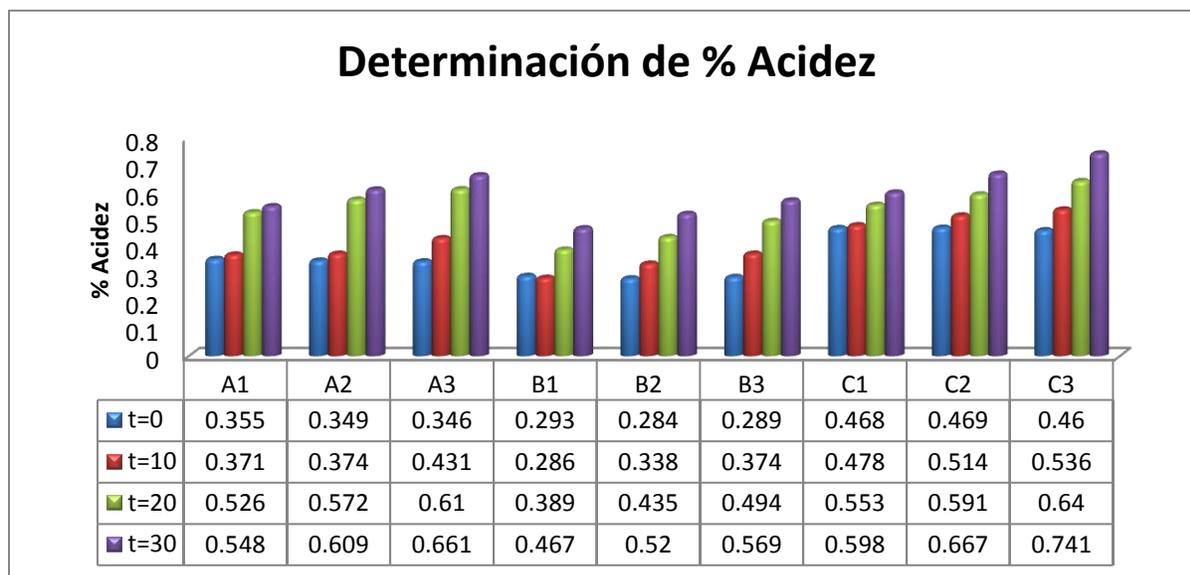
Aunque este es un producto perecedero la estabilidad del producto es constante durante su vida de anaquel como se observa en los termogramas del DSC y TGA, en los cuales se muestra que la fuerza de la red proteica que forma el queso no se degrada hasta llegar relativamente a una temperatura de cocción. Lo mismo ocurre con la pérdida de masa que tiene el producto.



*Gráfica 13. Determinación de pH durante la conservación de queso manchego*

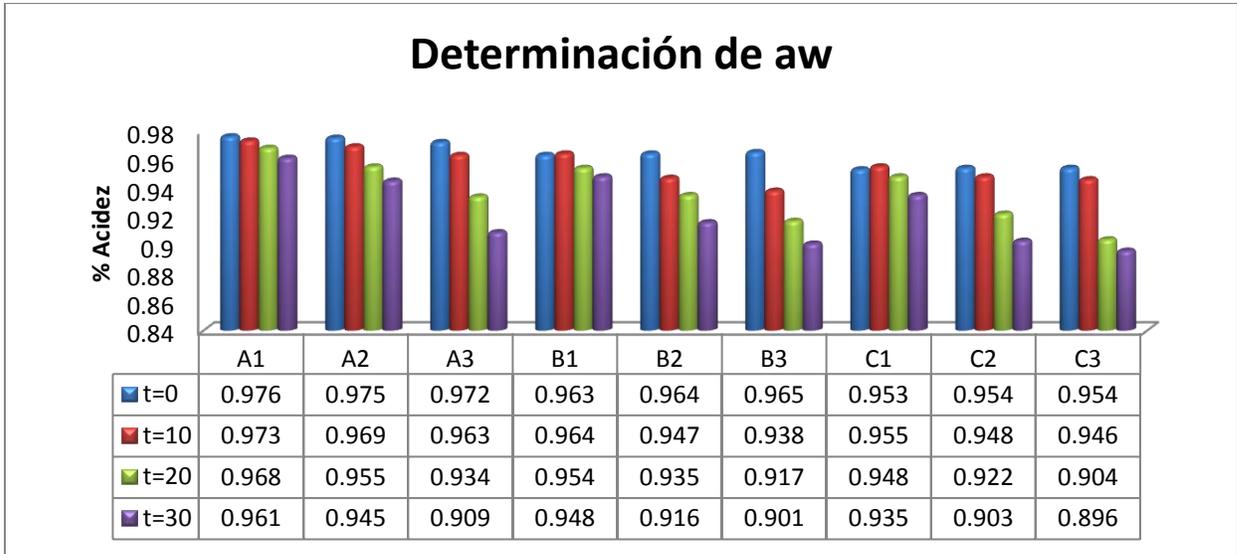
El pH de las muestras tiende a ser más ácido conforme pasan los días de almacenamiento, por lo cual la calidad del producto va disminuyendo. El pH va en relación con el % de acidez (Gráfico 14), indicando el aumentando conforme transcurre su tiempo de almacenamiento.

El pH también afecta las propiedades texturales del queso, debido a su efecto sobre la red de proteínas. Un pH cercano al punto isoeléctrico provoca fuertes fuerzas iónicas e hidrófobas, que resultan en una red de caseína compacta, provocando que el queso sea más duro.



**Gráfica 14. Determinación de % de Acidez durante la conservación de queso manchego**

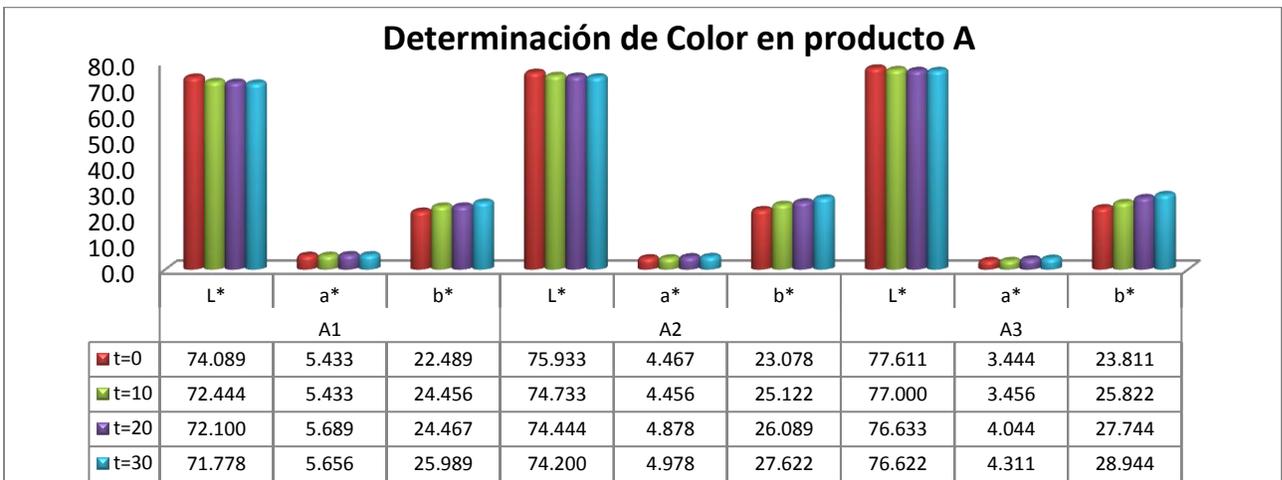
El cambio de pH y acidez generan que los azúcares del queso se degraden por tanto los nutrientes para el crecimiento de las BAL fue disminuyendo por falta de estos nutrientes. La formación de ácido contribuye al deterioro de estos azúcares por lo cual es otro motivo para la disminución de BAL. Estos parámetros también contribuyen para el deterioro sensorial del queso. De igual manera Celis, 2009 refleja una relación en los cambios sensoriales de los queso por la falta de nutrientes para que permanezcan las BAL.



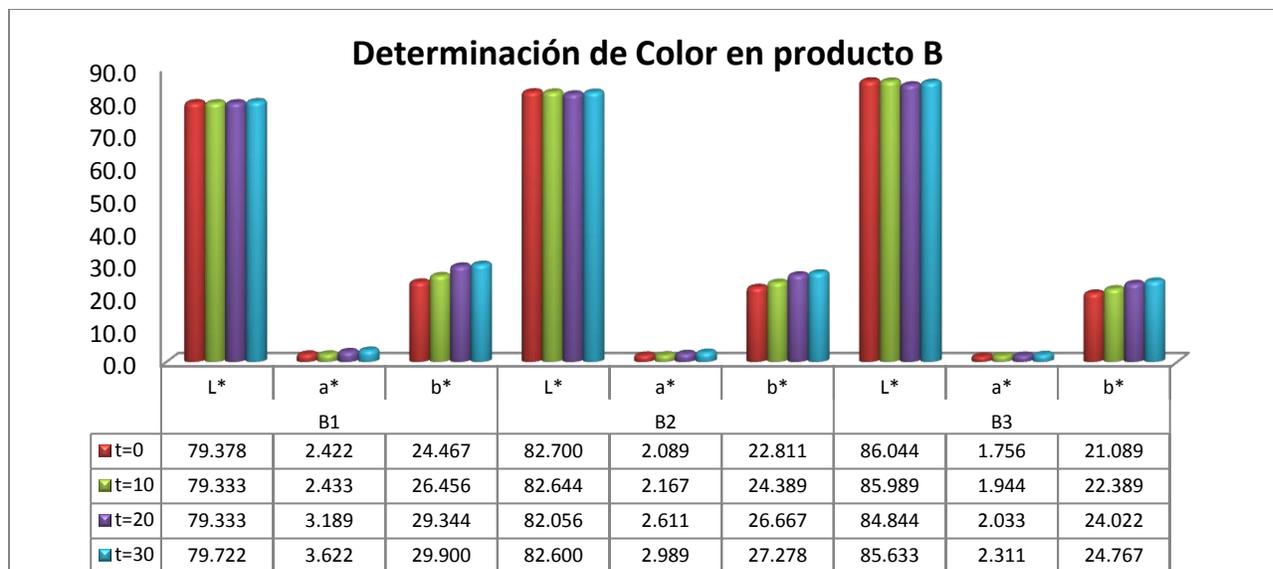
**Gráfica 15. Determinación de actividad de agua durante la conservación de queso manchego**

La disminución de aw se da conforme transcurre su almacenamiento lo que se relaciona con la estabilidad que tiene el producto. (Gráfico 15) De igual manera la estabilidad de la calidad del producto se ve racionada con los cambios de color que se tiene en las muestras el cual no es representativo, ya que los cambios que se tienen son mínimos.

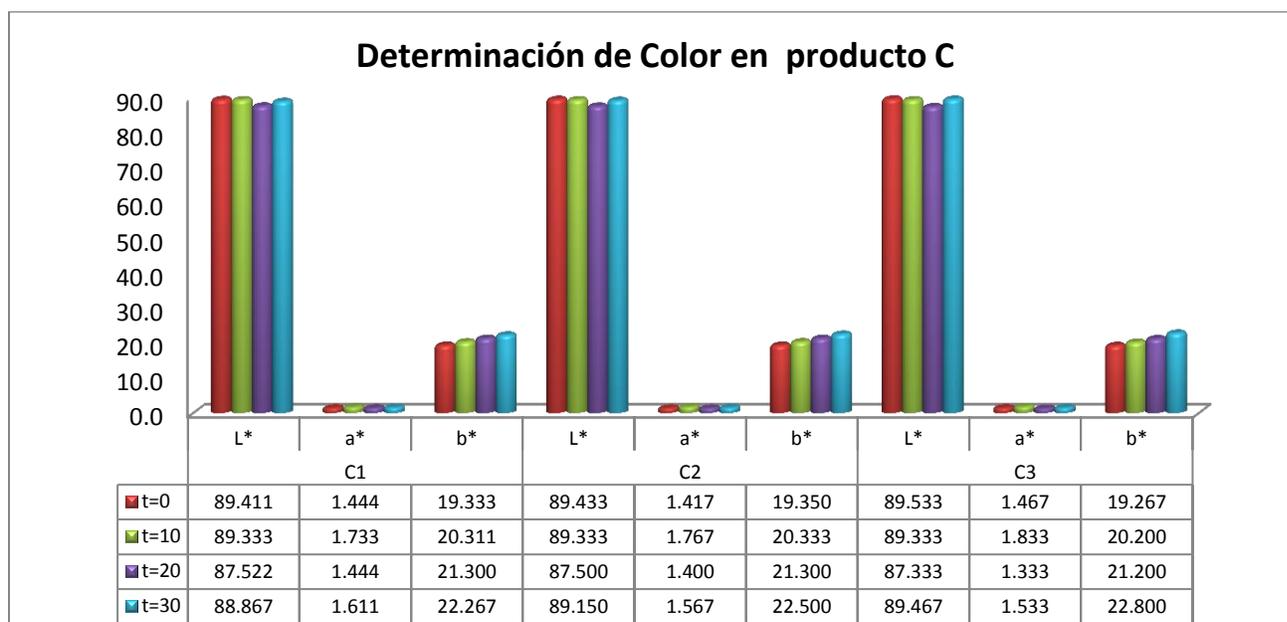
En los resultados obtenidos se demuestra que la actividad de agua (aw) en el queso es un factor determinante del crecimiento microbiano y de las transformaciones enzimáticas y químicas, además de contribuir al desarrollo de los caracteres organolépticos e incluso reológicos. (Chacón, 2009)



**Gráfica 16. Determinación de color durante la conservación de queso manchego (Producto A)**

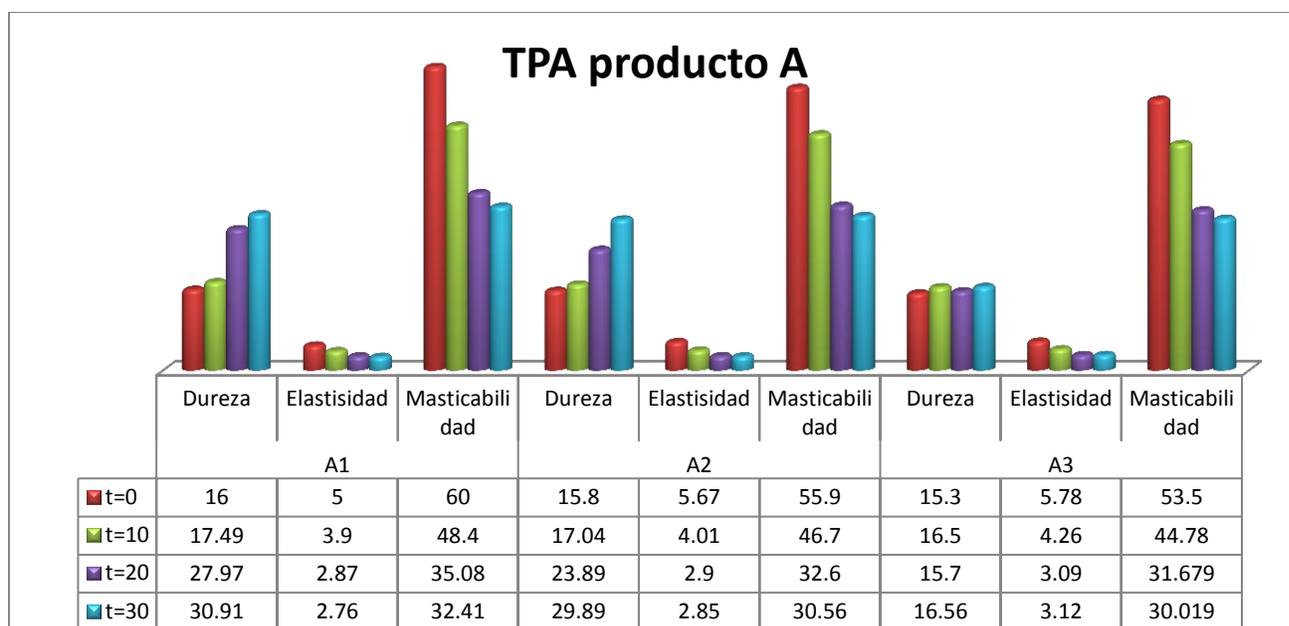


Gráfica 17. Determinación de color durante la conservación de queso manchego (Producto B)



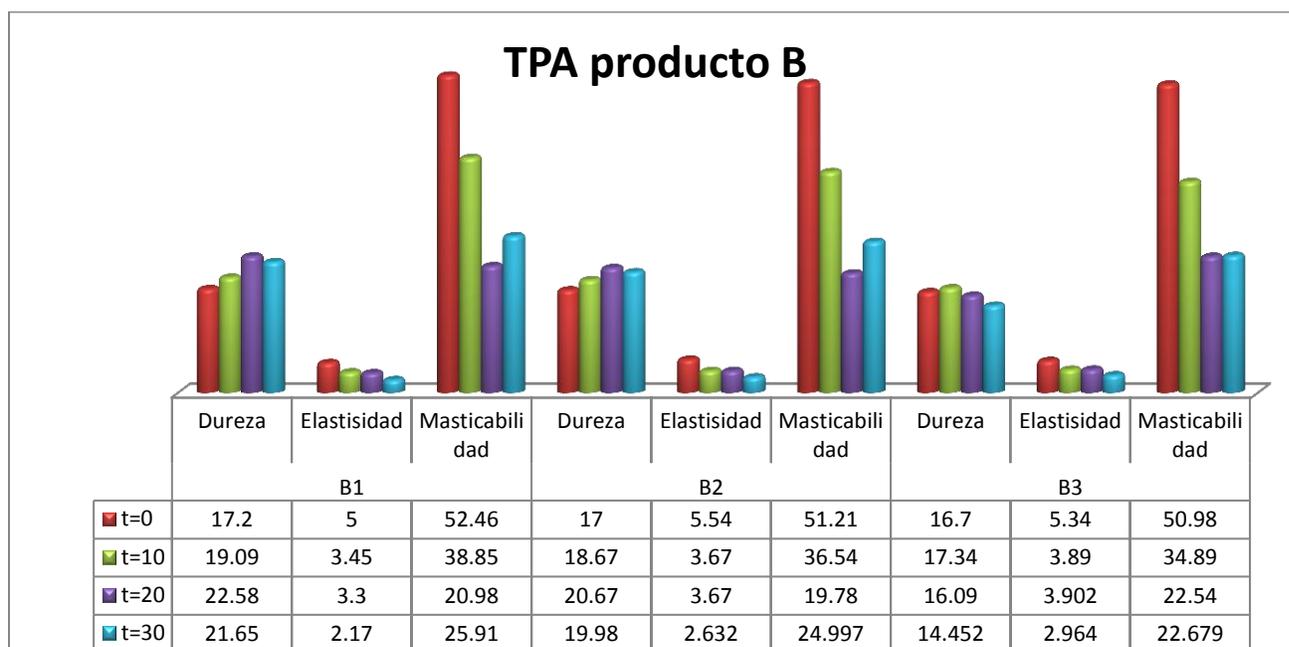
Gráfica 18. Determinación de color durante la conservación de queso manchego (Producto C)

La luminosidad y la coordenada a\* disminuyeron con el tiempo, viéndose afectado también el tono. Probablemente la disminución de la humedad y consecuentemente la concentración de sólidos influya en la reducción de L\*. El aumento en los valores de b\* se ha relacionado con la presencia de proteólisis y con reacciones de pardeamiento. (Alvarez, 2007)

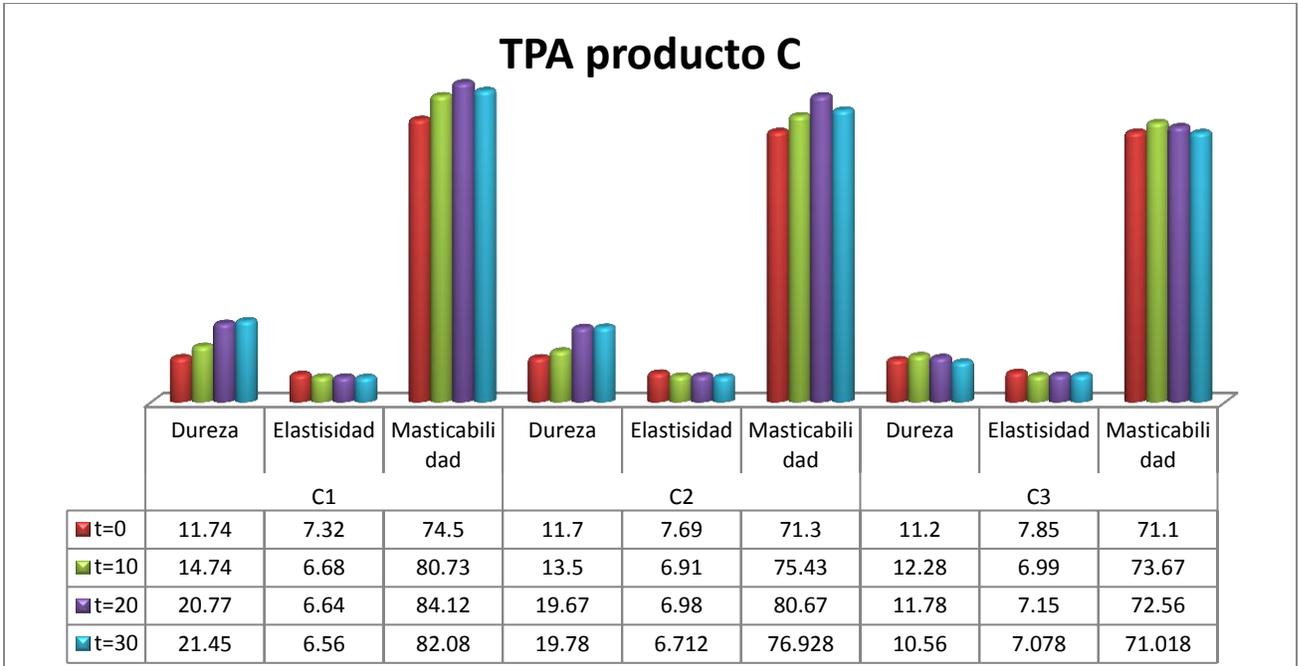


**Gráfica 19. Determinación de TPA de la muestra A durante la conservación**

La dureza del producto A aumenta conforme pasa su tiempo de almacenamiento así como su masticabilidad y elasticidad disminuyen para la temperatura a 6 y 10°C (A1 y A2). En el caso del almacenamiento a 25°C (A3) su dureza se mantiene. Se tiene un comportamiento similar para el producto B. (Gráfico 20)



**Gráfica 20. Determinación de TPA de la muestra B durante la conservación**



**Gráfica 21. Determinación de TPA de la muestra C durante la conservación**

Para el producto C el cambio de dureza presenta un cambio a los 20 días de almacenamiento para las temperaturas de 6 y 10°C (C1 y C2), la elasticidad y masticabilidad no presentan un cambio significativo en las tres temperaturas de almacenamiento.

La dureza del queso se ve afectada por la acción de las diferentes enzimas proteolíticas sobre la matriz proteica, principalmente sobre la  $\alpha$ -caseína, de acuerdo a lo reportado por Liu, 2008.

Alvarez, 2007 nos indica que al degradarse el queso genera la formación de péptidos y aminoácidos durante el almacenamiento lo cual contribuye directamente al desarrollo del sabor y textura del queso, cambiando significativamente las características del producto degradando su calidad. Lo cual se puede observar con la dureza que va adquiriendo el queso mientras transcurre su conservación

## 9. CONCLUSIONES

Las bacterias ácido lácticas son de gran importancia en la industria de productos lácteos para la conservación y desarrollo de características sensoriales en los alimentos. Las bacterias ácido lácticas han sido utilizadas como biopreservadores, con el objeto de evitar la proliferación de patógenos. Ya que las BAL presentes en la mayoría de los lácteos son mesófilos, los cuales son capaces de fermentar la lactosa produciendo ácido láctico en gran cantidad, de la misma forma es capaz de producir algunas sustancias antibacterianas conocidas en forma genérica como bacteriocinas, entre las cuales destacan la nisina y la diploccina. Ambos factores, acidez y bacteriocinas, son capaces de inhibir el crecimiento de microorganismos que afectan la calidad e inocuidad de los lácteos. (Ramírez 2012)

Se logró predecir la vida de anaquel utilizando dos modelos cinéticos, el primero el de Gompertz permitió predecir la fase de adaptación ( $\lambda$ ) del producto. Teniendo que para el producto A, B y C almacenado a 10°C presento mayor tiempo de adaptación el cual oscila entre los 21 a 25 días, donde se ve favorecidas las BAL

La tasa de reducción ( $\mu_{max}$ ) y tasa de generación (Tg) aumentan conforme la temperatura de almacenamiento, por lo que a temperatura de 10 °C se ve mayormente favorecida ya que esta se encuentra en un punto medio con lo cual favoreció el desarrollo de las BAL.

Utilizando el modelo de Arrhenius se obtuvo un orden de reacción de cero lo cual se adapta a la teoría de la cinética química para el deterioro de los alimentos.

Con el modelo matemático de Arrhenius se obtuvo  $K_0$  el cual se encuentra en valores de entre 11 y 15 días lo cual representa el tiempo de deterioro del queso manchego. Al obtener  $E_a$  se calculó el tiempo de vida de anaquel en el cual las muestras que se almacenaron a 6°C obtuvieron un mayor tiempo de vida de anaquel.

Se determinó el  $Q_{10}$  para el queso manchego el cual representa la velocidad de reacción de deterioro por cada 10°C que aumenta la temperatura, este valor es de 1.77.

Al comparar el uso de ambos modelos cinéticos se encuentra una diferencia ya que como se había mencionado anteriormente el modelo de Gompertz solo involucra el crecimiento de microorganismos, mientras que Arrhenius involucra el desarrollo de BAL y la temperatura en que se almacenan.

El pH y acidez disminuyen conforme pasa el tiempo de almacenamiento, esto se ve directamente afectado con el desarrollo de BAL y por tanto con el deterioro de la calidad del queso manchego. Por lo que los parámetros de textura se ven afectados, así como la disminución de actividad de agua, la pérdida de color aunque el cambio de este parámetro representa un cambio significativo.

La estabilidad del queso manchego no se ve afectada a las temperaturas que se almacenaron las muestras, ya que esta representa un cambio de estabilidad a altas temperaturas.

Tanto parámetros cinéticos, físicos y fisicoquímicos son herramientas útiles para determinar la vida de anaquel del producto y predecir la calidad que este tendrá durante este tiempo.

Al determinar la vida de anaquel de queso manchego elaborado artesanalmente, se le puede dar al productor una mayor información para que conserve su producto en mejores condiciones así como proporcionarles una herramienta que les dé un resultado más exacto del tiempo en que pueden conservarlo y si lo desean poder complementar su etiquetado.

## 10. REFERENCIAS

1. Allaert Vandevenne Corrie. 2002. Métodos de Análisis Microbiológicos en alimentos. Ed Díaz de Santos. España. pp. 30-32
2. Álvarez, S.; Rodríguez, V.; Ruiz, M.E.; Fresno, M. 2007. Correlaciones de textura y color instrumental con la composición química de quesos de cabra canarios. Archivos de Zootecnia. pp.663-666.
3. Bedolla Bernal Salvador. 2004. Introducción a la tecnología de alimentos. 2 da Edición LIMUSA. pp.42
4. Boatella Riera Josep. 2004. Química y Bioquímica de los alimentos II. Ed Publicacions Edicions. pp. 113
5. Brennan, J. G., J.R. Butters, N.D. Cowell. 1998. Las Operaciones de la Ingeniería de los Alimentos. Interamericana. México, D.F. pp. 145-155
6. C. A. Padrón Pereira, G.M. Padrón León, A.I. Montes Hernández, R.A. Oropeza González. 2012. Determinación de color en tomate con sistema de visión computarizado durante la maduración. Agronomía Costarricense 36(1). pp. 97-111.
7. Cabrero, P. Damaris y Martínez, S. Mayte. 2011. Desarrollo de guías de limpieza, uso y calibración de Calorímetro Diferencial de Barrido y Analizador Termogravimétrico con aplicaciones farmacéuticas. UNAM. pp. 20-37
8. Carr, F.J., Chill, D. y Maida, N. 2002. The lactic acid bacteria: A literature survey. Critical Reviews in Microbiology. pp. 281-370
9. Castillo, R.R. Shelly y Mastres, L. Josep. 2004. Productos lácteos, tecnología. Barcelona, UPC. pp. 99-1117
10. Celis Mauricio, Juárez Daniel. 2009. Microbiología de la leche. Editorial de la Universidad Tecnológica Nacional. pp. 9.
11. Chacón-Villalobos, A.; Pineda-Castro, M.L. 2009. Características químicas, físicas y sensoriales de un queso de cabra adaptado del tipo “Crottin de Chavignol”. Agronomía mesoamericana. pp.297-309.
12. C. Ramírez-López, J.F. Vélez-Ruiz. 2012. Quesos frescos: propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos 6-2. pp. 131-148.

13. Dalgaard, P., and K. Koutsoumanis. 2001. Comparison of maximum specific growth rates and lag times estimated from absorbance and viable count data by different mathematical models. *J. Microbiol. Methods*, pp. 183–196.
14. Dallas, G. 2006. Taking Thermogravimetric Analysis to a New Level of Performances and Convenience. *EUA. American Laboratory*. pp.25-29
15. Duran Luis, C.S., J.P., L.P. 2010. Caracterización fisicoquímica y microbiológica de queso de cabra en Carora, Venezuela. *Revista Zootecnia Trop*. Vol. 28 núm. 4. pp. 467-475.
16. E.P. González Ramírez. 2010. Caracterización de la composición físico química del queso fresco elaborado artesanalmente en Sehualaca, municipio de Minatitlán, Veracruz. *Universidad Veracruzana*. pp. 127-149
17. Fernández, E. E. 2000. Microbiología e Inocuidad Microbiana de los Alimentos. *Universidad Autónoma de Querétaro. Revista Latinoamericana de Microbiología*. pp.105-114
18. García Baldizón Claudia, Molina Córdoba Manuel E. 2008. Estimación de la vida útil de una mayonesa mediante pruebas aceleradas. *Revista de la Universidad de Costa Rica, Ingeniería*. Vol. 18, No, 1,2. pp. 57-64.
19. Giraldo Gómez, Gloria Inés. 1999. Métodos de estudio de vida de anaquel de los alimentos. *Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales*. pp. 23-27
20. ICMF. 1999. Microorganismos de los Alimentos 2.Métodos de muestreo para análisis microbiológicos: Principios y aplicaciones específicas. 2a Ed, Acribia, España. pp. 66-70
21. Ingraham L. John, Ingraham A. Catherine. 1998. Introducción a la microbiología. Ed. Reverte, S.A .Vol. 2. pp. 734-735.
22. Liu, H., Xu, M.X. y Guo S.D. 2008. Comparison or full-fat and low-fat cheese analogues with or without pectin gel through microstructure, texture, rheology, thermal and sensory analysis. *International Journal of Food Science and Technology*. pp. 1581
23. Martinus A.J.S Van Boekel. 2009. Kinect Modeling of Reactions in Foods. *Taylor y Francis Group*. pp. 12-1 – 12-40
24. Melva López Orozco. 2004. Mejoramiento de vida de anaquel en queso tradicional ranchero y queso de pasta hilada. *Universidad Iberoamericana* pp. 56.

25. NMX-F-206-1986. ALIMENTOS. LÁCTEOS. DETERMINACIÓN DE ACIDEZ EXPRESADA COMO ÁCIDO LÁCTICO EN LECHE EN POLVO. FOODS. LACTEOUS. ACIDITY EXPRESSED AS LACTIC ACID IN POWDER MILK DETERMINATION. NORMAS MEXICANAS. DIRECCIÓN GENERAL DE NORMAS.
26. NMX-F-462-1984. Alimentos lácteos. Queso Tipo Manchego. Foods. Lacteous. Manchego Type Cheese. Normas Mexicanas. Dirección General De Normas.
27. NORMA Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994, Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.
28. Ouwehand, A.C. 1998. Antimicrobial components from lactic acid bacteria. En: Lactic acid bacteria, Microbiology and functional aspects. 2nd edition. Marcel Dekker Inc. New York, USA. pp. 31-32
29. P. A. Romero-Castillo, G. Leyva-Ruelas, J. G. Cruz-Castillo y A. Santos- Moreno. 2009. Evaluación de la calidad sanitaria de queso crema tropical mexicano de la región de Tonalá, Chiapas. Revista Mexicana de Ingeniería Química. Vol. 8, No. 1. pp.111-119.
30. Ramírez R. J. C. 2012. Bacterias lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la salud. Revista Fuente Año 2, No. 7, abril-junio. pp. 2-5
31. Rivas Alvarado Carmen, Chacón R.Z., Otoniel R.J., Guerra C.B y López C.G. 2007. Aislamiento, identificación y caracterización de bacterias ácido lácticas de un queso venezolano ahumado artesanal. Revista Científica, FCV-LUZ/Vol. XVII, No. 3. pp. 301-308.
32. Rondon, E., P.E. Delahaye y F. Ortega. (2004). Estimación de la vida útil de un análogo comercial de mayonesa utilizando el factor de aceleración Q10. Revista de la Facultad de Agronomía-LUZ, 21:68-83.
33. Saninger, J. 2010. Notas de Análisis Térmico. Ed. Barcelona. Pp. 563-573
34. Sharma, S.; Mulvaney, S. y Rizvi, S. 2000. Ingeniería de alimentos. Operaciones unitarias y prácticas de laboratorio. México: Limusa. p. 20-41.
35. Shirai, K., Guerrero, I. y Lara, P. 1996. Bacterias lácticas en alimentos fermentados. Ciencia. 47. pp.125-137.
36. Valbuena Emirio, J.B., E.S., G.C., W.B. Y A.T. 2005. Modelo cinético aplicado al crecimiento de *Lactococcus lactis* subs. *Lactis* en leche. Revista Científica, FCV-LUZ vo. XV núm. 5. pp.464-475.

37. Vázquez, S.M., Suárez, H. y Zapata, S. 2009. Utilización de sustancias antimicrobianas producidas por bacterias ácido lácticas en la conservación de la carne. *Revista Chilena de Nutrición*. 36(1). pp.64-71.
38. Villegas A., Cervantes F., Abraham Villegas, Cesin A. 2008. *Los quesos mexicanos genuinos*. Mundi Prensa. México. pp. 53-61
39. Zárate, S. Edgar. 2009. Aplicación del modelo cinético de Gompertz a la interacción del efecto de la temperatura sobre el crecimiento de *Lactococcus lactis* Subsp. *Lactis* en leche. Universidad Nacional del Callao. *Ciencia y Tecnología*. Vol. 1. pp.34-42
40. Zuñiga Henandez, L.A. 2007. Estudio de la dureza del queso Edam por medio de Análisis de perfil de textura. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín*, vol. 6 núm. 1. pp.3797-3811.

# ANEXOS

**ANEXO 1. CUANTIFICACIÓN DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS EN TIEMPO= 0, 10, 20 Y 30 DÍAS**

TIEMPO =0						
TIPO	MUESTRA	No. COLONIAS	UFC/ml	X	$\sigma$	C.V.
A1	1	27	1.35E+06	1450000	264575.131	0.182
	2	35	1.75E+06			
	3	25	1.25E+06			
A2	1	76	3.80E+06	3733333.33	160727.513	0.043
	2	71	3.55E+06			
	3	77	3.85E+06			
A3	1	47	2.35E+06	2316666.67	152752.523	0.066
	2	49	2.45E+06			
	3	43	2.15E+06			
B1	1	37	1.85E+06	1616666.67	225462.488	0.139
	2	32	1.60E+06			
	3	28	1.40E+06			
B2	1	72	3.60E+06	3433333.33	175594.229	0.051
	2	69	3.45E+06			
	3	65	3.25E+06			
B3	1	31	1.55E+06	1683333.33	152752.523	0.091
	2	37	1.85E+06			
	3	33	1.65E+06			
C1	1	98	4.90E+06	4883333.33	125830.574	0.026
	2	100	5.00E+06			
	3	95	4.75E+06			
C2	1	108	5.40E+06	5583333.33	175594.229	0.031
	2	112	5.60E+06			
	3	115	5.75E+06			
C3	1	77	3.85E+06	3700000	132287.566	0.036
	2	72	3.60E+06			
	3	73	3.65E+06			

CINÉTICA DE BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS EN EL QUESO MANCHEGO ARTESANAL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA VIDA DE ANAQUEL

TIEMPO =10						
TIPO	MUESTRA	No. COLONIAS	UFC/ml	X	$\sigma$	C.V.
A1	1	15	7.50E+05	883333.333	125830.574	0.142
	2	20	1.00E+06			
	3	18	9.00E+05			
A2	1	64	3.20E+06	3183333.33	125830.574	0.040
	2	66	3.30E+06			
	3	61	3.05E+06			
A3	1	36	1.80E+06	1650000	132287.566	0.080
	2	32	1.60E+06			
	3	31	1.55E+06			
B1	1	24	1.20E+06	1133333.33	115470.054	0.102
	2	24	1.20E+06			
	3	20	1.00E+06			
B2	1	32	1.60E+06	1616666.67	125830.574	0.078
	2	30	1.50E+06			
	3	35	1.75E+06			
B3	1	14	7.00E+05	900000	180277.564	0.200
	2	19	9.50E+05			
	3	21	1.05E+06			
C1	1	54	2.70E+06	2566666.67	125830.574	0.049
	2	49	2.45E+06			
	3	51	2.55E+06			
C2	1	86	4.30E+06	4266666.67	104083.3	0.024
	2	83	4.15E+06			
	3	87	4.35E+06			
C3	1	9	4.50E+05	566666.667	125830.574	0.222
	2	11	5.50E+05			
	3	14	7.00E+05			

CINÉTICA DE BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS EN EL QUESO MANCHEGO ARTESANAL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA VIDA DE ANAQUEL

TIEMPO =20						
TIPO	MUESTRA	No. COLONIAS	UFC/ml	X	$\sigma$	C.V.
A1	1	15	7.50E+05	733333.333	76376.2616	0.104
	2	13	6.50E+05			
	3	16	8.00E+05			
A2	1	23	1.15E+06	1250000	100000	0.080
	2	27	1.35E+06			
	3	25	1.25E+06			
A3	1	7	3.50E+05	333333.333	28867.5135	0.087
	2	6	3.00E+05			
	3	7	3.50E+05			
B1	1	9	4.50E+05	550000	86602.5404	0.157
	2	12	6.00E+05			
	3	12	6.00E+05			
B2	1	14	7.00E+05	650000	50000	0.077
	2	12	6.00E+05			
	3	13	6.50E+05			
B3	1	6	3.00E+05	316666.667	76376.2616	0.241
	2	8	4.00E+05			
	3	5	2.50E+05			
C1	1	30	1.50E+06	1616666.67	125830.574	0.078
	2	32	1.60E+06			
	3	35	1.75E+06			
C2	1	41	2.05E+06	2000000	132287.566	0.066
	2	37	1.85E+06			
	3	42	2.10E+06			
C3	1	6	3.00E+05	233333.333	57735.0269	0.247
	2	4	2.00E+05			
	3	4	2.00E+05			

CINÉTICA DE BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS EN EL QUESO MANCHEGO ARTESANAL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA VIDA DE ANAQUEL

TIEMPO =30						
TIPO	MUESTRA	No. COLONIAS	UFC/ml	X	$\sigma$	C.V.
A1	1	3	1.50E+05	183333.333	28867.5135	0.157
	2	4	2.00E+05			
	3	4	2.00E+05			
A2	1	13	6.50E+05	683333.333	57735.0269	0.084
	2	15	7.50E+05			
	3	13	6.50E+05			
A3	1	4	2.00E+05	116666.667	104083.3	0.892
	2	3	1.50E+05			
	3	0	0.00E+00			
B1	1	3	1.50E+05	166666.667	76376.2616	0.458
	2	5	2.50E+05			
	3	2	1.00E+05			
B2	1	4	2.00E+05	166666.667	57735.0269	0.346
	2	4	2.00E+05			
	3	2	1.00E+05			
B3	1	1	5.00E+04	66666.6667	28867.5135	0.433
	2	2	1.00E+05			
	3	1	5.00E+04			
C1	1	14	7.00E+05	716666.667	125830.574	0.176
	2	12	6.00E+05			
	3	17	8.50E+05			
C2	1	18	9.00E+05	1083333.33	160727.513	0.148
	2	23	1.15E+06			
	3	24	1.20E+06			
C3	1	3	1.50E+05	233333.333	104083.3	0.446
	2	4	2.00E+05			
	3	7	3.50E+05			

**ANEXO 2. DETERMINACIÓN DE pH EN QUESO MANCHEGO EN TIEMPOS= 0, 10, 20 Y 30 DÍAS.**

TIEMPO =0					
TIPO	MUESTRA	pH	X	$\sigma$	C.V.
A1	1	5.77	5.79	0.025	0.004
	2	5.82			
	3	5.79			
A2	1	5.79	5.77	0.032	0.006
	2	5.78			
	3	5.73			
A3	1	5.81	5.79	0.015	0.003
	2	5.78			
	3	5.79			
B1	1	5.74	5.73	0.012	0.002
	2	5.72			
	3	5.74			
B2	1	5.76	5.74	0.015	0.003
	2	5.74			
	3	5.73			
B3	1	5.73	5.72	0.012	0.002
	2	5.71			
	3	5.73			
C1	1	5.66	5.66	0.015	0.003
	2	5.64			
	3	5.67			
C2	1	5.63	5.64	0.032	0.006
	2	5.68			
	3	5.62			
C3	1	5.68	5.66	0.040	0.007
	2	5.68			
	3	5.61			

CINÉTICA DE BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS EN EL QUESO MANCHEGO ARTESANAL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA VIDA DE ANAQUEL

TIEMPO =10					
TIPO	MUESTRA	pH	X	$\sigma$	C.V.
A1	1	5.36	5.36	0.015	0.003
	2	5.38			
	3	5.35			
A2	1	5.49	5.46	0.038	0.007
	2	5.48			
	3	5.42			
A3	1	5.28	5.26	0.020	0.004
	2	5.24			
	3	5.26			
B1	1	5.51	5.53	0.021	0.004
	2	5.52			
	3	5.55			
B2	1	5.46	5.44	0.021	0.004
	2	5.43			
	3	5.42			
B3	1	5.34	5.33	0.015	0.003
	2	5.33			
	3	5.31			
C1	1	5.23	5.23	0.015	0.003
	2	5.24			
	3	5.21			
C2	1	5.43	5.44	0.026	0.005
	2	5.42			
	3	5.47			
C3	1	5.16	5.16	0.015	0.003
	2	5.18			
	3	5.15			

TIEMPO =20					
TIPO	MUESTRA	pH	X	$\sigma$	C.V.
A1	1	5.2	5.20	0.010	0.002
	2	5.21			
	3	5.19			
A2	1	5.13	5.15	0.021	0.004
	2	5.16			
	3	5.17			
A3	1	5.11	5.10	0.012	0.002
	2	5.11			
	3	5.09			
B1	1	5.34	5.31	0.025	0.005
	2	5.31			
	3	5.29			
B2	1	5.18	5.17	0.012	0.002
	2	5.16			
	3	5.16			
B3	1	5.08	5.10	0.015	0.003
	2	5.11			
	3	5.1			
C1	1	5.24	5.22	0.021	0.004
	2	5.2			
	3	5.21			
C2	1	5.11	5.12	0.021	0.004
	2	5.14			
	3	5.1			
C3	1	5.05	5.03	0.021	0.004
	2	5.01			
	3	5.02			

CINÉTICA DE BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS EN EL QUESO MANCHEGO ARTESANAL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA VIDA DE ANAQUEL

TIEMPO =30					
TIPO	MUESTRA	pH	X	$\sigma$	C.V.
A1	1	5.13	5.14	0.015	0.003
	2	5.14			
	3	5.16			
A2	1	5.09	5.07	0.015	0.003
	2	5.06			
	3	5.07			
A3	1	5.01	5.03	0.015	0.003
	2	5.03			
	3	5.04			
B1	1	5.27	5.27	0.015	0.003
	2	5.26			
	3	5.29			
B2	1	5.09	5.07	0.015	0.003
	2	5.06			
	3	5.07			
B3	1	5.01	5.00	0.012	0.002
	2	4.99			
	3	5.01			
C1	1	5.11	5.12	0.015	0.003
	2	5.14			
	3	5.12			
C2	1	5.01	5.02	0.021	0.004
	2	5.04			
	3	5			
C3	1	4.97	4.96	0.010	0.002
	2	4.96			
	3	4.95			

**ANEXO 3. DETERMINACIÓN DE % ACIDEZ EN QUESO MANCHEGO EN TIEMPO= 0,10, 20 Y 30 DÍAS**

TIEMPO =0							
TIPO	MUESTRA	GASTO NaOH (mL)	PESO MUESTRA (g)	ACIDEZ (%)	X	$\sigma$	C.V.
A1	1	4	10.127	0.355	0.355	0.009	0.026
	2	4.1	10.139	0.364			
	3	3.9	10.167	0.345			
A2	1	4	10.126	0.356	0.349	0.011	0.031
	2	4	10.134	0.355			
	3	3.8	10.153	0.337			
A3	1	4	10.127	0.355	0.346	0.016	0.045
	2	4	10.134	0.355			
	3	3.7	10.145	0.328			
B1	1	3.3	10.146	0.293	0.293	0.018	0.062
	2	3.5	10.124	0.311			
	3	3.1	10.153	0.275			
B2	1	3.1	10.143	0.275	0.284	0.024	0.084
	2	3	10.169	0.266			
	3	3.5	10.145	0.310			
B3	1	3.1	10.198	0.274	0.289	0.014	0.049
	2	3.4	10.156	0.301			
	3	3.3	10.187	0.292			
C1	1	5.4	10.145	0.479	0.468	0.015	0.031
	2	5.3	10.071	0.474			
	3	5.1	10.167	0.451			
C2	1	5.3	10.056	0.474	0.469	0.024	0.051
	2	5.5	10.098	0.490			
	3	5	10.156	0.443			
C3	1	5.1	10.173	0.451	0.460	0.015	0.032
	2	5.1	10.156	0.452			
	3	5.4	10.187	0.477			

CINÉTICA DE BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS EN EL QUESO MANCHEGO ARTESANAL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA VIDA DE ANAQUEL

TIEMPO =10							
TIPO	MUESTRA	GASTO NaOH (mL)	PESO MUESTRA (g)	ACIDEZ (%)	X	$\sigma$	C.V.
A1	1	4.1	10.167	0.363	0.371	0.011	0.030
	2	4.3	10.087	0.384			
	3	4.1	10.056	0.367			
A2	1	4.3	10.169	0.381	0.374	0.006	0.016
	2	4.2	10.109	0.374			
	3	4.1	10.017	0.368			
A3	1	4.9	10.167	0.434	0.431	0.003	0.007
	2	4.8	10.067	0.429			
	3	4.8	10.078	0.429			
B1	1	3.4	10.189	0.300	0.286	0.013	0.046
	2	3.1	10.167	0.274			
	3	3.2	10.156	0.284			
B2	1	3.8	10.123	0.338	0.338	0.007	0.020
	2	3.9	10.186	0.345			
	3	3.7	10.067	0.331			
B3	1	4	10.098	0.357	0.374	0.024	0.065
	2	4.1	10.145	0.364			
	3	4.5	10.087	0.402			
C1	1	5.3	10.167	0.469	0.478	0.014	0.029
	2	5.5	10.023	0.494			
	3	5.3	10.134	0.471			
C2	1	5.7	10.178	0.504	0.514	0.010	0.019
	2	5.8	10.156	0.514			
	3	5.9	10.134	0.524			
C3	1	5.8	10.123	0.516	0.536	0.024	0.044
	2	6	10.165	0.531			
	3	6.3	10.087	0.562			

CINÉTICA DE BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS EN EL QUESO MANCHEGO ARTESANAL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA VIDA DE ANAQUEL

TIEMPO =20							
TIPO	MUESTRA	GASTO NaOH (mL)	PESO MUESTRA (g)	ACIDEZ (%)	X	$\sigma$	C.V.
A1	1	5.9	10.143	0.524	0.526	0.014	0.026
	2	6.1	10.152	0.541			
	3	5.8	10.167	0.513			
A2	1	6.2	10.169	0.549	0.572	0.020	0.036
	2	6.5	10.016	0.584			
	3	6.6	10.167	0.584			
A3	1	6.7	10.167	0.593	0.610	0.018	0.030
	2	6.9	10.197	0.609			
	3	7.1	10.156	0.629			
B1	1	4.5	10.186	0.398	0.389	0.008	0.022
	2	4.3	10.167	0.381			
	3	4.4	10.156	0.390			
B2	1	4.7	10.143	0.417	0.435	0.017	0.039
	2	5.1	10.175	0.451			
	3	4.9	10.124	0.436			
B3	1	5.3	10.186	0.468	0.494	0.024	0.049
	2	5.6	10.156	0.496			
	3	5.8	10.097	0.517			
C1	1	6	10.167	0.531	0.553	0.019	0.034
	2	6.3	10.125	0.560			
	3	6.4	10.162	0.567			
C2	1	6.5	10.167	0.575	0.591	0.019	0.032
	2	6.9	10.153	0.612			
	3	6.6	10.162	0.585			
C3	1	6.9	10.183	0.610	0.640	0.027	0.043
	2	7.3	10.164	0.646			
	3	7.5	10.176	0.663			

CINÉTICA DE BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS EN EL QUESO MANCHEGO ARTESANAL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA VIDA DE ANAQUEL

TIEMPO =30							
TIPO	MUESTRA	GASTO NaOH (mL)	PESO MUESTRA (g)	ACIDEZ (%)	X	$\sigma$	C.V.
A1	1	6.2	10.132	0.551	0.548	0.014	0.026
	2	6.3	10.125	0.560			
	3	6	10.153	0.532			
A2	1	6.7	10.123	0.596	0.609	0.014	0.023
	2	6.8	10.072	0.608			
	3	7	10.098	0.624			
A3	1	7.1	10.087	0.633	0.661	0.025	0.038
	2	7.5	10.133	0.666			
	3	7.7	10.137	0.684			
B1	1	5.1	10.128	0.453	0.467	0.012	0.027
	2	5.3	10.124	0.471			
	3	5.4	10.187	0.477			
B2	1	5.8	10.178	0.513	0.520	0.011	0.022
	2	6	10.134	0.533			
	3	5.8	10.172	0.513			
B3	1	6.3	10.175	0.557	0.569	0.014	0.024
	2	6.6	10.162	0.585			
	3	6.4	10.167	0.567			
C1	1	6.7	10.124	0.596	0.598	0.005	0.008
	2	6.8	10.145	0.603			
	3	6.7	10.142	0.595			
C2	1	7.4	10.182	0.654	0.667	0.014	0.022
	2	7.7	10.156	0.682			
	3	7.5	10.176	0.663			
C3	1	8.1	10.124	0.720	0.741	0.020	0.028
	2	8.6	10.172	0.761			
	3	8.4	10.178	0.743			

**ANEXO 4. DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD DE AGUA ( $a_w$ ) EN QUESO MANCHEGO  
TIEMPO= 0, 10, 20 Y 30 DÍAS**

TIEMPO =0					
TIPO	MUESTRA	$a_w$	X	$\sigma$	C.V.
A1	1	0.977	0.976	0.001	0.001
	2	0.975			
	3	0.975			
A2	1	0.975	0.975	0.001	0.001
	2	0.974			
	3	0.975			
A3	1	0.97	0.972	0.002	0.002
	2	0.973			
	3	0.974			
B1	1	0.962	0.963	0.001	0.001
	2	0.963			
	3	0.964			
B2	1	0.962	0.964	0.003	0.003
	2	0.967			
	3	0.962			
B3	1	0.962	0.965	0.003	0.003
	2	0.968			
	3	0.964			
C1	1	0.952	0.953	0.003	0.003
	2	0.951			
	3	0.957			
C2	1	0.958	0.954	0.004	0.004
	2	0.952			
	3	0.951			
C3	1	0.956	0.954	0.002	0.002
	2	0.952			
	3	0.954			

CINÉTICA DE BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS EN EL QUESO MANCHEGO ARTESANAL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA VIDA DE ANAQUEL

TIEMPO =10					
TIPO	MUESTRA	aw	X	$\sigma$	C.V.
A1	1	0.974	0.973	0.001	0.001
	2	0.973			
	3	0.972			
A2	1	0.97	0.969	0.001	0.001
	2	0.969			
	3	0.969			
A3	1	0.965	0.963	0.002	0.002
	2	0.963			
	3	0.962			
B1	1	0.964	0.964	0.001	0.001
	2	0.963			
	3	0.965			
B2	1	0.949	0.947	0.002	0.002
	2	0.948			
	3	0.945			
B3	1	0.94	0.938	0.002	0.002
	2	0.938			
	3	0.937			
C1	1	0.953	0.955	0.003	0.003
	2	0.958			
	3	0.953			
C2	1	0.951	0.948	0.004	0.004
	2	0.949			
	3	0.943			
C3	1	0.947	0.946	0.004	0.004
	2	0.949			
	3	0.942			

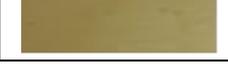
CINÉTICA DE BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS EN EL QUESO MANCHEGO ARTESANAL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA VIDA DE ANAQUEL

TIEMPO =20					
TIPO	MUESTRA	aw	X	$\sigma$	C.V.
A1	1	0.968	0.968	0.001	0.001
	2	0.967			
	3	0.968			
A2	1	0.956	0.955	0.001	0.001
	2	0.954			
	3	0.954			
A3	1	0.935	0.934	0.002	0.002
	2	0.936			
	3	0.932			
B1	1	0.957	0.954	0.003	0.003
	2	0.953			
	3	0.951			
B2	1	0.938	0.935	0.003	0.003
	2	0.932			
	3	0.936			
B3	1	0.92	0.917	0.003	0.003
	2	0.914			
	3	0.917			
C1	1	0.949	0.948	0.001	0.001
	2	0.948			
	3	0.947			
C2	1	0.92	0.922	0.002	0.002
	2	0.921			
	3	0.924			
C3	1	0.901	0.904	0.003	0.003
	2	0.904			
	3	0.906			

CINÉTICA DE BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS EN EL QUESO MANCHEGO ARTESANAL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA VIDA DE ANAQUEL

TIEMPO =30					
TIPO	MUESTRA	aw	X	$\sigma$	C.V.
A1	1	0.96	0.961	0.002	0.002
	2	0.961			
	3	0.963			
A2	1	0.945	0.945	0.002	0.002
	2	0.946			
	3	0.943			
A3	1	0.91	0.909	0.001	0.001
	2	0.908			
	3	0.909			
B1	1	0.948	0.948	0.001	0.001
	2	0.948			
	3	0.947			
B2	1	0.917	0.916	0.002	0.002
	2	0.914			
	3	0.916			
B3	1	0.899	0.901	0.003	0.003
	2	0.901			
	3	0.904			
C1	1	0.937	0.935	0.003	0.003
	2	0.932			
	3	0.935			
C2	1	0.903	0.903	0.002	0.002
	2	0.902			
	3	0.905			
C3	1	0.892	0.896	0.007	0.007
	2	0.893			
	3	0.904			

**ANEXO 5. DETERMINACIÓN DE COLOR EN QUESO MANCHEGO  
TIEMPO= 0, 10, 20 Y 30 DÍAS**

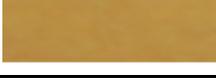
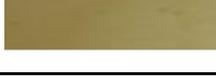
TIEMPO =0														
TIPO	MUESTRA	L*	a*	b*	L*	$\sigma$	C.V.	a*	$\sigma$	C.V.	b*	$\sigma$	C.V.	IMAGEN
A1	1	73.8	5.1	22.4	73.867	0.702	0.010	5.400	0.300	0.056	22.500	0.173	0.008	
	2	74.6	5.4	22.7										
	3	73.2	5.7	22.4										
A2	1	74.2	5.2	22.6	74.267	0.115	0.002	5.433	0.321	0.059	22.400	0.265	0.012	
	2	74.2	5.3	22.5										
	3	74.4	5.8	22.1										
A3	1	75.2	5.7	22.4	74.133	1.050	0.014	5.467	0.208	0.038	22.567	0.208	0.009	
	2	74.1	5.3	22.5										
	3	73.1	5.4	22.8										
B1	1	79.5	2.9	24	79.400	0.100	0.001	2.500	0.400	0.160	24.267	0.379	0.016	
	2	79.4	2.5	24.7										
	3	79.3	2.1	24.1										
B2	1	79.1	2.7	24.5	79.300	0.200	0.003	2.367	0.351	0.148	24.600	0.100	0.004	
	2	79.3	2.4	24.7										
	3	79.5	2	24.6										
B3	1	79.7	2.1	24.1	79.433	0.252	0.003	2.400	0.265	0.110	24.533	0.404	0.016	
	2	79.4	2.6	24.9										
	3	79.2	2.5	24.6										
C1	1	89.4	1.4	19.2	89.367	0.252	0.003	1.500	0.265	0.176	19.300	0.173	0.009	
	2	89.6	1.8	19.5										
	3	89.1	1.3	19.2										
C2	1	89.6	1.5	19.7	89.333	0.306	0.003	1.367	0.153	0.112	19.433	0.306	0.016	
	2	89	1.4	19.1										
	3	89.4	1.2	19.5										
C3	1	89.8	1.7	19.2	89.533	0.231	0.003	1.467	0.252	0.172	19.267	0.058	0.003	
	2	89.4	1.5	19.3										
	3	89.4	1.2	19.3										

CINÉTICA DE BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS EN EL QUESO MANCHEGO ARTESANAL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA VIDA DE ANAQUEL

TIEMPO = 10

PO	MUESTRA	L*	a*	b*	L*	$\sigma$	C.V.	a*	$\sigma$	C.V.	b*	$\sigma$	C.V.	IMAGEN
1	1	72.5	5.2	24.3	72.533	0.058	0.001	5.400	0.265	0.049	24.467	0.208	0.009	
	2	72.6	5.7	24.7										
	3	72.5	5.3	24.4										
2	1	72.5	5.7	24.2	72.500	0.400	0.006	5.367	0.306	0.057	24.367	0.379	0.016	
	2	72.9	5.3	24.8										
	3	72.1	5.1	24.1										
3	1	72	5.9	24.6	72.300	0.300	0.004	5.533	0.321	0.058	24.533	0.306	0.012	
	2	72.6	5.4	24.8										
	3	72.3	5.3	24.2										
1	1	79.5	2.5	26.5	79.400	0.173	0.002	2.467	0.351	0.142	26.467	0.351	0.013	
	2	79.2	2.8	26.1										
	3	79.5	2.1	26.8										
2	1	79.1	2.3	26.9	79.300	0.346	0.004	2.367	0.404	0.171	26.467	0.404	0.015	
	2	79.7	2	26.1										
	3	79.1	2.8	26.4										
3	1	79	2.6	26.5	79.300	0.300	0.004	2.467	0.153	0.062	26.433	0.306	0.012	
	2	79.3	2.5	26.7										
	3	79.6	2.3	26.1										
1	1	89.1	1.5	20.1	89.333	0.321	0.004	1.667	0.153	0.092	20.267	0.289	0.014	
	2	89.7	1.7	20.6										
	3	89.2	1.8	20.1										
2	1	89.3	1.6	20.5	89.333	0.252	0.003	1.700	0.173	0.102	20.467	0.153	0.007	
	2	89.1	1.9	20.6										
	3	89.6	1.6	20.3										
3	1	89.4	2	20.1	89.333	0.208	0.002	1.833	0.208	0.114	20.200	0.173	0.009	
	2	89.1	1.6	20.4										
	3	89.5	1.9	20.1										

CINÉTICA DE BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS EN EL QUESO MANCHEGO ARTESANAL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA VIDA DE ANAQUEL

TIEMPO= 20														
TIPO	MUESTRA	L*	a*	b*	L*	$\sigma$	C.V.	a*	$\sigma$	C.V.	b*	$\sigma$	C.V.	IMAGEN
A1	1	72.5	6.1	24.3	72.367	0.231	0.003	5.700	0.458	0.080	24.467	0.208	0.009	
	2	72.1	5.8	24.7										
	3	72.5	5.2	24.4										
A2	1	72.7	5.4	24.2	72.733	0.058	0.001	5.700	0.361	0.063	24.367	0.379	0.016	
	2	72.7	5.6	24.8										
	3	72.8	6.1	24.1										
A3	1	70.5	5.8	24.6	71.200	0.964	0.014	5.667	0.321	0.057	24.567	0.252	0.010	
	2	70.8	5.9	24.8										
	3	72.3	5.3	24.3										
B1	1	79.5	3.1	29.6	79.400	0.173	0.002	3.267	0.289	0.088	29.333	0.252	0.009	
	2	79.2	3.1	29.1										
	3	79.5	3.6	29.3										
B2	1	79.1	3.4	29.4	79.300	0.346	0.004	3.200	0.200	0.063	29.333	0.208	0.007	
	2	79.7	3.2	29.5										
	3	79.1	3	29.1										
B3	1	79	3	29.4	79.300	0.300	0.004	3.100	0.100	0.032	29.367	0.058	0.002	
	2	79.3	3.1	29.4										
	3	79.6	3.2	29.3										
C1	1	88.2	1.6	21.3	87.567	0.551	0.006	1.533	0.208	0.136	21.300	0.200	0.009	
	2	87.2	1.3	21.1										
	3	87.3	1.7	21.5										
C2	1	87.4	1.3	21.3	87.667	0.643	0.007	1.467	0.379	0.258	21.400	0.141	0.007	
	2	87.2	1.9	21.5										
	3	88.4	1.2	21.8										
C3	1	87.3	1.2	21.9	87.333	0.153	0.002	1.333	0.416	0.312	21.200	0.141	0.007	
	2	87.5	1	21.7										
	3	87.2	1.8	21.2										

CINÉTICA DE BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS EN EL QUESO MANCHEGO ARTESANAL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA VIDA DE ANAQUEL

TIEMPO= 30														
TIPO	MUESTRA	L*	a*	b*	L*	$\sigma$	C.V.	a*	$\sigma$	C.V.	b*	$\sigma$	C.V.	IMAGEN
A1	1	72.6	5.8	24.6	72.400	0.265	0.004	5.633	0.208	0.037	24.767	0.153	0.006	
	2	72.5	5.4	24.8										
	3	72.1	5.7	24.9										
A2	1	72.8	5.3	25.7	72.467	0.351	0.005	5.633	0.306	0.054	25.767	0.058	0.002	
	2	72.5	5.7	25.8										
	3	72.1	5.9	25.8										
A3	1	70.4	5.8	27.1	70.467	0.115	0.002	5.700	0.100	0.018	27.433	0.289	0.011	
	2	70.6	5.7	27.6										
	3	70.4	5.6	27.6										
B1	1	79.5	3.6	29.8	79.667	0.153	0.002	3.600	0.100	0.028	29.667	0.153	0.005	
	2	79.7	3.5	29.5										
	3	79.8	3.7	29.7										
B2	1	79.6	3.4	29.8	79.733	0.153	0.002	3.633	0.208	0.057	29.733	0.058	0.002	
	2	79.7	3.8	29.7										
	3	79.9	3.7	29.7										
B3	1	79.9	3.7	30.1	79.767	0.153	0.002	3.633	0.115	0.032	30.300	0.173	0.006	
	2	79.6	3.7	30.4										
	3	79.8	3.5	30.4										
C1	1	88.5	1.9	21.7	88.300	0.200	0.002	1.700	0.265	0.156	21.800	0.100	0.005	
	2	88.3	1.8	21.8										
	3	88.1	1.4	21.9										
C2	1	88.9	1.7	22.1	88.833	0.115	0.001	1.600	0.265	0.165	22.200	0.141	0.006	
	2	88.7	1.8	22.3										
	3	88.9	1.3	22.5										
C3	1	89.6	1.5	22.5	89.467	0.153	0.002	1.533	0.153	0.100	22.800	0.071	0.003	
	2	89.5	1.7	22.6										
	3	89.3	1.4	22.8										