



UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS

FACULTAD DE POSGRADOS

MAESTRÍA EN DESARROLLO E INNOVACIÓN DE ALIMENTOS

**TEMA: EVALUACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DE QUESO CREMA ELABORADO CON
INGREDIENTES NATURALES VERSUS QUESO CREMA ELABORADO CON
INGREDIENTES SINTÉTICOS**

Autores:

María José Enríquez Velasco

Cristian Mauricio Nieto Vallejo

Docente:

Janeth Proaño

2023

Resumen

Este estudio se centró en el desarrollo de un queso crema natural. Se evaluó el uso de la bacteria ácido-láctica *Lactococcus lactis subsp. lactis* como sintetizador de nisina (preservante natural), incorporando ingredientes funcionales como vinagre y fibra de maíz soluble, con el objetivo de obtener un producto sin la adición de ingredientes sintéticos. Se llevó a cabo un análisis comparativo de la vida útil entre el queso crema elaborado con ingredientes naturales en cuatro tratamientos con dos factores de evaluación tiempo de fermentación (10 y 13 horas) y dosificación (5 y 10 UC) del cultivo láctico y un testigo de queso crema con ingredientes sintéticos. *Lactococcus lactis subsp. lactis* demostró ser eficaz en la síntesis de nisina como preservante natural, ya que los análisis microbiológicos confirmaron la ausencia de bacterias patógenas en el queso crema natural en los días 0, 20, 40, 60 y 80. Los parámetros físico-químicos mostraron una variación significativa ($p < 0.05$) entre tratamientos, lo que indica que los factores aplicados influyeron en las características fisicoquímicas. La evaluación sensorial mostró que el tratamiento con 13 horas de fermentación y una dosificación del cultivo láctico de 10 UC tuvo mayor preferencia que el tratamiento testigo de queso crema elaborado con ingredientes sintéticos, es decir prefirieron el el queso crema natural. Se escogió el tratamiento tres como el mejor tratamiento por sus resultados en los análisis fisicoquímicos, además de ser el más viable comercial e industrialmente con un costo variable para su elaboración de \$0.50 por cada 250 gramos.

Palabras clave: Inoculación, cultivo láctico, preservante, lácteos, queso crema.

Abstract

This study focused on the development of natural cream cheese. The use of the lactic acid bacteria *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* was evaluated as a nisin synthesizer (natural preservative), incorporating functional ingredients such as vinegar and soluble corn fiber with the aim of obtaining a product without the addition of synthetic ingredients. A comparative analysis of shelf life was conducted on cream cheese made with natural ingredients across four treatments with two evaluation factors: fermentation time (10 and 13 hours) and dosage (5 and 10 CFU) of the lactic culture, along with a control cream cheese with synthetic ingredients. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* proved to be effective in synthesizing nisin as a natural preservative, as microbiological analyses confirmed the absence of pathogenic bacteria in natural cream cheese on days 0, 20, 40, 60, and 80. Physicochemical parameters showed a significant variation ($p < 0.05$) among treatments, indicating that the applied factors influenced the physicochemical characteristics. Sensory evaluation revealed that the treatment with 13 hours of fermentation and a lactic culture dosage of 10 CFU was preferred over the control treatment of cream cheese made with synthetic ingredients, indicating a preference for natural cream cheese. Treatment three was chosen as the best treatment due to its results in physicochemical analyses, in addition to being the most commercially and industrially viable with a variable cost of \$0.50 per 250 grams.

Key words: Inoculation, lactic culture, preservative, dairy, cream cheese.

INDICE DE CONTENIDOS

1. Introducción.....	1
2. Marco Teórico.....	2
2.1 Microbiología de <i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i>	2
2.1.1 Producción de nisina por la bacteria <i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i>	3
2.2 Selección de la leche a utilizar	4
2.3 Inoculación de <i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i>	4
2.4 Propiedades y beneficios del uso de vinagre	5
2.5. Ingredientes adicionales	5
2.6 Almacenamiento y regulaciones	6
3. Planteamiento del Problema.....	7
4. Identificación del objeto de estudio	8
5. Objetivos.....	8
5.1 Objetivo General.....	8
5.2 Objetivos Específicos	8
6. Justificación	8
7. Aplicación de la metodología	9
7.1 Materias primas permitidas	9
7.2 Parámetros establecidos	10
7.2.1 Parámetros microbiológicos.....	10
7.2.2 Aditivos permitidos	11
7.3 Diseño experimental	11
7.4 Formulaciones de los tratamientos	12
7.5 Variables dependientes e independientes.....	13
7.6 Metodología elaboración queso crema natural	13
7.6.1 Diagrama de flujo elaboración queso crema natural	14
7.6.2 Descripción del proceso de elaboración del queso crema natural	14
7.6.3 Balance de masas elaboración de quark	15
7.6.4 Rendimiento del quark.....	16
7.6.5 Balance de masas elaboración queso crema natural.....	17
7.7 Metodología de los análisis microbiológicos	17
7.8 Metodología de los Análisis Bromatológicos	19
7.9 Metodología de los Análisis Físico-Químicos.....	26
7.10 Metodología de la evaluación sensorial	30

7.11 Estadística utilizada	31
8. Resultados	31
8.1 Resultados de los análisis microbiológicos	31
8.2 Resultados del análisis bromatológico	31
8.3 Resultados de la evaluación sensorial	34
8.4 Costos variables de formulación	35
8.4 Empaque seleccionado.....	35
8.5 Resultados del análisis bromatológico	35
8.6 Etiquetado nutricional del queso crema natural.....	36
9 Discusión de los resultados y propuesta de solución	37
9.1 Discusión de los resultados microbiológicos	37
9.2 Discusión de los resultados de los análisis físico – químicos	37
9.3 Discusión de los resultados de la evaluación sensorial.....	38
10 Conclusiones y Recomendaciones	38
10.1 Conclusiones	38
10.2 Recomendaciones	39
Referencias	40
Anexos.....	42

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Parámetros establecidos para quesos crema	10
Tabla 2. Requisitos microbiológicos para quesos frescos no madurados	10
Tabla 3. Diseño experimental BCA 2x2 + 1 testigo para el queso crema natural	11
Tabla 4. Formulaciones de los 4 tratamientos para la elaboración de quark	12
Tabla 5. Formulación base para la elaboración de queso crema natural con los 4 tratamientos	12
Tabla 6. Formulación base con la que se desarrolló el testigo	13
Tabla 7. Detalle de las variables dependientes e independientes definidas	13
Tabla 8. Materiales para estudio microbiológico	17
Tabla 9. Equipos para estudio microbiológico	18
Tabla 10. Reactivos para estudio microbiológico	18
Tabla 11. Muestras necesarias para estudio microbiológico	18
Tabla 12. Materiales para determinación de cenizas	19
Tabla 13. Equipo para determinación de cenizas	19
Tabla 14. Muestra necesaria para determinación de cenizas	19
Tabla 15. Materiales para determinación de cloruros	20
Tabla 16. Equipos para determinación de cloruros	20
Tabla 17. Reactivos para determinación de cloruros	20
Tabla 18. Muestras necesarias para determinación de cloruros	20
Tabla 19. Materiales para determinación de calcio	21
Tabla 20. Equipos para determinación de calcio	21
Tabla 21. Reactivos para determinación de calcio	21
Tabla 22. Muestras necesarias para determinación de calcio	22
Tabla 23. Materiales para determinación de hierro	22
Tabla 24. Equipos para determinación de hierro	23
Tabla 25. Reactivos para determinación de hierro	23
Tabla 26. Muestras necesarias para determinación de hierro	23
Tabla 27. Materiales para determinación de proteína	23
Tabla 28. Equipos para determinación de proteína	24
Tabla 29. Muestras necesarias para determinación de proteína	24
Tabla 30. Materiales para determinación de carbohidrato	24
Tabla 31. Equipos para determinación de carbohidrato	24
Tabla 32. Reactivos para determinación de carbohidrato	25
Tabla 33. Muestras necesarias para determinación de carbohidrato	25

Tabla 34. Materiales para determinación de fibra	25
Tabla 35. Equipos para determinación de fibra	25
Tabla 36. Reactivos para determinación de fibra	26
Tabla 37. Muestras necesarias para determinación de fibra	26
Tabla 38. Materiales para determinación de acidez	27
Tabla 39. Equipos para determinación de acidez	27
Tabla 40. Reactivos para determinación de acidez	27
Tabla 41. Muestras necesarias para determinación de acidez	27
Tabla 42. Materiales para determinación de pH	28
Tabla 43. Equipos para determinación de pH	28
Tabla 44. Reactivos para determinación de pH	28
Tabla 45. Muestras necesarias para determinación de pH	28
Tabla 46. Materiales para determinación de humedad	28
Tabla 47. Equipos para determinación de humedad	29
Tabla 48. Muestras para determinación de humedad	29
Tabla 49. Materiales para determinación de grasa	29
Tabla 50. Equipos para determinación de grasa	29
Tabla 51. Reactivos para determinación de grasa	29
Tabla 52. Muestras necesarias para determinación de grasa	30
Tabla 53. Resumen cuadrados medios de los análisis estadísticos de acidez	32
Tabla 54. Medias de datos de la acidez de los tratamientos durante 80 días	32
Tabla 55. Resumen cuadrados medios de los análisis estadísticos del pH	32
Tabla 56. Medias de datos del pH de los tratamientos durante 80 días	32
Tabla 57. Resumen cuadrados medios de los análisis estadísticos de la humedad	33
Tabla 58. Medias de datos de la humedad de los tratamientos durante 80 días	33
Tabla 59. Resumen cuadrados medios de los análisis estadísticos de grasa	33
Tabla 60. Medias de datos de grasa de los tratamientos durante 80 días	34
Tabla 61. Resultados de las evaluaciones sensoriales del queso crema natural (T3) vs testigo	34
Tabla 62. Costos variables de formulación para la obtención de 250 g de Quark	35
Tabla 63. Costos variables de formulación queso crema natural	35
Tabla 64. Resultados obtenidos del análisis proximal del queso crema natural (T3) ...	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Lactococcus lactis subsp. Lactis Fuente: Smykov 2018.....	2
Figura 2. Estructura química de la nisina Fuente: Sibell Roller 2009	4
Figura 3. Diagrama de flujo para la elaboración de queso crema natural	14
Figura 4. Balance de Masas de rendimiento	16
Figura 5. Balance de Masas de merma de procesos.....	17
Figura 4. Gráfico de preferencias queso crema natural vs referencia comercial	34

1. Introducción

El queso crema es un producto lácteo de alto consumo a nivel mundial, debido a sus características organolépticas de textura y sabor. Actualmente, en el mercado ecuatoriano el queso crema que se produce y comercializa, en su mayoría contiene ingredientes sintéticos. A medida que la conciencia sobre la alimentación y la salud crecen, los consumidores buscan opciones naturales y sobre todo saludables. En el caso de Ecuador los productos naturales son un nicho de mercado en constante crecimiento, esto se refleja en la tendencia a preferir productos elaborados con ingredientes naturales, dejando de lado a los aditivos sintéticos (Estructura organizacional como determinante competitivo en pequeñas y medianas empresas del sector alimentos, 2020)

Para la elaboración de queso crema se realiza un proceso de fermentación de la leche con cultivos ácido lácticos que permitan la formación del quark, que es el ingrediente base para la producción de queso crema. El quark es la leche fermentada a un pH entre 4.6 – 4,8 por bacterias ácido lácticas, hasta un punto en el que la caseína se precipita en la leche. La coagulación produce cuajadas y lactosuero, que es la parte líquida que contiene agua, lactosa, y otras proteínas (Fox et al., 2017). La etapa de separación o filtración sirve para eliminar la humedad de la cuajada, separando de esta forma el lactosuero. Posterior a la etapa de separación, se puede añadir otros ingredientes y homogenizarlos, dando lugar al producto de queso crema final (Fox et al., 2017).

Mediante la observación y análisis de queso crema, que se comercializa en los supermercados en Ecuador, se puede comprobar el uso de aditivos sintéticos como cloruro de calcio para la precipitación de la caseína, y preservantes químicos como el sorbato de potasio y el benzoato de sodio. El reemplazar los ingredientes tradicionales por alternativas naturales en el queso crema, podría influir de manera considerable en la textura, el sabor, el olor y la vida útil del producto final. El proyecto se centró en evaluar la vida útil del queso crema natural comparándolo con un queso crema elaborado con ingredientes sintéticos. Se sustituyó cloruro de calcio por vinagre y se realizó el proceso de fermentación de la leche utilizando cultivo láctico desarrollado con la bacteria ácido láctica *Lactococcus lactis subsp. lactis*, que en base a varios estudios realizados produce nisina durante su inoculación, sustancia considerada como un preservante natural altamente efectivo y selectivo contra bacterias grampositivas (Reis et al., 2018). Mediante este estudio también se buscó determinar

la eficacia o no de este cultivo láctico como reemplazo para evitar el uso de sorbato de potasio y benzoato de sodio como preservantes. Adicionalmente, como ingrediente funcional se añadió fibra de maíz soluble considerada como prebiótica, debido a sus propiedades benéficas para la salud digestiva (Sanders et al., 2019). Lo que se buscó fue comprender como este reemplazo de ingredientes afecta en la calidad y vida útil del producto, contribuyendo así a la innovación en la industria de alimentos para satisfacer las demandas de los consumidores actuales.

2. Marco Teórico

El desarrollo del queso crema natural se realizó reemplazando ingredientes sintéticos por naturales y con beneficios comprobados científicamente para la salud humana. El uso de la bacteria *Lactococcus lactis subsp. lactis* como ingrediente y objeto principal de estudio, implica una serie de consideraciones teóricas y técnicas en términos de microbiología de alimentos y tecnología de procesamiento de lácteos. Además, se añadieron ingredientes funcionales a la formulación como vinagre y fibra soluble de maíz.

2.1 Microbiología de *Lactococcus lactis subsp. lactis*

Lactococcus lactis subsp. lactis es una bacteria láctica utilizada comúnmente en la elaboración de productos lácteos fermentados, como quesos y yogures. Es una bacteria láctica homofermentativa, lo que significa que principalmente produce ácido láctico a partir de la fermentación de lactosa (Siroli et al., 2019). Su uso en la producción de queso crema puede mejorar la textura y el sabor del producto final a través de la acidificación controlada (Widyastuti et al., 2021). Este marco teórico proporciona una visión general de los pasos clave en el desarrollo de un queso crema natural con *Lactococcus lactis subsp. lactis* como ingrediente principal.

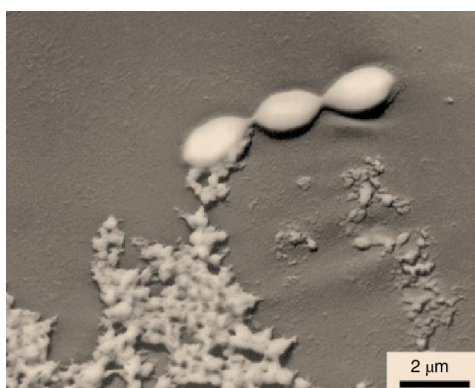


Figura 1. *Lactococcus lactis subsp. Lactis* Fuente: Smykov 2018

2.1.1 Producción de nisina por la bacteria *Lactococcus lactis subsp. lactis*

La nisina es un péptido antimicrobiano producido por ciertas cepas de bacterias lácticas, como el *Lactococcus lactis subsp. lactis*. Esta sustancia actúa como un agente de conservación natural al inhibir el crecimiento de bacterias grampositivas patógenas, que pueden estar presentes en productos lácteos y otros alimentos (Doğan & Hakki, 2021). La producción de nisina por *Lactococcus lactis subsp. lactis* implica el desarrollo de un proceso sistemático.

Síntesis de prenisina: *Lactococcus lactis subsp. lactis* produce una versión inactiva de la nisina llamada "prenisina". La prenisina es una proteína más larga y no activa que se sintetiza en la célula (Weixler et al., 2022).

Corte de la prenisina: Una enzima específica llamada "nisinasa" corta la prenisina en una o más ubicaciones específicas. Este proceso transforma la prenisina en nisina activa, que es el compuesto antimicrobiano funcional (Weixler et al., 2022). La síntesis de la nisinasa ocurre en el interior de la célula de la bacteria productora, que en este caso es *Lactococcus lactis subsp. lactis*, se lleva a cabo a nivel genético, donde los genes responsables de la producción de nisinasa se transcriben y traducen en la célula. La activación de la nisinasa se logra mediante la presencia de nisina inactiva (prenisina) en el entorno (Weixler et al., 2022).

Secreción de nisina: Una vez que se ha producido nisina activa, la bacteria *Lactococcus lactis subsp. lactis* la secreta al medio circundante. Esto permite que la nisina entre en contacto con otras bacterias, especialmente bacterias grampositivas, y ejerza su actividad antimicrobiana (Reis et al., 2018).

Mecanismo de acción: La nisina actúa perturbando la membrana citoplasmática de las bacterias sensibles formando poros en la membrana, lo que provoca la pérdida de iones y nutrientes esenciales ocasionando la muerte de la bacteria (Weixler et al., 2022).

Es importante destacar que la nisina es segura para el consumo humano y ha sido aprobada como aditivo alimentario en varios países del mundo. Se utiliza en productos lácteos y otros alimentos como conservante natural para prevenir el crecimiento de bacterias indeseables, especialmente aquellas que pueden causar problemas de seguridad alimentaria (Sánchez-Martín et al., 2019). La producción de nisina por *Lactococcus lactis subsp. lactis* es un ejemplo de cómo las bacterias

lácticas pueden producir compuestos antimicrobianos beneficiosos que ayudan a preservar y mejorar la calidad de los productos lácteos y otros alimentos.

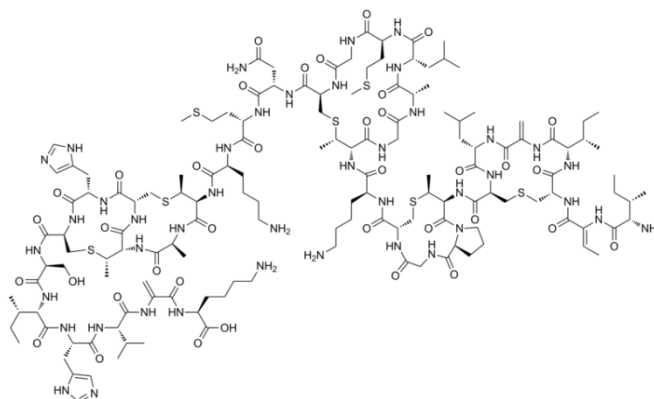


Figura 2. Estructura química de la nisina Fuente: Sibell Roller 2009

2.2 Selección de la leche a utilizar

La selección de la leche es fundamental para la elaboración de queso crema, debe ser de alta calidad y estar libre de contaminantes, como antibióticos y patógenos. La pasteurización de la leche es necesaria para eliminar microorganismos no deseados, pero se debe tener cuidado de no eliminar por completo el microbiota natural que contribuye a la producción del quark (Cheng et al., 2019). Lo ideal es utilizar leche entera pasteurizada a una temperatura de 85 ° C y un tiempo de 10 min para evitar cualquier riesgo de contaminación (Cheng et al., 2019).

2.3 Inoculación de *Lactococcus lactis subsp. lactis*

Para el desarrollo de queso crema, se debe preparar una cepa pura de *Lactococcus lactis subsp. lactis* y luego inocularla en la leche. La cantidad de inóculo (dosificación del cultivo láctico) y las condiciones de incubación (temperatura 38 – 42 °C y tiempo 10 – 13 h) deben ser controladas cuidadosamente para lograr la fermentación deseada (Jurado Gámez & Insuasty Santacruz, 2021). Se debe agregar un coagulante, en este caso se utilizará vinagre para formar el cuajo. El vinagre provoca la separación de la leche en sólidos (cuajada) y líquidos (suero). La cuajada se corta en trozos pequeños para liberar más suero y facilitar la formación del quark. Se lleva a cabo un proceso de desuerado o filtración para eliminar la mayor cantidad de suero posible del quark y concentrar los nutrientes presentes en el mismo (Jurado Gámez & Insuasty Santacruz, 2021).

2.4 Propiedades y beneficios del uso de vinagre

El vinagre es un ácido débil, principalmente compuesto por ácido acético natural, se utiliza ocasionalmente como coagulante en la producción de queso fresco o requesón Norma INEN 1528 (2012). Su uso es menos común que otros aditivos que cumplen esta función en la industria quesera. Al ser un ácido, el vinagre reduce el pH de la leche, cuando el pH de la leche disminuye, se desnaturalizan las proteínas de la caseína, lo que provoca su precipitación (Torrealba et al., 2018). La caseína precipitada se aglutina y forma una estructura similar a la cuajada. Luego de la adición de vinagre y la formación de la cuajada, se procede a separar la cuajada del suero. La cuajada se corta y se retira para su posterior uso, y el suero se descarta o se utiliza en otros productos (Torrealba et al., 2018). El vinagre es un coagulante fácil de usar y accesible. No requiere equipos especiales ni conocimientos técnicos avanzados, es económico y disponible en la mayoría de las industrias. La coagulación con vinagre en general ocurre rápidamente, lo que acelera el proceso de producción en comparación con otros coagulantes (Castada et al., 2014). Puede agregar un sabor ligeramente ácido y característico.

Sin embargo, es importante tener en cuenta que el uso del vinagre como coagulante está limitado a ciertos tipos de quesos y no se utiliza en la producción de quesos más complejos (Castada et al., 2014). El sabor del queso puede variar con el tipo de vinagre utilizado, y algunos consumidores pueden no apreciar este sabor característico. En resumen, el vinagre actúa como coagulante en la leche al reducir el pH y desencadenar la precipitación de las proteínas de la caseína. Los beneficios incluyen su facilidad de uso, bajo costo y velocidad de producción, pero su aplicación es más adecuada para cierto tipo de quesos frescos con un sabor característico de ácido como es el caso del queso crema.

2.5. Ingredientes adicionales

Se pueden agregar ingredientes como sal, condimentos, estabilizantes como goma guar y xantana que se utilizaron en este desarrollo, además de otros cultivos de bacterias lácticas para dar un mejor sabor y textura al queso crema. La adición de fibra soluble de maíz al queso crema puede tener varios beneficios para la calidad nutricional y las propiedades funcionales del producto. Es una fuente de fibra dietética, que ayuda a la salud digestiva y puede satisfacer las recomendaciones diarias de consumo de fibra (Sanders et al., 2019).

La fibra de maíz soluble contiene una mezcla de enlaces glucosídicos α 1-6, α 1-4, α 1-2 y α 1-3, que contribuye a su baja digestibilidad. Los cambios en los ácidos fecales grasos de cadena corta (AGCC), la disminución en el pH del intestino y el aumento de hidrógeno espirado indican que fermenta en el intestino delgado y fermenta en el intestino grueso (Martínez-Yáñez & Rodríguez-Huezo, 2023). Tiene la capacidad de retener agua, lo que contribuye a mejorar la textura del queso crema haciéndolo más suave, cremoso y menos propenso a la separación de suero (Martínez-Yáñez & Rodríguez-Huezo, 2023). La fibra soluble puede proporcionar volumen y saciedad sin agregar muchas calorías adicionales al queso crema siendo beneficioso para las personas que desean reducir la ingesta calórica (Flores, 2019). Además, se ha asociado con la regulación de los niveles de azúcar en sangre, ya que ralentiza la absorción de glucosa en el sistema digestivo siendo relevante para personas con diabetes o aquellas que buscan controlar los niveles de azúcar en sangre (Flores, 2019). Según (Howlett et al., 2010), la fibra soluble puede ayudar a reducir los niveles de colesterol LDL (colesterol "malo") en la sangre, ayudando a la salud cardiovascular.

Es importante destacar que la cantidad de fibra soluble de maíz que se agregue al queso crema pueden variar según los objetivos del producto. Además, es esencial asegurarse de que la fibra soluble se mezcle adecuadamente en el queso crema para evitar cambios no deseados en la textura o el sabor. En general, la adición de fibra soluble de maíz al queso crema puede ser una estrategia para mejorar la calidad nutricional del producto y hacerlo más atractivo para los consumidores conscientes de la salud. Sin embargo, se deben realizaron pruebas de formulación y análisis de sabor para garantizar que el producto final cumpla con las expectativas de sabor y textura.

2.6 Almacenamiento y regulaciones

El queso crema se almacena en refrigeración preferiblemente a menos 6 ° Celsius para conservar sus características organolépticas y prolongar su vida útil. Se deben cumplir las regulaciones locales y nacionales de etiquetado de alimentos, que incluyen información sobre ingredientes, valores nutricionales y fechas de vencimiento.

3. Planteamiento del Problema

El queso crema, es un tipo de queso que se somete a un proceso de fermentación para obtener sus peculiares características como una textura suave, cremosa y ligera acidez. Debido al proceso de fermentación se obtiene el quark y se concentran otro tipo de nutrientes como; proteínas, grasas, vitaminas, minerales y una cantidad menor de carbohidratos (Kassaian et al., 2018). Estas características hacen del queso crema un producto atractivo para los consumidores, pero al igual que otro tipo de lácteos son productos perecibles, por lo que las industrias de alimentos deben de apoyarse en el uso de conservantes para su producción y mantener una buena rotación de cada lote. Al ser el queso crema considerado un producto con alto contenido de grasa, a nivel industrial se utilizan diferentes ingredientes sintéticos para lograr su viabilidad comercial. Una de las tendencias en el mercado por parte de los consumidores es la ingesta de productos con etiquetas limpias o libre de químicos que se pueden considerar perjudiciales para la salud. La nisina es un conservante natural bactericida producido por la fermentación aeróbica (Nilsson et al., 2018). Este agente previene el crecimiento de diferentes microorganismos, su aplicación permite que la vida útil de los alimentos se prolongue. Su mecanismo de acción se basa en atacar las bacterias grampositivas (Reis et al., 2018). Además, ha sido aprobada por autoridades de seguridad alimentaria en todo el mundo incluyendo la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA), La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) y Food Standards Australia New Zealand (FSANZ).

Este conservante se mantiene estable en un amplio rango de pH (3 a 9) (Nilsson et al., 2018), lo cual lo hace un aditivo muy versátil y por esta razón se utiliza en diferentes sectores de la industria alimenticia como bebidas, lácteos, repostería, entre otros. Sin embargo, la mayor presencia de este aditivo es en quesos y carnes curadas ya que permite el crecimiento de diferentes cepas bacterianas y por ende la fermentación. Además de su versatilidad, tiene otras ventajas como que no altera el sabor de los alimentos y es eficaz en bajas concentraciones (3 a 20 ppm), aproximadamente de 3 a 20 mg de nisina en 1 kg del producto final (Nilsson et al., 2018). El cultivo láctico liofilizado utilizado, contiene en su composición *Lactococcus lactis subsp. lactis* un tipo de microorganismo que produce nisina durante su desarrollo, por lo que se consideró y se evaluó su uso como reemplazo de preservantes sintéticos en el desarrollo del queso crema natural.

4. Identificación del objeto de estudio

La evaluación de la vida útil del queso crema natural utilizando *Lactococcus lactis subsp lactis* como sintetizador de nisina, se llevó a cabo mediante estudios de estabilidad, en los que se monitorearon parámetros microbiológicos, químicos y sensoriales durante 80 días, comparándolo con una muestra control de queso crema desarrollada con ingredientes sintéticos que se usan comúnmente como sorbato de potasio, benzoato de sodio y cloruro de calcio. Estos estudios fueron realizados en el Laboratorio de Análisis de Alimentos de la Universidad de las Américas UDLA. Este proceso permitió contemplar la viabilidad técnica y comercial de realizar pruebas de los cultivos lácticos con cepas de *Lactococcus lactis subsp lactis* en las industrias alimenticias ecuatorianas, para evitar el uso de conservantes sintéticos en productos lácteos como quesos crema o similares. También fue importante para el estudio determinar la aceptación sensorial del queso crema elaborado con ingredientes naturales y funcionales, comparándolo con un testigo de queso crema elaborado con ingredientes sintéticos. Estas evaluaciones se llevaron a cabo en el laboratorio de análisis sensorial de la Universidad de las Américas UDLA.

5. Objetivos

5.1 Objetivo General

- Evaluar la vida útil de queso crema elaborado con ingredientes naturales frente a queso crema elaborado con ingredientes sintéticos.

5.2 Objetivos Específicos

- Demostrar la eficacia del cultivo láctico *Lactococcus lactis sub. lactis* para sintetizar nisina como preservante natural.
- Analizar microbiológicamente queso crema con ingredientes naturales y con ingredientes sintéticos.
- Analizar los parámetros fisicoquímicos de queso crema con ingredientes naturales y con ingredientes sintéticos.
- Evaluar mediante análisis sensoriales queso crema con ingredientes naturales versus queso crema con ingredientes sintéticos.

6. Justificación

El queso crema es un producto lácteo altamente apreciado debido a sus atributos sensoriales, al ser un producto perecible, es importante utilizar ingredientes y métodos de conservación que aseguren su inocuidad (Kassaian et al., 2018). La creciente demanda de productos con ingredientes naturales ha llevado a que la industria de alimentos trabaje e innove en el uso de nuevas materias primas de origen natural, que no pongan en riesgo la seguridad alimentaria y la vida útil de los productos.

La inclusión de conservantes naturales como la nisina es una posible solución para prolongar la vida útil del queso crema, evitando los ingredientes sintéticos. La nisina es un aditivo de origen natural utilizado en la industria alimentaria como conservante, respaldado por la aprobación de las autoridades de seguridad alimentaria alrededor del mundo y principalmente del Codex Alimentarius en el que también se basan la mayoría de las normas INEN ecuatorianas. Su capacidad para inhibir el crecimiento de bacterias grampositivas lo hace especialmente relevante en productos lácteos como el queso crema, ya que facilita el desarrollo de cepas bacterianas beneficiosas y contribuye al proceso de fermentación. (Reis et al., 2018)

La metodología implementada basada en los análisis microbiológicos, fisicoquímicos, sensoriales y nutricionales, ayudaran a comprender mejor la calidad, vida útil y seguridad alimentaria del queso crema natural que se desarrollará, en busca de satisfacer una necesidad del mercado.

7. Aplicación de la metodología

El desarrollo y análisis del queso crema natural se basó en fundamentos regulatorios, utilizando la Norma Inen NTE INEN 1528:2012, donde se detallan las siguientes definiciones y especificaciones:

“Queso quark (quarg). Es el queso no madurado ni escaldado, alto en humedad, de textura blanda o suave, preparado con leche descremada y concentrada, cuajada con enzimas y/o cultivos lácticos y separados mecánicamente del suero, cuyo contenido de grasa láctea es variable, dependiendo si se agrega crema o no durante su elaboración.”

“Queso crema. Es el queso no madurado ni escaldado, con un contenido relativamente alto de grasa, de textura homogénea, cremosa, no granulada, preparado solamente con crema o mezclada con leche, cuajada con cultivos lácticos y opcionales se permite el uso de enzimas adicionales en los cultivos lácticos”.

7.1 Materias primas permitidas

Para la elaboración de los quesos frescos no madurados, se pueden emplear las siguientes materias primas e ingredientes autorizados, los cuales deben cumplir con las demás normas relacionadas o con la norma del Codex Alimentarius: CODEX STAN 192-1995.

Leche o productos obtenidos de la leche. Ingredientes tales como:

- Cultivos de fermentos de bacterias inocuas productoras de ácido láctico y aromas y cultivos de otros microorganismos inocuos.
- Cuajo u otras enzimas coagulantes inocuas e idóneas
- Cloruro de sodio
- Vinagre

7.2 Parámetros establecidos

Tabla 1. Parámetros establecidos para quesos crema

Tipo o clase	Humedad % máx. NTE INEN 63	Contenido de grasa en extracto seco, % m/m Mínimo NTE INEN 64
Semiduro	55	-
Duro	40	-
Semiblando	65	-
Blando	80	-
Rico en grasa	-	60
Entero o graso	-	45
Semidescremado o bajo en Grasa	-	20
Descremado o magro	-	0,1

Fuente: NORMA NTE INEN 1528:2012

7.2.1 Parámetros microbiológicos

Requisitos microbiológicos: El análisis microbiológico de los quesos frescos no madurados deben dar ausencia de microorganismos patógenos, sus metabolitos y toxinas.

Tabla 2. Requisitos microbiológicos para quesos frescos no madurados

Requisito	n	M	M	c	Método de ensayo
<i>Enterobacteriáceas</i> UFC/g	5	2×10^2	10^3	1	NTE INEN 1529-13
<i>Escherichia coli</i> UFC/g	5	<10	10	1	AOAC 991.14
<i>Staphylococcus aureus</i> UFC/g	5	10	10^2	1	NTE INEN 1529-14
<i>Listeria monocytogenes</i> /25 g	5	AUSENCIA	-		ISO 11290-1
<i>Salmonella</i> en 25g	5	AUSENCIA	-	0	NTE INEN 1529-15

Fuente: NORMA NTE INEN 1528:2012

Donde:

- n = Número de muestras a examinar.
- m = Índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad.
- M = Índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad.
- c = Número de muestras permisibles con resultados entre m y M.

7.2.2 Aditivos permitidos

Se pueden utilizar los aditivos permitidos y en las cantidades especificadas en la norma NTE INEN 2074, además:

- Gelatina y almidones modificados (estas sustancias pueden utilizarse con los mismos fines que los estabilizadores, a condición de que se añadan únicamente en las cantidades funcionalmente necesarias)
- Harinas y almidones de arroz, maíz y papa (estas sustancias pueden utilizarse con los mismos fines que los anti aglutinantes para el tratamiento de la superficie de productos cortados, rebanados y desmenuzados únicamente, a condición de que se añadan únicamente en las cantidades funcionalmente necesarias).

7.3 Diseño experimental

Se utilizó un diseño de bloques completamente al azar con arreglo factorial 2x2+1, más el análisis de una muestra testigo de queso crema elaborado con ingredientes sintéticos y el proceso estándar comercial (10 UC y 13 horas de inoculación). Los dos factores (de dos niveles cada uno) evaluados fueron: dosificación del cultivo láctico (10 UC y 5 UC) donde la medida UC es la unidad de dosificación que maneja la casa comercial. Un sobre de 10 UC funciona para 1000 litros, 5 UC sería la dosificación para 500 litros. Calcular la dosis en formula se realizó pesando el contenido de un sobre de cultivo y se realizó una regla de tres simple para determinar la cantidad requerida. El segundo factor fue el tiempo de inoculación (10 y 13 horas). Se realizaron tres repeticiones y cuatro medidas repetidas en el tiempo (día 0, día 20, día 40, día 60 y día 80). Para un total de 48 unidades experimentales.

Tabla 3. Diseño experimental BCA 2x2 + 1 testigo para el queso crema natural

Concentración del cultivo / Horas de inoculación	10 UC*	5 UC*	Testigo
10 horas	10 UC + 10 horas (T1)	5 UC + 10 horas (T2)	10 UC** + 13 horas (T0)
13 horas	10 UC + 13 horas (T3)	5 UC + 13 horas (T4)	

**UC= Medida de dosificación del cultivo láctico dado por la casa comercial

7.4 Formulaciones de los tratamientos

En la tabla 4 se muestran las formulaciones para la elaboración de los 4 tratamientos. Se realizaron 4 formulaciones bases de quark donde se utilizaron diferentes concentraciones del cultivo láctico (10 UC y 5 UC) y fueron sometidas a dos diferentes tiempos de inoculación (10 horas y 13 horas).

Tabla 4. Formulaciones de los 4 tratamientos para la elaboración de quark

Ingredientes	Testigo	10 UC + 10 horas	5 UC + 10 horas	10 UC + 13 horas	5 UC + 13 horas
Leche Entera Pasteurizada	99.991	99.991	99.992	99.991	99.992
Vinagre blanco natural / Cloruro de calcio	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008
Cultivo Láctico	0.001	0.0007	0.0003	0.0007	0.0003
Total	100	100	100	100	100

En el testigo se utilizó un cultivo estándar comercial de *Lactococcus lactis subsp cremoris* y cloruro de calcio como coagulante. En los tratamientos se utilizó el cultivo láctico a base de *Lactococcus lactis subsp lactis* y vinagre blanco natural como coagulante.

En la Tabla 5 se muestra la formulación base para la elaboración de queso crema, una vez obtenido el quark de los 4 tratamientos.

Tabla 5. Formulación base para la elaboración de queso crema natural con los 4 tratamientos

Ingredientes	%
Quark	93.00
Sal	1.50
Fibra soluble	5.00
Goma Guar	0.25
Goma Xantan	0.25
Total	100.00

En la Tabla 6 se muestra la formulación con la que se elaboró el testigo para las evaluaciones.

Tabla 6. Formulación base con la que se desarrolló el testigo

Ingredientes	%
Quark	95.97
Crema de Leche	1.00
Leche entera en polvo	1.00
Sal	1.00
Goma Guar	0.40
Goma de Algarrobo	0.40
Lecitina de soya en polvo	0.20
Sorbato de Potasio	0.03
Total	100.00

7.5 Variables dependientes e independientes

Se definieron las siguientes variables, necesarias para determinar la vida útil del queso crema natural y también requeridas por la norma regulatoria:

Tabla 7. Detalle de las variables dependientes e independientes definidas

Variables			
Independientes	Dependientes		
Dosificación del cultivo láctico Tiempo de fermentación	Microbiológicas	Físico - Químicas	Análisis Sensorial
	<i>Enterobacteriáceas</i>	Acidez	Olor
	<i>Escherichia coli</i>	Ph	Sabor
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Humedad	Textura
	<i>Listeria monocytogenes</i>	Grasa	Sabor
	<i>Salmonella</i>		Aceptación

7.6 Metodología elaboración queso crema natural

El desarrollo y elaboración del queso crema natural se realizaron en el laboratorio de alimentos de la Universidad de la Américas UDLA. Se utilizaron los siguientes equipos:

- 2 fermentadores de yogur Cuisinart
- Balanza analítica Boeco
- Thermomix

- Homogenizador Amtech

Se elaboraron cinco diferentes tipos de quark (leche fermentada) debido a las variables que se analizaron en el estudio, y que se detallan en el diseño experimental, una vez obtenidos los quarks se pasó al proceso de elaboración del queso crema natural. Previamente se realizaron pruebas de formulación donde se definieron la cantidad de fibra soluble, sal e hidrocoloides que se debían añadir a la fórmula.

7.6.1 Diagrama de flujo elaboración queso crema natural

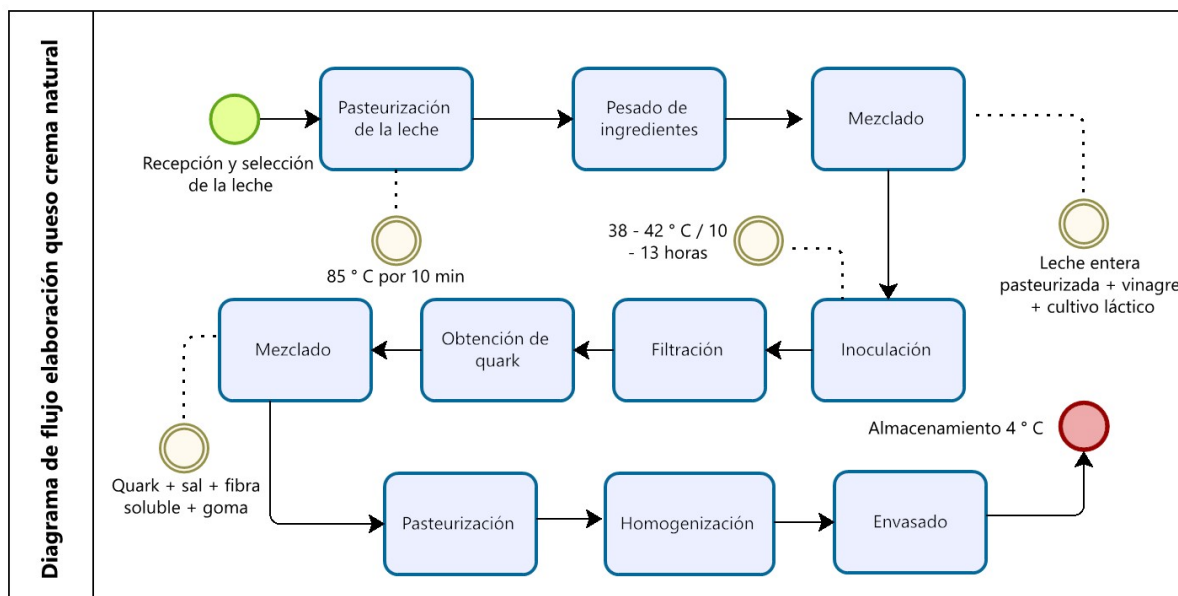


Figura 3. Diagrama de flujo para la elaboración de queso crema natural

7.6.2 Descripción del proceso de elaboración del queso crema natural

- **Recepción y selección de la leche:** Leche entera cruda que cumpla con todos los requisitos microbiológicos y de calidad, para poder ser utilizada en el proceso de desarrollo.
- **Pasteurización de la leche:** Calentamiento de la leche a 85 ° C por 10 min, para asegurar la inocuidad de la leche seleccionada.
- **Pesado de ingredientes:** Pesado exacto de cada uno de los ingredientes a ser utilizados para el desarrollo y elaboración de quark.
- **Primer mezclado:** Añadir el vinagre y el cultivo láctico (*Lactococcus Lactis subsp. lactis*) y agitar lentamente hasta obtener una mezcla homogénea.
- **Inoculación:** Colocar en los fermentadores de yogur Cuisinart la mezcla e inocular entre 38 y 42 ° C en un tiempo entre 10 y 13 horas, y alcanzar un pH entre 4.6 y 4.8.

- **Filtración:** Una vez obtenido el quark (leche fermentada), se pasa por un proceso de filtración, para separar el suero de leche del quark. El tiempo estimado para este proceso dependiendo del filtro que se utilice es de 12 a 24 horas.
- **Segundo mezclado:** Una vez realizado el proceso de filtración, se añaden los ingredientes adicionales al quark, entre ellos: sal, fibra soluble de maíz y los hidrocoloides goma xantan y goma guar y se agitan lentamente hasta obtener una mezcla homogénea.
- **Pasteurización:** Calentamiento de la mezcla homogénea a 80 ° C durante 15 min.
- **Homogenización:** La mezcla pasa por un proceso de homogenizado, para ayudar a mejorar su estabilidad y textura. Este proceso se lo realiza en el Thermomix a 90 rpm durante 10 min.
- **Envasado:** El envasado se realizó en caliente entre 60 y 70 ° C, en frascos de vidrio.
- **Almacenamiento:** Almacenamiento del producto en refrigeración (4 a 6 ° C), para su mejor conservación.

7.6.3 Balance de masas elaboración de quark

Ingredientes de la formulación:

Leche entera pasteurizada: 1 L

Vinagre blanco natural: 80 ml

Cultivo láctico: 0.007 g – 0.003 g * (Se dosifico dependiendo del tratamiento)

Merms durante el procesamiento:

La pérdida se produce durante el proceso de formación del quark, que involucra la adición de vinagre. El vinagre ocasiona la separación de la leche en sólidos y suero. En este contexto, se utiliza la parte sólida, que consiste en el quark

Para estimar la pérdida de forma aproximada, se realiza el cálculo de la siguiente manera:

$$\%perdida = \frac{P_i - P_f}{P_i} * 100$$

$$\%perdida = \frac{1.080,01 - 252,41}{1.080,01} * 100$$

$$\%perdida = 76,62$$

Donde: P_i = peso inicial del ingrediente, P_f = peso final del ingrediente

Cálculo la cantidad de producto final:

Luego de todos los procesos, se obtuvo 250 g de queso crema.

Balance de Masas:

Ingredientes iniciales (total): 1000 g

Ingredientes finales (quark) (total): **250 g Rendimiento**

(suero) (total): 750 g Perdida

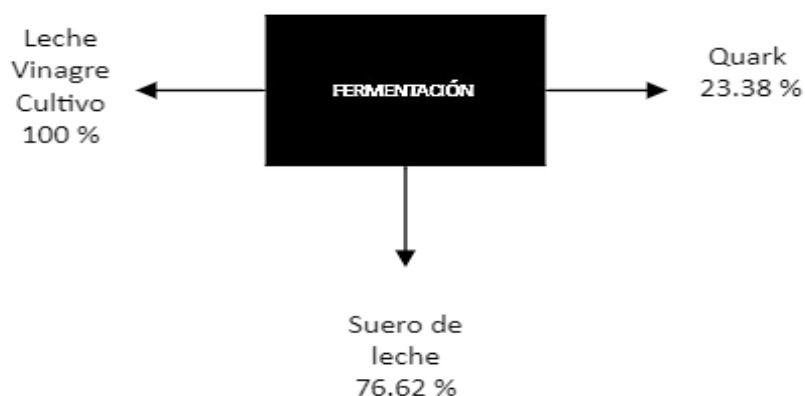


Figura 4. Balance de Masas de rendimiento

7.6.4 Rendimiento del quark

Para obtener el rendimiento promedio estimado de los tratamientos se utilizó la siguiente formulación:

$$\%rendimiento = \frac{P_f}{P_i} * 100$$

$$\%rendimiento = \frac{252.41}{1080.00} * 100$$

$$\%rendimiento = 23.27$$

Donde: P_i = peso inicial del producto, P_f = peso final del producto

7.6.5 Balance de masas elaboración queso crema natural

Ingredientes de la formulación

- Quark: 252.41 g
- Sal: 3.78 g
- Fibra soluble: 12.62 g
- Goma xantan: 0.63 g
- Goma guar: 0.63 g
- Total, ingredientes: 270.07 gramos

Balance de masas

- Ingredientes iniciales: 270.07 gramos (mezcla)
- Ingredientes finales: 256.56 gramos (queso crema natural)
13.50 gramos (merma proceso)

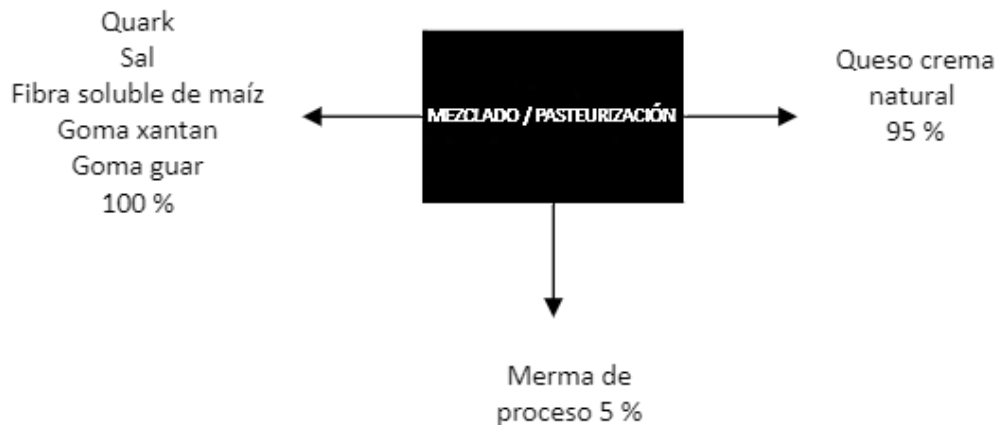


Figura 5. Balance de Masas de merma de procesos

7.7 Metodología de los análisis microbiológicos

El procedimiento para realizar el estudio microbiológico es el siguiente:

Tabla 8. Materiales para estudio microbiológico

Material	Cantidad
Cajas Petri	60 Ud.

Asa de Digrafsky	4 Ud.
Mecheros	2 Ud.
Vasos de Precipitación	4 Ud.
Tubo de Ensayo	4 Ud.
Rejilla	1 Ud.
Micropipeta 100 µL	1 Ud.
Puntas	30 Ud.

Tabla 9. Equipos para estudio microbiológico

Material	Cantidad
Cámara de Incubación	1 Ud.
Vórtex	1 Ud.
Cámara para siembra	1 Ud.
Lámpara para conteo de UFC	1 Ud.
Autoclave	1 Ud.

Tabla 10. Reactivos para estudio microbiológico

Material	Cantidad
Agar Manitol Sal (<i>Staphylococcus aureus</i>)	250 g
Agar PCA (<i>Enterobacterias</i> y <i>Listeria Monocytogenes</i>)	250 g
Agar EMB (<i>Salmonella</i> y <i>Escherichia coli</i>)	250 g

Tabla 11. Muestras necesarias para estudio microbiológico

Material	Cantidad
Queso crema natural procesado	1 g por cada muestra

Procedimiento experimental

Se pesó una cantidad de 1 gramo de la muestra y se diluyó en 10 ml de agua peptonada. La mezcla se agitó durante 30 segundos utilizando un agitador tipo vortex. Luego, se sustrajeron 33 µL de la dilución y se inocularon en una caja Petri con el agar correspondiente. La muestra se esparció en la superficie del agar con un asa de Digrafsky. La caja Petri se dejó secar y se tapó adecuadamente. Posteriormente, se incubó la muestra a una temperatura de 37 ° C durante un período de 24 horas. Una vez transcurrido el tiempo de incubación, se procedió a realizar la lectura de los

microorganismos presentes y se contabilizaron las colonias correspondientes en la placa. Finalmente, se desecharon las cajas Petri utilizadas en el proceso. Este procedimiento se lleva a en cada uno de los agares seleccionados, por cada uno de los diferentes tratamientos. Se repite el procedimiento para realizarlo en los días 0, 20, 40, 60 y 80.

Una vez contabilizadas las colonias se procede a realizar el cálculo de *ufc/ g*. Mediante la siguiente ecuación:

$$ufc = \frac{\sum c}{V * n * d} \quad (\text{ecuación 1})$$

Donde: $\sum c$ = Conteo total de colonias, V= volumen inoculado por placa, n = número de placas, d= factor de dilución.

7.8 Metodología de los Análisis Bromatológicos

En el análisis proximal se realizó el análisis de cenizas, humedad, cloruros, calcio, hierro, proteína y carbohidrato.

Determinación de Cenizas

Tabla 12. Materiales para determinación de cenizas

Material	Cantidad
Vaso precipitación	1 Ud.
Crisol	1 Ud.

Tabla 13. Equipo para determinación de cenizas

Material	Cantidad
Mufla	1 Ud.
Balanza de precisión	1 Ud.
Estufa	1 Ud.

Tabla 14. Muestra necesaria para determinación de cenizas

Producto	Cantidad
Queso crema natural procesado	22 g

Procedimiento experimental

Se pesó la muestra en un vaso de precipitación y se sometió a la estufa para eliminar el exceso de agua. Luego, se pesó nuevamente la muestra, esta vez en un crisol. El crisol se introdujo en la mufla y se sometió a una temperatura de 500 °C durante 48 horas con el fin de obtener las cenizas. El porcentaje de cenizas se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$\%grasa = \frac{P_3 - P_1}{P_2 - P_1} * 100$$

(ecuación 2)

Donde; P_1 = crisol vacío, P_2 = crisol más muestra, P_3 = crisol más cenizas

Determinación de Cloruros

La determinación de cloruros se mide de acuerdo con titulación con nitrato de plata 0.1 N (eq-g/L). Posteriormente se calcula el porcentaje de cloruros, para lo cual se sigue el siguiente procedimiento:

Tabla 15. Materiales para determinación de cloruros

Material	Cantidad
Bandeja de plástico	1 Ud.
Erlenmeyer	1 Ud.
Probeta 100 ml	1 Ud.
Pipeta Pasteur	1 Ud.
Piseta	1 Ud.
Soporte universal	1 Ud.
Bureta 25 ml	1 Ud.

Tabla 16. Equipos para determinación de cloruros

Material	Cantidad
Balanza de precisión	1 Ud.

Tabla 17. Reactivos para determinación de cloruros

Material	Cantidad
Cromato de potasio 5%	1 ml
Nitrato de plata 0.1 N	25 ml
Agua destilada	15 ml

Tabla 18. Muestras necesarias para determinación de cloruros

Producto	Cantidad
Queso crema natural procesado	0.1 g

Procedimiento experimental

Se pesaron 0.1 gramos de la muestra y se disolvieron en 15 ml de agua destilada, a la cual se añadió 1 ml de cromato de potasio. A continuación, se tituló la muestra utilizando nitrato de plata 0.1 N. Se registró el volumen de nitrato de plata consumido y se procedió al cálculo correspondiente:

$$\%Cl = \frac{V_{cons} * N * Eq}{P_m} * 100$$

(ecuación 3)

Dónde: V_{cons} = volumen consumido de nitrato de plata, N = concentración normal de nitrato de plata, Eq = peso equivalente de nitrato de plata, P_m = peso de la muestra en gramos

Determinación de Calcio

La determinación de calcio se mide de acuerdo con titulación con ácido etilendiaminotetraacético 0.01 N (eq-g/L). Posteriormente se calcula el porcentaje de cloruros, para lo cual se sigue el siguiente procedimiento:

Tabla 19. Materiales para determinación de calcio

Material	Cantidad
Bandeja de plástico	1 Ud.
Erlenmeyer	1 Ud.
Pipeta Pasteur	1 Ud.
Piseta	1 Ud.
Probeta 100 ml	1 Ud.
Soporte universal	1 Ud.
Bureta 25 ml	1 Ud.

Tabla 20. Equipos para determinación de calcio

Material	Cantidad
Balanza de precisión	1 Ud.

Tabla 21. Reactivos para determinación de calcio

Material	Cantidad
Hidróxido de sodio 1 N	2 ml
Tetra-hidronaftaleno	1 ml
Ácido etilendiaminotetraacético 0.01 N	25 ml
Agua destilada	50 ml

Tabla 22. Muestras necesarias para determinación de calcio

Producto	Cantidad
Queso crema natural procesado	0.5 g

Procedimiento experimental

Para realizar el análisis, se tomó una cantidad de 0.5 gramos de la muestra, la cual se disolvió en 50 ml de agua destilada, agregando 2 ml de hidróxido de sodio y 1 ml de tetra-hidronaftaleno. Luego, se procedió a titular la muestra utilizando ácido etilendiaminotetraacético 0.01 N. Se registró el volumen consumido de ácido etilendiaminotetraacético y se llevó a cabo el cálculo correspondiente:

$$\%Ca = \frac{V_{cons} * N * Eq}{P_m} * 100$$

(ecuación 4)

Dónde: V_{cons} = volumen consumido de ácido etilendiaminotetraacético, N = concentración normal de ácido etilendiaminotetraacético, Eq = peso equivalente de ácido etilendiaminotetraacético, P_m = peso de la muestra en gramos

Determinación de Hierro

La determinación de hierro se mide de acuerdo con la lectura a 530 nm en el espectrofotómetro UV-Vis. y se realiza el cálculo con la curva de calibración. Posteriormente se calcula el porcentaje de hierro, para lo cual se sigue el siguiente procedimiento:

Tabla 23. Materiales para determinación de hierro

Material	Cantidad
Bandeja de plástico	1 Ud.
Erlenmeyer	1 Ud.
Pipeta Pasteur	1 Ud.
Probeta 100 ml	1 Ud.
Piseta	1 Ud.

Tabla 24. Equipos para determinación de hierro

Material	Cantidad
Balanza de precisión	1 Ud.
Espectrofotómetro UV-Vis	1 Ud.

Tabla 25. Reactivos para determinación de hierro

Material	Cantidad
Clorhidrato de hidroxilamina	1 ml
Buffer	5 ml
Fenantrolina	1 ml
Agua destilada	10 ml

Tabla 26. Muestras necesarias para determinación de hierro

Producto	Cantidad
Queso crema natural procesado	0.1 g

Procedimiento experimental

Se pesaron 0.1 gramos de la muestra y se disolvieron en 10 ml de agua destilada. Luego, se agregaron 1 ml de clorhidrato de hidroxilamina, 5 ml de buffer y 1 ml de fenantrolina. La solución se dejó reposar durante 10 minutos. Posteriormente, se realizó la lectura de la muestra a 530 nm en un espectrofotómetro UV-Vis. Los datos obtenidos se utilizaron en el cálculo, que se basó en la curva de calibración correspondiente:

$$\%Fe = \frac{Abs + (y)}{f(x)}$$

(ecuación 5)

Dónde: *Abs* = absorbancia, (*y*) = respuesta instrumental, *f(x)* = concentración del analito

Determinación de Proteína

Este procedimiento se basa en la metodología de análisis de nitrógeno para estimar el contenido proteico, particularmente utilizando el método de combustión Dumas con el uso del Thermo Scientific™ FlashSmart™ Analyzer.

Tabla 27. Materiales para determinación de proteína

Material	Cantidad
Papel aluminio	1 Ud.

Pinzas	1 Ud.
---------------	-------

Tabla 28. Equipos para determinación de proteína

Material	Cantidad
Balanza analítica	1 Ud.
Thermo Scientific™ FlashSmart™ Analyzer	1 Ud.

Tabla 29. Muestras necesarias para determinación de proteína

Producto	Cantidad
Queso crema natural	40 mg

Procedimiento experimental

Se pesó 40 mg de muestra de queso crema natural, en un recipiente de aluminio. Posteriormente, este recipiente fue colocado en el sistema de inyección del analizador correspondiente, donde se registraron y procesaron los datos obtenidos. El software utilizado permitió la interpretación de los datos de nitrógeno obtenidos del análisis. Aplicando factores de conversión específicos, el software calculó con precisión el contenido de proteína en la muestra de queso crema natural.

Determinación de Carbohidrato

La determinación de carbohidrato se mide de acuerdo con la lectura a 480 nm en el espectrofotómetro UV-Vis. y se realiza el cálculo con la curva de calibración. Posteriormente se calcula el porcentaje de carbohidrato, para lo cual se sigue el siguiente procedimiento:

Tabla 30. Materiales para determinación de carbohidrato

Material	Cantidad
Vaso de precipitación	1 Ud.
Embudo filtración	1 Ud.
Filtro de papel	1 Ud.
Tubo de ensayo	1 Ud.
Probeta 100 ml	1 Ud.
Micropipeta	1 Ud.
Rejilla	1 Ud.
Pipeta graduada	1 Ud.
Propipeta	1 Ud.
Pipeta Pasteur	1 Ud.
Piseta	1 Ud.

Tabla 31. Equipos para determinación de carbohidrato

Material	Cantidad
Balanza de precisión	1 Ud.
Espectrofotómetro UV-Vis	1 Ud.

Tabla 32. Reactivos para determinación de carbohidrato

Material	Cantidad
Ácido sulfúrico	3.6 ml
Fenol 5%	600 µL
Agua destilada	100 ml

Tabla 33. Muestras necesarias para determinación de carbohidrato

Producto	Cantidad
Queso crema natural	5 g

Procedimiento experimental

Se pesaron 5 gramos de la muestra y se disolvieron en 100 ml de agua destilada. Posteriormente, la muestra se filtró utilizando un embudo y papel de filtro. Luego, se tomó 1 ml de la muestra filtrada y se le añadieron 600 microlitros de fenol al 5% y 3.6 ml de ácido sulfúrico. Esta mezcla se colocó en un tubo de ensayo y se dejó reposar durante 30 minutos. Después de reposar, se registró la lectura a 540 nm en un espectrofotómetro UV-Vis y se realizó el cálculo necesario utilizando la curva de calibración correspondiente:

$$\%CHO = \frac{Abs + (y)}{f(x)}$$

(ecuación 7)

Dónde: *Abs* = absorbancia, *(y)* = respuesta instrumental, *f(x)* = concentración del analito

Determinación de Fibra

Tabla 34. Materiales para determinación de fibra

Material	Cantidad
Erlenmeyer	1 Ud.
Crisol	1 Ud.

Tabla 35. Equipos para determinación de fibra

Material	Cantidad
Balanza de precisión	1 Ud.
Digestor de fibra	1 Ud.

Mufla	1 Ud.
-------	-------

Tabla 36. Reactivos para determinación de fibra

Material	Cantidad
Buffer de fosfatos 0.01 N	50 ml
Amilasa	0.1 ml
Hidróxido de sodio 0.275 N	10 ml
Proteasa	0.1 ml
Ácido clorhídrico	10 ml
Amilogucosidasa	0.1 ml
Etanol 95%	200 ml
Celita	1 gr

Tabla 37. Muestras necesarias para determinación de fibra

Producto	Cantidad
Queso crema natural	1 g

Procedimiento experimental

Se pesaron 1 gramo de muestra en un Erlenmeyer y se añadieron 50 ml de buffer de fosfatos 0.01 N y 0.1 ml de amilasa. Luego, la mezcla se colocó en un digestor de fibra con agitación a 95 °C durante 30 minutos.

Después de enfriar a temperatura ambiente, se agregaron 10 ml de hidróxido de sodio 0.275 N, se ajustó el pH a 7.5 y se incorporaron 0.1 ml de proteasa. La muestra se volvió a colocar en el digestor de fibra, esta vez a 60 °C, durante 30 minutos.

Tras enfriar nuevamente a temperatura ambiente, se añadieron 10 ml de ácido clorhídrico para ajustar el pH entre 4.0 y 4.6. Luego, se agregaron 0.1 ml de amilogucosidasa a una temperatura de 60 °C, junto con 200 ml de etanol precalentado al 95%. La preparación se filtró sobre un crisol que contenía 1 gramo de celita y el cálculo corresponde a la siguiente fórmula.

$$\%fibra\ cruda = \frac{F_c - P_m}{P_m} * 100$$

(ecuación 8)

Dónde: F_c = peso de residuo de fibra, P_m = peso de muestra inicial

7.9 Metodología de los Análisis Físico-Químicos

Análisis de Acidez

Tabla 38. Materiales para determinación de acidez

Material	Cantidad
Balón	1 Ud.
Erlenmeyer	1 Ud.
Embudo filtración	1 Ud.
Filtro de papel	1 Ud.
Tubo de ensayo	1 Ud.
Probeta 100 ml	1 Ud.
Rejilla	1 Ud.
Pipeta Pasteur	1 Ud.
Piseta	1 Ud.

Tabla 39. Equipos para determinación de acidez

Material	Cantidad
Balanza de precisión	1 Ud.
Estufa	1 Ud.
Espectrofotómetro UV-Vis	1 Ud.

Tabla 40. Reactivos para determinación de acidez

Material	Cantidad
Reactivo de Biuret	4 ml
Agua destilada	50 ml

Tabla 41. Muestras necesarias para determinación de acidez

Producto	Cantidad
Queso crema natural procesado	0.5 g

Procedimiento experimental

El procedimiento consistió en pesar 0.5 gramos de muestra y mezclarlos con 25 ml de etanol y 5 gotas de fenolftaleína. Posteriormente, se tituló la muestra con hidróxido de potasio. Se registró el volumen consumido de hidróxido de potasio y se utilizó este dato para realizar el cálculo correspondiente:

$$\% \text{ ácido láctico} = \frac{V_{\text{cons}} * N * Eq}{P_m}$$

(ecuación 9)

Dónde: V_{cons} = volumen consumido de hidróxido de potasio, N = concentración normal de hidróxido de potasio, mEq = peso equivalente de hidróxido de potasio, P_m = peso de la muestra en gramos

Análisis de pH

Tabla 42. Materiales para determinación de pH

Material	Cantidad
Probeta 100 ml	1 Ud.
Vaso de precipitación 250 ml	1 Ud.
Piseta	1 Ud.

Tabla 43. Equipos para determinación de pH

Material	Cantidad
Balanza analítica	1 Ud.
Vortex	1 Ud.
Potenciómetro	1 Ud.

Tabla 44. Reactivos para determinación de pH

Material	Cantidad
Agua destilada	250 ml

Tabla 45. Muestras necesarias para determinación de pH

Producto	Cantidad
Queso crema natural	10 g

Procedimiento

Se tomaron 10 gramos de muestra y se agregaron 100 ml de agua destilada. La muestra se homogeneizó en un vortex para asegurar una distribución uniforme.

A continuación, se midió el pH de la muestra en duplicado utilizando un potenciómetro que había sido previamente calibrado. Se verificó que las dos mediciones no difirieran en más de un 5% entre sí.

Determinación de Humedad

Tabla 46. Materiales para determinación de humedad

Material	Cantidad
Crisol	1 Ud.
Bandeja de plástico	1 Ud.

Tabla 47. Equipos para determinación de humedad

Material	Cantidad
Balanza Analítica	1 Ud.
Mufla	1 Ud.

Tabla 48. Muestras para determinación de humedad

Material	Cantidad
Queso crema natural procesado	2.96 g

Procedimiento experimental

Se tomó el peso del crisol vacío. Luego, se pesó la muestra en el crisol. El crisol junto con la muestra se colocó en la mufla a una temperatura de 105 °C en intervalos de 30 minutos hasta que se obtuvo una constante.

Al día siguiente, se realizó el último pesaje para determinar el contenido de humedad, y este valor se calculó utilizando la fórmula correspondiente:

$$\%humedad = \frac{P_n - P_1}{P_m} * 100$$

(ecuación 10)

Donde: P_n = peso constante, P_1 = crisol vacío, P_m = peso muestra

Análisis de Grasa

Tabla 49. Materiales para determinación de grasa

Material	Cantidad
Balón	1 Ud.
Vaso de precipitación Erlenmeyer	1 Ud.
Cartucho poroso	1 Ud.

Tabla 50. Equipos para determinación de grasa

Material	Cantidad
Balanza analítica	1 Ud.
Equipo Soxhlet	1 Ud.
Espectrofotómetro UV-Vis	1 Ud.
Plancha de calentamiento	1 Ud.

Tabla 51. Reactivos para determinación de grasa

Material	Cantidad
----------	----------

Etanol	840 ml
--------	--------

Tabla 52. Muestras necesarias para determinación de grasa

Producto	Cantidad
Queso crema natural	40 g

Procedimiento experimental

Se tomó la constante del peso del balón vacío. Luego, la muestra se colocó en un cartucho poroso y se selló con una tapa de algodón. El etanol se calentó a 100 °C en el equipo Soxhlet, lo que permitió que el etanol extrajera la grasa retenida en el cartucho.

Los lípidos quedaron en el balón de recolección, y para extraerlos por completo, se dejó una porción de éter y se utilizó un rota vapor. Posteriormente, se registró el peso del balón con la muestra, y se aplicó la fórmula correspondiente para determinar el contenido de lípidos.

$$\%grasa = \frac{P_g}{P_m} * 100$$

(ecuación 11)

Dónde: P_g = peso de la grasa, P_m = peso de la muestra

7.10 Metodología de la evaluación sensorial

Para la evaluación sensorial se escogió el tratamiento tres T3 (10 UC + 13) horas de inoculación, ya que presentó los mejores resultados y mayor estabilidad en los parámetros fisicoquímicos, además de que tendría mayor viabilidad comercial debido a los procesos industriales que manejan las empresas ecuatorianas. Se comparo T3 (queso crema natural) contra el T0 (queso crema sintético).

Las evaluaciones se realizaron en el laboratorio de evaluación sensorial de la Universidad de las Américas UDLA a 40 panelistas debido a la cantidad de muestra del tratamiento con la que se contaba, tomando en cuenta también la cantidad necesaria para realizar los análisis proximales realizados al queso crema natural. Los atributos sensoriales evaluados fueron: olor, color, sabor, textura y aceptación mediante una evaluación sensorial descriptiva con escala hedónica del 1 al 5 (1 menor calificación – 5 mayor calificación). El formulario se realizó digitalmente con la

herramienta Microsoft Forms, lo que facilitó la recolección y procesamiento de los datos estadísticamente.

7.11 Estadística utilizada

En el caso de los análisis microbiológicos no fue necesario realizar un análisis estadístico, debido a que no hubo ausencia de bacterias patógenas en todos los tratamientos.

En el caso de los parámetros físicos – químicos se realizó un ANDEVA, con separación de media Tukey ($P < 0.05$), utilizando el sistema de análisis estadístico InfoStat versión 2020.

Para los análisis estadísticos de las evaluaciones sensoriales se ejecutó estadística descriptiva, utilizando el sistema de análisis estadístico InfoStat versión 2020, para establecer las puntuaciones dadas por cada panelista y su preferencia.

8. Resultados

8.1 Resultados de los análisis microbiológicos

Los resultados de los análisis revelaron que se cumplen los requisitos establecidos por la norma INEN 1528 para los quesos frescos no madurados, ya que se observó la ausencia de bacterias patógenas: *Enterobacteriáceas*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella*, tanto en el testigo que contenía conservantes sintéticos como en los 4 tratamientos analizados a los días (0, 20, 40, 60 y 80) en los que se realizaron los análisis, utilizando únicamente la BAL *Lactococcus lactis subsp. lactis* como productor de preservante natural nisina.

8.2 Resultados del análisis bromatológico

Las tablas que presentan los resultados de los parámetros fisicoquímicos desempeñan un papel crucial en la comprensión y el análisis de las características de los productos evaluados. Estas tablas ofrecen una visión detallada de las variaciones y relaciones entre diferentes variables clave que afectan la composición y calidad del queso crema desarrollado. A través de estos datos, se pueden identificar tendencias, comparar tratamientos y determinar el impacto de las variables estudiadas en las propiedades fisicoquímicas de las muestras. Estas tablas representan una herramienta fundamental para interpretar y discutir los hallazgos obtenidos durante el

proceso de evaluación y ofrecen una visión integral de los aspectos fisicoquímicos analizados en el desarrollo del queso crema natural.

Acidez

Tabla 53. Resumen cuadrados medios de los análisis estadísticos de acidez

F. V	GL	CM (Día 0)	CM (Día 20)	CM (Día 40)	CM (Día 60)	CM (Día 80)
Tratamientos	4	1.0×10^{-3} **	4.2×10^{-3} **	0.07*	0.10**	0.11**
Repetición	2	2.0×10^{-5} na	6.7×10^{-6} na	0.01 ^{na}	4.7×10^{-5} na	4.7×10^{-5} na
Error	8	3.7×10^{-5}	4.0×10^{-5}	0.01	3.0×10^{-5}	2.2×10^{-5}
Total	14					
C.V %		2.83	2.67	18.96	0.86	0.59

*= Diferencia significativa ($p < 0.05$)

** = Diferencia altamente significativa ($p < 0.05$)

na= No existen diferencias significativas ($p > 0.05$)

Tabla 54. Medias de datos de la acidez de los tratamientos durante 80 días

Tratamientos	Día 0 ± D. E	Día 20 ± D. E	Día 40 ± D. E	Día 60 ± D. E	Día 80 ± D. E
T0	0.20 ± 0.003^b	0.21 ± 0.003^d	0.28 ± 0.06^b	0.32 ± 0.003^d	0.45 ± 0.002^d
T1	0.21 ± 0.003^b	0.25 ± 0.003^b	$0.55 \pm 0.06^{ab**}$	0.68 ± 0.003^c	0.85 ± 0.002^c
T2	0.21 ± 0.003^b	0.21 ± 0.003^d	0.62 ± 0.06^a	0.70 ± 0.003^b	0.87 ± 0.002^b
T3	0.25 ± 0.003^a	0.30 ± 0.003^a	0.65 ± 0.06^a	0.81 ± 0.003^a	0.90 ± 0.002^a
T4	0.21 ± 0.003^b	0.23 ± 0.003^c	0.48 ± 0.06^{ab}	0.69 ± 0.003^{bc}	0.87 ± 0.002^b

*= Medias con diferente letra son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

**= Medias con letras iguales no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

D.E= Desviación estándar

pH

Tabla 55. Resumen cuadrados medios de los análisis estadísticos del pH

F. V	GL	CM (Día 0)	CM (Día 20)	CM (Día 40)	CM (Día 60)	CM (Día 80)
Tratamientos	4	4.2×10^{-3} **	0.02 **	0.03**	0.05**	0.18**
Repetición	2	1.3×10^{-4} *	4.7×10^{-5} na	1.3×10^{-4} *	1.1×10^{-4} na	2.7×10^{-5} na
Error	8	8.1×10^{-5}	2.2×10^{-5}	2.7×10^{-5}	3.2×10^{-5}	3.5×10^{-5}
Total	14					
C.V %		0.07	0.10	0.11	0.12	0.12

*= Diferencia significativa ($p < 0.05$)

** = Diferencia altamente significativa ($p < 0.05$)

na= No existen diferencias significativas ($p > 0.05$)

Tabla 56. Medias de datos del pH de los tratamientos durante 80 días

Tratamientos	Día 0 ± D. E	Día 20 ± D. E	Día 40 ± D. E	Día 60 ± D. E	Día 80 ± D. E
--------------	--------------	---------------	---------------	---------------	---------------

T0	4.60 ± 0.001 ^{c*}	4.61 ± 0.002 ^d	4.65 ± 0.003 ^c	4.66 ± 0.003 ^d	4.71 ± 0.003 ^d
T1	4.60 ± 0.001 ^c	4.81 ± 0.002 ^a	4.90 ± 0.003 ^a	5.00 ± 0.003 ^a	5.35 ± 0.003 ^a
T2	4.60 ± 0.001 ^c	4.66 ± 0.002 ^c	4.70 ± 0.003 ^b	4.79 ± 0.003 ^b	4.89 ± 0.003 ^b
T3	4.65 ± 0.001 ^b	4.65 ± 0.002 ^c	4.66 ± 0.003 ^c	4.75 ± 0.003 ^c	4.85 ± 0.003 ^c
T4	4.69 ± 0.001 ^a	4.70 ± 0.002 ^b	4.71 ± 0.003 ^b	4.79 ± 0.003 ^b	4.88 ± 0.003 ^b

*= Medias con diferente letra son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

**= Medias con letras iguales no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

D.E= Desviación estándar

Humedad

Tabla 57. Resumen cuadrados medios de los análisis estadísticos de la humedad

F. V	GL	CM (Día 0)	CM (Día 20)	CM (Día 40)	CM (Día 60)	CM (Día 80)
Tratamientos	4	21.78 **	15.97 **	5.35 **	7.70 **	8.09**
Repetición	2	6.7 x 10 ⁻⁶ na	6.7 x 10 ⁻⁶ na	4.7 x 10 ⁻⁵ na	0.08 na	0.02 na
Error	8	4.0 x 10 ⁻⁵	4.0 x 10 ⁻⁵	9.7 x 10 ⁻⁵	0.05	0.06
Total	14					
C.V %		0.01	0.01	0.02	0.44	0.48

*= Diferencia significativa ($p < 0.05$)

** = Diferencia altamente significativa ($p < 0.05$)

na= No existen diferencias significativas ($p > 0.05$)

Tabla 58. Medias de datos de la humedad de los tratamientos durante 80 días

Tratamientos	Día 0 ± D. E	Día 20 ± D. E	Día 40 ± D. E	Día 60 ± D. E	Día 80 ± D. E
T0	50.10 ± 0.003 ^{b*}	50.11 ± 0.003 ^c	4.65 ± 0.003 ^d	52.17 ± 0.13 ^c	53.87 ± 0.15 ^a
T1	54.81 ± 0.003 ^a	52.59 ± 0.003 ^a	4.90 ± 0.003 ^b	54.07 ± 0.13 ^a	54.28 ± 0.15 ^a
T2	54.80 ± 0.003 ^a	55.01 ± 0.003 ^b	4.70 ± 0.003 ^a	52.93 ± 0.13 ^b	52.07 ± 0.15 ^b
T3	49.60 ± 0.003 ^d	49.60 ± 0.003 ^e	4.66 ± 0.003 ^e	52.17 ± 0.13 ^e	50.17 ± 0.15 ^c
T4	49.99 ± 0.003 ^c	50.00 ± 0.003 ^d	4.71 ± 0.003 ^c	50.97 ± 0.13 ^d	52.16 ± 0.15 ^b

*= Medias con diferente letra son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

**= Medias con letras iguales no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

D.E= Desviación estándar

Grasa

Tabla 59. Resumen cuadrados medios de los análisis estadísticos de grasa

F. V	GL	CM (Día 0)	CM (Día 20)	CM (Día 40)	CM (Día 60)	CM (Día 80)
Tratamientos	4	9.05 **	13.33 **	16.34 **	13.57 *	9.82**
Repetición	2	0.03 na	0.12 ^{na}	0.16 ^{na}	2.64 na	0.13 *
Error	8	0.03	0.22	0.09	1.16	0.03
Total	14					
C.V %		0.76	2.07	1.31	4.60	0.71

*= Diferencia significativa ($p < 0.05$)

** = Diferencia altamente significativa ($p < 0.05$)
na= No existen diferencias significativas ($p > 0.05$)

Tabla 60. Medias de datos de grasa de los tratamientos durante 80 días

Tratamientos	Día 0 \pm D. E	Día 20 \pm D. E	Día 40 \pm D. E	Día 60 \pm D. E	Día 80 \pm D. E
T0	24.67 \pm 0.10 ^{a*}	23.67 \pm 0.27 ^b	23.00 \pm 0.17 ^b	23.17 \pm 0.62 ^{ab}	23.20 \pm 0.09 ^b
T1	22.00 \pm 0.10 ^b	25.83 \pm 0.27 ^a	26.17 \pm 0.17 ^a	26.17 \pm 0.62 ^a	25.03 \pm 0.09 ^a
T2	22.00 \pm 0.10 ^b	21.83 \pm 0.27 ^c	22.03 \pm 0.17 ^c	24.98 \pm 0.62 ^a	22.27 \pm 0.09 ^c
T3	20.00 \pm 0.10 ^d	20.50 \pm 0.27 ^d	20.22 \pm 0.17 ^d	21.70 \pm 0.62 ^b	20.08 \pm 0.09 ^d
T4	21.00 \pm 0.10 ^c	21.50 \pm 0.27 ^{cd**}	20.86 \pm 0.17 ^d	21.17 \pm 0.62 ^b	23.35 \pm 0.09 ^b

*= Medias con diferente letra son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

**= Medias con letras iguales no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

D.E= Desviación estándar

8.3 Resultados de la evaluación sensorial

n = 40 panelistas

Muestra 321= queso crema natural (tratamiento 3 (10 UC + 13 horas) escogido por viabilidad comercial e industrial)

Muestra 578 = Testigo queso crema con ingredientes sintéticos

Tabla 61. Resultados de las evaluaciones sensoriales del queso crema natural (T3) vs testigo

Muestra	Atributos sensoriales				
	Textura	Sabor	Olor	Apariencia	Preferencia
321	3,70	4,30	3,25	4,35	22,00
578	3,65	3,75	3,2	4,00	18,00
C.V %	31,21	21,31	45,26	24,74	10,12

D.E= Desviación estándar

C.V % = Coeficiente de variación

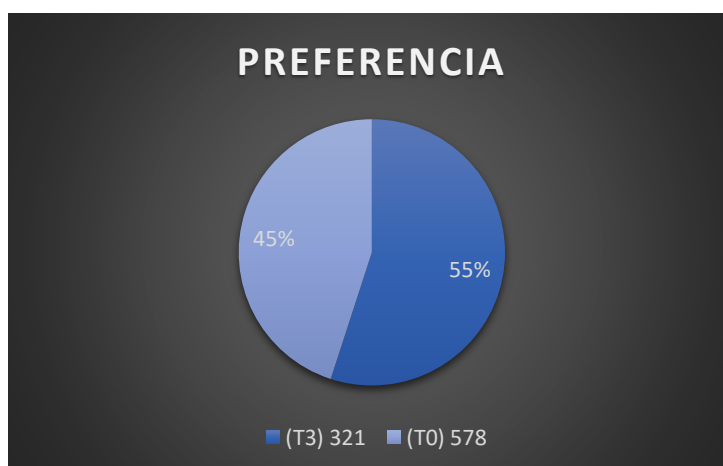


Figura 6. Gráfico de preferencias queso crema natural vs referencia comercial

8.4 Costos variables de formulación

La evaluación de costos variables de la formulación se realizó escogiendo el mejor tratamiento (T3), y se separó en el costo de los dos procesos: costo de obtención de quark y el costo de formulación final de queso crema natural.

Tabla 62. Costos variables de formulación para la obtención de 250 g de Quark

Ingredientes	Costo USD / kg o L	%	1000	Costo por %	Costo para obtener 250 g de Quark USD
Leche entera pasteurizada	\$0,45	99,991	999,91	\$0,04500	\$0,450
Vinagre	\$1,60	0,008	0,08	\$0,00001	\$0,0001
Cultivo láctico	\$3.000,00	0,0007	0,01	\$0,00210	\$0,021
Total	\$3.002,05	100	1000,00	\$0,05	\$0,47

Tabla 63. Costos variables de formulación queso crema natural

Ingredientes	Costo USD / kg o L	%	250	Costo por %	Costo 250 g de queso crema natural USD
Quark	\$1,88	93,00	232,5	\$0,175	\$0,437
Sal	\$0,20	1,50	3,75	\$0,000	\$0,001
Fibra Soluble de Maíz	\$4,50	5,00	12,5	\$0,023	\$0,056
Goma Xantan	\$8,00	0,25	0,625	\$0,002	\$0,005
Goma Guar	\$5,00	0,25	0,625	\$0,001	\$0,003
Total	\$19,58	100,00	250,00	\$0,20	\$0,50

8.4 Empaque seleccionado

Al ser un queso crema natural, el empaque seleccionado fue frascos de vidrio debido a que comercialmente se utilizan plásticos como el PET, así que para diferenciación y darles una visión natural a los posibles consumidores, se escogió a los frascos de vidrios como material de empaque.

Los frascos de vidrio permiten un envasado caliente de los productos, además que pueden ser de fácil desinfección por su alta resistencia a temperatura y tienen un bajo intercambio de oxígeno por lo que permiten alargar la vida útil de los productos. (Povea Garcerant, 2019).

8.5 Resultados del análisis bromatológico

Los resultados obtenidos de los análisis bromatológicos al queso crema natural son los siguientes:

Tabla 64. Resultados obtenidos del análisis proximal del queso crema natural (T3)

Cenizas (%)	Humedad (%)	Cloruros (%)	Calcio (%)	Hierro (%)	Grasa (%)	Proteína (%)	Carbohidrato (%)	Fibra (%)
2.99	49.66	3.47	18.40	2.80	23.76	1.76	6.12	4.46

Los resultados indican, según la Tabla 61, que el queso crema natural presenta niveles particulares de cenizas, humedad, calcio, hierro, proteína y carbohidratos. Además, se observa un contenido elevado de cloruro de sodio y una alta concentración de calcio, características inherentes a la elaboración de queso crema (De Oliveira et al., 2021).

8.6 Etiquetado nutricional del queso crema natural

Los datos obtenidos se investigaron en la base de datos de alimentos de la USDA Food composition data y se procesaron en un formato estándar para el cálculo de etiquetas en base a los nutrientes de cada ingrediente en la formulación. Se considero el valor diario recomendado de 2000 kcal (Norma NTE INEN 1334 - 2).

Información Nutricional			
Tamaño de la porción			15 g
Porciones por envase			Aprox. 17
Cantidad por porción			
Energía (calorías)			36 kcal
Energía de la grasa			31 kcal
% VALOR DIARIO			
Grasa total	3 g	5%	
Grasa saturada	0 g	2%	
Grasa trans	0 g		
Grasa insaturada	0 g		
Colesterol	3 mg	0%	
Sodio	86 mg	4%	
Carbohidratos totales:	1 g	0%	
Fibra dietética	1 g	3%	
Azúcares totales	0 g		
Proteína	0 g		
Calcio	3%	Hierro	0%
Vitamina C	0%	Vitamina A	0%

Semáforo

POR 100 g o ml:

GRASA	23,25
AZÚCAR	0,10
SAL	1,45

9 Discusión de los resultados y propuesta de solución

9.1 Discusión de los resultados microbiológicos

Los resultados obtenidos en los análisis microbiológicos se pueden deber a que después de 24 horas de incubación, las BAL (bacterias ácido lácticas) redujeron en 10 veces la cantidad de bacterias patógenas en el queso crema. (Akbar et al., 2019). Los hallazgos de este proyecto revelaron que el *Lactococcus lactis subsp lactis* es un conservante efectivo, que cumple con los estándares de "etiqueta natural o limpia" tanto para los consumidores como para la industria alimentaria. (Doğan & Hakkı, 2021). Además, demostró tener un amplio espectro antimicrobiano según Akbar et al., 2019 debido a una síntesis exitosa de nisina dentro del medio en que se inoculó que en este caso fue el queso crema natural.

9.2 Discusión de los resultados de los análisis físico – químicos

Los tratamientos influyeron de manera significativa en la acidez, pH, y humedad de las muestras, mientras que el contenido de grasa sufrió leves cambios a través del tiempo. Los resultados de grasa en el estudio se muestran significativamente más altos en comparación con los hallazgos reportados por (Morales-Nolasco et al. 2019). Esta discrepancia puede explicarse por las diferencias en la metodología de producción del queso crema. En nuestro caso, utilizamos leche entera en la elaboración del queso crema, lo que resultó en un contenido de grasa mayor. Durante el proceso de fermentación, el uso de vinagre contribuyó a la coagulación de la proteína de la leche, dejando atrás el componente sólido, que tiende a ser más rico en grasa en comparación con el suero.

La evaluación de la acidez reveló resultados significativamente más elevados en los tratamientos T1, T2, T3 y T4 en comparación con el testigo (T0). Estos hallazgos indican un impacto de dichos tratamientos en los valores de ácido láctico del queso crema. Es importante resaltar que los niveles de acidez registrados en nuestro estudio son superiores a los reportados en la investigación previa de (Morales-Nolasco et al. en 2019). La influencia de la BAL *Lactococcus lactis subsp lactis* en la acidez de los tratamientos se hizo más evidente en los días 60 y 80 de evaluación, lo que puede indicar una relación directa en la síntesis de nisina. Sin embargo, los niveles de acidez reportados por (Miñaca Villalba, 2022) son similares en los días 60 y 80, por lo que

son valores que se pueden encontrar dentro de los parámetros, que no afectan atributos sensoriales del queso crema.

El pH de las muestras mostró una tendencia general de estabilidad a lo largo del tiempo, con variaciones menores en todos los tratamientos. Esto podría atribuirse al efecto del cultivo, que, durante la fermentación, disminuye el pH y puede influir en la inhibición del crecimiento bacterias patógenas (Morales-Nolasco et al. en 2019).

Con respecto a la humedad, la muestra testigo mostrÓ una disminución mínima en el transcurso del tiempo, mientras que las muestras de los tratamientos T1, T2, T3 y T4 mostraron una ligera variación esto puede deberse a la estabilidad que brinda el uso de dos gomas como estabilizantes (goma xantan y goma guar) ya que absorbieron el agua del queso crema y ayudaron a evitar la sinéresis en el tiempo. Los tratamientos T1 y T2 afectaron significativamente la humedad de las muestras en comparación con el testigo. La inclusión del cultivo *Lactococcus lactis subsp. lactis* impacta en la estructura y humedad del producto (Santamarina-García et al., 2020) en contraste con el testigo que utiliza ingredientes sintéticos.

9.3 Discusión de los resultados de la evaluación sensorial

La evaluación sensorial revela que la muestra (T3) 321 de queso crema natural, sobresale con puntuaciones superiores en textura, sabor, olor y apariencia en comparación con la muestra (T0) 578, elaborada con ingredientes sintéticos. Estos resultados muestran una preferencia clara por las características sensoriales de la muestra (T3) 321. No obstante, es importante señalar que se observa un alto coeficiente de variación (C.V) en los atributos, indicando una alta variabilidad de respuestas entre los panelistas. Esto podría deberse a la familiaridad con el olor característico de los ingredientes sintéticos en algunos panelistas, lo que influye en su preferencia como lo menciona en su estudio (López-Díaz & Del Rocío Martínez–Ruiz, 2018). La percepción del olor en el queso puede variar, manifestándose tanto de manera sutil como intensa, en función de la composición particular del queso crema.

10 Conclusiones y Recomendaciones

10.1 Conclusiones

- Se evaluó de manera analítica y sensorial la vida útil del queso crema elaborado con ingredientes naturales en comparación con el queso crema elaborado con ingredientes sintéticos.

- Se demostró durante 80 días que el cultivo láctico *Lactococcus lactis subsp. lactis* es eficaz como conservante natural, debido a su capacidad de sintetizar nisina durante su inoculación, esto significa una alternativa viable para evitar el uso de ingredientes sintéticos en la industria de alimentos.
- Los análisis microbiológicos revelaron ausencia de bacterias patógenas tanto en el queso crema elaborado con ingredientes naturales como en el elaborado con ingredientes sintéticos.
- Los análisis sensoriales permitieron establecer diferencias en la apreciación de sabor, textura, olor y apariencia entre el queso crema natural y el queso crema comercial. En la degustación, los consumidores mostraron preferencia por el queso crema natural, lo que resalta la importancia del uso de ingredientes naturales en la formulación de productos.
- Existieron diferencias significativas en los parámetros fisicoquímicos entre los tratamientos estudiados, lo que afirma una diferencia clara entre el uso de ingredientes sintéticos e ingredientes naturales en la formulación de un queso crema.
- Las formulaciones presentaron un costo variable viable para la producción de queso crema natural.

10.2 Recomendaciones

Considerando que en la evaluación sensorial los panelistas mostraron preferencia por el queso crema natural, se recomienda el uso de ingredientes naturales en su elaboración, esto puede favorecer el uso de estos componentes en productos lácteos, con el propósito de satisfacer a una demanda creciente y obtener productos naturales. Debido al potencial del *Lactococcus lactis subsp. lactis* como sintetizador de nisina como conservante natural, se sugiere realizar investigaciones adicionales para su implementación en más productos. Esto puede contribuir al uso de este tipo de cultivo láctico, como bioconservante natural eficaz y económicamente viable para la conservación de alimentos.

Se recomienda llevar a cabo un análisis de la concentración de nisina a lo largo del tiempo del mejor tratamiento (T3).

Referencias

- Akbar, A., Sadiq, M. B., Imran, A., Anwar, M., Muhammad, N., Muhammad, J., Shafee, M., Ullah, S., Gul, Z., Qasim, S., Ahmad, S. M., & Anal, A. K. (2019). *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* isolated from fermented milk products and its antimicrobial potential. *Cyta-journal of Food*, 17(1), 214-220. <https://doi.org/10.1080/19476337.2019.1575474>.
- De Oliveira, I. L. S., Rangel, A. H. D. N., Madruga, R. C., De Lima Júnior, D. M., Da Silva Gomes, R. D., Sales, D. C., De Oliveira, J. P. F., & Da Silva Bezerra, J. (2021). Composición fisicoquímica, rendimiento y aceptación sensorial del queso fresco coalho obtenido a partir de leche de vaca cebú. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 12(2), 337-352. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v12i2.5600>
- Doğan, M., & Hakkı, T. İ. (2021). Food stabilizing potential of Nisin Z produced by wild *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* from raw milk and some fermented products. *LWT*, 150, 112065. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112065>
- Estructura organizacional como determinante competitivo en pequeñas y medianas empresas del sector alimentos. (2020). *Revista de Ciencias Sociales*, 26(2). <https://doi.org/10.31876/rsc.v26i2.32429>
- Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., & McSweeney, P. (2017). *Fundamentals of Cheese Science*. En *Springer eBooks*. <https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7681-9>
- Howlett, J., Betteridge, V. A., Champ, M., Craig, S. A., Méheust, A., & Jones, J. M. (2010). The Definition of Dietary Fiber – Discussions at the Ninth Vahouny Fiber Symposium: Building Scientific Agreement. *Food & Nutrition Research*, 54(1), 5750. <https://doi.org/10.3402/fnr.v54i0.5750>
- Jurado Gámez, H., & Insuasty Santacruz, E. (2021). *PROCEDIMIENTOS DE TECNOLOGÍA DE LECHE* (Primera edición) [ISBN: 978-958-5123-60-1 digital]. Universidad de Nariño. <https://sired.udenar.edu.co/7321/1/libro%20leche%20digital.pdf>
- Kassaian, N., Feizi, A., Aminorroaya, A., Jafari, P., Ebrahimi, M., & Amini, M. (2018). The effects of probiotics and synbiotic supplementation on glucose and insulin metabolism in adults with prediabetes: a double-blind randomized clinical trial. *Acta Diabetológica*, 55(10), 1019-1028. <https://doi.org/10.1007/s00592-018-1175-2>
- López-Díaz, J. A., & Del Rocío Martínez–Ruiz, N. (2018). Perfil sensorial y fisicoquímico del queso Chihuahua considerando las preferencias del consumidor. *Agrociencia*, 52(3), 361-378. <http://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v52n3/2521-9766-agro-52-03-361-en.pdf>
- Martínez-Yáñez, R., & Rodríguez-Huezo, M. (2023). Obtención de fibra soluble a partir de desechos agroindustriales y su aplicación en alimentos. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 8(1), 724-731. <https://doi.org/10.29105/idcyta.v8i1.94>
- Ministerio de Industrias y Productividad del Ecuador. (2012). NTE INEN 1528: Norma general para quesos frescos no madurados NTE INEN 1528:2012 Primera revisión 2012-03.

- Miñaca Villalba, J. S. (2022). *Caracterización fisicoquímica y sensorial de un queso crema elaborado con cultivo láctico de kéfir*. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano.
- Morales-Nolasco, E., Adriano-Anaya, L., Gálvez-López, D., Rosas-Quijano, R., & Vázquez-Ovando, A. (2019). Características fisicoquímicas, sensoriales y microbiológicas de queso crema elaborado con adición de bacterias ácido lácticas como cultivo iniciador//Physicochemical, sensory, and microbiological characteristics of 'queso crema' cheese made with lactic acid bacteria as a starter culture. *Biotecnia*. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v22i1.1129>
- Nilsson, A., Sundh, D., Bäckhed, F., & Lorentzon, M. (2018). Lactobacillus Reuteri Reduces bone loss in older women with low bone mineral density: a randomized, placebo-controlled, double-blind, clinical trial. *Journal of Internal Medicine*, 284(3), 307-317. <https://doi.org/10.1111/joim.12805>
- Povea Garcerant, I. (2019). El envase como protector de los atributos de calidad de alimentos. *Revista Alimentos Hoy*, Vol 27. <https://alimentos hoy.acta.org.co/index.php/hoy/article/viewFile/525/406>
- Reis, D. J., Ilardi, S. S., & Punt, S. (2018). The anxiolytic Effect of probiotics: A systematic review and meta-analysis of the clinical and preclinical literature. *PLOS ONE*, 13(6), e0199041. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199041>
- Rondon, L. (s. f.). Probióticos: generalidades. https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06492015000400006
- Sánchez-Martín, M., Salgado-Calvo, M., San-Miguel-Hernández, Á., Pachón-Julián, J., Rodríguez-Barbero, E., Pastor-Martín, M., & Cabrero-Lobato, P. (2019). Nisina (N 234), aditivo utilizado como conservante en alimentos. *Gaceta Médica de Bilbao*, 116(4), 166-173. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7183118>
- Sanders, M. E., Merenstein, D., Reid, G., Gibson, G. R., & Rastall, R. A. (2019). Probiotics and Prebiotics in Intestinal Health and Disease: From Biology to the Clinic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 16(10), 605-616. <https://doi.org/10.1038/s41575-019-0173-3>
- Santamarina-García, G., M. Fresno, J., Virto, M., Amores, & Aranceta, J. (2020). *El microbiota del queso y su importancia funcional*. *Revista Española de Nutrición Comunitaria*.
- Siroli, L., Camprini, L., Pisano, M. B., Patrignani, F., & Lanciotti, R. (2019). Volatile molecule profiles and Anti-Listeria monocytogenes activity of Nisin producers Lactococcus lactis strains in vegetable drinks. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00563>
- Torrealba, J., Rodríguez, J. M. T., & Morales, J. (2018). EVALUACIÓN DEL EMPLEO DE DOS AGENTES ÁCIDOS EN LA ELABORACIÓN DE UN QUESO DE PASTA COCIDA. *Revista Mangifera*, 1, 15-24. <http://revistas.unellez.edu.ve/index.php/mangifera/article/view/422>
- Widyastuti, Y., Febrisiantosa, A., & Tidona, F. (2021). Health-Promoting properties of lactobacilli in fermented dairy products. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.673890>
- Weixler, D., Berghoff, M., Ovchinnikov, K. V., Reich, S. J., Goldbeck, O., Seibold, G. M., Wittmann, C., Bar, N., Eikmanns, B. J., Diep, D. B., & Riedel, C. U. (2022). Recombinant

production of the lantibiotic nisin using *Corynebacterium glutamicum* in a two-step process. *Microbial Cell Factories*, 21(1). <https://doi.org/10.1186/s12934-022-01739-y>

Anexos

Anexo1 Imágenes del proceso de elaboración de los tratamientos de queso crema natural y los análisis microbiológicos realizados.







