

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS



“EVALUACIÓN DE LA ADICIÓN DE DIFERENTES DOSIS DE ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO (*Origanum vulgare*) EN LA ELABORACIÓN DE QUESO SEMI MADURADO Y SU EFECTO EN LA CONSERVACIÓN DE SUS PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS”

POR:

**BR. AVALOS VELASCO, RODRIGO ALBERTO
BR. HERNÁNDEZ CASTRO, JUNIOR ALBERTO
BR. MEJÍA ORELLANA, WILFREDO ALEXIS**

CIUDAD UNIVERSITARIA, JULIO DE 2021

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS



“EVALUACIÓN DE LA ADICIÓN DE DIFERENTES DOSIS DE ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO (*Origanum vulgare*) EN LA ELABORACIÓN DE QUESO SEMI MADURADO Y SU EFECTO EN LA CONSERVACIÓN DE SUS PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS”

POR:

**BR. AVALOS VELASCO, RODRIGO ALBERTO
BR. HERNÁNDEZ CASTRO, JUNIOR ALBERTO
BR. MEJÍA ORELLANA, WILFREDO ALEXIS**

CIUDAD UNIVERSITARIA, JULIO DE 2021

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA



“EVALUACIÓN DE LA ADICIÓN DE DIFERENTES DOSIS DE ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO (*Origanum vulgare*) EN LA ELABORACIÓN DE QUESO SEMI MADURADO Y SU EFECTO EN LA CONSERVACIÓN DE SUS PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS”

POR:

**BR. AVALOS VELASCO, RODRIGO ALBERTO
BR. HERNÁNDEZ CASTRO, JUNIOR ALBERTO
BR. MEJÍA ORELLANA, WILFREDO ALEXIS**

**REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE:
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

CIUDAD UNIVERSITARIA, JULIO DE 2021

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR:

LIC. M.Sc. ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO

SECRETARIO GENERAL:

ING. M.Sc. FRANCISCO ANTONIO ALARCÓN SANDOVAL

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

DECANO:

DR. FRANCISCO LARA ASCENCIO

SECRETARIO:

ING. AGR. BALMORE MARTÍNEZ SIERRA

JEFA DEL DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

ING. M.Sc. BLANCA EUGENIA TORRES DE ORTÍZ

DOCENTES DIRECTORES

ING. M.Sc. BLANCA EUGENIA TORRES DE ORTÍZ

LIC. DANIEL DE JESÚS PALACIOS HERNÁNDEZ

COORDINADOR GENERAL DE PROCESOS DE GRADUACIÓN

ING. AGR. CARLOS ENRIQUE RUANO IRAHETA

RESUMEN

La presente investigación científica se realizó en el laboratorio de (ELISA) del Departamento de Zootecnia, de la Facultad de Ciencias Agronómicas en la Universidad de El Salvador, entre los meses de octubre de 2020 a junio de 2021.

La recolección de leche cruda de vaca, se realizó en la Estación Experimental y de Prácticas de la Facultad de Ciencias Agronómicas y se trasladó hacia los laboratorios del Departamento de Zootecnia para su procesamiento.

Para la elaboración de los quesos semi madurados fue utilizada leche pasteurizada y se evaluaron 5 tratamientos de dosis diferentes (T0: 0.0%, T1: 10%, T2: 7.5%, T3: 5% y T4: 2.5%) cada uno con 6 repeticiones. Las variables microbiológicas evaluadas en estos tratamientos fueron el Recuento de Mesófilos Aerobios, y Recuento de Coliformes Totales, realizados en tres ocasiones durante el período de maduración a los 0, 7 y 15 días.

Los tratamientos T2 y T3 presentaron una tendencia favorable en el Recuento de Mesófilos Aerobios; por su parte, en el recuento de Coliformes Totales los tratamientos con adición de dosis de Aceite Esencial de Orégano controlaron el crecimiento de los mismos, mientras que el testigo presentó crecimiento en un punto de muestreo.

Las variables organolépticas olor, sabor, color, aspecto y textura se evaluaron a través de una prueba de catación a los 15 días de maduración; para ello se utilizó la prueba de escala hedónica de nueve puntos y se aplicó la prueba estadística no paramétrica de Kruskal-Wallis procesándolos en el software estadístico InfoStat V9 con un nivel de significancia del 5%, donde el T3 tuvo una mejor tendencia de aceptación por los catadores.

A partir del Análisis Costo-Beneficio, se determinó que el tratamiento que presenta el mejor beneficio neto parcial fue el T0, mientras que los tratamientos T3 y T4 generaron los mejores beneficios económicos entre los tratamientos con adición de Aceite Esencial de Orégano.

Palabras clave: Aceite Esencial de Orégano, Queso semimadurado, Análisis sensorial, Recuento de Mesófilos Aerobios, Recuento de Coliformes Totales.

AGRADECIMIENTOS

A mi madre María Rudecinda Orellana de Mejía, por cuidarme y brindarme su apoyo incondicional a lo largo de todos estos años. Y por todo el sacrificio que ha hecho al criarme.

A mi padre Wilfredo Mejía, por cuidarme y apoyarme en el transcurso de mi vida.

A mi hermana Elsy Yanira Mejía Orellana, por escucharme y apoyarme cuando lo he necesitado.

A Ingeniera Eugenia Torres, jefa del Departamento de Zootecnia, de la Facultad de Ciencias Agronómicas, de la Universidad de El Salvador, por todo el apoyo y asesorías brindadas a lo largo de este proceso.

A mis amigos Omar Tejada, Ernesto Quevedo y todos los que, que han estado presente en mi vida. Y mi grupo de trabajo al estudiar en la universidad, Junior Hernández, Rodrigo Avalos, Ariel Alemán y Andrea Ibarra, que me ayudaron hasta llegar aquí.

Wilfredo Alexis Mejía Orellana

Hoy, después de seis años, siete meses y dieciséis días puedo ver hacia atrás y cosechar los frutos de todo el esfuerzo que sembré desde aquel lejano 2015. Desde entonces he cometido a la fecha cientos de errores de los que no me arrepiento absolutamente de ninguno. Al contrario de lo que muchos pensarían, estoy eternamente agradecido con la vida por haberlos puesto en mi camino, ya que sin ellos no podría haberme comprometido a luchar dignamente por lo máximo que estaba en juego en todos estos años: mi sueño por ser ingeniero.

No tengo muchas personas a quién agradecer. Únicamente existen en mi vida tres personas a las que jamás voy a poder terminar de pagarles todo lo que han hecho por mí: mi padre, mi madre y mi hermana.

Gracias a mi hermana, Mariel, por ser mi fiel compañera, por haberme acompañado en mis días más difíciles y haberme recordado de qué estaba hecho para sobreponerme a las dificultades.

Gracias a mi padre, Hugo, por ser mi mejor amigo, mi superhéroe y el ejemplo de hombre al que yo aspiro ser un día. Gracias por enseñarme que todos los días son buenos para agradecerle a Dios y a la vida la oportunidad de levantarse de la cama e intentar hacer las cosas mejor que ayer.

Por último, y quizá más importante, quiero agradecer a mi madre, Mariela, por haberme acompañado todos los días a la universidad, por haber sido el motor que me impulsaba a dar lo mejor de mí. Sin ti, amada madre, nada de esto hubiera sido posible.

Ha sido con su inmenso amor que me he convertido en lo que soy. Ustedes son los que nunca perdieron su confianza en mí, siempre me dijeron las palabras adecuadas para levantarme y seguir luchando incluso cuando me sentía derrotado. A ustedes les debo mi vida.

Quiero agradecer con particular cariño a mis compañeros, colegas y amigos Alex y Junior por haberme acompañado en esta travesía la cual ha finalizado satisfactoriamente con este proyecto después de muchos días y noches de trabajo.

Quiero agradecer también a nuestra tutora, Ing. Blanca Eugenia Torres por haber hecho de esta experiencia lo menos traumática posible y por habernos guiado con su conocimiento, paciencia y estima a lo largo de esta etapa.

Rodrigo Alberto Avalos Velasco

ÍNDICE

ÍNDICE DE CONTENIDO	PÁG.
RESUMEN.....	iv
AGRADECIMIENTOS.....	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MARCO TEÓRICO.....	2
2.1 Producción de leche.....	2
2.1.1. Producción mundial de leche.....	2
2.1.2. Principales productores de leche.....	2
2.1.3. Producción de leche entera de vaca en El Salvador.....	3
2.1.4. Consumo per cápita de leche y productos lácteos.....	3
2.2. Importancia de la leche.....	4
2.2.1. Importancia alimentaria (Seguridad Alimentaria).....	4
2.2.2. Importancia Económica.....	4
2.2.3. Importancia Social.....	5
2.3. Definición de leche.....	5
2.4. Composición de la leche.....	5
2.4.1. Composición físico-química de la leche.....	5
2.4.2. Composición química de la leche.....	6
2.4.3. Composición química de los quesos semimaduros.....	6
2.5. Clasificación de productos lácteos.....	7
2.5.1. Producto lácteo.....	7
2.6. Clasificación de quesos.....	7
2.6.1 Queso fresco.....	7
2.6.2. Quesillo.....	7
2.6.3. Queso mozzarella.....	7
2.6.4. Queso semi-maduros.....	7
2.6.5. Queso maduro.....	8
2.6.6. Otras clasificaciones.....	8
2.7. Queso madurado.....	9
2.7.1. Cambios Químicos responsables de la maduración.....	9
2.7.1.1. Fermentación o glucólisis.....	9
2.7.1.2. Proteólisis.....	9
2.7.1.3. Lipólisis.....	10
2.7.2. Agentes responsables de la transformación de la cuajada en su producto final.....	10
2.7.2.1. La leche.....	10

2.7.2.2. El cuajo o agente coagulante.....	10
2.7.2.3. La flora microbiana	10
2.7.3. Factores más importantes que actúan en la maduración de quesos	10
2.7.3.1. Aireación	11
2.7.3.2. Humedad.....	11
2.7.3.3. Temperatura.....	11
2.7.3.4. Contenido en sal.....	11
2.7.3.5. pH.....	11
2.7.3.6. Pasteurización	11
2.7.4. Sistemas de maduración de quesos.....	12
2.7.4.1. Quesos duros:	12
2.7.4.2. Quesos blandos:.....	12
2.8. Fermentos lácticos y tipos de queso.....	13
2.9. Oferta y demanda de queso madurado	14
2.10. Calidad en quesos.....	16
2.10.1. Calidad Física-química en quesos.....	16
2.10.2. Calidad microbiológica en quesos.....	17
2.10.3. Calidad organoléptica en quesos	17
2.10.3.1 Defectos en el sabor	17
2.10.3.2. Defectos en el olor	17
2.10.3.3. Defectos en el color anormal	17
2.10.3.4. Defectos en la textura.....	17
2.10.3.5. Defectos en la apariencia	18
2.11. Métodos de conservación	18
2.11.1. Físicos:	18
2.11.1.1. Frío:.....	18
2.11.1.2. Calor:.....	18
2.11.1.3. Modificación de la cantidad de agua:	18
2.11.2. Microbiológicos:	18
2.11.2.1. Fermentaciones:.....	19
2.11.3. Químicos.....	19
2.11.3.1. Métodos que no modifican las propiedades sensoriales	19
2.12. Aceites esenciales (AE).....	19
2.12.1. Clasificación de los aceites esenciales.....	19
2.12.2. Tipos de extracción de Aceites esenciales	20
2.12.3. Usos de los aceites esenciales	20

2.12.4. Rendimiento de los aceites esenciales.....	21
2.12.5 Aceite Esencial de Orégano (<i>Origanum vulgare</i>).....	21
2.12.5.1. Principales componentes del aceite esencial de Orégano que exhiben propiedades antibacterianas.....	22
2.12.5.2. Proceso de obtención del aceite esencial de Orégano a través de la técnica de destilación por arrastre de vapor	23
2.12.5.3 Fundamento teórico de la técnica de destilación por arrastre de vapor.....	23
2.12.5.4. Usos y aplicaciones en alimentos	25
2.12.5.5. Toxicidad del aceite esencial de Orégano	25
2.13. Análisis sensorial.....	26
2.13.1. Tipo de pruebas cuantitativas de consumo	26
2.13.1.1. Prueba Hedónica (escala de nueve puntos)	26
2.13.1.2. Aspectos prácticos.....	27
2.13.1.2.1. Preparación de las muestras.....	27
2.13.1.2.2. Instalaciones de catación	28
2.13.1.2.3. Aspectos informativos:	28
2.13.2. Modelo estadístico no paramétrico: Prueba de Kruskal-Wallis:	29
3. METODOLOGÍA	32
3.1 Descripción del estudio.....	32
3.2 Metodología de campo	32
3.3 Metodología de laboratorio	32
3.3.1 Elaboración del queso semi-madurado.....	33
3.3.2 Análisis a la leche cruda y pasteurizada.	34
3.3.3 Análisis microbiológicos de los quesos	35
3.3.4 Análisis organoléptico de los quesos semi-madurados	36
3.4 Metodología estadística	36
3.4.1 Variables de conservación microbiológicas (Días de conservación)	36
3.4.2. Características organolépticas.....	37
3.5. Metodología económica.....	37
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
4.1. Variables microbiológicas.	38
4.1.1. Recuento Mesófilos aerobios en quesos semimadurados:.....	38
4.1.2. Recuento Coliformes totales en quesos semimadurados:	43
4.2. Análisis estadístico sensorial	45
4.2.1. Análisis de gráfico de cajas y bigotes:.....	45
4.2.2. Prueba Kruskal-Wallis en categorías organolépticas:.....	47

4.3. Evaluación económica del estudio.....	48
5. CONCLUSIONES	50
6. RECOMENDACIONES	51
7. BIBLIOGRAFÍA	52
8. ANEXOS.....	60

ÍNDICE DE CUADROS

PÁG.

Cuadro 1: Principales parámetros físicos de la leche	6
Cuadro 2: Composición química global de la leche.....	6
Cuadro 3: Clasificación de quesos	8
Cuadro 4: Bacterias y el tipo de queso madurado que producen	13
Cuadro 5: Tipos de queso madurados	14
Cuadro 6: El Salvador: importaciones de quesos. Año 2014.....	15
Cuadro 7: Características físico-químicas.....	16
Cuadro 8: Límites microbiológicos sanitarios para quesos no madurados	17
Cuadro 9: Métodos de extracción de aceites esenciales.....	20
Cuadro 10: Principales componentes del aceite esencial de Orégano	22
Cuadro 11: Agrupación de datos para realización de prueba Kruskal-Wallis.....	30
Cuadro 12: Variables de interés para producto final.....	33
Cuadro 13: Determinación evaluación económica aplicando metodología de costo beneficio.	49
Cuadro A- 1: Cálculos de adición de cuajo, cultivo, cloruro de calcio y sal.....	60
Cuadro A- 2: Cálculos de adición de aceite esencial de orégano.....	60
Cuadro A- 3: Descripción de las fechas en las cuales se llevaron a cabo los análisis microbiológicos, para la leche cruda, pasteurizada y los quesos.	60
Cuadro A- 4: Programación de análisis sensorial.....	61
Cuadro A- 5: Prueba de Kruskal Wallis para variable olor.....	61
Cuadro A- 6: Prueba de Kruskal Wallis para variable color.....	61
Cuadro A- 7: Prueba de Kruskal Wallis para variable sabor.....	61
Cuadro A- 8: Prueba de Kruskal Wallis para variable aspecto.....	61
Cuadro A- 9: Prueba de Kruskal Wallis para variable textura.....	62

ÍNDICE DE FIGURAS

PÁG.

Figura 1: Producción de leche fresca de vaca en el mundo.	2
Figura 2: Principales países productores de leche entera de vaca en el mundo:	3
Figura 3: Producción de leche entera de vaca en El Salvador	3
Figura 4: Demanda en libras por tipo de queso.....	15
Figura 5: Recuento de mesófilos aerobios en quesos semimadurados.....	39
Figura 6: Recuento de mesófilos aerobios en leche cruda y pasteurizada	41
Figura 7: Recuento de coliformes totales en leche cruda y pasteurizada	42
Figura 8: Recuento de coliformes totales en quesos semimadurados.....	43
Figura 9: Análisis sensorial de los quesos semimadurados con diferentes dosis de aceite esencial de orégano.....	45

Figura A- 1: Visualización satelital de la Facultad de Ciencias Agronómicas donde se realizó la investigación.	62
Figura A- 2: Flujograma de elaboración de queso semi madurado.....	63
Figura A- 3: Filtración de leche cruda.....	64
Figura A- 4: Pasteurización de leche.....	64
Figura A- 5: Ajuste de temperatura.	65
Figura A- 6: Cuajo.....	65
Figura A- 7: Corte y picado de cuajada.....	65
Figura A- 8: Agitado.....	66
Figura A- 9: Desuerado parcial.....	66
Figura A- 10: Lavado de cuajada.....	66
Figura A- 11: Agitado 2.....	67
Figura A- 12: Desuerado total.....	67
Figura A- 13: Moldeado y pesado.....	67
Figura A- 14: Prensado.....	68
Figura A- 15: Desprensado.....	68
Figura A- 16: Pesado final.....	68
Figura A- 17: Adición de porcentajes aceite esencial de Orégano.....	69
Figura A- 18: Maduración.....	69
Figura A- 19: Determinación de pH leche cruda.....	69
Figura A- 20: Determinación de acidez titulable para leche cruda.....	70
Figura A- 21: Corte de trozos de queso semi-madurado con porcentaje de aceite esencial de orégano para análisis sensoriales.....	70
Figura A- 22: Boleta para prueba hedónica de 9 puntos utilizada para evaluar características organolépticas en quesos semidurados.....	71
Figura A- 23: Catadora evaluando el producto final.....	71
Figura A- 24: Precios de quesos madurados en supermercado: Super Selectos.....	72

ÍNDICE DE ANEXOS

PÁG.

A- 1: Recuento de mesófilos aerobios en leche cruda, posterior en leche pasteurizada.....	72
A- 2: Recuento de coliformes totales en leche cruda, posterior en leche pasteurizada.....	72
A- 3: Recuento de mesófilos aerobios en quesos.....	73
A- 4: Recuento de coliformes totales en quesos.....	74

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente la conservación de los productos lácteos plantea un enorme desafío para la industria láctea, ya que el queso, al ser un producto altamente perecedero, proporciona las condiciones adecuadas para el crecimiento y multiplicación de microorganismos patógenos que puede ocasionar graves enfermedades en la salud de los consumidores.

Debido al alto riesgo que presenta la existencia de estos microorganismos en los productos que derivan de la industrialización de la leche, la industria láctea ha desarrollado e implementado diferentes métodos de conservación para alargar la vida útil de los diferentes productos que pueden derivar de la leche.

Los quesos semi-madurados, particularmente, tienen una vida de anaquel relativamente corta, por lo que alarga este factor se vuelve necesario ya que representa un producto de consumo masivo en la población salvadoreña. Es por ello que se presenta la utilización del aceite esencial de Orégano (*Origanum vulgare*) como una alternativa para la conservación del producto debido a que por sus propiedades funciona como un antimicrobiano efectivo para evitar el crecimiento y multiplicación de microorganismos patógenos.

De acuerdo con Ceballos y Londoño (2017), la utilización de aceites esenciales como método de conservación de alimentos ha cobrado una gran importancia en las tendencias de los consumidores, ya que satisfacen la demanda de los mismos de alimentos seguros, sanos y nutritivos. Los aceites esenciales por su gran potencial, pueden actuar contra los microorganismos patógenos causantes de enfermedades en los consumidores y que disminuyen considerablemente la vida útil y calidad de los alimentos al mismo tiempo que se fomenta la generación de valor agregado, tanto a nivel industrial como a nivel artesanal.

El objetivo de desarrollar el presente estudio consistió en evaluar el efecto de cuatro diferentes concentraciones del aceite esencial de Orégano (*Origanum vulgare*) en queso semi-madurado, con el propósito de controlar el crecimiento microbiano sin afectar de las características organolépticas del producto.

2. MARCO TEÓRICO.

2.1 Producción de leche

2.1.1. Producción mundial de leche

Desde los años 2010-2018 Europa se configura como el mayor productor de leche fresca de vaca del mundo con el 33.2% de la producción mundial lo que equivale a una producción de 214,605,843.44 toneladas. Asimismo, se observa que Oceanía es el menor productor de leche fresca de vaca con el 4.60% de la producción mundial equivalente a 29,542,870 toneladas en el mismo período de tiempo (Figura 1).



Figura 1: Producción de leche fresca de vaca en el mundo.

Fuente: FAOSTAT, 2020.

2.1.2. Principales productores de leche

Entre los años 2010-2018 Estados Unidos fue el principal productor de leche fresca de vaca con una producción promedio de 93,299,524.89 toneladas. El décimo lugar de los principales países productores de leche fresca de vaca en el mundo lo ocupa el Reino Unido con una producción promedio de 14,590,222.22 toneladas. Esto en base a lo observado en la figura 2, donde se muestran los mayores productores de leche fresca de vaca en el mundo en los años comprendidos del 2010 al 2018:

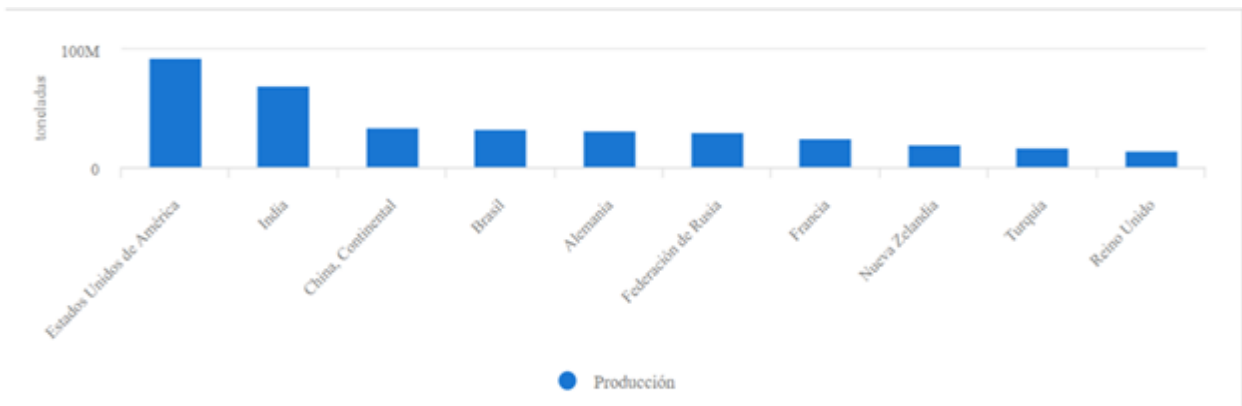


Figura 2: Principales países productores de leche entera de vaca en el mundo:

Fuente: FAOSTAT, 2020.

2.1.3. Producción de leche entera de vaca en El Salvador

Desde el año 2010, se observa un comportamiento irregular en la producción de leche entera de vaca en El Salvador, ya que los crecimientos y decrecimientos son constantes en los diferentes años. En el gráfico se puede observar que el año en que la leche fresca de vaca tuvo su pico de producción fue en el año 2014 con una producción de 484,843 toneladas. A partir del año 2015 hasta 2018 se observa una caída drástica en los datos de producción de leche fresca de vaca, siendo el año 2018 en el cual la producción tuvo su valor más bajo con 322,497 toneladas (Figura 3).

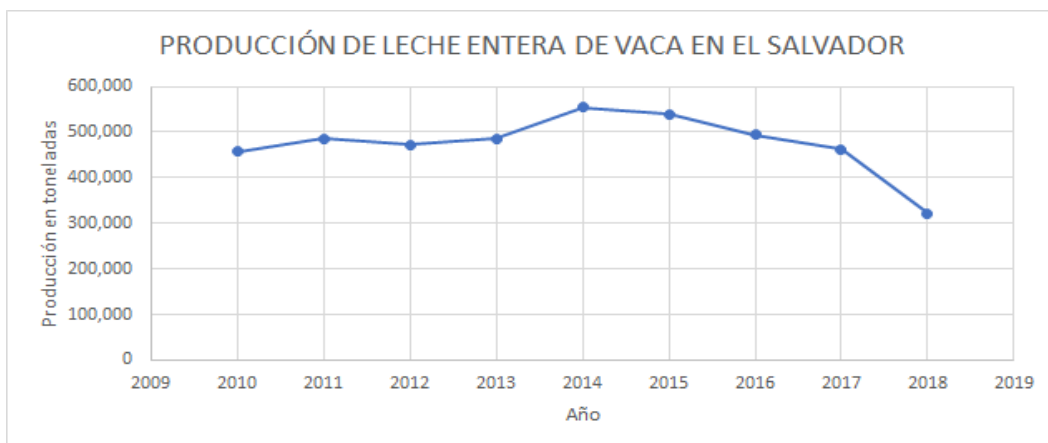


Figura 3: Producción de leche entera de vaca en El Salvador

Fuente: FAOSTAT, 2020.

2.1.4. Consumo per cápita de leche y productos lácteos

De acuerdo con la FAO (2018), el consumo per cápita de leche y productos lácteos es mayor en los países desarrollados, pero la diferencia con muchos países en desarrollo se está reduciendo. La demanda de leche y productos lácteos en los países en desarrollo está

creciendo como consecuencia del aumento de los ingresos, el crecimiento demográfico, la urbanización y los cambios en los regímenes alimentarios.

La FAO (2018) señala que de acuerdo a la cantidad de kilogramos de leche o productos lácteos que las personas consumen anualmente el consumo per cápita puede ser:

Elevado: (mayor que 150 kilogramos per cápita al año) en América del Norte, Argentina, Armenia, Australia, Costa Rica, Europa, Israel, Kirguistán y Pakistán.

Medio: (de 30 a 150 kilogramos per cápita al año) en la India, Japón, Kenia, México, Mongolia, Nueva Zelanda, la República Islámica de Irán, África septentrional y meridional, la mayoría del Oriente Próximo y la mayor parte de América Latina y el Caribe.

Bajo: (menor que 30 kilogramos per cápita al año) en Vietnam, Senegal, la mayoría de África central y la mayor parte de Asia oriental y sudoriental.

2.2. Importancia de la leche

2.2.1. Importancia alimentaria (Seguridad Alimentaria)

De acuerdo con el IICA (2015), la leche bovina es un alimento de origen animal de particular importancia por el aporte de nutrientes esenciales, proteínas de alta calidad, ácidos grasos, vitaminas y minerales en la alimentación humana, ya que su consumo supone una contribución importante para satisfacer las necesidades corporales de calcio, magnesio, selenio, riboflavina, vitamina B12 y ácido pantoténico (vitamina B5).

2.2.2. Importancia Económica

La leche se produce diariamente y por tanto puede proporcionar un ingreso en efectivo regular. El precio de la leche al productor se puede basar en la calidad composicional de la leche, su calidad higiénica y el período del año. Además de los ingresos procedentes de la venta de la leche, entre las fuentes de ingresos de los productores lecheros figuran las ventas de animales reemplazados y animales jóvenes, y otras ganancias de la explotación lechera, como las ventas de estiércol y los pagos directos (FAO 2019 a).

De acuerdo con la Secretaría de Economía de México (2012), uno de los factores que determina el costo de producción de la leche es el grado de tecnificación de la explotación. En este sentido se dice que la producción lechera constituye una economía de pequeña escala, en relación a otros sistemas ganaderos, ya que requiere una gran aportación de mano de obra incluso en aquellas explotaciones que operan con mayores niveles de tecnificación. Evidentemente, existen diferencias notorias entre los costos de producción de un sistema de producción tecnificado y un sistema de producción a pequeña escala o rural,

sin embargo, ambos sistemas implican la utilización de mano de obra para llevar a cabo las actividades productivas diferenciándose específicamente en que los pequeños productores generalmente utilizan mano de obra familiar. Por otro lado, las actividades posteriores a la recolección de la leche, es decir, su procesamiento, ofrece grandes posibilidades de realizar economías de escala, ya que implica la participación de otros elementos en la cadena productiva.

2.2.3. Importancia Social

De acuerdo con estudios realizados por la FAO (2019 b), se estima que más de 750 millones de personas en todo el mundo se dedican a la producción de leche. El sector lechero proporciona más empleo por unidad de producción de leche en los países en desarrollo que en los países desarrollados. Esto es debido principalmente a que los países desarrollados tienen sistemas de producción con un mayor empleo de tecnología y un menor uso de mano de obra. En países como El Salvador, la producción lechera a pequeña escala orientada al mercado emplea diferentes actores, tanto directos como indirectos, en la explotación lechera, ya que éstos participan en las diferentes actividades productivas que exige la cadena productiva de los productos lácteos, que van desde la venta de insumos agrícolas, suministros, equipo, maquinaria, herramientas, empaques, medicamentos veterinarios, alimento del ganado entre otros hasta la comercialización y procesamiento de la leche (MAG 2013).

2.3. Definición de leche

Según la normativa CODEX STAN 206-1999 (1999), leche se denomina a la secreción mamaria normal de animales lecheros obtenida mediante uno o más ordeños sin ningún tipo de adición o extracción, destinada al consumo en forma de leche líquida o a la elaboración ulterior. Por su parte, la Norma Salvadoreña Obligatoria (NSO) 67.01.01.06 (1996), leche cruda de vaca se define como el producto integro, no alterado ni adulterado de la secreción de las glándulas mamarias de las hembras del ganado bovino obtenida por el ordeño higiénico, regular, completo e ininterrumpido de vacas sanas y libre de calostro; que no ha sufrido ningún tratamiento a excepción del filtrado y/o enfriamiento, y está exento de color, olor, sabor y consistencia anormales.

2.4. Composición de la leche

2.4.1. Composición físico-química de la leche

La leche posee composición química, física y microbiológica. Los principales componentes que se encuentran en la leche se resumen en el Cuadro 1.

Cuadro 1: Principales parámetros físicos de la leche.

Componentes	Valores usuales
pH (20°C)	6.5 – 6.8
Acidez valorable (°D)	16 – 18
Densidad	1.028 – 1.036
Punto de congelación	-0.54 - -0.59
Índice de refracción	1.3440 – 1.3485

Fuente: Tomado de Hernández 2010

2.4.2. Composición química de la leche

Cuantitativamente, el agua es el componente más importante. Los componentes restantes de la leche constituyen lo que se conoce como el extracto seco total, que alcanza cifras entre 12.2 y 13%. Para describir la composición de la leche también se utiliza el término extracto seco magro, con el fin de expresar el contenido total de la leche en sólidos exceptuando la grasa, situándose generalmente en valores próximos al 9% (Hernández 2010).

Cuadro 2: Composición química global de la leche.

Componentes	Valor medio (g/100 ml)	Intervalo (g/10 ml)
Agua	87	95 – 90
Proteínas	3.2	2.9 – 4.0
Grasas	3.7	2.5 – 5.0
Lactosa	4.8	4.5 – 5.0
Sales minerales	0.9	0.7 – 1.0

Fuente: Tomado de Hernández 2010

2.4.3. Composición química de los quesos semimaduros

De acuerdo con Velasco (2012), la composición química de un queso semicurado indica que el queso contiene calcio, fósforo, según el tipo de elaboración de 7 a 34% de proteínas, alto contenido de calorías, y según el tipo de leche utilizada en su elaboración entre un 22% y un 47% de grasas. El queso semimaduro, el extracto seco total debe ser entre el 40 y 50%; atendiendo a la grasa total, contienen entre 21 y 23 %. Este alimento es proteico: aporta entre 13 y 18 % de proteínas, los hidratos de carbono suponen sólo entre el 4 y 7 % del alimento. La lactosa de los quesos semimaduros no debe superar el 6%. El poder energético de estos quesos oscila muy poco, ya que varía entre 265 y 282 calorías por cada

100 gramos de producto, su contenido en sodio es entre 1 y 2 %. Aporta bastantes vitaminas A, D y E, así como cantidades moderadas de B1, B2, B6 y B12.

2.5. Clasificación de productos lácteos

2.5.1. Producto lácteo

Según FAO (1999), el producto lácteo es obtenido mediante cualquier elaboración de la leche, que puede contener aditivos alimentarios y otros ingredientes funcionalmente necesarios para la elaboración. La FAO (2011), clasifica algunos productos lácteos de leche de la siguiente manera: Leches en polvo y la nata (crema en polvo), Leche evaporadas y leches condensadas. Algunos productos lácteos de queso como: queso salmuera, queso de suero, queso extra duro para rallar entre otros. Otro producto lácteo como las leches fermentadas y, por último, algunos productos lácteos de grasa como: mantequillas y Natas (crema) y las natas (cremas) preparadas.

2.6. Clasificación de quesos

Según la Norma Salvadoreña Obligatoria, define de la siguiente manera: el producto blando, pastoso, granulado, semi duro, duro, extra duro, madurado o no madurado, y que puede estar recubierto, en el que la proporción entre las proteínas del suero y la caseína no sea superior a la de la leche (NSO 2007).

2.6.1 Queso fresco

Queso no madurado ni escaldado, moldeado, de textura relativamente granular, preparado con leche entera, semidescremada, o descremada, cuajo con enzimas y/o ácidos orgánicos, generalmente son cultivos lácteos. También se designa como queso blanco (NSO 2007).

2.6.2. Quesillo

Queso no madurado, escaldado, fundido, fabricado con leche fresca, entera, semidescremada, o descremada cultivada o acidificada con ácidos orgánicos (NSO 2007).

2.6.3. Queso mozzarella

Queso madurado o no madurado, escaldado, moldeado, de textura suave elástica (pasta filamentosa), cuya cuajada puede ser estirada, preparada con leche entera, cuajada con cultivos lácteos, enzimas y/o ácidos orgánicos (NSO 2007).

2.6.4. Queso semi-maduros

Queso sometido a maduración el queso que no está listo para el consumo poco después de la fabricación, sino que debe mantenerse durante cierto tiempo a una temperatura y en unas

condiciones tales que se produzcan los cambios bioquímicos y físicos necesarios y característicos del queso en cuestión (FAO 1978).

2.6.5. Queso maduro

Queso que no está listo para el consumo inmediatamente después de la fabricación, sino que debe mantenerse durante cierto tiempo a una temperatura y condiciones tales que se produzcan los cambios bioquímicos y físicos necesarios del queso en cuestión. Para efectuar este proceso pueden utilizarse hongos o bacterias (RTCA 407:2007 2008).

2.6.6. Otras clasificaciones

En el Cuadro 3, se presenta una clasificación general de los quesos, según diferentes aspectos.

Cuadro 3: Clasificación de quesos

Contenido en grasa	Elaboración	Humedad de la pasta	Corteza	Textura de sus pastas	Tratamiento de la leche
Magros: - del 25% de grasa.	Frescos. Los quesos frescos son los que hacen fermentar la leche antes de consumirlos.	Dura	Sin corteza	Con agujeros redondos	Queso de pasta cruda.
Semimagro: si tienen entre un 25% y un 45%	Madurados: Los quesos madurados son los que además de la fermentación láctica, tienen otro proceso que se llama maduración.	Semidura	Corteza seca	De textura granular	Quesos de pasta cocida o pasteurizada.
Grasos: si tienen entre un 45% y no más de 60%	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Queso tierno: menos de 21 días. ▪ Queso oreado: maduración de 21 a 90 días. ▪ Queso semicurado: maduración de 3 a 6 meses. ▪ Quesos curados: más de 6 meses. 	Blanda			
Extragrasos: si tienen un 60% o más	<ul style="list-style-type: none"> • Fundidos. • Quesos de suero. 	Semi-blanda			

Fuente: Tomado de Martínez 2017

2.7. Queso madurado

Para Meyer (1996), los quesos “maduros” son aquellos que en su proceso de elaboración requieren de más tiempo y de un cuidado especial para obtener un producto único, tipo gourmet que combina la tecnología con el conocimiento y la aplicación de técnicas artesanales propias de la elaboración de este tipo de quesos. Una vez se obtiene la cuajada deben ser llevados por días o meses, a ciertas condiciones de temperatura y humedad para desarrollar sus características de color, olor y sabor. Los quesos que tienen mayor tiempo de maduración son los más exquisitos y con mayor riqueza en términos de aroma.

Para Spreer (1991), menciona “cada variedad de queso cuenta con cuidados específicos en su proceso de elaboración. Los Quesos Maduros son el alimento perfecto para apreciar un sabor láctico que va de suave a ligeramente picante”.

Para Scott (1991), afirma que “la lactosa también experimenta distintas fermentaciones, en unos quesos se transforma en ácido láctico y butírico, que determinan el sabor y el aroma; mientras que, en otros, desprende dióxido de carbono (CO₂)”.

2.7.1. Cambios Químicos responsables de la maduración

2.7.1.1. Fermentación o glucólisis

La fermentación de la lactosa a ácido láctico, pequeñas cantidades de ácidos acético y propiónico, CO₂ y diacetilo. Es realizada fundamentalmente por las bacterias lácticas. Comienza durante la coagulación y el desuerado y se prolonga hasta la desaparición casi completa de la lactosa. El ácido láctico procedente de la degradación de la lactosa no se acumula en la cuajada, sino que sufre distintas transformaciones de naturaleza diversa afirma que “en quesos blandos madurados por mohos, es metabolizados por éstos. El queso tipo Gruyère se transforma en propiónico, acético y CO₂” (Medina S. f).

2.7.1.2. Proteólisis

Según Medina (S. f), uno de los procesos más importantes de la maduración que no sólo interviene en el sabor, sino también en el aspecto y la textura. Como resultado de la proteólisis se acumulan una gran variedad de productos en el queso durante la maduración. Por otra parte, este proceso no es siempre uniforme en toda la masa del queso, pudiendo ser más intenso en la superficie que en el interior (por ejemplo, en quesos blandos madurados superficialmente).

2.7.1.3. Lipólisis

Lipólisis o hidrólisis de las grasas Vásquez (2010), menciona que “afecta a una pequeña proporción de éstas. Sin embargo, los ácidos grasos liberados y sus productos de transformación, aunque aparecen en pequeñas cantidades, influyen decididamente en el aroma y sabor del queso”.

2.7.2. Agentes responsables de la transformación de la cuajada en su producto final

2.7.2.1. La leche

Contiene proteasas y lipasas, así como otros sistemas enzimáticos. Su papel en la maduración es limitado, ya que su concentración es baja y en algunos casos son termosensibles y presentan un pH óptimo de actividad alejado del pH de la cuajada (Medina S. f).

2.7.2.2. El cuajo o agente coagulante

El cuajo es un enzima proteolítico que no sólo interviene en la formación del coágulo, sino también en su evolución posterior. Su participación dependerá de la tecnología de elaboración de cada variedad, según las diferentes variedades de cuajo utilizadas y retenidas en la cuajada (Martínez 2017).

2.7.2.3. La flora microbiana

Los microorganismos intervienen en la maduración liberando a la cuajada sus enzimas exocelulares y, tras su lisis o ruptura, mediante sus enzimas contracelulares. La cuajada contendrá microorganismos procedentes de la leche, si se parte de la leche cruda, de los fermentos adicionados y otros que se desarrollen en la superficie y el interior. La flora microbiana se encuentra en constante evolución, sucediéndose distintos grupos microbianos a lo largo de la maduración del queso. La población microbiana de un queso es extremadamente densa, sobrepasando a menudo los 10^9 microorganismos/gramo. El periodo de maduración puede comprender desde una o dos semanas hasta más de un año. Los quesos blandos, con un alto contenido en agua, sufren periodos cortos de maduración. Las condiciones físicas y químicas influyen sobre la actividad microbiana y enzimáticas, de la que depende esencialmente la maduración del queso (Medina S. f).

2.7.3. Factores más importantes que actúan en la maduración de quesos

Según Medina (S. f), los factores más importantes que afectan la maduración son los siguientes:

2.7.3.1. Aireación

El oxígeno condiciona el desarrollo de la flora microbiana aerobia o anaerobia facultativa. La aireación asegurará las necesidades de oxígeno de la flora superficial de los quesos: mohos, levaduras, *Brevibacterium*, etc.

2.7.3.2. Humedad

Favorece el desarrollo microbiano. Las cuajadas con mayor contenido de humedad maduran rápidamente, mientras que en las muy desueradas el período de maduración se prolonga considerablemente.

2.7.3.3. Temperatura

Regula el desarrollo microbiano y la actividad de las enzimas. La temperatura óptima para el desarrollo de la flora superficial del queso es de 20-25°C; las bacterias lácticas mesófilas proliferan más rápidamente a 30-35°C. y las termófilas, a 40-45°C. La producción máxima de enzimas tiene lugar generalmente a una temperatura inferior a la óptima de desarrollo y la actividad de las enzimas, generalmente es máxima a 35-45°C. En la práctica industrial, la maduración se efectúa a temperaturas muy inferiores a las óptimas, generalmente comprendidas entre 4°C y 20°C, según variedades.

2.7.3.4. Contenido en sal

Regula la actividad de agua y, por tanto, la flora microbiana del queso. El contenido en cloruro sódico de los quesos es generalmente de un 2-2.5%, que referido a la fase acuosa en que está disuelto supone el 4-5%.

2.7.3.5. pH

Condiciona el desarrollo microbiano, siendo a su vez resultado de éste. Los valores del queso oscilan entre 4,7 y 5,5 en la mayoría de los quesos, y desde 4,9 hasta más de un 7 en queso madurados por mohos. Las primeras fases de fabricación determinan la velocidad de producción de acidez hasta la adición de cloruro sódico, que, junto con la pérdida de la lactosa, determina el pH más bajo del queso. Posteriormente, la actividad de bacterias y mohos origina la degradación de los componentes de la cuajada a compuestos neutros o alcalinos que eleven el pH, cuyos niveles máximos se registran cuando la actividad proteolítica es muy fuerte.

2.7.3.6. Pasteurización

Para Ramírez (2016), la pasteurización elimina bacterias patógenas, coliformes y psicrotófos, y reduce el número de lactobacilos mesofílicos y aunque este tratamiento en la

leche incrementa la seguridad microbiológica de los quesos, la microflora natural y las enzimas lácteas son eliminadas o alteradas durante el proceso.

Un tratamiento a 78 °C por 10 segundos es requerido para la completa inactivación de las lipasas lácteas. Chavarri *et al.* (2000) encontraron que entre 73 – 95% de las lipasas lácteas son inactivadas durante la pasteurización. Las bacterias ácido lácticas poseen enzimas lipolíticas débiles, pero han demostrado ser activas en el queso. Sin embargo, se ha demostrado que estas lipasas son intracelulares y son liberadas después de la lisis celular de estos organismos. Además, las lipasas bacterianas son más activas sobre triglicéridos parcialmente hidrolizados por otras lipasas.

Consecuentemente, los sabores encontrados en quesos elaborados con leche cruda y pasteurizada difieren significativamente, siendo más ricos y fuertes en los quesos elaborados a partir de leche cruda. Estas diferencias han sido atribuidas a la actividad de la microflora propia de la leche.

2.7.4. Sistemas de maduración de quesos

Según Medina (S. f), los sistemas de maduración son los siguientes:

2.7.4.1. Quesos duros:

Maduran en condiciones que eviten el crecimiento superficial de microorganismos y disminuyan la actividad de los microorganismos y enzimas del interior. La maduración ha de ser un proceso lento y uniforme en toda la masa del queso no viéndose afectada por el tamaño.

2.7.4.2. Quesos blandos:

Se mantienen en condiciones que favorezcan el crecimiento de microorganismos en su superficie, tanto mohos (*Penicillium camemberti* en queso Camembert) como bacterias (*Brevibacterium linens* en queso Limburger). Las enzimas producidas por estos microorganismos se difunden hacia el interior del queso, progresando la maduración en esta dirección. La forma plana y el tamaño relativamente pequeño de estos quesos favorecen dicho proceso.

Generalmente, el tamaño y forma del queso están ligados al tipo de maduración que experimenta y a las condiciones de temperatura y humedad a las que se mantiene, Los quesos duros maduran lentamente, de varios meses hasta más de un año, a temperaturas de 4-14°C y humedad relativa baja (86-88%) para evitar el desarrollo de mohos, pero

suficiente para impedir una evaporación excesiva. Algunas variedades se revisten de parafina, emulsiones plásticas o películas especiales que excluyen el aire, con lo que se impide el crecimiento de los mohos y pérdida de humedad, cuando se requiere el desarrollo superficial de microorganismos, se aumenta la superficie en relación de microorganismos, se sala en seco con el fin de controlar la flora y se madura a 15-20°C y humedad relativa de (90-95%), con estas condiciones tiene lugar una sucesión de microorganismos idónea consistente en levaduras y mohos halotolerante que utilizan el ácido láctico, neutralizando las pastas y permitiendo el desarrollo posterior de bacterias, por ejemplo: *Brevibacterium linens* y mohos *Penicillium camemberti*.

2.8. Fermentos lácticos y tipos de queso

A continuación, en el Cuadro 4 se presentan las bacterias y el tipo de queso que producen, mientras que en el Cuadro 5 se presentan los tipos de queso madurados que hay.

Cuadro 4: Bacterias y el tipo de queso madurado que producen

Bacterias	Tipo de queso
Fermentos mesófilos <i>Streptococcus cremoris</i> <i>Streptococcus lactis</i> <i>Streptococcus lacti</i> subsp <i>diacetylactis</i> <i>Leuconostic spp</i> <i>Streptococcus lactis</i> supsp <i>diacetylactiss</i> <i>Leuconostoc cremonis</i>	Quesos duros (Cheddar) Quesos azules (Roquefort) Quesos blandos (Camembert) (madurados) Quesos blandos (Corrage) (no madurados)
Fermentos termofilos <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactobacillus bulgaricus</i> <i>Lactobacillus lactis</i> <i>Lactobacillus helveticus</i>	Quesos muy duros (Parmesano) Quesos de pasta cocida (Emmenthal)

Fuente: Medina S. f

Cuadro 5: Tipos de queso madurados

1. Quesos Duros (26-50% humedad). Madurados por bacterias Muy duros (26-34%). Parmesano Duros (36-46%). Emmenthal. Cheddar Semiduros (45-50%). Gouda.
2. Madurados internamente por MOHOS Semiduros (42-52%). Roquefort.
3. Madurados superficialmente por bacterias Semiblandos (45-55%). Limburger
4. Quesos blandos Madurados superficialmente por mohos (48-55%). Brie. Camembert.
5. Quesos blandos No madurados (50-80%). Cottage. Mozzarella.
6. Otros tipos: En salmuera. De suero. Fundidos.

Fuente: Medina S.f

2.9. Oferta y demanda de queso madurado

La Superintendencia de Competencia de El Salvador (2010), menciona que la importancia nutricional que brindan los quesos, lo convierten en uno de los alimentos más consumidos a nivel mundial, es, por lo tanto, que debe incluirse en una dieta sana y equilibrada, pero debe consumirse con moderación, debido a que sus principales nutrientes provienen de las grasas saturadas de origen animal. Así mismo, es un producto rico en vitamina A, D, B y calcio.

De acuerdo con la Superintendencia de Competencia (2010), a nivel de El Salvador estos constituyen el segundo producto en importancia, tanto en la producción como en el consumo nacional de productos lácteos. Se, señala que los quesos son productos de gran importancia en los bienes de consumo de la población, muy superior a otros productos lácteos como la crema, la mantequilla, el yogurt, entre otros. Es así que un 79.5% de hogares consumen quesos y cuajada, con un promedio mensual de gasto de \$8.61. Es de hacer notar que, aunque los quesos no forman parte de la canasta básica alimentaria, son consumidos por una mayor cantidad de hogares en comparación a la leche entera (42.5%), que presenta un gasto promedio mensual de \$11,69. Por otra parte, acorde con la canasta de productos que se incluyen en el Índice de Precios al Consumidor (IPC) utilizada para el cálculo de la inflación, los quesos tienen una ponderación o peso relevante. Dentro de este indicador se incluyen a las cinco principales variedades de quesos adquiridos por el consumidor final, como lo son el queso fresco, quesillo, duro, cuajada y el duro-blando, que en conjunto tienen una ponderación del 1.51% en el índice, siendo el segundo producto en

importancia en la rama de alimentos. La agroindustria de quesos está considerada dentro de la rama manufacturera de lácteos. En la misma rama se incluye la producción de leche fluida, y otros derivados de la leche como la crema, el requesón, helados, yogurt, entre otros. Al no contar con estudios recientes se toma esta información del 2010, se estima que se ha mantenido igual o inclusive al alza. En este sentido, NICACENTRO (2015), señala que El Salvador importó una cantidad de 104.88 millones de dólares de queso de Nicaragua, siendo los principales los que se muestran en el cuadro 6.

Cuadro 6: El Salvador: importaciones de quesos. Año 2014.

Descripción	Dólares (USD \$)
Otros quesos (incluye Morolique)	35,000,489
Queso fundido (excepto rallado)	22,119,913
Queso Mozzarella	20,790,762
Otros Quesos Frescos	16,879,875
Tipo "Cheddar" deshidratado	6,396,909
Queso Mozzarella	1,324,533
Tipo "Cheddar" en bloques o barras	1,324, 533
Otros	1,035,915
Queso de pasta azul y demás	41,234
Total Importado en quesos	104,884,295

Fuente: NICACENTRO 2015

De acuerdo con el estudio realizado por NICACENTRO (2015), señaló que la demanda en libras por tipo de queso es como se muestran en la Figura 4.

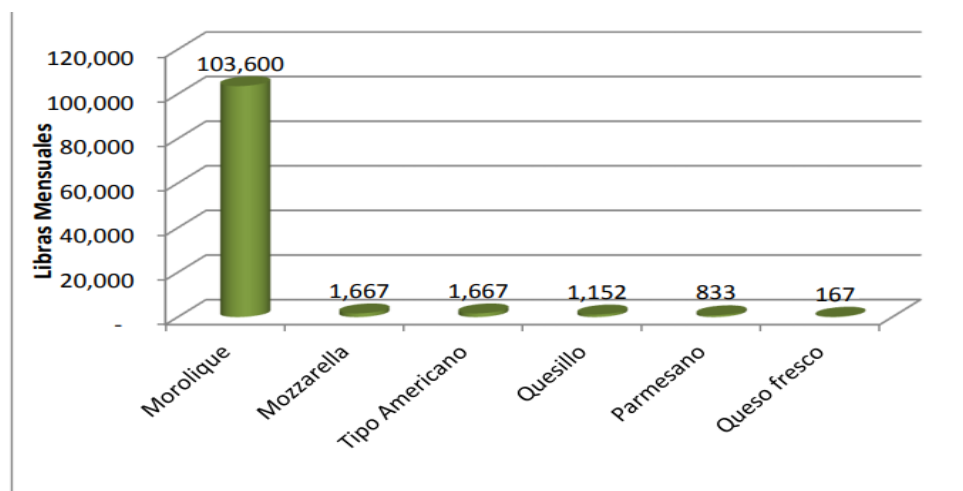


Figura 4: Demanda en libras por tipo de queso.

Fuente: NICACENTRO 2015

Por tanto, se puede notar como la demanda de queso en El Salvador es alta, y que el consumo de queso madurado va en aumento, notando como en la demanda de queso aparece el queso parmesano.

2.10. Calidad en quesos

La calidad de un alimento es el conjunto de características del mismo que son requeridas por los consumidores implícitamente (FAO 2002).

2.10.1. Calidad Física-química en quesos

El queso deberá cumplir con las características físico-químicas especificadas en el Cuadro 7.

Cuadro 7: Características físico-químicas

Tipo de queso no madurado	Humedad, % en masa, máximo	Grasa láctea, % en masa, en base húmeda
1. Queso Cottage	80.0	Mínimo 4.0
2. Queso Cottage bajo en grasa	80.0	Máximo 2.0
3. Queso Ricotta (elaborado solamente con suero de leche)	80.0	Mínimo de 0.5*
4. Queso Crema (untar)	55.0	No menor de 33.0
5. Queso Crema bajo en grasa (untar)	60.0	Menor o igual a 27.0
6. Queso Fresco, bajo en grasa	70.0	No menor de 4.0
7. Queso Fresco	65.0	No menor de 8.0
8. Queso de capas	45.0	20-33%
9. Queso duro	39.0	No menor de 17
10. Queso Mozzarella	60.0	No menor de 18.0
11. Quesillo alto en grasa	60.0	Mayor de 15.0
12. Quesillo bajo en grasa	65.0	Menor o igual a 15.0
13. Queso de suero o requesón	80.0	No menor de 18.0**
14. Queso Mantecquilla	65.0	No menor de 12.0

*Cuando se declare leche entre los ingredientes empleados en la elaboración, el requisito será de 4% como mínimo.

**La grasa será ajustada de acuerdo a las Buenas Prácticas de Fabricación

Fuente: NSO 1996.

2.10.2. Calidad microbiológica en quesos

El producto no debe contener microorganismos en número mayor a lo especificado en el cuadro 8.

Cuadro 8: Límites microbiológicos sanitarios para quesos no madurados

Microorganismo	n ¹	c ²	m ³	M ⁴
<i>Staphilococcus aureus, coagulasa positiva (enterotoxigénico) UFC/g</i>	5	1	10 ²	10 ³
<i>Coliformes fecetales, NMP/g</i>	5	2	3	10
<i>Escherichia coli, UFC/g</i>	5	0	Ausencia	Ausencia
<i>Salmonella en 25 gramos</i>	5	0	Ausencia	Ausencia
<i>Listeria monocytogenes, en 25 gramos</i>	5	0	Ausencia	Ausencia

¹ n = Número de muestras que deben analizarse

² c = Número de muestras que se permite que tengan un recuento mayor “m” pero no mayor que “M”

³ m = Recuento máximo recomendado

⁴ M = Recuento máximo permitido

Fuente: NSO 1996.

2.10.3. Calidad organoléptica en quesos

Según la Norma Salvadoreña Obligatoria, la apariencia, textura, el color, el olor y el sabor de los quesos no madurados deben ser los característicos para el tipo de queso que corresponda y deben estar libres de los defectos indicados a continuación (NSO 2007).

2.10.3.1 Defectos en el sabor

Fermentado, rancio, agrio, quemado, mohoso, o cualquier otro sabor anormal o extraño.

2.10.3.2. Defectos en el olor

Fermentado, amoniacal, fétido, rancio, mohoso, o cualquier olor anormal o extraño.

2.10.3.3. Defectos en el color anormal

No uniforme, manchado o moteado, provocado por crecimiento de mohos o microorganismos que no correspondan a las características del queso de que se trate.

2.10.3.4. Defectos en la textura

No propia o con cristales grandes de lactosa con consistencia ligosa (viscosa, pegajosa) acompañada de olor desagradable.

2.10.3.5. Defectos en la apariencia

No propia, con cristales grandes de lactosa, sucia o con desarrollo de mohos u otros hongos.

2.11. Métodos de conservación

Son la aplicación de tecnologías encargadas de prolongar la vida útil y disponibilidad de los alimentos para el consumo, protegiéndolos de microorganismos patógenos y otros agentes responsables de su deterioro (Morales 2012).

2.11.1. Físicos:

Son la aplicación de un conjunto de técnicas mediante las cuales se crean las condiciones no adecuadas para que los microorganismos no se desarrollen o retrasar el desarrollo de ellos (Juliarena y Gratton s.f). A continuación, se definen algunos métodos físicos utilizados en la conservación de alimentos.

2.11.1.1. Frío:

Produce una disminución de la velocidad de todos los procesos químicos, metabólicos y de crecimiento de microorganismos. Entre las tecnologías utilizadas están: refrigeración y congelación (Juliarena y Gratton (s.f.)

2.11.1.2. Calor:

Se basa en la desnaturalización de proteínas, lo que produce una desactivación de las enzimas, y, por lo tanto, la desaparición de los efectos de sus actividades, incluida la paralización y eliminación de los microorganismos. Entre las tecnologías utilizadas están: Escaldado, pasteurización y esterilización (Juliarena y Gratton s.f).

2.11.1.3. Modificación de la cantidad de agua:

La reducción de la cantidad de agua es una forma de estabilización del alimento frente a la actividad nociva de enzimas y microorganismos. Los métodos se dividen en desecación (cuando la humedad del alimento se disminuye hasta equilibrarse con la del ambiente) y deshidratación (cuando la eliminación es casi total). Entre estos métodos se encuentra la liofilización y la concentración (Juliarena y Gratton s.f).

2.11.2. Microbiológicos:

Son los métodos mediante los cuales se modifica la composición microbiana de los alimentos agregando microorganismos benéficos para mejorar alguna característica del producto (Morales 2012).

2.11.2.1. Fermentaciones:

La fermentación es un proceso catabólico de oxidación incompleta, totalmente anaeróbico, siendo el producto final un compuesto orgánico. Tipos de fermentaciones: Fermentación acética (vinagre), Fermentación alcohólica (cerveza), Fermentación butírica (indeseable de la manteca) entre otros (Morales 2012).

Las levaduras o los mohos, son: todos los tipos de pan (con trigo), embutidos de carne, variedad de vinos (con uvas), entre otros (Morales 2012).

2.11.3. Químicos

Para Juliarena y Gratton (s.f). Los métodos químicos buscan aprovechar las propiedades conservadoras de muchas sustancias químicas que se pueden dividir en dos grandes grupos, los métodos que sólo conservan y los que además de conservar, modifican las propiedades sensoriales del alimento.

2.11.3.1. Métodos que no modifican las propiedades sensoriales

Estos métodos agregan sustancias químicas que no alteran las cualidades de los alimentos. Entre las sustancias químicas que se utilizan para efectuar este método se encuentran las sustancias con actividad antiséptica, que se conocen como conservadores químicos (Morales 2012).

2.11.3.2. Métodos que modifican las propiedades sensoriales:

Son métodos que, además de conservar, provocan modificaciones profundas en las características sensoriales y nutritivas del alimento; entre estos se encuentran: Adición de sales, empleo de componentes del humo.

2.12. Aceites esenciales (AE)

Según Martínez (2001), los aceites esenciales son las fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables por arrastre con vapor de agua, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas y que son importantes en la industria cosmética (perfumes y aromatizantes), de alimentos (condimentos y saborizantes) y farmacéutica (saborizantes).

2.12.1. Clasificación de los aceites esenciales

Los aceites esenciales se clasifican con base en diferentes criterios: consistencia, origen y naturaleza química de los componentes mayoritarios (Martínez 2001):

1. **Por su consistencia:** se refiere a esencias fluidas, bálsamos y oleorresinas.

2. **De acuerdo a su origen:** los aceites esenciales se clasifican como naturales, artificiales y sintéticas.
3. **Desde el punto de vista químico:** Los aceites esenciales se pueden clasificar de acuerdo con el tipo de sustancias que son los componentes mayoritarios.

2.12.2. Tipos de extracción de Aceites esenciales

De acuerdo con Paredo *et al.* (2009), los principales métodos de extracción de aceites esenciales utilizados en la industria se destacan en el cuadro 9:

Cuadro 9: Métodos de extracción de aceites esenciales.

Método		Procedimiento		Productos obtenidos	
Métodos directos		Extrusión	Composición de cáscara	Aceites esenciales cítricos	
			Raspado de cáscaras		
		Exudación	Lesiones mecánicas en corteza	Gomas, resinas, bálsamos	
Métodos indirectos	Destilación	Directa		Aceites esenciales y aguas aromáticas	
		Arrastre con vapor de agua (directo, indirecto a presión, a vacío)			
		Destilación-maceración (liberación enzimática de agliconas en agua caliente)			
	Extracción con solventes	Solventes volátiles	En caliente		Infusiones y resinoides alcohólicos
			En frío		Concretos y absolutos
		Solventes fijos (grasas y aceites)	En caliente		Absolutos de pomadas
			En frío		Absolutos enflorados
	Técnicas de vanguardia	Utilización de ultrasonidos en el proceso extractivo de la destilación			
		Extracción por microondas			
		Extracción con fluidos en estado supercritos			

Fuente: Tomado de Paredo *et al.* 2009

2.12.3. Usos de los aceites esenciales

Según Montoya (2010), la gama de las industrias que utilizan los aceites esenciales o sus subproductos es amplia y variada entre las cuales se destacan: Industria farmacéutica y dental, Industria alimentaria y de licores, Industria cosmética, de perfumería, del jabón y de los ambientadores, productos de uso veterinario, Industria fitosanitaria entre otros.

2.12.4. Rendimiento de los aceites esenciales

La producción de esencias tiene un rendimiento muy bajo, de hecho, para obtener unos gramos de esencia, se necesita gran cantidad de material vegetal. Obtenido por extracción directa de la planta rara vez supera el 1 % del peso de la planta seca. Ello significa que si se va a emplear 1 g de aceite esencial, en realidad se está empleando cerca de 100 g de planta seca, lo cual representa una dosis muy considerable. La cantidad media que se encuentra en la mayoría de las plantas aromáticas es alrededor de 0.1 a 2% (Montoya 2010).

2.12.5 Aceite Esencial de Orégano (*Origanum vulgare*)

Históricamente, el Orégano había sido considerada una hierba aromática utilizada principalmente como sazonador en una gran variedad de platos culinarios a nivel mundial. Sin embargo, ha sido en los últimos años en que las diferentes investigaciones científicas han permitido identificar otros usos y propiedades con importancia en la vida diaria y en este caso, en la conservación natural de los alimentos (Bagher Hashemi *et al.* 2018).

Hoy en día, la acción antimicrobiana, antioxidante y antifúngica del aceite esencial de Orégano ha sido objeto de un gran número de investigaciones que reafirman sus propiedades y la posicionan como una alternativa natural con un uso potencial y extensivo en la industria alimentaria de forma que pueda garantizarse la calidad e inocuidad de los alimentos.

En este sentido, los estudios realizados por Fernández-Pan (2012), posicionan al aceite esencial de Orégano como uno de los agentes antimicrobianos y antioxidantes más efectivos. Otros estudios como los de Loizzo *et al* (2009) reafirman las propiedades antioxidantes del aceite esencial de Orégano, así como también destacan su utilidad como agente aromatizante en alimentos funcionales o productos nutracéuticos ya que su uso retarda la oxidación lipídica de las grasas.

2.12.5.1. Principales componentes del aceite esencial de Orégano que exhiben propiedades antibacterianas

A continuación, se presenta el Cuadro 10 que contiene los principales componentes del aceite esencial de Orégano que presentan actividad sobre bacterias:

Cuadro 10: Principales componentes del aceite esencial de Orégano

Nombre común	Nombre científico	Mayores componentes	Porcentaje aproximado de composición
Orégano	<i>Origanum vulgare</i>	Carvacrol	Traza – 80%
		Timol	Traza – 64%
		p-Cymene	Traza 52 %
		Y-Terpinene	Traza 2 – 52 %

Fuente: Tomado de Bagher Hashemi *et al.* 2018

Lambert *et al*, citado por García y Palou (2008), indican que el Carvacrol y Timol son los componentes antimicrobianos de mayor importancia presentes en el aceite esencial de Orégano. Ambos compuestos actúan sobre las células y dependiendo de las concentraciones utilizadas pueden causar la inhibición o inactivación de los microorganismos. Ambos agentes se caracterizan por desintegrar la membrana externa de las bacterias Gram negativas, permitiendo la salida de polisacáridos e incrementando la permeabilidad de la membrana citoplasmática, provocando con ello la salida del ATP, inhibición de las ATPasas y disminución de la fuerza motriz del protón.

De acuerdo con Radulovic *et al.* (2013) la actividad antimicrobiana de estos dos terpenoides puede explicarse por al menos cinco mecanismos de acción, entre estos se incluyen: daño en la estructura y función de la membrana, inhibición de la biosíntesis y función de los ácidos nucleicos, interferencia de procesos metabólicos esenciales, inducción de la coagulación de los componentes citoplasmáticos y la interrupción en la comunicación celular normal. Estos mecanismos pueden verse influenciados por varios factores, como las características de las células bacterianas (bacterias Gram positivas y bacterias Gram negativas), condiciones ambientales y fisicoquímicas (la hidrofobicidad, la concentración del compuesto, la temperatura y el pH).

2.12.5.2. Proceso de obtención del aceite esencial de Orégano a través de la técnica de destilación por arrastre de vapor

Actualmente, la técnica de destilación por arrastre de vapor constituye el método más común de extraer los compuestos aromáticos de las plantas y obtener la gran variedad de aceites esenciales hoy en día conocidos. La técnica se trata de un proceso de separación por el cual, mediante el uso de vapor de agua, se vaporizan los componentes volátiles de la materia vegetal, en este caso en particular, de las hojas de la planta de Orégano (*Origanum vulgare*) (Ramírez 2017).

Casado Villaverde (2018), menciona que el procedimiento consiste en hacer pasar un flujo de vapor a través de la materia prima, de modo que arrastra consigo los aceites esenciales. Posteriormente, estos vapores se enfrían y se condensan, dando lugar al destilado líquido formado por dos fases inmiscibles: la acuosa y la orgánica, que es el aceite esencial. Estas se pueden separar por decantación gracias a la diferencia de densidad que existe entre ellas.

Como se mencionaba en párrafos anteriores, la técnica de destilación por arrastre de vapor constituye el método convencional más utilizado a nivel industrial debido a la sencillez del proceso y los buenos resultados que proporciona en cuanto a cantidad, calidad y pureza de los aceites esenciales (Ramírez 2017).

2.12.5.3 Fundamento teórico de la técnica de destilación por arrastre de vapor

La técnica de destilación por arrastre de vapor permite separar sustancias insolubles en agua y ligeramente volátiles de otros productos no volátiles mezclados por ellos, mediante un proceso de condensación de agua.

Casado Villaverde (2018) menciona que los aceites esenciales tienen puntos de ebullición muy elevados, muy por encima del punto de ebullición del agua por lo que, obtener estos productos por destilación simple, resulta complicado considerando que las altas temperaturas que se requieren para vaporizar el aceite provocan su descomposición.

Es por ello, que el método más adecuado para su obtención es la destilación por arrastre de vapor, ya que mediante esta técnica es posible separar los aceites esenciales, volátiles e insolubles en agua, de la planta que los contiene, a una temperatura inferior a la de su punto de ebullición (Ramírez 2017).

Ramírez (2017) indica en este sentido que, si en una mezcla existen dos o más compuestos que cumplen estas características, normalmente no se separan unos de otros, pero sí de todo lo demás. Con esta técnica se separan productos naturales a temperaturas inferiores a sus puntos de ebullición, por lo que se evita su descomposición, y es especialmente útil cuando los compuestos están contaminados con otras sustancias que sí son solubles en agua.

“Los extractores constan de las siguientes partes: una fuente de calor que genera vapor, un recipiente para alojar la hierba con agua, un colector del aceite esencial separado y un refrigerante para los vapores. La materia prima seca o húmeda se coloca en unas rejillas, las cuales van dentro de un macerador donde se inyecta directamente vapor saturado o sobrecalentado, el cual es provisto por una caldera y a presiones más elevadas que la atmosférica, el vapor se dirige hacia arriba, atravesando la masa vegetal, arrastrando así el aceite esencial. El vapor de agua atraviesa la hierba colocada en el recipiente, extrae y arrastra el aceite esencial que tiene bajo punto de volatilización y lo lleva hasta el refrigerante, donde al enfriarse se condensa y se separa el agua del aceite por densidad. Si el aceite es menos denso, queda en la superficie y si es más denso que el agua, va al fondo; de esta manera es fácil separarlo. Coobación es el proceso mediante el cual el agua condensada regresa al proceso, después de ser separada del aceite. El retorno del agua condensada tiene por objetivo minimizar las pérdidas de componentes polares, principalmente de los fenoles disueltos en el agua. Sin embargo, la permanencia de componentes solubles en el agua durante más tiempo da como resultado una mayor posibilidad de hidrólisis o la descomposición térmica, principalmente en el caso de la destilación con agua.” Lossi Nistahl (2012).

Es en este sentido en el que se entiende que el aceite esencial y el agua forman un sistema binario de dos líquidos inmiscibles, cuyo comportamiento está determinado por la Ley de Dalton de las presiones parciales. Esta ley establece que la presión total de una mezcla de dos gases “A” y “B” a una temperatura determinada es igual a la suma de las presiones que cada gas ejercería si estuviera solo a esa misma temperatura.

Ramírez (2017), establece que la presión total, a una temperatura determinada, se puede calcular con la siguiente ecuación:

$$P_t = P_A + P_B$$

Siendo P_t la presión total del sistema y P_A y P_B las presiones de vapor de los componentes A y B, a la temperatura correspondiente.

Con esta ecuación se determina que el punto de ebullición de la mezcla será aquella temperatura a la que la presión de vapor total iguale a la exterior. De este modo, esta temperatura estará por debajo del punto de ebullición que tendría cada una de estas sustancias por separado (Ramírez, 2017).

Lo anterior es aplicable, por regla general, a menos que la presión de vapor del compuesto sea 0, la temperatura de ebullición de la mezcla será inferior a 100 °C. Puesto que, a una temperatura dada, la presión ejercida por un gas es proporcional a su concentración, en el punto de ebullición de la mezcla las presiones de vapor de sus componentes serán proporcionales a sus concentraciones.

De esta ecuación se deduce que, al destilar una mezcla de dos líquidos inmiscibles, las cantidades relativas en peso de los dos líquidos que se recogen en el colector están relacionadas con los pesos moleculares y las tensiones de vapor, y que la mezcla destilará a temperatura constante mientras esté presente una mínima cantidad de ambos compuestos (Ramírez 2017).

“En el caso de la mezcla formada por el aceite esencial y el agua, si se trabaja a presión atmosférica, la destilación se produce a una temperatura inferior a los 100°C. De esa forma, se consigue la obtención de los aceites esenciales a una temperatura que evita su degradación.” Casado Villaverde (2018).

2.12.5.4. Usos y aplicaciones en alimentos

Las pruebas realizadas por Viuda-Martos (2010) y Kulisic *et al.* (2005), citado por Bagher Hashemi *et al.* (2018), a través del Método Rancimat (oxidación de manteca no purificada, 120°C, concentración de antioxidantes 50 g/L) arrojaron que las propiedades antioxidantes del orégano y sus componentes principales fueron efectivas para el proceso de oxidación lipídica en alimentos grasos debido al alto porcentaje de compuestos fenólicos (γ – Terpinene).

2.12.5.5. Toxicidad del aceite esencial de Orégano

La toxicidad de los aceites esenciales puede variar según su quimiotipo. Sin embargo, su toxicidad es débil. El orégano muestra una DL50 de 1.37 g/kg. Los aceites esenciales como el Carvacrol, muestran una DL50 de 0.81 g/kg. El timol puede llegar a producir efectos narcóticos, estupefacientes; mientras que el carvacrol puede llegar a producir efectos irritantes en la piel (Flores 2010).

2.13. Análisis sensorial

El análisis sensorial es la disciplina científica utilizada para evocar, medir, analizar e interpretar las reacciones a aquellas características de alimentos y otras sustancias, que son percibidas por los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto y oído. Las pruebas de análisis sensorial permiten traducir las preferencias de los consumidores en atributos bien definidos para un producto. La información sobre los gustos y aversiones, preferencias y requisitos de aceptabilidad, se obtiene empleando métodos de análisis denominados pruebas orientadas al consumidor, estas pruebas deben realizarse exclusivamente con consumidores y no con evaluadores entrenados. El catador evalúa simplemente el grado de aceptabilidad del producto y su preferencia (Ramírez 2012).

Para SGAPEIO (2014) Las cuatro tareas principales del análisis sensorial son: identificar, medir científicamente, analizar e interpretar. Para poder obtener resultados concluyentes es necesario un correcto diseño experimental y un análisis estadístico apropiado.

El campo de aplicación del análisis sensorial dentro de la industria alimentaria es muy variado: desarrollo de nuevos productos, control de calidad o preferencias del consumidor, entre otros.

Las técnicas del análisis sensorial se clasifican en dos grandes grupos dependiendo del objetivo que se persiga:

1. Pruebas analíticas, que buscan medir o describir en detalle las características organolépticas de un producto.
2. Pruebas de consumidores, que se emplean para evaluar las preferencias de los consumidores o medir la satisfacción que les proporciona el producto.

2.13.1. Tipo de pruebas cuantitativas de consumo

Las pruebas empleadas para evaluar la preferencia, aceptabilidad o grado en que gusta un producto se conocen como "pruebas cuantitativas de consumo" o pruebas orientadas al consumidor (POC), ya que se llevan a cabo con paneles de consumidores no entrenados. Existen tres dimensiones básicas en este tipo de investigación: a) sensorial o hedónica, b) conveniencia (facilidad para comprar, transportar, conservar, etc.), y, c) beneficios del producto relacionados con la salud (Ramírez 2012).

2.13.1.1. Prueba Hedónica (escala de nueve puntos)

Según Ramírez (2012), la prueba recomendada para la mayoría de proyectos de investigación estándar, donde el objetivo es simplemente determinar si existen diferencias entre los productos en la aceptación del consumidor. A los panelistas se les pide evaluar

muestras codificadas de varios productos, indicando cuánto les agrada cada muestra, marcando una de las categorías en la escala, que va desde "me gusta extremadamente" hasta "me disgusta extremadamente". En esta escala es permitido asignar la misma categoría a más de una muestra. Las muestras se presentan en recipientes idénticos, codificados con números aleatorios de 3 dígitos. Las muestras se codifican con números aleatorios (ver anexo A1).

2.13.1.2. Aspectos prácticos

2.13.1.2.1. Preparación de las muestras

Según Espinosa (2007) Las muestras se preparan de acuerdo al tipo de producto, de manera tal que no se introduzcan olores, ni sabores extraños o cambios en algunas de sus propiedades organolépticas. En ese sentido, deben considerarse los siguientes aspectos:

Temperatura de las muestras. Deben servirse y evaluarse las muestras a temperaturas similares a las de su consumo, por ejemplo, los alimentos calientes deben servirse a temperaturas entre 60 - 65°C, los helados entre -1 y -2 °C. Debe no obstante tenerse en cuenta que a temperaturas muy bajas o muy altas no puede saborear bien el alimento, ni apreciarse adecuadamente su sabor característico.

Codificación de las muestras. Las muestras se identifican de forma tal que no sugieran al juez ningún tipo de relación entre ellas. Se aconseja utilizar códigos compuestos por tres dígitos elegidos al azar (pueden ser tomados de una tabla de números aleatorios).

Tamaño y cantidad de muestras. Las muestras se presentan en tamaño y cantidad suficiente como para que el juez pueda realizar la evaluación. Para productos sólidos se recomienda 30 g y para líquidos de 20 a 30 ml.

Utensilios empleados para evaluar las muestras. Los utensilios han de ser uniformes, no proveer sabores ni olores extraños al producto, deben ser de material inerte, pueden ser de vidrio, porcelana, cerámica, o material desechable.

No es aconsejable poner en marcha un panel con menos de 10 catadores. Por lo que es necesario reclutar al menos dos o tres veces el número de personas que hacen falta para formar el panel final, es decir si queremos disponer de un panel final de 10 personas deberemos de reclutar entre 30 personas para poder seleccionar definitivamente a 20 (Ventura 2016).

2.13.1.2.2. Instalaciones de catación

Según Ventura (2016), los requisitos mínimos que debe de poseer una sala de cata son los siguientes:

1. Un área de cata donde se pueda trabajar tanto en grupo como en cabinas individuales.
2. Un área de preparación de muestras. Los responsables del panel deben tener fácil acceso a la sala de cata. Es recomendable contar con una sala de espera para reunir a los jueces antes de entrar en el área de cata. La organización del área de cata debería permitir una fácil limpieza y unas buenas condiciones de higiene. Los ensayos que aquí se realizan se llevan a cabo con personas por lo que es de vital importancia controlar aspectos tales como:

Temperatura: Las condiciones de temperatura y humedad tienen que ser cómodas para las personas a menos que el producto requiera de condiciones especiales.

Iluminación: La iluminación es fundamental para una buena evaluación (visión de colores) e incluso para la propia comodidad de los jueces, puesto que tienen que leer y escribir durante un periodo largo de tiempo.

Cabinas: Dos sesgos fundamentales que se deben de evitar en esta disciplina son las interacciones entre los catadores durante la prueba para que se mantenga la concentración y la seriedad de la prueba, y el sesgo producido por la distracción que supone de ver a alguien comer, puede llegar a suponer una sensación muy desagradable para otra persona. Por lo que sería recomendable la utilización de cabinas que aislen totalmente a cada uno de los jueces focalizando toda la atención en el ensayo que se esté realizando.

2.13.1.2.3. Aspectos informativos:

Según Espinosa (2007), antes de realizar los análisis los panelistas deben recibir cierta información, para facilitar su tarea, algunos aspectos básicos a informar son:

1. Posibilidad o no de probar las muestras varias veces.
2. Tiempo disponible para el análisis. Generalmente se planea la sesión de cata de manera tal que el juez no permanezca más de diez o quince minutos por prueba.
3. Horario de realización de las pruebas a fin de que el juez pueda acudir a tiempo; hacer la evaluación y garantizar la participación de todos a la vez.

4. Agente enjuagante a emplear. Es el sistema a utilizar para eliminar el sabor residual que persiste después de una degustación. Generalmente se emplea agua a temperatura ambiente, la cual no tiene que ser tragada, se expectora.
5. El período de tiempo entre la degustación de una muestra a otra también es importante, normalmente oscila entre 15 y 30 segundos, aunque este tiempo puede variar en dependencia del producto y los atributos evaluados.
6. Informaciones adicionales. A los jueces se les comunicará el tiempo que deben esperar después de fumar o ingerir alguna merienda y después de las comidas, que para realizar las evaluaciones no pueden usar cosméticos ni perfumes antes de las evaluaciones y han de lavarse las manos con jabones que no transmitan olor. También se le indicará que no deben conversar entre ellos, manteniendo disciplina y postura correcta antes y durante las evaluaciones.

2.13.2. Modelo estadístico no paramétrico: Prueba de Kruskal-Wallis:

Para el análisis de la prueba sensorial realizada para evaluar los diferentes atributos de los quesos, se utilizó una prueba no paramétrica bajo el diseño de *Kruskal-Wallis*.

En este sentido, la prueba de *Kruskal-Wallis* constituye una alternativa no paramétrica al análisis de varianza usual y se considera como una extensión del procedimiento de suma de rangos. Esta prueba, por sus exigencias genera un modelo matemático que permite comparar más de dos muestras con el propósito de determinar si proceden de la misma población, o bien, comparar si existen diferencias entre las medidas de tendencia central de más de dos poblaciones y no se justifica la suposición de normalidad y de igualdad de varianzas, se puede recurrir a un procedimiento alternativo al de la prueba F de análisis de varianza y que no depende de esta suposición (Torres y Sorto 2003).

La hipótesis nula para la prueba de *Kruskal-Wallis* es que no existe diferencia entre los tratamientos ($\tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_a$), mientras que la alternativa es que exista diferencia entre al menos un par de tratamientos ($\tau_i \neq \tau_j$) (Conover 1999).

Las ventajas fundamentales de esta prueba frente al estadístico *F* de ANOVA de un factor completamente aleatorizado son dos: 1) No necesita establecer supuestos sobre las poblaciones originales tan exigentes como el estadístico *F* de ANOVA (normalidad, homocedasticidad); y 2) Permite trabajar con datos ordinales. Por contra, si se cumplen los supuestos en los que se basa el estadístico *F*, la potencia de este es mayor que la que es posible alcanzar con el estadístico *H* de *Kruskal-Wallis* (Torres y Sorto 2003).

Ahora bien, teniendo en cuenta que en muchas situaciones reales resulta demasiado arriesgado suponer normalidad y homocedasticidad (especialmente si las muestras son pequeñas y/o los tamaños muestrales desiguales), y considerando además que en otras situaciones el nivel de medida de los datos puede ir no más allá del ordinal, la prueba Kruskal-Wallis representa una excelente alternativa al ANOVA de un factor completamente aleatorizado.

Para aplicar esta prueba se debe conocer el número total de unidades experimentales y el número de muestras de cada tratamiento. Los valores se ordenan y se le asigna el valor de uno al valor más bajo, dos al siguiente valor; el último será el valor más alto y tendrá el valor de N (Conover 1999).

De acuerdo con Conover (1999), Para realizar la prueba de *Kruskal-Wallis* los datos deben agruparse como se presenta en la siguiente tabla:

Cuadro 11: Agrupación de datos para realización de prueba Kruskal-Wallis.

Repeticiones	Tratamientos			
	A	B	C	...
1	X_{1A}	X_{1B}	X_{1C}	...
2	X_{2A}	X_{2B}	X_{2C}	...
⋮	⋮	⋮	⋮	...
n	X_{nA}	X_{nB}	X_{nC}	...

Fuente: Tomado de Conover. 1999

Donde X_{ij} son las observaciones

$i = 1, 2, \dots, n$

$j = A, B, C, \dots$

$N = n_A + n_B + n_C$

Las observaciones se organizan posteriormente, en orden ascendente y se asignan las posiciones (o rangos) con el rango 1 correspondiente a la observación más pequeña. En caso de empate (varias observaciones con el mismo rango o posición), se asigna el rango promedio a cada observación empatada. Una vez que se tienen todos los valores de los rangos, estos se agrupan por tratamiento y se suman teniendo un valor de suma de rangos por tratamiento (equivalente a la suma de cuadrados y se aplica el siguiente estadístico de prueba:

El estadístico de esta prueba está dado por la expresión siguiente:

$$H = \frac{1}{S^2} \left[\sum_{i=1}^a \frac{R_i^2}{n_i} - \frac{N(N+1)^2}{4} \right]$$

Donde:

R_i = Suma de los rangos de las observaciones del i-ésimo tratamiento y

n_i = es el número de observaciones del i-ésimo tratamiento

N = número total de observaciones y;

$$S^2 = \frac{1}{N-1} \left[\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^{n_i} R_{ij}^2 - \frac{N(N-1)^2}{4} \right]$$

Debe notarse que S^2 es igual a la varianza de rangos. Si no hay empate, $S^2 = \frac{N(N+1)}{12}$ y el estadístico de la prueba se simplifica a:

$$H = \frac{12}{N-1} \left[\sum_{i=1}^a \frac{R_i^2}{n_i} - 3(N+1) \right]$$

Hollander *et al.* (2014) señalan que la expresión matemática anterior representa el rango promedio asignado en el conjunto de clasificación, donde la hipótesis nula establece que los tratamientos son iguales:

$$H_0 : [\tau_1 = \dots = \tau_k]$$

Esta hipótesis debe contrastarse con la hipótesis alterna que establece que los tratamientos en estudio son diferentes o al menos uno de ellos es diferente:

$$H_1 : [\tau_1, \dots, \tau_K \text{ no son iguales}]$$

Con lo anterior se realiza el contraste de hipótesis, donde:

Rechazar H_0 si $H \geq h_\alpha$; de otra forma no rechazar

Con esto, se rechaza la hipótesis nula, entonces existe diferencia significativa entre los tratamientos.

3. METODOLOGÍA

3.1 Descripción del estudio

La investigación se desarrolló en los laboratorios del Departamento de Zootecnia de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador, ubicada en Autopista Norte y Final 25ª Avenida Norte, Ciudad de San Salvador, El Salvador, cuyas coordenadas son: latitud norte 13.7183 -89.203 (Figura A-1) y una altitud promedio de 500 msnm con una temperatura promedio anual de 24°C y una Humedad Relativa de 82%. La investigación tuvo una duración de nueve meses, comprendidos de agosto del año 2020 a junio del año 2021.

3.2 Metodología de campo

Para la realización del presente proyecto de investigación se procedió a la recolección de la materia prima (leche cruda) en las instalaciones de la Estación Experimental y de Prácticas de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador, ubicada en el Cantón Tecualuya, Carretera al Puerto de La Libertad km 57, San Luis Talpa. La recolección se realizó cada 15 días durante un período de 10 semanas, desde 1 de octubre hasta 24 de noviembre de 2020. Posterior a la recolección, se procedió al traslado de la materia prima desde la Estación Experimental y de Prácticas a las instalaciones de los laboratorios del Departamento de Zootecnia para su procesamiento.

3.3 Metodología de laboratorio

Una vez en el laboratorio, se procedió a realizar análisis físicos y microbiológicos tanto a la leche cruda como pasteurizada y análisis microbiológicos y sensoriales a los tratamientos elaborados. Este procedimiento se realizó desde el 1 de octubre al 11 de diciembre de 2020.

El aceite esencial de Orégano fue adquirido en presentaciones de frascos de 15 ml por una empresa estadounidense cuyos procesos se encuentran certificados a través de Certificado de Grado Terapéutico Puro (CPTG) el cual garantiza que cada lote se encuentra libre de contaminantes y rellenos sintéticos.

Cuadro 12: Variables de interés para producto final

Microbiológico		
Descripción	Unidad de medida	Método
Recuento de mesófilos	UFC	Siembra en placa
Recuento de coliformes totales	UFC	Siembra en placa
Organoléptico		
Descripción	Atributos de evaluación	Método
Análisis Sensorial	Olor, color, sabor, aspecto y textura.	Escala hedónica 9 puntos

3.3.1 Elaboración del queso semi-madurado

La elaboración de queso semi-madurado, se usó de base la guía de queso semimaduro (UTN S.f), los pasos expresados a continuación, y descritos de manera esquemática en el Figura A-2.

- a. **Filtración, medición:** la leche cruda utilizada (25.5 litros por tratamiento), se filtró en un tamiz (manta de colar) para extraer cualquier tipo de materia extraña que pueda encontrarse en el medio. (Figura A-3)
- b. **Pasteurización:** La leche se pasteurizó por medio de proceso VAT en el cual se aplica una temperatura de 63°C durante 30 minutos. (Figura A-4)
- c. **Enfriamiento:** se aplicó un choque térmico para disminuir la temperatura a 36°C.
- d. **Ajuste de temperatura:** se mantuvo la temperatura de la leche en 36°C de manera uniforme, para esto se verificó con un termómetro de carátula (Figura A-5)
- e. **Adición de cloruro de calcio y cuajo:** una vez calculada las cantidades de acuerdo al volumen de la leche a trabajar, se agregó el cloruro de calcio y se agitó, seguidamente se adiciono el cuajo líquido siguiendo las instrucciones del fabricante, el cuajo utilizado fue enzimático. (Cuadro A-1)
- f. **Adición de cultivo:** se pesó el cultivo acorde a la cantidad de leche y se adiciono, mezcló con la leche para distribuirlo de manera uniforme (Cuadro A-1)
- g. **Cuajado:** se dejó reposar por 45 minutos, (Figura A-6)
- h. **Corte de cuajada:** se cortó la cuajada en cubitos aproximadamente del tamaño de un grano de arroz. (Figura A-7)
- i. **Agitado 1:** se agitó suavemente la cuajada cortada por un período de 20 minutos en forma constante esto con el fin de facilitar la liberación del suero. (Figura A-8)
- j. **Desuerado parcial:** se desuero un 30% del volumen total. (Figura A-9)

- k. **Lavado de la cuajada:** se incorporó agua a una temperatura de 36°C, siendo este el mismo volumen de suero eliminado, esto con el fin de disminuir la cantidad de lactosa presente. (Figura A-10)
- l. **Agitado 2:** posteriormente a la adición de agua se agitó nuevamente por 20 minutos en forma un poco más vigorosa, formando un ocho con la paleta para facilitar la explosión de suero, evitar igualmente que haya roce metal-metal entre la paleta y la tina, mantener siempre la temperatura en 36°C. (Figura A-11)
- m. **Desuerado total:** se eliminó la mayor parte posible del suero, utilizando el colador y la lámina de acero inoxidable (limpia y desinfectada) (Figura A-12)
- n. **Picado:** se picó el queso en bloques de 1 cm³, utilizando un cuchillo de acero inoxidable limpio y desinfectado.
- o. **Moldeo y pesado:** se pesó 500 gramos de cuajada, que posteriormente fue colocada en los moldes de las prensas, a estas se le colocó una manta, para ayudar a la estructura de la cuajada. (Figura A-13)
- p. **Prensado y pesado final:** se colocaron los quesos en los moldes de las prensas por 3 horas. (Figura A-14, A-15 y A-16)
- q. **Adición de porcentaje de aceite esencial de Orégano:** Posteriormente, se aplicó externamente aceite esencial de orégano. Se utilizó como solvente alcohol etílico 90%, y utilizando una brocha de cocina para aplicarlos. Se estimó que 30 ml de la solución alcohol más aceite esencial de orégano sería suficiente para los 6 quesos por tratamiento. Así se determinó que el T1 sería 10% (3 ml de aceite esencial de orégano y 27 ml de alcohol). T2 7.5% (2.25 ml de aceite esencial de orégano y 27.75 ml de alcohol). T3 5% (1.5 ml de aceite esencial de orégano y 28.5 ml de alcohol). T4 2.5% (0.75 ml de aceite esencial de orégano y 29.25 ml de alcohol). (Cuadro A-2 y Figura A-17)
- r. **Maduración:** se almacenaron los quesos semi madurados en una cámara frigorífica entre 0-4°C por 15 días. (Figura A-18)

3.3.2 Análisis a la leche cruda y pasteurizada.

Análisis físicos:

Acidez: Para el análisis de acidez, se realizó a la leche cruda en una muestra de 10 ml. por medio del método de titulación, la cual se basa en la neutralización de la leche usando hidróxido de sodio (NaOH) y una solución de Fenolftaleína en alcohol como indicador de que se ha llegado al punto nuestro mediante la presencia de color rosa típico de la fenolftaleína a pH a 7 (CONACYT 2005). (Figura A-19)

pH: Para medir el pH, se hizo uso de una muestra de leche de 150 ml a 25°C y el pH-metro, que se introduce el electrodo del pH-metro en la muestra y se lee el resultado (CONACYT 2005). Ambos parámetros cumplieron con la Normativa Salvadoreña de Leche Cruda NSO 67.01.01:06, para acidez y pH (Figura A-20).

Análisis Microbiológicos

Recuento de mesófilos aerobios totales: este análisis se realizó a la leche cruda y pasteurizada, este método está basado en la reproducción de microorganismos mesófilos, en placas estériles con medio Plate Count Agar (PCA), se incubaron por 48 horas a una temperatura de 35-37 °C (APL S.f). Para el recuento de las unidades formadoras de colonias (UFC) se hizo uso de una cuenta colonias de alta sensibilidad, siendo las UFC de mesófilos de color blanco hueso contrastando con el color del medio de cultivo (A-1) (ISO 2013).

Recuento de coliformes totales: Método basado en la reproducción de microorganismos, en placas estériles con medio Violet Red Bile Lactose Agar, se incubaron por 48 horas a una temperatura de 35-37 °C (APL S.f). Para el recuento de las UFC de coliformes totales se hizo uso de una cuenta colonias de alta sensibilidad, siendo identificadas por el color rosado rojizo (A-2) (CONACYT 2005).

3.3.3 Análisis microbiológicos de los quesos

Recuento de mesófilos aerobios totales: En este método se maceró el queso con agua peptonada y luego se basó en la reproducción de microorganismos mesófilos, en placas estériles con medio Plate Count Agar (PCA) se incubaron por 48 horas a una temperatura de 35-37 °C (ANMAT 2014). En el anexo 20, se muestra el proceso detallado. Para el recuento de las unidades formadoras de colonias (UFC) se hizo uso de una cuenta colonias de alta sensibilidad, siendo las UFC de mesófilos de color blanco hueso contrastando con el color del medio de cultivo (A-3) (ISO 2013).

Recuento de coliformes totales: En este método se maceró el queso con agua peptonada y luego se basó en la reproducción de microorganismos, en placas estériles con medio Violet Red Bile Lactose Agar se incubaron por 48 horas a una temperatura de 35-37 °C (ANMAT 2014). Ver anexo 21, para mayor detalle. Para el recuento de las UFC de coliformes totales se hizo uso de una cuenta colonias de alta sensibilidad, siendo identificadas por el color rosado rojizo(A-4) (CONACYT 2005).

La frecuencia de los análisis microbiológicos se realizó cada 8 días a los tratamientos, mientras que a la leche solo una vez, como se detalla en el Cuadro A-3.

3.3.4 Análisis organoléptico de los quesos semi-madurados

Este análisis se desarrolló con el fin de identificar las características organolépticas como, olor, color, sabor, aspecto y textura y así medir el nivel aceptación del producto final.

Para esto se utilizó el método de la catación aplicando la prueba hedónica, la cual se realizó a los 15 días de maduración de los quesos de cada tratamiento en estudio, en esta participaron 20 personas por prueba a quienes se les brindó una muestra de aproximadamente 20 gramos y una ficha donde evaluaron cada uno de los aspectos (Cuadro A-4, Figura A-21, Figura A-22 y Figura A-23).

3.4 Metodología estadística

Variables.

La variable independiente:

Dosis de Aceite Esencial de Orégano (0.0%, 10%, 7.5%, 5%, 2.5%)

Variable dependiente:

1. **Días de conservación:** esto corresponde a los 0, 7 y 15 días después de elaborado el queso, en los cuales se realizaron los recuentos de mesófilos aerobios y coliformes totales
2. **Características organolépticas:** para el evaluar los aspectos organolépticos, color, olor, sabor, aspecto y textura.

3.4.1 Variables de conservación microbiológicas (Días de conservación)

Al desarrollar la fase de campo de las pruebas microbiológicas descritas, cada tratamiento tuvo un número 6 repeticiones, sin embargo, únicamente fueron muestreados tres de ellos por motivos asociados a los costos económicos que implicaba el muestreo del total de repeticiones. Al no cumplir los supuestos establecidos por Montgomery (2004), el cual especifica que por tratamiento debería de muestrearse 6 repeticiones por tratamiento para aumentar la confiabilidad de la prueba; no se aplicó el análisis de varianza (ANOVA) a estas variables, y se optó por un análisis descriptivo utilizando gráficos ya que se apegan de mejor forma a los datos obtenidos a nivel de laboratorio.

Para llevar a cabo el análisis de las pruebas microbiológicas (Mesófilos aerobios y Coliformes Totales) como parte de este proyecto de investigación, se utilizaron métodos estadísticos descriptivos tales como: tablas, gráficos de líneas con marcadores, gráficos de

columnas agrupadas y medidas de tendencia central (en esta investigación en particular será la mediana). En el caso específico de los gráficos de líneas, posibilitaron mostrar los datos obtenidos a nivel de laboratorio del recuento de mesófilos aerobios como un conjunto de puntos conectados mediante una sola línea durante el período de tiempo en el cual fueron evaluados los tratamientos con las diferentes dosis de aceite esencial de Orégano; en el caso de los gráficos de columnas agrupadas, fueron utilizados para mostrar las diferencias que existían, en cuanto al recuento del crecimiento de coliformes totales, entre los distintos tratamientos con diferentes dosis de aceite esencial de Orégano sometidos a estudio en el periodo de tiempo evaluado. Para el procesamiento de los datos obtenidos se utilizó el software Microsoft Excel V 2016.

3.4.2. Características organolépticas.

Para tener una visualización de los datos del análisis sensorial se utilizó el gráfico de cajas y bigotes (también conocido por el nombre de Boxplot). Al analizar la variabilidad de las cajas de cada atributo organoléptico por tratamiento, se pudo observar las tendencias que estos datos presentaron a nivel de laboratorio y de esta manera tener una idea de cuál tratamiento presentó una mejor calificación con respecto al resto. Posterior, se aplicó, la prueba no paramétrica, bajo el diseño Kruskal-Wallis, la cual es una alternativa al análisis de varianza usual, este modelo matemático permite evaluar más de dos muestras con el propósito de determinar si proceden de la misma población (Rivera y Torres 2003). Esta prueba se adapta a los resultados obtenidos de la prueba sensorial escala hedónica, y permitió evaluar los diferentes atributos organolépticos olor, color, sabor, aspecto y textura en los quesos y así obtener un resultado estadístico. Los datos obtenidos del análisis sensorial, se procesaron con ayuda el software estadístico Infostat V 9.0, con una probabilidad de 0.05.

3.5. Metodología económica

De acuerdo con Ortega Aguaza (s.f.) el análisis coste-beneficio (ACB) es una metodología para evaluar de forma exhaustiva los costes y beneficios de un proyecto, con el objetivo de determinar si el proyecto es deseable desde el punto de vista económico y, si lo es, en qué medida. Para ello, los costes y beneficios deben ser cuantificados, y expresados en unidades monetarias, con el fin de poder calcular los beneficios netos del proyecto.

En este sentido, el objetivo del análisis económico es tener suficiente evidencia que las opciones tecnológicas propuestas son factibles económicamente de acuerdo al dominio de recomendación, en términos de generación de beneficios directos e indirectos medidos en unidades monetarias.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Variables microbiológicas.

4.1.1. Recuento Mesófilos aerobios en quesos semimadurados:

En esta variable se identificó la relación entre el tiempo (período comprendido entre 0-15 días en el que se realizó el muestreo) con respecto al recuento de mesófilos aerobios de las unidades experimentales (quesos semimadurados) con la adición de las diferentes dosis de aceite esencial de Orégano que habían sido sometidas a estudio (0%, 10%, 7.5%, 5%, 2.5%). Esto se muestra en la Figura 5.

Como puede observarse, el T0 (0.0%) es el que presentó una notable tendencia de crecimiento en el tiempo en que fueron muestreadas las unidades experimentales, debido a que éstas no contenían adición de aceite esencial de Orégano, por lo que su multiplicación creció exponencialmente. En cuanto al T1, puede observarse que la tendencia de crecimiento y multiplicación fue menor con respecto al tratamiento testigo, debido a que en este las unidades experimentales habían sido recubiertas con un porcentaje de adición de 10% de aceite esencial de orégano, mostrando la capacidad antimicrobiana del aceite esencial de orégano. En cuanto a los tratamientos T2 y T3, puede observarse que la tendencia del crecimiento de mesófilos aerobios en los quesos semimadurados fueron similares en los días 8 y 15 de muestreo a nivel de laboratorio. En el caso del T2 en el muestreo realizado a los 8 días de elaborado el recuento fue de 3.3×10^7 UFC/ml; en el caso del T3 el recuento fue de 2.4×10^7 UFC/ml. El muestreo realizado a los 15 días arrojó que el conteo de mesófilos aerobios en el T2 fue de 3.5×10^7 UFC/ml, mientras que en el T3 fue de 3.6×10^7 UFC/ml. Con respecto al T4, cuya dosis de adición de aceite esencial de Orégano era la menor, se observa, comparando con los resultados obtenidos en el T2 y T3, un mayor crecimiento y multiplicación de mesófilos aerobios durante su recuento a nivel de laboratorio.

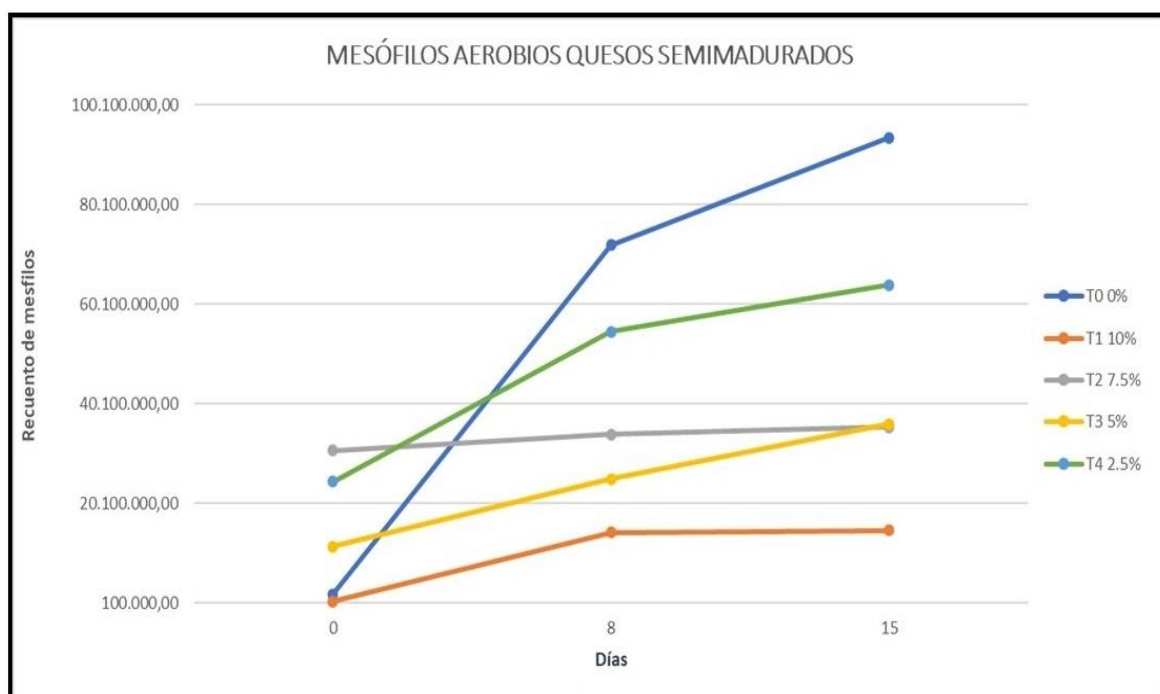


Figura 5: Recuento de mesófilos aerobios en quesos semimadurados.

Como parte del proceso de elaboración de los tratamientos, debe destacarse que se llevó a cabo la inoculación de bacterias ácido lácticas para favorecer la fermentación de los quesos. De acuerdo con Narváez *et al.* (2017), las Bacterias Ácido Lácticas (BAL) además de contribuir a la preservación de los alimentos, mejoran las características sensoriales como el sabor, olor, textura y aumentan su calidad nutritiva. En esta misma línea Ramírez *et al.* (2011), señala que la acción conservadora de las bacterias ácido lácticas, 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 el láctico y el acético, peróxido de hidrógeno, diacetilo, bacteriocinas y productos secundarios generados por la acción de la lactoperoxidasa sobre el peróxido de hidrógeno y tiocinato.

“Por otra parte, la acumulación de ácido láctico y otros ácidos orgánicos producidos por las bacterias ácido lácticas reduce el pH del ambiente con un efecto inhibitorio de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. En este sentido, la forma no dissociada 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” (Vásquez *et al.* 2009).

Fuentes *et al.* (2016) indica que la utilización de estas bacterias ácido lácticas constituye una alternativa para la conservación, particularmente en productos lácteos como el queso,

ya que previene enfermedades asociadas a la presencia de los microorganismos patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. y *Lysteria monocytogenes*, los cuales se encuentran íntimamente ligadas con la producción de quesos y productos lácteos en general.

A partir de esto, puede inferirse que las bacterias ácido lácticas influyeron en el recuento de mesófilos aerobios que se ha obtenido en cada tratamiento, ya que los resultados arrojan ausencia de coliformes totales, actuando positivamente para favorecer tanto la fermentación del producto, así como para mejorar sus características organolépticas. En este sentido, Fontaneto (s.f.) menciona que existen las bacterias denominadas Bacterias Ácido Lácticas no pertenecientes al fermento, NSLAB (Non Starter Lactic Acid Bacteria) por sus siglas en inglés, son microorganismos adventicios que se encuentran en los quesos y que no forman parte del fermento primario; por lo tanto, no contribuyen a la producción de ácido láctico durante la elaboración.

Beresford, citado por Fontaneto (s.f.), menciona que La flora NSLAB se compone de cuatro grupos principales de bacterias lácticas: *lactobacilos mesófilos*, *pediococcus*, *enterococcus*, *Leuconostoc* spp. y, eventualmente, *Lactococcus* spp.

Tomando en cuenta lo anterior, al existir *lactobacilos mesófilos* entre la microflora existente en los quesos que son madurados, son éstos los que se reflejan en el recuento de mesófilos aerobios realizados a los tratamientos elaborados.

McSweeney *et al.* (2004), comenta que las bacterias NSLAB pueden crecer en los quesos durante la maduración y convertirse en la microflora dominante durante largos períodos de tiempo, contrastándose de esta manera los resultados obtenidos a nivel de laboratorio, y por lo tanto no representan microflora patógena que pueda afectar la calidad del producto.

Actualmente en El Salvador los parámetros para evaluar la calidad microbiológica de los quesos en función del recuento de mesófilos aerobios, no se encuentran estipulados en ninguna Norma Salvadoreña Obligatoria (NSO), ni en reglamentos o normas internacionales como lo son el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) o el Codex Alimentarius, ya que este parámetro únicamente se encuentra definido para evaluar la calidad microbiológica de la leche cruda de vaca.

Para comprobar que la leche utilizada para el procesamiento de los quesos semimadurados cumplió la normativa de leche pasteurizada NSO 67.01.02:06, y excluir como causa del alto

recuento de mesófilos, se analizó los resultados obtenidos de mesófilos y coliformes totales en leche cruda y pasteurizada.

Recuento de mesófilos aerobios para leche cruda y pasteurizada:

En la Figura 6, se muestra la relación entre la variable tiempo (período comprendido en los primeros 7 días en el que se realizó el muestreo) con respecto al recuento Mesófilos Aerobios de la leche cruda y leche pasteurizada utilizada para la elaboración de las unidades experimentales.

Como puede observarse, la leche cruda es la única que presenta UFC/ml, por corrida de los tratamientos, teniendo para la leche utilizada para el resultado para T0 y T4 fue de 4×10^5 UFC/ml. Mientras que los resultados obtenidos para la leche utilizada para el T1 fueron de 8.1×10^6 UFC/ml, T2 4.2×10^6 UFC/ml y T3 5.6×10^5 UFC/ml respectivamente. Esto debido posiblemente al mal proceso de ordeño manual, que se realizó en la ganadería.

Por su parte, la leche pasteurizada presentó 0 UFC/ml, esto debido al tratamiento térmico aplicado el cual fue 63°C por 30 minutos, lo que permitió tener una leche adecuada para procesamiento de los quesos y de esta forma asegurar la inocuidad de la misma.

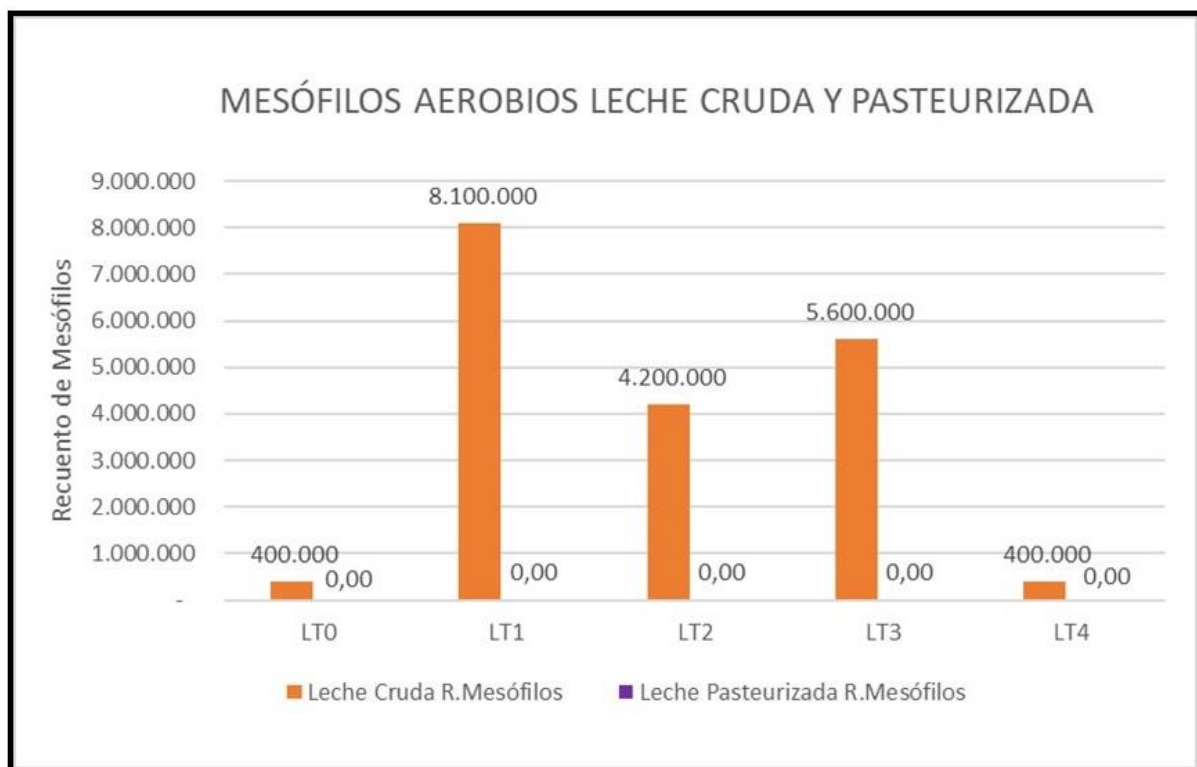


Figura 6: Recuento de mesófilos aerobios en leche cruda y pasteurizada

Recuento de Coliformes Totales para leche cruda y pasteurizada:

En la Figura 7, se muestra la relación entre la variable tiempo (período comprendido en los primeros 7 días en el que se realizó el muestreo) con respecto al recuento de Coliformes Totales de la leche cruda y leche pasteurizada utilizada para la elaboración de las unidades experimentales.

Como puede observarse, la leche cruda es la única que presenta UFC/ml, por corrida de los tratamientos, teniendo para la leche utilizada para el resultado para T0 y T4 fue de 1.25×10^5 UFC/ml. Mientras que los resultados obtenidos para la leche utilizada para el T1 fueron de 2.8×10^6 UFC/ml, T2 1.0×10^6 UFC/ml y T3 4.0×10^5 UFC/ml respectivamente. Esto debido posiblemente al mal proceso de ordeño manual, que se realizó en la ganadería.

Por su parte, la leche pasteurizada presentó 0 UFC/ml, esto debido al tratamiento térmico aplicado el cual fue 63°C por 30 minutos, lo que permitió tener una leche adecuada para procesamiento de los quesos y de esta forma asegurar la inocuidad de la misma.

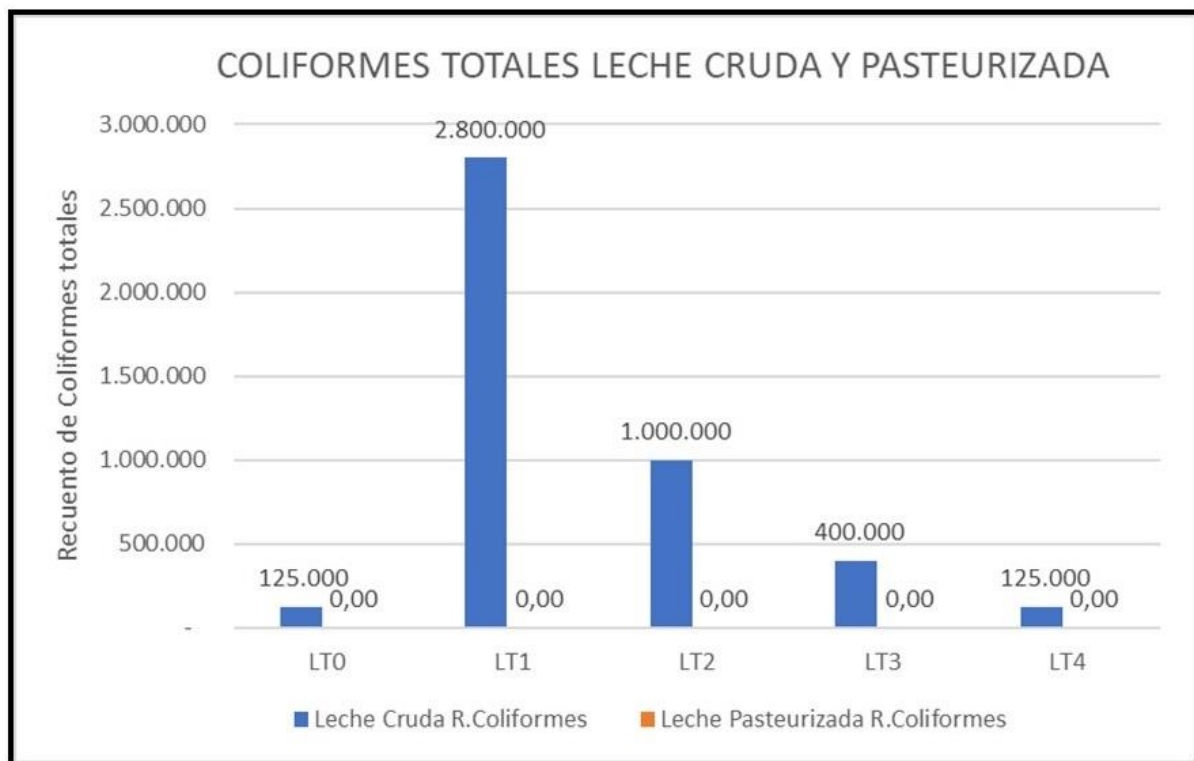


Figura 7: Recuento de coliformes totales en leche cruda y pasteurizada

Como parte de este análisis debe de comentarse que la leche cruda de vaca que fue utilizada para la elaboración de los tratamientos, fue previamente pasteurizada para eliminar todos los microorganismos que se encontraban en ella y de esta forma cumplir con la normativa vigente NSO 67.01.02:06 (2006), la cual indica para recuento total de bacterias valor máximo 20,000 UFC/ml, y *E. coli* ausencia. Esta acción constituyó el principal punto

crítico de control en el recuento de mesófilos aerobios, ya que si la leche se encontraba libre de microorganismos previo a la elaboración de los tratamientos puede inferirse que el recuento de mesófilos aerobios se encuentra constituido principalmente por flora microbiana cuya presencia no resulta un riesgo para la inocuidad del producto.

4.1.2. Recuento Coliformes totales en quesos semimadurados:

Los resultados obtenidos de esta variable se muestran en la Figura 8, donde se presenta el recuento de Coliformes totales de las unidades experimentales (quesos semimadurados) con la adición de las diferentes dosis de aceite esencial de Orégano que habían sido sometidas a estudio (0% ,10.0%, 7.5%, 5.0%, 2.5%).

Como puede observarse, el tratamiento que permitió crecimiento de coliformes totales en las unidades experimentales sometidas a estudio, fue el tratamiento T0; debido a que en este no se realizó la adición de aceite esencial de Orégano, por lo que su multiplicación creció exponencialmente.

En cuanto al resto de tratamientos (T1, T2, T3 y T4) se muestra que no existió crecimiento de coliformes totales entre las unidades experimentales muestreadas en los días en que se llevaba el recuento de las Unidades Formadoras de Colonias.

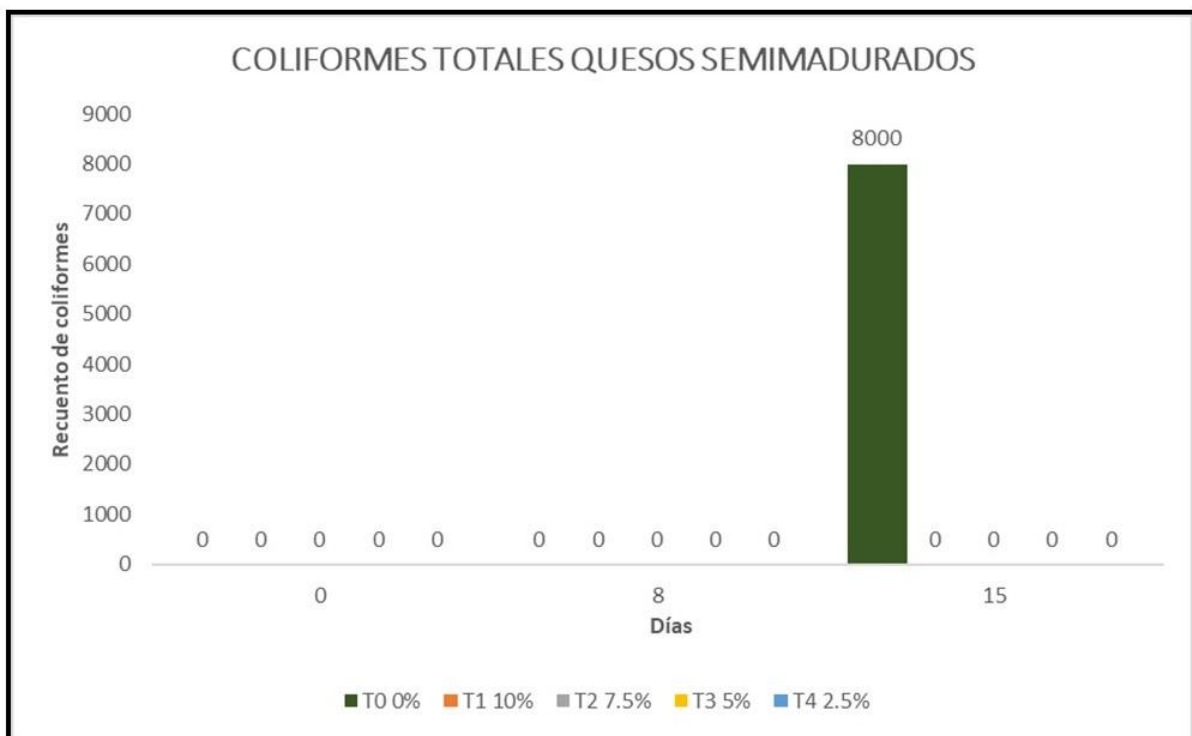


Figura 8: Recuento de coliformes totales en quesos semimadurados

De acuerdo a los resultados obtenidos en la investigación se logró reducir el crecimiento de coliformes totales con la aplicación del 10%, 7.5%, 5% y 2.5% de aceite esencial de Orégano a los quesos semi madurados, tal y como lo demuestra en su investigación Mejía *et al.* (2017), debido a que en su investigación como resultado se obtuvo una reducción significativa de la carga microbiana en las placas experimentales (1 y 0,75% con tomillo) en comparación con las placas de control (0%) en el proceso 1, mientras que existió reducción para todas las concentraciones ensayadas cuando se adicionó el tomillo, concluyendo que a mayor concentración de tomillo mayor el efecto inhibitorio sobre los coliformes totales y que podría utilizarse en la conservación de alimentos como principales compuestos antimicrobianos naturales a fin de asegurar la producción de alimentos microbiológicamente estable.

Según la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO (2007), el producto no debe tener valores de microorganismos como coliformes fecales mayores a 10 NMP/ gr y un valor máximo de E. Coli permitido de 0 o ausencia expresado en UFC/gr; lo cual comparándolo con el resultado de los tratamientos aplicados el AE de Orégano si cumple con el requisito ya que no existe presencia de E. Coli en los tratamientos 1,2,3 y 4; pero el tratamiento testigo si existió una población de 8×10^3 UFC/ml; resultando afectado con mayor incidencia a partir del día 15, ya que pudo haber sido una contaminación externa pero se puede notar que en los tratamientos con las dosis de aceite esencial no resultaron afectados y esto debido a su acción inhibitoria en las diferentes concentraciones resultando con un valor de ausencia.

Morales (2015), concluyó con respecto al efecto antimicrobiano de la aplicación de aceite esencial de tomillo contra la actividad patógena de *Listeria monocytogenes*; se desarrolló un protocolo de prueba In Vitro donde a través de la formación de halos de inhibición se determinó la menor concentración con efecto inhibitorio. El aceite esencial de tomillo presentó actividad al ser usado en concentraciones no menores del 1.6%, mostrando halos de inhibición de 11.67 mm, al igual que en la investigación, la aplicación de aceite esencial de orégano percibe un efecto inhibitor en el crecimiento o reproducción de UFC con la aplicación de las diferentes concentraciones.

En la investigación realizada por Artega (2020), se observó que el crecimiento de coliformes totales, en las dosis de 0,25% y 0,30% de aceite esencial de jengibre inhibe más el crecimiento a comparación de la otra dosis y testigo. Hasta el día 15 se mantuvo por debajo del (UFC/ml) posterior al día 15 se obtuvieron valores más elevados al límite superando el número más probable; lo cual es concluyente para comparar con el estudio realizado ya que los tratamientos con dosis de aceites esenciales se mantuvieron bajo el (NMP/ml) en

comparación al testigo que no pudo obtener un resultado favorable ya que superó los límites establecidos por la normativa obligatoria salvadoreña para queso madurados NSO 67.01.03:06 (2006), donde el valor límite microbiológico para *E. coli*, es ausencia.

4.2. Análisis estadístico sensorial

4.2.1. Análisis de gráfico de cajas y bigotes:

Con respecto al análisis organoléptico (Figura 9), se puede describir la distribución de las puntuaciones obtenidas por cada variable de manera visual, además señala los valores atípicos y extremos que presenta cada variable, de igual forma mostró la mediana como medida de tendencia central y posterior los cuartiles 1, representando el 25% (límite inferior de la caja) de los datos, el segundo cuartil el 50% de los datos, y por último, el tercer cuartil con el 75% de los datos (límite superior de la caja). La caja por su parte representa el 50% central de las puntuaciones de las variables.

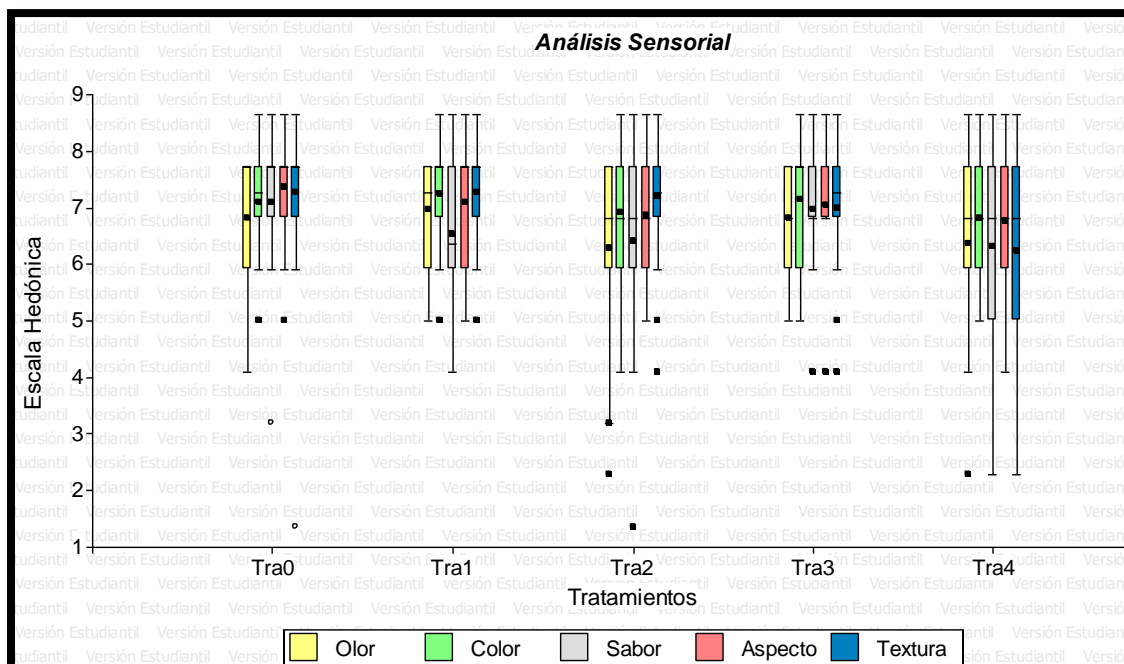


Figura 9: Análisis sensorial de los quesos semimadurados con diferentes dosis de aceite esencial de orégano.

Al observar los cinco tratamientos, se puede notar como el T4, presentó una gran dispersión de puntos para las cajas (50% de los datos centrales) de las características organolépticas olor, color y aspecto entre las puntuaciones 5.9 (no me agrada ni me disgusta) y 7.8 (me gusta moderadamente). Pero al analizar las categorías organolépticas sabor y textura presenta una mayor dispersión de puntos para las cajas (50% de los datos centrales) que se encuentran entre las puntuaciones 4.9 (me disgusta levemente) y 7.8 (me gusta moderadamente).

Para el T1, presentó una gran dispersión de puntos para las cajas (50% de los datos centrales) para las categorías organolépticas olor, sabor y aspecto entre las puntuaciones 5.9 (no me agrada ni me disgusta) y 7.8 (me gusta moderadamente). Mientras que presenta una menor dispersión de puntos para las cajas (50% de los datos centrales) de las categorías organolépticas de color y textura entre las puntuaciones 6.9 (me gusta levemente) y 7.8 (me gusta moderadamente).

Para el T2, presentó una gran dispersión de puntos para las cajas (50% de los datos centrales) para las categorías organolépticas olor, color, sabor y aspecto entre las puntuaciones 5.9 (no me agrada ni me disgusta) y 7.8 (me gusta moderadamente). Mientras que presenta una menor dispersión de puntos para la caja (50% de los datos centrales) de la categoría organoléptica de textura entre las puntuaciones 6.9 (me gusta levemente) y 7.8 (me gusta moderadamente).

Por último, se tiene el T3 y T0, los cuales presentaron para cada categoría organoléptica, las mejores distribuciones de puntuaciones, así para el T0 presentó una gran dispersión de puntos para la caja (50% de los datos centrales) para la categoría organoléptica olor entre las puntuaciones 5.9 (no me agrada ni me disgusta) y 7.8 (me gusta moderadamente). Mientras que presenta una menor dispersión de puntos para las cajas (50% de los datos centrales) de las categorías organolépticas de color, sabor, aspecto y textura entre las puntuaciones 6.9 (me gusta levemente) y 7.8 (me gusta moderadamente).

Mientras que el T3, posee una gran dispersión de puntos para las cajas (50% de los datos centrales) de las características organolépticas de olor y color entre 5.9 (no me agrada ni me disgusta) y 7.8 (me gusta moderadamente). Mientras que las cajas de sabor, aspecto y textura poseen una pequeña dispersión de puntos entre las puntuaciones 6.9 (me gusta levemente) y 7.8 (me gusta moderadamente).

Luego del analizar por cada tratamiento se puede observar que los tratamientos T0 y T3, son mejores que el resto, esto al tener una menor distribución de las puntuaciones o tener más concentrado los datos, por las categorías organolépticas, pero lo que los diferencia son los valores atípicos presentes, así para el T0 posee valores atípicos a partir de 1.5 (me disgusta extremadamente). Mientras que el T3 presentó valores atípicos a partir de 4.2 (me disgusta levemente). Por tanto, este último la concentración de sus datos están entre las mejores puntuaciones evaluadas por los catadores.

4.2.2. Prueba Kruskal-Wallis en categorías organolépticas:

En la figura anterior se puede observar una visualización de las puntuaciones de las categorías organolépticas evaluadas por tratamiento en el análisis sensorial al queso semi-madurado con diferentes dosis de aceite esencial de Orégano. Para identificar si existe diferencia significativa entre tratamiento para las características organolépticas se aplicó la prueba Kruskal-Wallis, para la cual se designó las siguientes hipótesis para esta prueba.

H0: La mediana de los tratamientos con respecto a la variable organoléptica son iguales entre sí.

H1: La mediana de por lo menos algún tratamiento con respecto a la variable organoléptica son diferentes entre sí.

Los resultados obtenidos por la prueba Kruskal-Wallis, demostró que no hay diferencia significativa para las características organolépticas evaluadas en los quesos semi madurado, esto debido a que el *p-valor* resultantes al correr la prueba para cada variable organoléptica (Cuadro A-5, A-6, A-7, A-8 y A-9), resultó ser mayor a 0.05, por tanto, las medianas son iguales entre los tratamientos, por lo que no se puede rechazar la hipótesis nula (H0), demostrando estadísticamente que no hay diferencia vindicativa con un alfa de 5%. Por su parte, al evaluar los resultados en la figura 5 (Boxplot), se puede observar como el T0 y T3, presentan mejores distribuciones de las puntuaciones obtenidas por los catadores. Donde T0, es el tratamiento que no se aplicó un porcentaje de adición de AEO, mientras que el T3 se aplicó un porcentaje de adición de 5% de AEO, lo que concuerda con la investigación realizada por Chapa (2018), donde evaluaba aceite esencial de orégano en queso fresco. En este estudio el grado de aceptabilidad para color, olor y sabor de los quesos formulados con concentraciones superiores a 0.6% de aceite esencial de orégano disminuyó su aceptabilidad de parte de los catadores. Así para la concentración de 0.6% se obtuvieron puntuaciones entre 7 y 8, para los atributos organolépticos. De igual forma en la investigación realizada por Benito (2018), donde se evaluó aceite esencia de Chachacoma, en queso tipo paria, los resultados para los atributos organolépticos color, olor, sabor y aspecto. Los tratamientos mejores evaluados fueron el tratamiento testigo, seguido del queso preparado con menor concentración de aceite esencial, donde a comparar los resultados obtenidos por la escala hedónica se encontraron entre la aceptabilidad de “me gusta poco”, y me gusta mucho”. Concordando con los resultados obtenidos en la investigación de este estudio de tesis, ya que los tratamientos T0 y T3, poseen puntuaciones en la escala hedónica de “no me agrada, ni me disgusta” y “me gusta moderadamente”.

Por último, en la investigación realizada por Calsin (2014), donde se evaluó aceite esencial de Salvia en queso fresco, los resultados obtenidos en las características organolépticas de sabor y olor, resalta el queso elaborado con menor concentración de aceite esencial de Salvia 0.005%, donde obtuvo evaluaciones de olor y sabor “muy bueno”, mientras que al queso elaborado con 0,015%, obtuvo una evaluación de sabor y olor “regular”.

4.3. Evaluación económica del estudio

Para este estudio se analizaron los costos para cada tratamiento, detallando los costos de leche, cuajo, cloruro de calcio, sal, agua, cultivo, sal, aceite esencial de orégano, alcohol etílico y el transporte de la leche hasta su procesamiento, sal entre otros. Los costos totales por tratamiento, fueron comparados con los posibles ingresos generados por la venta del producto. Para ello, se tomó como referencia el precio de 1 kg de queso madurado que se consultó en el supermercado, teniendo un precio de \$16.2 (Figura A-24). Este valor se multiplicó por los Kilogramos producidos por cada tratamiento, para tener los ingresos de venta. Al realizar la diferencia entre los ingresos y los egresos, que se detalla en el cuadro 13, se obtuvo el beneficio neto. En el caso del T0, posee el mayor beneficio con \$6.72 en comparación de los otros tratamientos, esto debido a que no se agregó aceite esencial de Orégano. Al contrario, el T1 que presentó déficit de \$-0.72, esto debido a que es el tratamiento con mayor porcentaje de dosis de aceite esencial de Orégano con 10%, mientras el T2 con un porcentaje de dosis de 7.5% de aceite esencial de Orégano presentó un beneficio de \$0.76. Por su parte, el T3 con un porcentaje de dosis de 5% presentó un beneficio de \$2.36. El que presentó el mayor beneficio luego del tratamiento testigo es el T4, con \$3.96, esto debido a que es el tratamiento con menor porcentaje de dosis de aceite esencial de Orégano con 2.5%. Por tanto, económicamente los tratamientos T3 y T4 son los que presentaron la mejor relación costo beneficio.

Cuadro 13: Determinación evaluación económica aplicando metodología de costo beneficio.

Conceptos	Unidades	Valor unitario	Tratamiento				
			T0	T1	T2	T3	T4
Ingresos							
Producción	Kg		1.97	1.97	1.97	1.97	1.97
Venta de queso	Kg	\$16.2	\$31.9	\$31.9	\$31.9	\$31.9	\$31.9
Costos o Egresos							
Leche	Litros	\$0.59	\$15.00	\$15.00	\$15.00	\$15.00	\$15.00
Cuajo	ml	\$0.16	\$0.25	\$0.25	\$0.25	\$0.25	\$0.25
Cloruro	gr	\$0.016	\$0.25	\$0.25	\$0.25	\$0.25	\$0.25
Aceite	ml	\$2.13	\$0.00	\$6.40	\$4.80	\$3.20	\$1.60
Sal	gr	\$0.00014	\$0.05	\$0.05	\$0.05	\$0.05	\$0.05
Agua	Litros	\$0.08	\$0.25	\$0.25	\$0.25	\$0.25	\$0.25
Alcohol etílico	ml	\$0.001	\$0.00	\$0.04	\$0.041	\$0.049	\$0.043
Cultivo	gr	\$0.32	\$0.38	\$0.38	\$0.38	\$0.38	\$0.38
Transporte			\$10.00	\$10.00	\$10.00	\$10.00	\$10.00
Subtotal			\$26.18	\$32.68	\$31.08	\$29.48	\$27.88
Beneficio neto parcial			\$6.72	\$-0.72	\$0.76	\$2.36	\$3.96

5. CONCLUSIONES

La utilización de diferentes dosis de aceite esencial de Orégano agregado a los quesos semi madurados mostró una tendencia efectiva contra el desarrollo de coliformes totales.

El tratamiento con mayor dosis de adición de aceite esencial de Orégano (T1), mostró una tendencia de disminución considerable en cuanto al crecimiento de mesófilos aerobios.

Según los resultados obtenidos en el análisis sensorial las concentraciones de aceite esencial de Orégano influyen en el grado de aceptabilidad de las características organolépticas evaluadas, así, el T3, resultó mejor evaluado, al igual que el testigo.

Los tratamientos que generaron mejores beneficios económicos son el T3 y T4, con una diferencia muy pequeña entre ambos, a diferencia de los otros tratamientos. El tratamiento que generó mayor beneficio neto parcial comparado con los demás tratamientos fue el tratamiento testigo (sin adición de aceite Esencial de Orégano).

6. RECOMENDACIONES

Se recomienda la realización de otras pruebas en donde se lleve a cabo la identificación de bacterias patógenas específicas como *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* o *Escherichia coli* que puedan afectar la inocuidad del producto.

Realizar otras investigaciones, en quesos semi madurados con otros tipos de aceites esenciales y diferentes concentraciones, para determinar porcentajes de adición que controlen el crecimiento de microorganismo patógenos sin afectar las características organolépticas.

Se debería realizar investigaciones, con porcentajes de adición de aceite esencial de orégano usando de base los resultados obtenidos por el T3, que presento los mejores resultados en las variables organolépticas y microbiológicas, y evite o controle el crecimiento microbiano y sea de agrado a los catadores.

Económicamente se recomienda el uso del aceite esencial en la elaboración de queso utilizando los menores porcentajes de dosis de adición para evitar que aumente en gran medida los costos.

Se recomienda la aplicación de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) de forma que pueda garantizarse la inocuidad de los productos elaborados, así como para bloquear la incidencia de factores que puedan afectar negativamente la calidad de los productos.

7. BIBLIOGRAFÍA

ANMAT (Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica, AR).

2014. Análisis microbiológico de los alimentos: Metodología analítica oficial (en línea).

Consultado 19 mayo 2021. Disponible en:

http://www.anmat.gov.ar/renaloa/docs/analisis_microbiologico_de_los_alimentos_vol_iii.pdf

60 p.

APL (Aula de Productos Lácteos). Sf. Análisis Microbiológico. Bloque V. Principales recuentos Microbiológicos. Instituto de Investigaciones y Análisis Alimentarias, Universidad de Santiago de Compostela, España. 68-71 p.

Artega, E. 2020. Efecto del aceite esencial de Jengibre (*Zingiber officinale*) en la aceptación de queso fresco. Tesis Ing. Chachapoyas, Perú. Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas. 22-23 p.

Bagher Hashemi, SM; Mousavi Khaneghag, A; de Souza Sant'Ana, A. 2018. Essential Oils in Food Processing: Chemistry, Safety and Applications. IFT Press, Oxford, Inglaterra. 123 p.

Benito, MN. 2018. Evaluación de la capacidad antimicrobiana, antioxidante y propiedades físicas del aceite esencial de Chachacoma (*Senecio nutans Sch.*) en queso fresco tipo paria. Tesis Ing. Puno, Perú. Universidad Nacional del Altiplano. 97-125 p.

Calsin, LA. 2014. Efecto de la adición de aceite esencial de Salvia (*Lepechinia meyenii*) en la elaboración de queso fresco y su efecto bactericida sobre microorganismos presentes en leche. Tesis Ing. Arequipa, Perú. Universidad Católica de Santa María.

Casado Villaverde, I. 2018. Optimización de la extracción de aceites esenciales por destilación en corriente de vapor. Tesis. Ing. Madrid, España. Universidad Politécnica de Madrid. 85 p.

Ceballos Toro, V; Londoño Giraldo, LM. 2017. Aceites Esenciales en la conservación de alimentos. Revista Microciencia 6(2017):38-50

Chapa, BA. 2018. Efecto antimicrobiano del aceite esencial de Orégano (*Origanum vulgare L.*) sobre en queso fresco. *Listeria monocytogenes*. Tesis Ing. Chachapoyas, Perú. Universidad Nacional Toribio Rodríguez De Mendoza de Amazonas. 39-51 p.

Chávarri F. et al. 2000. Effect of milk pasteurization on lipolysis during ripening of ovine cheese manufactured at different times of the year. *Lait*. 80: 433– 444.

CONACYT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología SV). 2005. Norma Salvadoreña, Primera actualización NSO 67.01.01:05, San Salvador SV. 10 p.

Conover, JW. 1999. Practical Nonparametric Statistics. 3 ed. Willey. Estados Unidos. 584 p.

Espinosa J. 2007. Evaluación sensorial de alimentos. La Habana, Cuba. 14-15 p.

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura, IT). 2011. Leche y productos lácteos. (En línea). 2 ed. Consultado: 08 feb. 2020. Disponible en: http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXS%2B283-1978%252FCXS_283e.pdf

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura, IT). 2018. Leche y productos lácteos. (En línea). Consultado 01 mar. 2020. Disponible en: <http://www.fao.org/dairy-production-products/products/es/>

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura, IT). 2019a. Portal lácteo: Consideraciones económicas de la producción lechera. (En línea). Consultado 01 mar. 2020. Disponible en: <http://www.fao.org/dairy-production-products/socio-economics/economics/es/>

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura, IT). 2019b. Portal lácteo: Cuestiones sociales y de género en la producción mundial de leche. (En línea). Consultado: 01 mar. 2020. Disponible en: <http://www.fao.org/dairy-production-products/socio-economics/social-and-gender-issues/es/>

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación, IT). 1978. General standard for cheese CODEX-STAN 283-1978. (En línea). Consultado: 07 feb. 2020. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i2085s.pdf> . 1978. General standard for cheese CODEX-STAN 283-1978. (En línea). Consultado: 07 feb. 2020. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i2085s.pdf>

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación, IT). 1999. Norma general para el uso de términos lecheros CODEX-STAN 206-1999. (En línea). Consultado: 07 feb. 2020. Disponible en: http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?Ink=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXS%2B206-1999%252FCXS_206s.pdf

FAO. 2002. La Calidad: Aplicación de sus principios a los alimentos. Su visualización por distintos sectores. El enfoque del Codex Alimentarius. (en línea). Consultado 03 mar. 2020. Disponible en: http://www.fao.org/tempref/GI/Reserved/FTP_FaoRlc/old/prior/comagric/codex/pdf/calidad.pdf

Fernández-Pan, I; Royo, M., Ignacio Maté, J., 2012. Antimicrobial activity of whey protein isolate edible films with essential oils against food spoilers and foodborne pathogens. Journal of Food Science 77(7); M383-90.

Flores, MC. 2010. Investigación de los Aceites Esenciales, sus características y finalidad de uso: Análisis del estado de su regulación en Chile y el mundo. Tesis Lic. Santiago, Chile. Universidad de Chile. 87 p.

Fontaneto Apoca, AR. S.f. Defectos gasógenos provocados por microorganismos. Tesis Dr. Santa Fé, Argentina, Universidad Nacional del Litoral. 95 p.

Fuentes Fanegas, M; Londoño Zapata, A; Durango Zuleta, M; Gutiérrez Buriticá, M; Ochoa Agudelo, S; Sepúlveda Valencia, J. 2016. Capacidad antimicrobiana de bacterias ácido lácticas autóctonas aisladas de queso doble crema y quesillo colombiano. Revista Biotecnología en el sector Agropecuario y Agroindustrial. 15(1): 44-55

García García, RM; Palou García, E. 2008. Mecanismos de acción antimicrobiana de Timol y Carvacrol sobre microorganismos de interés en alimentos. Universidad de Las Américas. Puebla, México. p. 42-47.

Hernández A. 2010. Tratado de nutrición: Composición y calidad nutritiva de los alimentos. Leche y derivados lácteos (en línea). Ed. La panamericana. 2ºed.786 p. Disponible en:<https://books.google.com.sv/books?id=hcwBJ0FNvqYC&pg=PT52&dq=Tratado+de+nutrici%C3%B3n:+Composici%C3%B3n+y+calidad+nutritiva+de+los+alimentos.+Leche+y+derivados+l%C3%A1cteos&hl=es->

[419&sa=X&ved=0ahUKEwjUwrz6_53oAhVsdt8KHQsUAD4Q6AEIJzAA#v=onepage&q=Tratado%20de%20nutrici%C3%B3n%3A%20Composici%C3%B3n%20y%20calidad%20nutritiva%20de%20los%20alimentos.%20Leche%20y%20derivados%20%3A1cteos&f=false](http://www.repositorio.cepal.org/bitstream/handle/10665/4419&sa=X&ved=0ahUKEwjUwrz6_53oAhVsdt8KHQsUAD4Q6AEIJzAA#v=onepage&q=Tratado%20de%20nutrici%C3%B3n%3A%20Composici%C3%B3n%20y%20calidad%20nutritiva%20de%20los%20alimentos.%20Leche%20y%20derivados%20%3A1cteos&f=false)

Hollander, M; Wolfe, DA; Chicken, E. 2014. Nonparametric Statistical Methods. 3 ed. John Wiley & Sons Inc. Hoboken, New Jersey, Estados Unidos. 844 p.

IICA (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, Costa Rica). 2015. Caracterización del valor nutricional de alimentos. Montevideo, Uruguay. 210 p.

ISO (International Standard Organization). 2013. Recuento de colonias mesofilas en profundidad. Norma 4833-1:2013. 23 p.

Juliarena P; Gratton R. S. f. Conservación de alimentos. (en línea). Consultado 03 mar. 202. Disponible en: <http://www.exa.unicen.edu.ar/catedras/tecnoambiente/CAP03.pdf>

Loizzo, M.R., Menichini, F., Conforti, F., Tundis, R., Bonesi, M., Saab, A.M., Statti, G.A., de Cindio, B., Houghton, P.J., 2009. Chemical analysis, antioxidant, antiinflammatory and anticholinesterase activities of *Origanum ehrenbergii* Boiss and *Origanum syriacum* L. essential oils. Food Chemistry. 117 (1), 174–180.

Lossi Nisthal, EA. 2012. Obtención del aceite esencial del Flavelo del fruto del Naranja Dulce (*Citrus sinensis* L.) tipo blanca, variedad Valencia, empleando el método de destilación por arrastre de vapor a nivel laboratorio en función de diferentes tipos de corte y contenido de humedad. Tesis. Ing. Ciudad de Guatemala, Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. 146 p.

MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería, El Salvador). 2013. Caracterización de la cadena productiva de lácteos en El Salvador. La Libertad, El Salvador. 125 p.

Martínez C. 2017. Quesos madurados, composición química, clasificación, características, formas de procesamiento, equipos y maquinaria. Tesis Lic. Lima, Perú. 15-25 p.

Martínez, A. 2001. Aceites Esenciales. (en línea). Consultado 05 feb. 2020. Disponible en: http://www.med-informatica.com/OBSERVAMED/Descripciones/AceitesEsencialesUdeA_esencias2001b.pdf

McSweeney, P; Fox, P; Cogan, T; Guinee, T. 2004. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. 3 ed. Academic Press. 640 p.

Medina F. S. f. Principios básicos para la fabricación de quesos (en línea). Consultado 12 set. 2020. Disponible en: <https://aprendizaje.mec.edu.py/aprendizaje/system/content/c171493/600%20-%20Ciencias%20aplicadas,%20Tecnologia/670%20-%20Manufactura/fabricacion%20de%20queso.pdf>

Mejía-López, A; Herrera, B; Salazar, M; Rojas, F; Gavin, V; Escobar, J. 2017. Tomillo (*Thymus vulgaris*) como agente antimicrobiano en la producción de queso fresco.(En línea). Consultado el 12 abr. 2021. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6145604.pdf>

Meyer, R. 1996. Elaboración de productos lácteos. Segunda reimpresión Trillan. México. 34 p.

Montgomery D. 2004. Diseños y análisis de experimentos. 2ed. Distrito Federal, México. Grupo Noriega Editores. 108p.

Montoya, G. 2010. Aceites Esenciales: Una Alternativa de Diversificación para el Eje Cafetero. Tesis Lic. Colombia. Universidad Nacional de Colombia. 174 p.

Morales J. 2012. Métodos de conservación de alimentos. 1 ed. 123 p.

Morales, A. 2015. Efecto Antimicrobiano del Aceite Esencial del tomillo (*Thymus vulgaris*) sobre la contaminación de *Listeria monocytogenes* en queso Ricotta. Tesis Msc. Medellín, Colombia. Universidad Nacional de Colombia. 1-101 p.

Narvárez Guillén, BL; Cruz Hernández, MA; Hernández Centeno, F; Flores Verastegui, MI; Martínez Vásquez, DG; Rangel Ortega, SC. 2017. Selección de bacterias ácido lácticas del queso artesanal de leche de cabra de Coahuila para su uso como cultivos iniciadores. Revista Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes. 25(72): 45-52.

NICACENTRO (Cooperativa de lácteos comprometidos por la calidad, NI). 2015. Estudio de mercado de quesos en Nicaragua y El Salvador (en línea). Consultado 17 set. 2020. Disponible en: http://livestock-fish.ilriwikis.org/images/9/9a/Estudio_Mercado_7_julio.pdf

NSO (Normativa Obligatoria Salvadoreña, SV). 1996. NSO 67.01.01:06 leche cruda de vaca: especificaciones. (primera actualización) (en línea). Consultado 07 feb 2020. Disponible en: <https://www.defensoria.gob.sv/images/stories/varios/NORMAS/LACTEOS/NSO67.01.01.06%20LECHE%20CRUDA%20DE%20VACA.pdf>

NSO (Normativa Obligatoria Salvadoreña, SV). 2006. Queso madurado especificaciones NSO 67.01.03:06 (en línea). Consultado 23 abr. 2021. Disponible en: <https://www.defensoria.gob.sv/images/stories/varios/NORMAS/LACTEOS/NSO67.01.03.06QUESOS%20MADUROS.pdf>

NSO (Normativa Obligatoria Salvadoreña, SV). 2007. NSO 67.01.04:06 para quesos no madurados. (en línea). Consultado 07 feb 2020. Disponible en: <https://www.defensoria.gob.sv/images/stories/varios/NORMAS/LACTEOS/NSO67.01.04.06%20QUESOS%20NO%20MADUROS.pdf>

NSO (Normativa Obligatoria Salvadoreña, SV). 2006. Leche pasteurizada y ultrapasteurizada especificaciones NSO 67.01.02:06 (en línea). Consultado 23 abr. 2021. Disponible en: <https://www.defensoria.gob.sv/images/stories/varios/NORMAS/LACTEOS/NSO67.01.02.06%20LECHE%20DE%20VACA%20PASTEURIZADA.pdf>

Ortega Aguaza, B. S.f. Análisis Coste-Beneficio. En línea. Consultado: 7 Jun 2021. Disponible en: [https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5583839#:~:text=El%20an%C3%A1lisis%200coste%2Dbeneficio%20\(ACB,lo%20es%2C%20en%20qu%C3%A9%20medida](https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5583839#:~:text=El%20an%C3%A1lisis%200coste%2Dbeneficio%20(ACB,lo%20es%2C%20en%20qu%C3%A9%20medida).

Paredo, A; Garcia, E; Lopez, A. 2009. Aceites esenciales: Métodos de extracción. 3(1): 24-32

Radulovic, N; Blagocevic, P; Stojanovic-Radic, Z & Stojanovic, N. 2013. Antimicrobial Plant Metabolites: Structural Diversity and Mechanism of Action. Current Medicinal Chemistry 20 (7), 932-952.

Ramirez J. 2012. Análisis sensorial: pruebas orientadas al consumidor. Revista ReCiTelA 12(1): 2027-6850

Ramírez M. 2016. Importancia de la lipólisis durante la maduración del queso. México. Consultado 02 set. 2020. Disponible en:

https://www.researchgate.net/publication/305434712_Importancia_de_la_lipolisis_durante_la_maduracion_del_queso

Ramírez Ramírez, JC; Rosas Ulloa, P; Velásquez González, MY; Ulloa, JA; Arce Romero, F. 2011. Bacterias lácticas: importancia en alimentos y sus efectos en la salud. Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Nayarit, México, Universidad Autónoma de Nayarit. 16 p.

Ramírez Ramos, LM. 2017. Cuantificación de Trans-Anetol en aceites esenciales extraídos de cinco plantas anisadas. Tesis Ing. San Salvador, El Salvador. Universidad de El Salvador. 100 p.

RTCA (Reglamento Técnico Centroamericano, CR). 2008. Decreto N° 34922-MEIC-MAG-S Reglamento Técnico RTCR 407/2007: Reglamento general para quesos. (en línea). Consultado: 07 feb. 2020. Disponible en: <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/cos85253.pdf>

SC (Superintendencia Competencia de El Salvador). 2010. Estudio sobre condiciones de competencia del sector de quesos en El Salvador (en línea). Consultado 17 set. 2020. Disponible en: https://www.sc.gob.sv/wp-content/uploads/estudios_IE/estudios_PDF/Estudio_Quesos.pdf

Scott, R. 1991. Fabricación de Quesos. Editorial Acribia. Zaragoza – España. 34 p.

SEC (Secretaría de Economía de México). 2012. Análisis del sector lácteo en México. (en línea). Consultado: 03 feb. 2020. Disponible en: https://www.economia.gob.mx/files/comunidad_negocios/industria_comercio/informacionSectorial/analisis_sector_lacteo.pdf

SGAPEIO (Sociedad Gallega para la promoción de estadística de investigación de operaciones, ES). 2014. Introducción al análisis sensorial (en línea). Consultado 02 set. 2020. Disponible en: <http://www.seio.es/descargas/Incubadora2014/GaliciaBachillerato.pdf>

Spreer 1994. Elaboración de Productos Lácteos. Edit Acribia, Zaragoza- España. 26 p.

Torres Rivera, T; Sorto Álvarez, MR. 2003. Aplicación de la estadística al análisis químico. Tesis Msc. San Salvador, El Salvador, Universidad de El Salvador. 475 p.

- UTN (Universidad Técnica Nacional, CR). S. f.** Elaboración de productos lácteos: queso semimaduro.
- Vásquez, I. 2010.** Elaboración de queso Andino Facultad de Ciencias Agropecuaria. Escuela Académico Profesional: Ingeniería Agroindustrial Huamachuco. Perú. 78 p.
- Vásquez, SM; Suárez-Mahecha, H; Zapata Bustamante, S. 2009.** Utilización de sustancias antimicrobianas producidas por bacterias ácido lácticas en la conservación de carne. Revista Chilena de Nutrición 36(1):64-71
- Velasco, ML. 2012.** Evaluación de quesos semimaduros con la utilización de fermento casero (Kéfir). Tesis Ing. Ecuador. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador. 107 p.
- Ventura E. 2016.** Metodología estándar para el entrenamiento básico de un panel de catadores (en línea). Consultado 02 set. 2020. Disponible en: http://academico.une.org/Documents/141_255408.pdf

8. ANEXOS

Cuadro A- 1: Cálculos de adición de cuajo, cultivo, cloruro de calcio y sal.

Insumos	Cantidad
Medio de cultivo	1.20 gr
Cuajo	1.5 ml en 45 ml H ₂ O destilada
Sal	225 gr
Cloruro de calcio (CaCl)	15 gr (diluidos en leche)

Cuadro A- 2: Cálculos de adición de aceite esencial de orégano.

Tratamientos	Aceite Esencial Orégano (ml)	Alcohol Etílico 90°	Solución total
T1 = 10.0%	3 ml	27.0 ml	30 ml
T2 = 7.5%	2.25 ml	27.75 ml	30 ml
T3 = 5.0%	1.5 ml	28.50 ml	30 ml
T4 = 2.5%	0.75 ml	29.25 ml	30 ml

Cuadro A- 3: Descripción de las fechas en las cuales se llevaron a cabo los análisis microbiológicos, para la leche cruda, pasteurizada y los quesos.

Muestras	Fecha	Días	Análisis microbiológico
Leche cruda y pasteurizada	21/11/2020-27/11/2020	0	Mesófilos Totales Coliformes Totales
Queso T0	27/11/2020-08/12/2020	0-8-15	
Leche cruda y pasteurizada	01/10/2020-05/10/2020	0	Mesófilos Totales Coliformes Totales
Queso T1	01/10/2020-19/10/2020	0-8-15	
Leche cruda y pasteurizada	20/10/2020-23/10/2020	0	Mesófilos Totales Coliformes Totales
Queso T2	20/10/2020-05/11/2020	0-8-15	
Leche cruda y pasteurizada	04/11/2020-06/11/2020	0	Mesófilos Totales Coliformes Totales
Queso T3	04/11/2020-20/11/2020	0-8-15	
Leche cruda y pasteurizada	21/11/2020-27/11/2020	0	Mesófilos Totales Coliformes Totales
Queso T4	27/11/2020-08/12/2020	0-8-15	

Cuadro A- 4: Programación de análisis sensorial.

Tratamiento	Fecha
T0	08/12/2020
T1	19/10/2020
T2	09/11/2020
T3	26/11/2020
T4	08/12/2020

Cuadro A- 5: Prueba de Kruskal Wallis para variable olor.

Prueba de Kruskal Wallis							
Variable	Trat	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Olor	Tra0	20	7,00	1,30	8,00	3,16	0,4861
Olor	Tra1	20	7,15	1,04	7,50		
Olor	Tra2	20	6,40	1,70	7,00		
Olor	Tra3	20	7,00	0,86	7,00		
Olor	Tra4	20	6,50	1,70	7,00		

Cuadro A- 6: Prueba de Kruskal Wallis para variable color.

Prueba de Kruskal Wallis							
Variable	Trat	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Color	Tra0	20	7,30	1,13	7,50	1,97	0,7027
Color	Tra1	20	7,45	1,05	8,00		
Color	Tra2	20	7,10	1,29	7,00		
Color	Tra3	20	7,35	1,18	8,00		
Color	Tra4	20	7,00	1,26	7,00		

Cuadro A- 7: Prueba de Kruskal Wallis para variable sabor.

Prueba de Kruskal Wallis							
Variable	Trat	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Sabor	Tra0	20	7,30	1,30	8,00	4,89	0,2684
Sabor	Tra1	20	6,70	1,42	6,50		
Sabor	Tra2	20	6,55	1,85	7,00		
Sabor	Tra3	20	7,15	1,31	7,00		
Sabor	Tra4	20	6,45	1,76	7,00		

Cuadro A- 8: Prueba de Kruskal Wallis para variable aspecto.

Prueba de Kruskal Wallis							
Variable	Trat	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Aspecto	Tra0	20	7,60	1,05	8,00	3,15	0,4841
Aspecto	Tra1	20	7,30	1,22	8,00		
Aspecto	Tra2	20	7,05	1,10	7,00		
Aspecto	Tra3	20	7,25	1,29	7,00		
Aspecto	Tra4	20	6,95	1,47	7,00		

Cuadro A- 9: Prueba de Kruskal Wallis para variable textura.

Prueba de Kruskal Wallis							
Variable	Trat	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Textura	Tra0	20	7,50	1,70	8,00	6,71	0,1253
Textura	Tra1	20	7,50	1,24	8,00		
Textura	Tra2	20	7,40	1,39	7,50		
Textura	Tra3	20	7,20	1,47	7,50		
Textura	Tra4	20	6,35	1,87	7,00		



Figura A- 1: Visualización satelital de la Facultad de Ciencias Agronómicas donde se realizó la investigación.

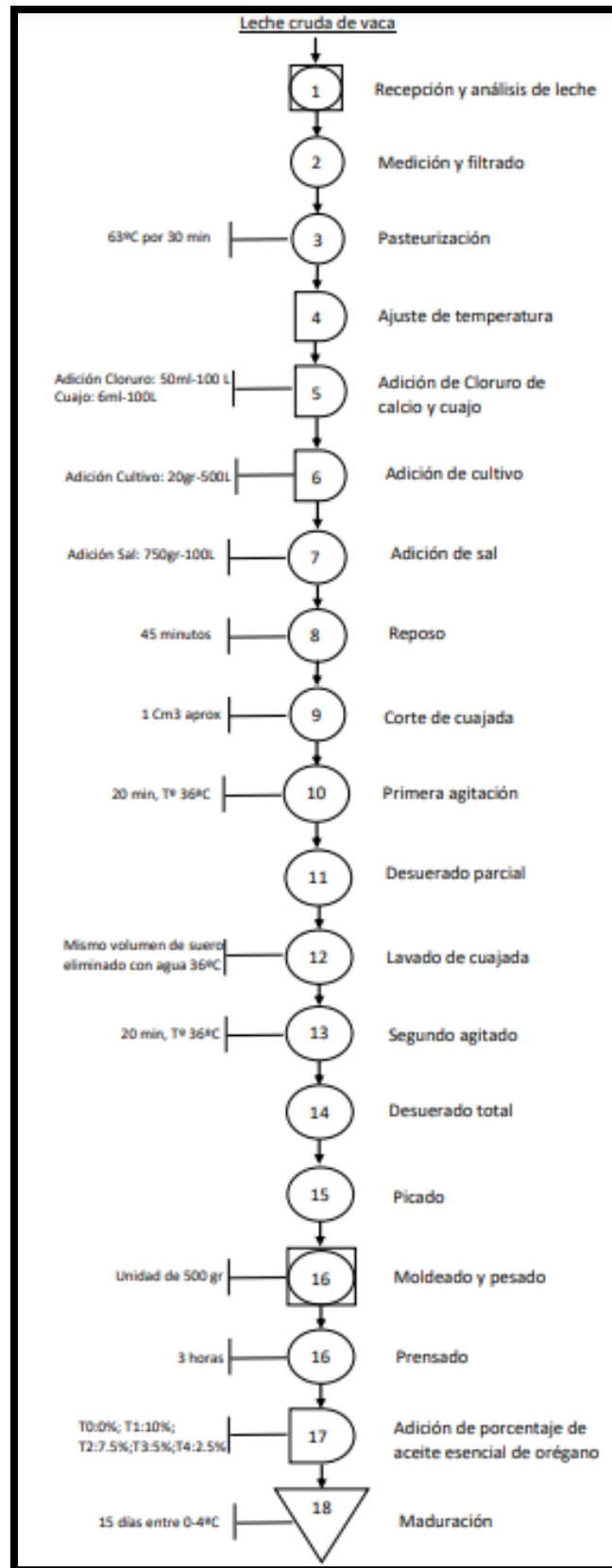


Figura A- 2: Flujograma de elaboración de queso semi madurado.



Figura A- 3: Filtración de leche cruda



Figura A- 4: Pasteurización de leche

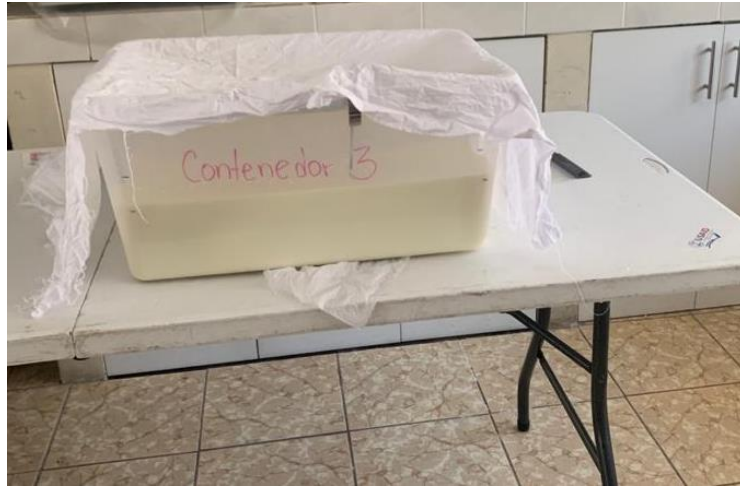


Figura A- 5: Ajuste de temperatura.



Figura A- 6: Cuajo



Figura A- 7: Corte y picado de cuajada



Figura A- 8: Agitado



Figura A- 9: Desuerado parcial



Figura A- 10: Lavado de cuajada



Figura A- 11: Agitado 2



Figura A- 12: Desuerado total

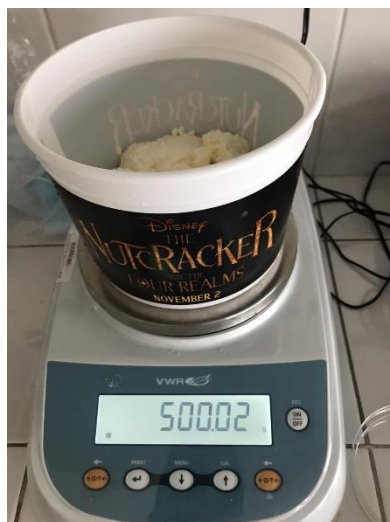


Figura A- 13: Moldeado y pesado



Figura A- 14: Prensado



Figura A- 15: Desprensado



Figura A- 16: Pesado final



Figura A- 17: Adición de porcentajes aceite esencial de Orégano.



Figura A- 18: Maduración



Figura A- 19: Determinación de pH leche cruda

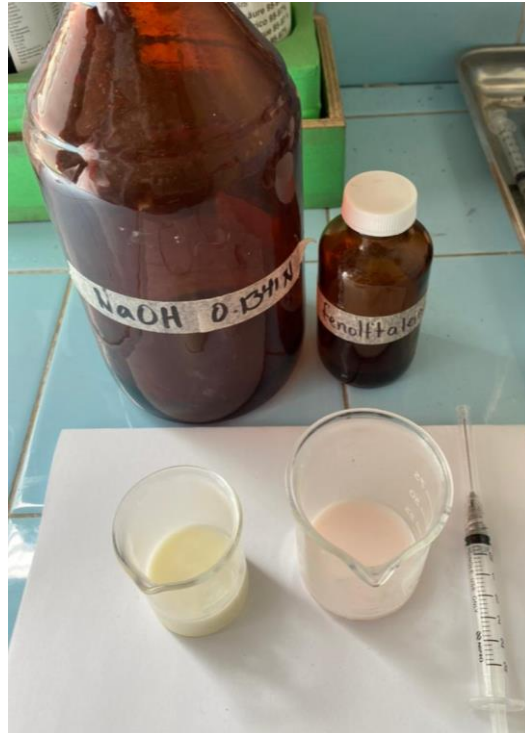


Figura A- 20: Determinación de acidez titulable para leche cruda



Figura A- 21: Corte de trozos de queso semi-madurado con porcentaje de aceite esencial de orégano para análisis sensoriales.

20

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
DIRECCION DE INVESTIGACION

NOMBRE DE LA INVESTIGACIÓN
"Evaluación de la adición de diferentes dosis de aceite esencial de Orégano (*Origanum vulgare*) en la elaboración de queso semi madurado y su efecto en la conservación de sus propiedades organolépticas."

Responsables:
Br. Rodrigo Alberto Avalos Velasco
Br. Junior Alberto Hernández Castro
Br. Wilfredo Alexis Mejía Orellana

Nombre: _____
Fecha: 07/11/2020

INSTRUCCIONES

Frente a usted se presenta una muestra de queso semi madurado con aceite esencial de orégano. Por favor, observe y pruebe la muestra, luego indique en que le gusta o disgusta cada atributo de la muestra, de acuerdo al puntaje categorico, escribiendo correspondiente en la línea del código de la muestra.

Puntaje	Categoría	Puntaje	Categoría
1	Me disgusta extremadamente	6	Me gusta levemente
2	Me disgusta mucho	7	Me gusta moderadamente
3	Me disgusta moderadamente	8	Me gusta mucho
4	Me disgusta levemente	9	Me gusta extremadamente
5	No me gusta ni me disgusta		

Código	Calificación para cada atributo				
	Olor	Color	Sabor	Aspecto	Textura*
	7	7	7	8	8

*Textura en el paladar

Observaciones:

Figura A- 22: Boleta para prueba hedónica de 9 puntos utilizada para evaluar características organolépticas en quesos semidurados.

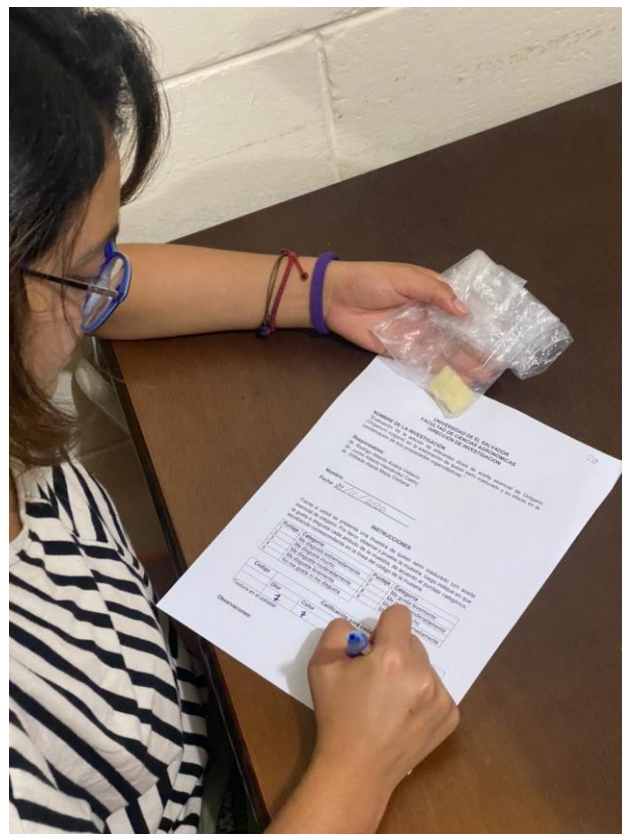


Figura A- 23: Catadora evaluando el producto final.

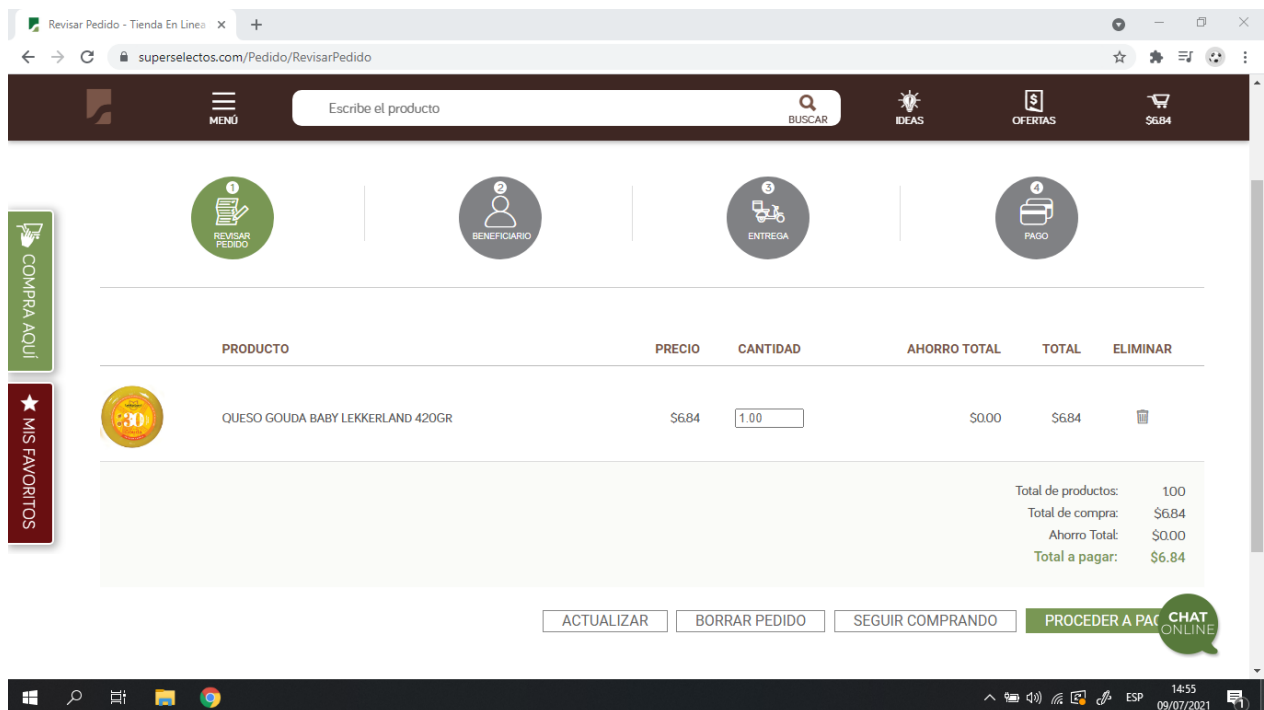


Figura A- 24: Precios de quesos madurados en supermercado: Super Selectos.

A- 1: Recuento de mesófilos aerobios en leche cruda, posterior en leche pasteurizada.

El recuento de mesófilos para leche cruda o pasteurizada, se desarrolló de la siguiente manera: se agregó 1 ml de la muestra de leche a un tubo de ensayo con 9 ml de agua peptonada, siendo esta la dilución 10^{-1} , posteriormente se tomó 1 ml de la dilución anterior y se agregó a otro tubo de ensayo con 9 ml de agua peptonada teniendo 10^{-2} , se repitió el proceso, para las diluciones 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} . Se inoculó 1 ml de la dilución 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} en placas plásticas Petri estériles y por duplicado, dichas placas contenían de 2-5ml de Plate Count Agar, se mezclaron en forma de ocho, dejándose solidificar. Se colocaron en la incubadora por 48 horas a una temperatura entre 35-27°C. por último, se procedió con la lectura, haciendo uso de un contador de placas.

A- 2: Recuento de coliformes totales en leche cruda, posterior en leche pasteurizada.

El recuento de coliformes totales para leche cruda o pasteurizada, se desarrolló de la siguiente manera: se agregó 1 ml de la muestra de leche a un tubo de ensayo con 9 ml de agua peptonada, siendo esta la dilución 10^{-1} , posteriormente se tomó 1 ml de la dilución anterior y se agregó a otro tubo de ensayo con 9 ml de agua peptonada teniendo 10^{-2} , se repitió el proceso, para las diluciones 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} . Se inoculó 1 ml de la dilución 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} en placas plásticas Petri estériles y por duplicado, dichas placas contenían de 2-5ml de Violet Red Bile Lactose Agar, se mezclaron en forma de ocho, dejándose solidificar. Se

colocaron en la incubadora por 48 horas a una temperatura entre 35-27°C. por último, se procedió con la lectura, haciendo uso de un contador de placas.

A- 3: Recuento de mesófilos aerobios en quesos.

El recuento de mesófilos aerobios en quesos, se desarrolló de la siguiente manera: se realizó una maceración de la muestra de queso, dicha maceración se realizó agregando 10 gr de muestra a una bolsa estéril con 90 ml de agua peptonada, posteriormente se macero en Bagmixer (mezclador de laboratorio). De esta solución macerada se agregó 1 ml a un tubo de ensayo con 9 ml de agua peptonada, siendo esta la dilución 10-1, posteriormente se tomó 1 ml de la dilución anterior y se agregó a otro tubo de ensayo con 9 ml de agua peptonada teniendo 10-2, se repitió el proceso, para las diluciones 10-3, 10-4 y 10-5. Se inoculo 1 ml de la dilución 10-3, 10-4 y 10-5 en placas plásticas Petri estériles y por duplicado, dichas placas contenían de 2-5ml de Plate Count Agar, se mesclaron en forma de ocho, dejándose solidificar. Se colocaron en la incubadora por 48 horas a una temperatura entre 35-27°C. por último, se procedió con la lectura, haciendo uso de un contador de placas, para una visualización del procedimiento se detalla las siguientes secuencias de imágenes.



Pesado de medio de cultivo.



Esterilización de materiales.



Toma de muestra de queso.



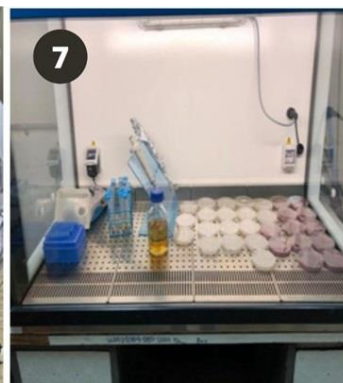
Pesado de muestra de queso.



Macerado de muestra de queso.



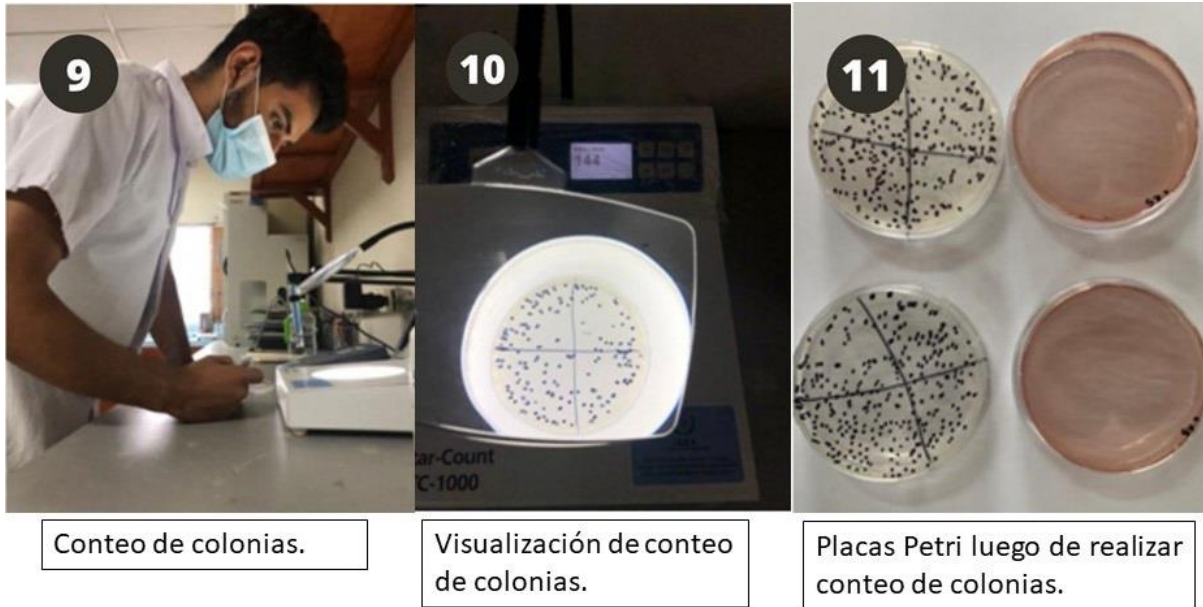
Diluciones de muestra de queso.



Sembrado en placa.



Colocación de placas sembradas en incubadora a 32°C/72h.



A- 4: Recuento de coliformes totales en quesos

El recuento de mesófilos aerobios en quesos, se desarrolló de la siguiente manera: se realizó una maceración de la muestra de queso, dicha maceración se realizó agregando 10 gr de muestra a una bolsa estéril con 90 ml de agua peptonada, posteriormente se macero en Bagmixer (mezclador de laboratorio). De esta solución macerada se agregó 1 ml a un tubo de ensayo con 9 ml de agua peptonada, siendo esta la dilución 10^{-1} , posteriormente se tomó 1 ml de la dilución anterior y se agregó a otro tubo de ensayo con 9 ml de agua peptonada teniendo 10^{-2} , se repitió el proceso, para las diluciones 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} . Se inoculo 1 ml de la dilución 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} en placas plásticas Petri estériles y por duplicado, dichas placas contenían de 2-5ml de Violet Red Bile Lactose Agar, se mesclaron en forma de ocho, dejándose solidificar. Se colocaron en la incubadora por 48 horas a una temperatura entre $35-27^{\circ}\text{C}$. por último, se procedió con la lectura, haciendo uso de un contador de placas.