



UNIVERSIDAD TECNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERIA EN ALIMENTOS

CARRERA DE INGENIERIA EN ALIMENTOS

TEMA:

**“Evaluación de la nisina en la vida útil del suero dulce de
quesería”**

Trabajo de investigación. Seminario de Graduación. Presentado como Requisito Previo a la obtención del Título de Ingeniero en Alimentos, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos

Por: Mesías Washington Ramírez Guerrero

Tutor: Ing. César A. German T.

AMBATO – ECUADOR

2010

APROBACION DEL TUTOR

Ing. César A. German T.

CERTIFICA:

Que el presente trabajo de investigación: **“Evaluación de la nisina en la vida útil del suero dulce de quesería.”** Desarrollado por Mesías Washington Ramírez Guerrero; observa las orientaciones metodológicas de la investigación Científica:

Que ha sido dirigida en todas sus partes, cumpliendo con las disposiciones de la Universidad Técnica de Ambato, a través del Seminario de Graduación.

Por lo expuesto:

Autorizo su presentación ante los organismos competentes para la respectiva calificación.

Ambato, Mayo de 2010

.....
Ing. César A. German T.

TUTOR

AUTORIA DEL TRABAJO DE INVESTIGACION

La responsabilidad del contenido del trabajo de investigación, corresponde a Mesías Washington Ramírez Guerrero y del Ing. César A. German T, y el patrimonio intelectual de la misma a la Universidad Técnica de Ambato.

.....
Washington Ramírez

AUTOR

TRABAJO DE INVESTIGACION

.....
Ing. César A. German T

TUTOR

TRABAJO DE INVESTIGACION

APROBACION DEL TRIBUNAL DE GRADO

El tribunal de defensa del Trabajo de Investigación “Evaluación de la nisina en la vida útil del suero dulce de quesería.”, presentado por el Señor Mesías Washington Ramírez Guerrero y conformado por:.....miembros del tribunal de Defensa y Tutor del trabajo de investigación y presidido por el ingeniero , Presidente del Consejo Directivo, Ing. Mario Manjarrez, Coordinador del Noveno Seminario de Graduación FCIAL-UTA, una vez escuchado la defensa oral y revisado el Trabajo de Investigación escrito en el cuál se ha constatado el cumplimiento de las observaciones realizadas por el por el tribunal de Defensa del Trabajo de Investigación, remite el presente Trabajo de Investigación para uso y custodia en la biblioteca de la FCIA.

.....
Presidente Consejo Directivo

.....
 Ing. Mario Manjarrez
Coordinador Noveno Seminario de Graduación

.....
Miembro del tribunal

.....
Miembro del tribunal

El presente trabajo está dedicado a todo el esfuerzo realizado por mis padres José y Estela y a la de mi hermana Gabriela ya que sin la ayuda de ellos, el esfuerzo realizado no hubiese sido posible.

A todos mis amigos y compañeros que estuvieron a mi lado y compartimos buenos y malos momentos durante la vida estudiantil.

Mi agradecimiento está dirigido a la Universidad Técnica de Ambato y a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimento, a la vez a todas sus autoridades, profesores y empleados que de alguna manera ayudaron en mi formación integral y técnica.

Y de manera especial al Ing. César German por su apoyo y aporte de conocimientos incondicional.

INDICE DE CONTENIDOS

	PAGINAS
RESUMEN	xix
 CAPITULO I EL PROBLEMA 	
1.1 TEMA DE INVESTIGACION	1
1 .2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	1
Contextualización macro	1
Contextualización meso	3
Contextualización micro	4
Análisis crítico	6
Prognosis	7
Formulación del problema	7
Preguntas directrices	8
Delimitación	8
1.3 JUSTIFICACION	9
1.4 OBJETIVOS	10
Objetivo general	10
Objetivos específicos	10
 CAPITULO II MARCO TEORICO 	
2.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS	11
2.2 FUNDAMENTACION FILOSOFICO	12
2.3 FUNDAMENTACION LEGAL	20
2.4 CATEGORIAS FUNDAMENTALES	20
2.5 HIPOTESIS	27
2.6 SEÑALAMIENTOS DE VARIABLES	27

CAPITULO III

METODOLOGIA

3.1 ENFOQUE	28
3.2 MODALIDAD BASICA DE INVESTIGACION	29
3.3 NIVEL O TIPO DE INVESTIGACION	29
3.4 POBLACION Y MUESTRA	30
3.5 OPERACIONALIZACION DE VARIABLES	32
3.6 RECOLECCION DE INFORMACION	33
3.7. PLAN DE PROCESAMIENTO DE LA INFORMACION	34

CAPITULO IV

ANALISIS E INTERPRETACION DE RESULTADOS

4.1 ANALISIS DE LOS RESULTADOS	37
Análisis de pH	38
Análisis de Acidez	63
Análisis UFC	80
Análisis de vida útil	92
4.2 INTERPRETACION DE DATOS	94
4.3 VERIFICACION DE LAS HIPOTESIS	95

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES	97
5.2 RECOMENDACIONES	99

CAPITULO VI PROPUESTA

6.1 DATOS INFORMATIVOS	100
6.2 ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA	101
6.3 JUSTIFICACION	103
6.4 OBJETIVOS	103
6.4.1 Objetivo general	103
6.4.2 Objetivo especifico	104
6.5 ANALISIS DE FACTIBILIDAD	104
6.6 FUNDAMENTACION	106
6.7 METODOLOGIA	107
6.8 ADMINISTRACION	108
6.9 PREVISION DE LA EVALUACION	110

CAPITULO VII BIBLIOGRAFIA

6.1 BIBLIOGRAFIA	109
6.2 ANEXOS	117

INDICE DE TABLAS	PAGINAS
Tabla 1 Países importadores de suero de queso en polvo	3
Tabla 2 Composición y características físicas determinadas para el suero obtenido de una jornada de elaboración de la fábrica DERILACPY(Salcedo) utilizado como sustrato para la fermentación	13
Tabla 3 Datos de pH y acidez del los tipos de sueros	14
Tabla 4 Composición general del suero fresco	15
Tabla 5: Composición del suero dulce	16
Tabla 6 Características físico-químicas de la nisina	23
Tabla 7 Establecimiento de conclusiones y recomendaciones	36
Tabla 8 Datos Experimentales de pH de suero dulce de quesería el día 1, tratados a temperatura ambiente (21 ⁰ C) y a temperatura de refrigeración (4 ⁰ C) con diferentes concentraciones de nisina	38
Tabla 9 Análisis de varianza de pH de suero dulce de quesería en efecto combinado de temperatura (ambiente 21 ⁰ C y de refrigeración 4 ⁰ C) y concentraciones de nisina	40
Tabla 10 Tukey para el nivel a (Temperatura)	40
Tabla 11 Tukey para la intersección A*B (Temperatura y Concentración de nisina)	41
Tabla 12 Datos experimentales de pH de suero dulce de quesería en el día 2, tratados a temperatura ambiente (21 ⁰ C) y a temperatura de refrigeración (4 ⁰ C) con diferentes concentraciones de nisina	42
Tabla 13 Análisis de varianza de pH de suero dulce de quesería en efecto combinado de temperatura (ambiente 21 ⁰ C y de refrigeración 4 ⁰ C) y concentraciones de nisina	44
Tabla 14 Tukey para el nivel A (Temperatura)	44

Tabla 15	Tukey para la interacción AB (Temperatura /Concentración)	45
Tabla 16	Datos experimentales de pH de suero dulce de quesería en el 3 día, tratados a temperatura ambiente (21 ⁰ C) y a temperatura de refrigeración (4 ⁰ C) con diferentes concentraciones de nisina	46
Tabla 17	Análisis de varianza de pH de suero dulce de quesería en efecto combinado de temperatura (ambiente 21 ⁰ C y de refrigeración 4 ⁰ C) y concentraciones de nisina.	48
Tabla 18	Prueba de Tukey para el Factor A (Temperatura)	48
Tabla 19	Prueba de Tukey para el Nivel B (Concentración de nisina.	49
Tabla 20	Prueba de Tukey para la intersección A* B (Concentración de nisina)	50
Tabla 21	Datos experimentales de pH de suero dulce de quesería en el cuarto día, tratados a temperatura ambiente (21 ⁰ C) y a temperatura de refrigeración (4 ⁰ C) con diferentes concentraciones de nisina	51
Tabla 22	Análisis de varianza de pH de suero dulce de quesería en efecto combinado de temperatura (ambiente 21 ⁰ C y de refrigeración 4 ⁰ C) y concentraciones de nisina	53
Tabla 23	Prueba de Tukey para el Factor A (Temperatura)	53
Tabla 24	Prueba de Tukey para el Nivel B (Concentración de nisina)	54
Tabla 25	Prueba de Tukey para la intersección A* B (Concentración de nisina)	55
Tabla 26	Datos experimentales de pH de suero dulce de quesería en el quinto día, tratados a temperatura ambiente (21 ⁰ C) y a temperatura de refrigeración (4 ⁰ C) con diferentes concentraciones de nisina	56
Tabla 27	Análisis de varianza de pH de suero dulce de quesería en efecto combinado de temperatura (ambiente 21 ⁰ C y de refrigeración 4 ⁰ C) y concentraciones de nisina	58

Tabla 28	Datos experimentales de pH de suero dulce de quesería en el día sexto, tratados a temperatura ambiente (21 ⁰ C) y a temperatura de refrigeración (4 ⁰ C) con diferentes concentraciones de nisina	59
Tabla 29	Análisis de varianza de pH de suero dulce de quesería en efecto combinado de temperatura (ambiente 21 ⁰ C y de refrigeración 4 ⁰ C) y concentraciones de nisina	61
Tabla 30	Prueba de Tukey para el Factor A (Temperatura)	61
Tabla 31	Prueba de Tukey para la intersección A* B (Concentración de nisina)	62
Tabla 32	Datos experimentales de Acidez en % de ácido láctico del suero dulce de quesería en el primer día, tratados a temperatura ambiente (21 ⁰ C) y a temperatura de refrigeración (4 ⁰ C) con diferentes concentraciones de nisina	64
Tabla 33	Análisis de varianza de pH de suero dulce de quesería en efecto combinado de temperatura (ambiente 21 ⁰ C y de refrigeración 4 ⁰ C) y concentraciones de nisina	66
Tabla 34	Prueba de Tukey para el Factor A (Temperatura)	66
Tabla 35	Datos experimentales de Acidez en % de ácido láctico del suero dulce de quesería en el día 2, tratados a temperatura ambiente (21 ⁰ C) y a temperatura de refrigeración (4 ⁰ C) con diferentes concentraciones de nisina.	67
Tabla 36	Análisis de varianza de pH de suero dulce de quesería en efecto combinado de temperatura (ambiente 21 ⁰ C y de refrigeración 4 ⁰ C) y concentraciones de nisina	68
Tabla 37	Prueba de Tukey para el Factor A (Temperatura).	69
Tabla 38	Datos experimentales de Acidez en % de ácido láctico del suero dulce de quesería en el día 1, tratados a temperatura ambiente (21 ⁰ C) y a temperatura de refrigeración (4 ⁰ C) con diferentes concentraciones de nisina	70

Tabla 39	Análisis de varianza de pH de suero dulce de quesería en efecto combinado de temperatura (ambiente 21 ⁰ C y de refrigeración 4 ⁰ C) y concentraciones de nisina	72
Tabla 40	Prueba de Tukey para el Factor A (Temperatura)	72
Tabla 41	Datos experimentales de Acidez en % de ácido láctico del suero dulce de quesería en el día 4, tratados a temperatura ambiente (21 ⁰ C) y a temperatura de refrigeración (4 ⁰ C) con diferentes concentraciones de nisina	73
Tabla 42	Análisis de varianza de pH de suero dulce de quesería en efecto combinado de temperatura (ambiente 21 ⁰ C y de refrigeración 4 ⁰ C) y concentraciones de nisina	75
Tabla 43	Prueba de Tukey para el Factor A (Temperatura)	75
Tabla 44	Datos experimentales de Acidez en % de ácido láctico del suero dulce de quesería en el día 5, tratados a temperatura ambiente (21 ⁰ C) y a temperatura de refrigeración (4 ⁰ C) con diferentes concentraciones de nisina.	76
Tabla 45	Análisis de varianza de pH de suero dulce de quesería en efecto combinado de temperatura (ambiente 21 ⁰ C y de refrigeración 4 ⁰ C) y concentraciones de nisina	78
Tabla 46	Datos experimentales de Acidez en % de ácido láctico del suero dulce de quesería en el día 6, tratados a temperatura ambiente (21 ⁰ C) y a temperatura de refrigeración (4 ⁰ C) con diferentes concentraciones de nisina	78
Tabla 47	Análisis de varianza de pH de suero dulce de quesería en efecto combinado de temperatura (ambiente 21 ⁰ C y de refrigeración 4 ⁰ C) y concentraciones de nisina	80
Tabla 48	Datos experimentales de conteo de UFC en muestras de suero dulce de quesería en el primer día, tratados a temperatura ambiente (21 ⁰ C) y a temperatura de refrigeración (4 ⁰ C) con diferentes concentraciones de nisina	83

Tabla 49	Análisis de varianza de pH de suero dulce de quesería en efecto combinado de temperatura (ambiente 21 ⁰ C y de refrigeración 4 ⁰ C) y concentraciones de nisina	84
Tabla 50	Datos experimentales de conteo de UFC en muestras de suero dulce de quesería en el tercer día, tratados a temperatura ambiente (21 ⁰ C) y a temperatura de refrigeración (4 ⁰ C) con diferentes concentraciones de nisina	85
Tabla 51	Análisis de varianza para el conteo de UFC del suero dulce de quesería en efecto combinado de temperatura (ambiente 21 ⁰ C y de refrigeración 4 ⁰ C) y concentraciones de nisina	87
Tabla 52	Prueba de Tukey para el Factor A (Temperatura)	87
Tabla 53	Datos experimentales de conteo de UFC en muestras de suero dulce de quesería en el quinto día, tratados a temperatura ambiente (21 ⁰ C) y a temperatura de refrigeración (4 ⁰ C) con diferentes concentraciones de nisina	88
Tabla 54	Análisis de varianza para el conteo de UFC del suero dulce de quesería en efecto combinado de temperatura (ambiente 21 ⁰ C y de refrigeración 4 ⁰ C) y concentraciones de nisina	90
Tabla 55	Prueba de Tukey para el Factor A (Temperatura)	90
Tabla 56	Prueba de Tukey para el Factor B (Concentración)	91
Tabla 57	Prueba de Tukey para el Factor C (Replicas)	91
Tabla 58	Datos experimentales de tiempos de vida útil para suero dulce de quesería, tratado a temperatura ambiente (21 ⁰ C) y a temperatura de refrigeración (4 ⁰ C) con diferentes concentraciones de nisina	93
Tabla59	Valores económicos de la propuesta	105
Tabla 60	Análisis de costo para la aplicación de nisina en suero dulce	106
Tabla 61	Modelo operativo (plan de acción)	109
Tabla 62	Previsión de la evaluación	110

INDICE DE FIGURAS		PAGINAS
Gráfico 1	Producción Mundial de sueros y evolución	2
Gráfico 2	Árbol de problemas	6
Gráfico 3	Diagrama de flujo para la conservación del suero	21
Gráfico 4	Supra-ordinación conceptual	26
Gráfico 5	Promedio de pH de suero dulce de quesería en el día 1, tratados a temperatura ambiente (21 ⁰ C) y a temperatura de refrigeración (4 ⁰ C) con diferentes concentraciones de nisina (50, 100, 150,200 y 250ppm)	39
Gráfico 6	Promedio de pH de suero dulce de quesería en el día 2, tratados a temperatura ambiente (21 ⁰ C) y a temperatura de refrigeración (4 ⁰ C) con diferentes concentraciones de nisina	43
Gráfico 7	Promedio de pH de suero dulce de quesería en el día 3, tratados a temperatura ambiente (21 ⁰ C) y a temperatura de refrigeración (4 ⁰ C) con diferentes concentraciones de nisina	47
Gráfico 8	Promedio de pH de suero dulce de quesería en el día 4, tratados a temperatura ambiente (21 ⁰ C) y a temperatura de refrigeración (4 ⁰ C) con diferentes concentraciones de nisina	52
Gráfico 9	Promedio de pH de suero dulce de quesería en el día 5, tratados a temperatura ambiente (21 ⁰ C) y a temperatura de refrigeración (4 ⁰ C) con diferentes concentraciones de nisina	57
Gráfico 10	Promedio de pH de suero dulce de quesería en el día 6, tratados a temperatura ambiente (21 ⁰ C) y a temperatura de refrigeración (4 ⁰ C) con diferentes concentraciones de nisina	60

Gráfico 11	Acidez promedio en % de ácido láctico de suero dulce de quesería en el día 1, tratados a temperatura ambiente (21 ⁰ C) y a temperatura de refrigeración (4 ⁰ C) con diferentes concentraciones de nisina	65
Gráfico 12	Acidez promedio en % de ácido láctico de suero dulce de quesería en el día 2, tratados a temperatura ambiente (21 ⁰ C) y a temperatura de refrigeración (4 ⁰ C) con diferentes concentraciones de nisina	68
Gráfico 13.	Acidez promedio en % de ácido láctico de suero dulce de quesería en el día 3, tratados a temperatura ambiente (21 ⁰ C) y a temperatura de refrigeración (4 ⁰ C) con diferentes concentraciones de nisina	71
Gráfico 14.	Acidez promedio en % de ácido láctico de suero dulce de quesería en el día 4, tratados a temperatura ambiente (21 ⁰ C) y a temperatura de refrigeración (4 ⁰ C) con diferentes concentraciones de nisina	74
Gráfico 15	Acidez promedio en % de ácido láctico de suero dulce de quesería en el día 5, tratados a temperatura ambiente (21 ⁰ C) y a temperatura de refrigeración (4 ⁰ C) con diferentes concentraciones de nisina	77
Gráfico 16.	Acidez promedio en % de ácido láctico de suero dulce de quesería en el día 6, tratados a temperatura ambiente (21 ⁰ C) y a temperatura de refrigeración (4 ⁰ C) con diferentes concentraciones de nisina	79
Gráfico 17	Datos experimentales de conteo de UFC en muestras de suero dulce de quesería en el primer día, tratados a temperatura ambiente (21 ⁰ C) y a temperatura de refrigeración (4 ⁰ C) con diferentes concentraciones de nisina	83
Gráfico 18.	Datos experimentales de conteo de UFC en muestras	86

de suero dulce de quesería en el primer día, tratados a temperatura ambiente (21°C) y a temperatura de refrigeración (4°C) con diferentes concentraciones de nisina.

Gráfico 19 Datos experimentales de conteo de UFC en muestras de suero dulce de quesería en el primer día, tratados a temperatura ambiente (21°C) y a temperatura de refrigeración (4°C) con diferentes concentraciones de nisina 89

RESUMEN EJECUTIVO

Los sueros resultantes de la producción de quesos se caracterizaron. Con tales propósitos, se determinaron el pH, la acidez y número de UFC en el suero dulce. Los valores obtenidos se contrastaron con las especificaciones avanzadas de calidad. Las diferentes temperaturas en que se realizó los análisis del suero de queso difirieron entre sí respecto de los valores encontrados de acidez y pH.

La inclusión de bacterias ácido-lácticas durante el proceso industrial primario resultó en una disminución del pH y del contenido de lactosa, y un aumento de la acidez del suero de queso, respecto de las especificaciones avanzadas de calidad para estos subproductos. La no-satisfacción de las especificaciones de calidad para las características del suero de leche puede determinar el destino último del subproducto para la producción de alimentos tanto para el consumo animal como humano.

La conservación del suero dulce de quesería se lo realizó mediante la utilización de un bioconservante nisina, que es un péptido de 34 aminoácidos y bajo peso molecular producido por la bacteria ácido láctica *Lactococcus lactis ssp lactis*, es el bioconservante más estudiado en la actualidad. Considerada por la FDA como la única bacteriocina GRAS (generalmente reconocida como segura, por sus siglas en inglés), es utilizada ampliamente en la industria láctea para la conservación de quesos y productos fermentados, sin embargo, existen pocas referencias sobre su aplicación directa en suero dulce fluida lo que ayudo a incrementar el tiempo de vida útil.

Palabras claves: suero dulce, bioconservante “nisina”, pH, acidez y vida útil.

CAPITULO I

EL PROBLEMA

1.1 TEMA:

**“Evaluación de la nisina en la vida útil del suero dulce de
quesería”**

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.2.1 Contextualización

- Contextualización Macro

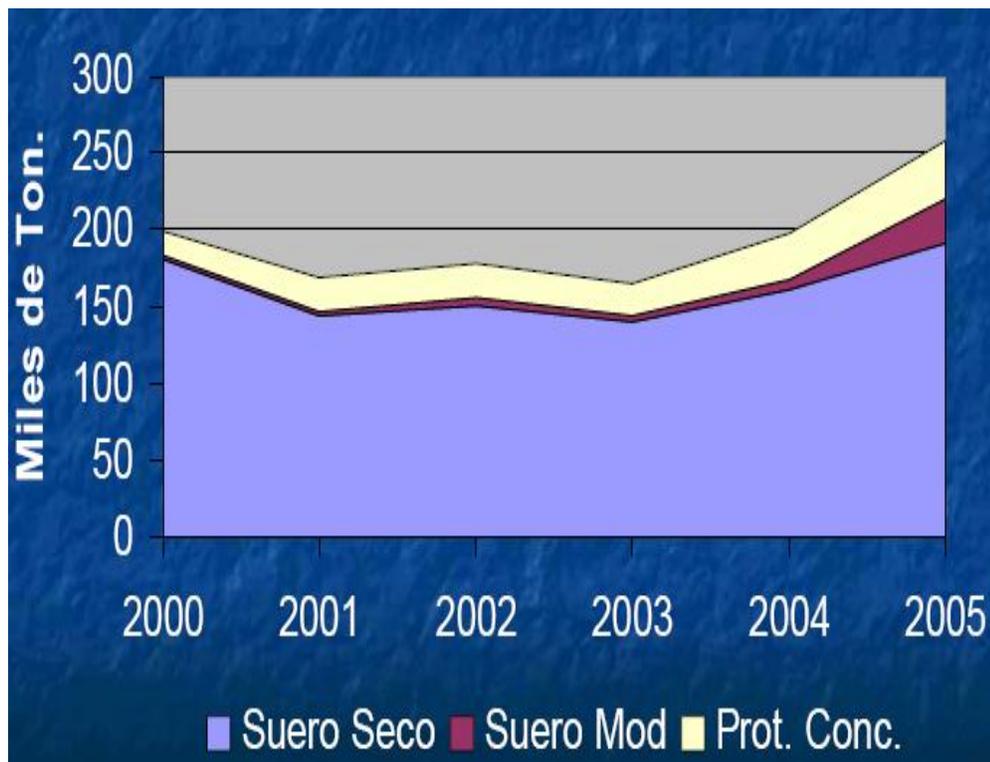
Ulloa J (2006). Para 2008 se espera un pequeño aumento en la producción mundial de suero de leche, principalmente en los países más grandes. En Australia y Nueva Zelanda, se prevé que la producción de suero de leche superará los niveles sin precedentes. En ambos países, el aumento de los ingresos de la producción de suero de leche debido a las devaluaciones de la moneda es el motivo principal de la expansión de la producción. Más que el aumento de los rendimientos, el factor principal fue la de las cabañas .También debería aumentar la producción del suero de leche en Europa oriental. En

Polonia, el mayor productor del suero de leche de la región, la producción podría aumentar del 3% en el 2008 como consecuencia del crecimiento tanto de la magnitud de las cabañas como de los rendimientos; en Hungría se prevé que el alza de los precios al productor se traducirá en el aumento de la producción en un porcentaje semejante. En los Estados Unidos, prevé un aumento marginal de la producción de suero de leche, ya que los efectos del alza de los precios de granja de la leche con respecto al año anterior se han visto atenuados por la limitada disponibilidad de forraje durante la primera parte del año.

Gráfico 1

Producción Mundial de sueros y evolución

Exportaciones de EE.UU de Suero Seco, Suero Modificado y Proteínas



Fuente: CHIRIFE Jorge (1985: internet)

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Tabla 1
Países Importadores de Suero de Queso en Polvo
(Ordenado por unidad)

IMPORTACIONES: Ordenado por unidad				
	País	Cantidad (Mt)	Valor (miles US\$)	Valor unitario (US\$)
1	Australia	978	2378	2431
2	EE. UU.	7017	12303	1753
3	Argentina	481	754	1568
4	Suiza	2771	4038	1457
5	Turquía	186	263	1414
6	Finlandia	1562	2189	1401
7	Sudáfrica	6627	9214	1390
8	Luxemburgo	1063	1446	1360
9	Suecia	5624	7379	1312

Fuente: CHIRIFE Jorge (1985: internet)

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

- Contextualización Meso

(SICA: www.sica.gov.ec). El uso y destino de la producción lechera en el país tiene un comportamiento regular. Según estimaciones del Ministerio de Agricultura y Ganadería, entre un 25% y un 32% de la producción bruta se destina a consumo de terneros (autoconsumo) y mermas (2%). Este comportamiento resulta explicable ya que las importaciones de sustituto de leche para terneros registradas oficialmente constituyen un 3 por mil de la producción interna de leche.

La leche fluida disponible se destina en un 25% para elaboración industrial (19% leche pasteurizada y 6% para elaborados lácteos), 75% entre consumo y

utilización de leche cruda (39 % en consumo humano directo y 35% para industrias caseras de quesos frescos), y aproximadamente un 1% se comercia con Colombia en la frontera.

Ulloa J (2006). En el país hay desconocimiento de los usos de los probióticos los cuales son microorganismos vivos que al ser ingerido en cantidades adecuadas ejercen una influencia positiva en la salud o en la fisiología del hospedero. Una de las formas de acción de los probióticos es a través de la resistencia otorgada contra la invasión de los microorganismos patógenos con lo cual se busca la alternativa de lograr prolongar la duración de suero dulce de quesería sin afectar sus características, manteniendo al mismo tiempo su estatus de suero 100% natural.

- **Contextualización Micro**

(MAGAP: www.magap.gov.ec).La Sierra Centro-Norte es el área de mayor densidad en la producción de leche en el Ecuador por las condiciones de clima y suelo favorables para el crecimiento de pastos de alto rendimiento y valor nutritivo. De los factores climáticos que regulan el crecimiento de los pastos, la temperatura ambiental y las horas e intensidad de la luz son muy estables a lo largo del año, siendo por tanto, la lluvia el factor del clima que por su variabilidad e inestabilidad causa problemas de disponibilidad de alimento para el ganado a lo largo del año.

(INCAAP: www.incaap.gov.ec). Otra opción es potenciar la producción de quesos, yogur y mantequilla, con lo que también se generará empleo y mejorará la alimentación y calidad de vida de los productores. En la cadena de los lácteos existen 900 pequeños productores de los cantones Píllaro, Pelileo,

Ambato, Tisaleo, Patate y Quero, donde existen once queserías rurales en los cantones mencionados anteriormente, exceptuando a Pelileo.

(SICA: www.sica.gov.ec). Se destina para la producción de quesos un total de 92.750 litros de leche diariamente, donde se obtienen 11.130 litros de suero que se desecha a través del alcantarillado municipal generando problemas de contaminación ambiental, con el fin de controlar y reducir las descargas de desechos líquidos de las industrias productoras de queso, se podría mejorar el proceso de producción de la planta, tratar los desechos líquidos o aprovecharlos.

Ulloa J (2006). En la industria de los lácteos, tiene una gran importancia en la provincia de Tungurahua la elaboración de quesos que no es exclusividad de las grandes empresas pues se tiene numerosas industrias de carácter artesanal cuyo aporte a la manufactura de queso es altamente significativa en la producción de este producto a nivel nacional; aproximadamente 4.55 kg de leche son usadas para producir un kilogramo de queso dando como resultado de 2.73 a 4.09 kilogramo de suero.

Gomes J. (2009). En la cuenca (zona) lechera de Píllaro que se produce 100mil litros de leche diarios, los industriales elaboran derivados, queso (60%), yogur (20%) y lo demás lo consumen como leche cruda (10%) y pasteurizada (10%). Partiendo de esta observación es fácil suponer que junto a esta producción quesera una elevada generación de suero de quesería que es mucha de las veces desalojado por cañerías al medio ambiente provocando un alto índice de contaminación y matando la vida de nuestros ríos.

1.2.2 Análisis crítico

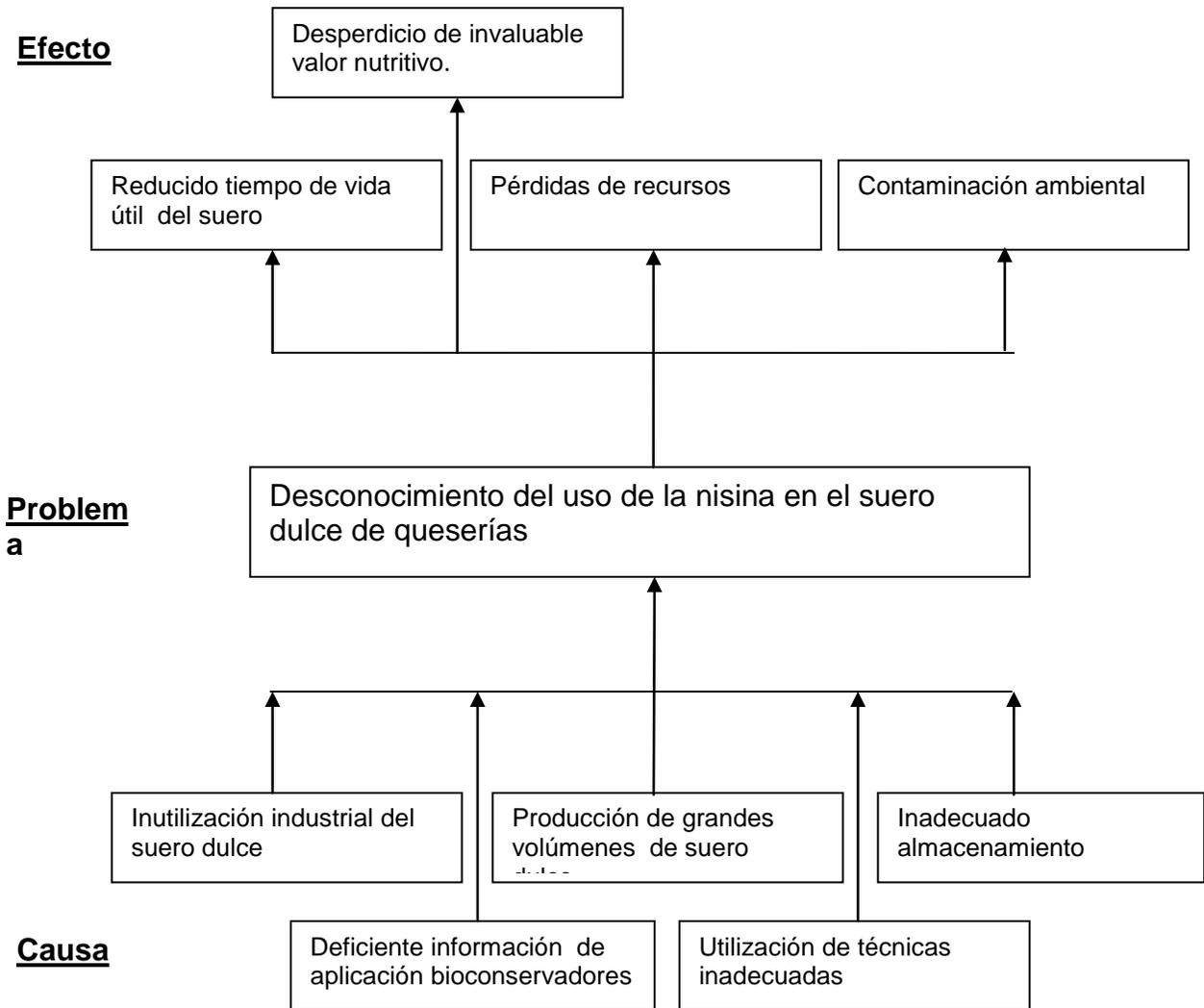


Gráfico 2: Árbol de problemas.

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Relación causa efecto

Causa: Deficiente información de aplicación bioconservantes “nisina”

Efecto: Reducido tiempo de vida útil

Matriz más (Anexo 1)

1.2.3 Prognosis

La difícil situación económica en que se ve envuelta la mayoría de empresas en el Ecuador ha fomentado la investigación sobre el uso de desechos industriales en productos derivados que ayuden a incrementar la utilidad. Por lo cual este proyecto tiene una buena alternativa para dichos empresarios que buscan la innovación y satisfacción al cliente en un 100%; el consumidor busca alimentos que nutran y que no acumulen grasa en su cuerpo.

El desalojo de desechos industriales al ambiente sin tratamientos es un grave problema, la alternativa de usar los mismos en productos que alimenten a la población está siempre en la mente del empresario, aun que en la mayoría de casos la falta de nuevas ideas frene este deseo.

La presente investigación al no llevarse a cabo, permitirá solucionar los siguientes problemas:

- Contaminación del medio ambiente por el desecho del suero de quesería.
- El desarrollo de las industrias lácteas se verían afectadas, al vender el suero bajo precio o al ser desechado.
- Inutilización de bioconservantes “Nisina” para incrementar el tiempo de vida útil del suero dulce de quesería.

1.2.4 Formulación del problema

¿Es la deficiente información de la aplicación de bioconservantes lo que provoca el desconocimiento del uso de “nisina”, para aumentar el tiempo de vida útil del suero dulce obtenido de la elaboración de queso fresco procesado en la Industria Láctea PROALPI. (Quesería del cantón Píllaro)?.

1.2.5 Preguntas directrices

¿Qué concentración de nisina es la adecuada para la conservación del suero dulce de quesería?

¿Existe disminución UFC en el suero dulce de quesería por la adición de nisina?

¿Incrementa el tiempo de vida útil del suero por la adición de nisina?

¿Incrementa el costo del kilogramo de suero tratado con nisina?

¿Los valores de pH y acidez varían?

¿Quiénes se benefician con el estudio realizado?

1.2.6 Delimitación

Campo:	Alimentos
Área:	Tecnología de lácteos
Aspecto:	Tiempo de vida útil
Espacial:	El presente proyecto de investigación se ejecutó en la Universidad Técnica de Ambato a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos; Laboratorios de la UOITA.
Temporal:	El tiempo del problema a investigado fue el segundo semestres del 2009.

1.3 JUSTIFICACION

Como profesional en el campo de alimentos, el presente trabajo favorece al sector quesero ya que permitirá que el suero obtenido de la elaboración de quesos frescos tenga un mayor tiempo de vida útil mediante la utilización de un bioconservante como es caso de la “nisina”, con lo cual se podrá obtener un incremento en el valor de la venta de suero dulce de quesería ya que este a mas de tener un inigualable valor nutritivo tendrá un tiempo de vida mayor.

Además permitirá que el suero sea utilizado como materia prima de otros productos ya que es un tema que ha generado alto interés en los investigadores e industriales; por lo que esta propuesta de este tema es muy importante. El manejo de recursos considerados como desecho industriales; en un producto de alto valor nutritivo y con un tiempo de vida útil mayor y de bajo costo, ya que hoy en día las utilidades de producción van reduciéndose a causa de la inestabilidad económica del país y por la cantidad de impuestos que hay que pagar .

Sin embargo, los principales beneficiarios del proyecto de conservación del suero dulce de quesería mediante el uso de un bioconservante “nisina” es la sociedad ya que se obtendrá como resultado la reducción de impactos ambientales por la descarga del suero en los cursos de agua, además, la nisina por su origen natural las bacteriocinas permite su uso como protector de alimentos, por otro lado, su incorporación en los alimentos permite reducir o eliminar la utilización de aditivos sintéticos que cada vez son menos deseados por el consumidor. Asimismo, por ser resistentes al calor y a la acidez entre otros, se pueden utilizar para incrementar la vida útil de muchos alimentos.

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 Objetivo general

- Estudiar el poder conservante de la nisina en la vida útil del suero dulce de quesería.

1.4.2 Objetivos específicos

- Ensayar diferentes tratamientos con distintos niveles de concentración de nisina en suero dulce de quesería para la identificación de la concentración más adecuada.
- Evaluar la vida útil del suero dulce de quesería mediante análisis de laboratorio por medio de cambios de pH, acidez y conteo de colonias.
- Difundir a las queserías el uso de bioconservantes “nisina” en suero dulce de quesería para la prolongación de la vida útil.

CAPITULO II

MARCO TEORICO

2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

Se pueden citar o mencionar trabajos realizados acerca de uso y conservación de suero dulce de quesería. Así tenemos las siguientes obras:

(León y Philco 1982). "El problema de descargar el suero en corrientes o en plantas de tratamiento de aguas residuales es su alta demanda biológica de oxígeno causada por las proteínas y carbohidratos. Se ha estimado que la demanda biológica de oxígeno representada en 100 lb. de suero es equivalente al desperdicio producido por 21 personas cada 24 horas".

(Pozo y Viera, 1996). "El suero de queso es un subproducto resultante de la coagulación o acidificación de la leche, después de la separación de la caseína; integrado por compuestos valiosos, como proteínas séricas de gran valor biológico cuya obtención y aprovechamiento revisten enorme importancia económica para las industrias lácteas"

(Pozo y Viera, 1996). "Sabido que el suero es un producto de desecho, es menester anotar que, su demanda biológica es alta. La demanda biológica no es más que la cantidad de oxígeno que se requiere para la oxidación aerobia de los sólidos orgánicos de las aguas negras o desecho dentro de condiciones determinadas de temperatura y tiempo. El valor DBO es directamente proporcional a la cantidad de materia orgánica disuelta y varía con el tiempo y la temperatura".

(Peñaherrera y Zamora 1999). “Al comparar los resultados obtenidos en la precipitación usando agua y suero dulce de queso como solventes, se observa que los valores difieren. Se llega a un porcentaje de "cero" proteína en el sobrenadante al trabajar con suero dulce de queso (pH 4 y 35°C, indiferentemente del tiempo de centrifugación), lo que se traduce como la recuperación total de la proteína en el precipitado”.

2.2. FUNDAMENTACION FILOSOFICA

En este trabajo abordamos el estudio del paradigma positivista y sus principales planteamientos, y lo propio en relación con la concepción dialéctica del conocimiento. Además, presentamos un análisis comparativo y expresamos nuestra posición personal en relación con la propia acción académica que desarrollamos.

La investigación en el enfoque positivista se realiza en laboratorios especialmente diseñados o ajustándose a condiciones previamente establecidas, como la selección de muestras estadísticas.

- Queso fresco

Gutiérrez Julio (2007). El queso fresco es el producto resultante de la concentración de una parte de la materia seca de la leche por medio de la coagulación, los tres principios fundamentales en la elaboración de queso fresco es la concentración y la conservación.

La concentración de la leche ocurre por la formación de la cuajada ya sea por el desarrollo de bacterias productoras de ácido láctico o por el cuajo con ello la

leche se descompone en dos partes: una masa semisólida, compuesta de caseína y un líquido, que es el suero de leche, mientras que la conservación del queso se logra mediante una buena higiene, buena pasteurización de la leche, concentración, acidificación, salado, adición de conservantes, tratamiento de superficie y enfriamiento.

- **Suero dulce de quesería**

Tabla 2

Composición y características físicas determinadas para el suero obtenido de una jornada de elaboración de la fabrica DERILACPY (Salcedo) utilizado como sustrato para la fermentación

Componentes	Composición
Materia seca	6.16%
Lactosa	4.66%
Proteína (6.32)	0.69%
Grasa	0.50%
Ceniza	0.32%
Acidez (Ac. láctico)	0.20%
pH	4.5
Densidad (15 ⁰ C)	1.025 g/cc

Fuente: POZO Germán y VERA Mónica (1996).

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Spreer Edgar (1984). El suero es el líquido resultante de la coagulación de la leche en la fabricación del queso tras la separación de la caseína y de la grasa. Según el procedimiento empleado para la separación de la caseína, por acción del cuajo y de los ácidos, se distingue el suero dulce (suero por coagulación) y suero ácido (por acidificación). La forma de obtener la caseína condiciona también la composición del suero, en la coagulación ácida pura, el ácido láctico sustrae el calcio del complejo integrado por este mineral y la caseína precipita, por tanto, al verse privada del soporte que le presta el calcio (cuajada de leche ácida). El suero obtenido por coagulación no contiene lactato cálcico. En

consecuencia, este suero no puede adquirir el carácter ácido por muy intensa que fuera la acidificación.

Tabla 3

Datos de pH y acidez del los tipos de sueros

Suero	Acidez titulable (%)	pH
Dulce	0.1-0.2	5.8-6.6
Medio ácido	0.2-0.4	5.0-5.8
Ácido	0.4-0.6	4.0-5.0

Fuente: POZO Germán y VIERA Mónica (1996)

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Machado G (2009: Internet). El suero lácteo dulce de quesería es producido durante la fabricación de queso en una proporción de 9 kilogramos de suero por cada kilogramo de queso elaborado. El suero de leche es transparente y de color amarillo verdoso y tiene un sabor ligeramente ácido, bastante agradable. Debido a su alto contenido en materia orgánica, puede aumentar drásticamente la demanda biológica de oxígeno si es vertido directamente en fuentes de agua como ríos y lagos: por otro lado, los componentes del suero son sustancias nutritivas, como proteínas, lactosa, vitaminas, minerales, que pueden ser recuperados y utilizados como complementos en otros alimentos. En algunas industrias lácteas se añade una salmuera antes desuerado de la cuajada, produciéndose así un suero salado que contiene al rededor de 40g/l de sal, que debe ser retirada para su posterior aprovechamiento.

Dependiendo de la materia prima utilizada en la coagulación de la leche, es decir, enzimático, cuajo de coagulación o por el ácido de coagulación, en líneas generales puede clasificarse en el suero de leche dulce, también conocido como suero de leche en polvo.

Suero dulce o suero de leche es un suero de la leche obtenida durante la coagulación enzimática de la caseína y, en general, libre de calcio. Por lo tanto, no hay presencia de lactato de calcio. El suero de leche dulce y ácido son individualmente distintos. La primera no puede ser convertida en este último incluso después de la acidificación. Otro tipo de suero de leche, que se ha descrito anteriormente no es de grado industrial de suero de leche, en el que, la coagulación de la proteína se realiza con ácidos distintos de ácido láctico.

TABLA 4

Composición general de suero fresco

S. No	Constituyente	Unidad	Suero de leche dulce	Suero de leche ácido
1	Agua	%	93-94	94-95
2	Materia seca	%	5 6-6.5	5-6
3	Lactosa	%	4.5-5	3.8-4.3
4	Ácido láctico	%	huellas	hasta 0,8
5	Proteínas totales	%	0.8-1.0	0.8-1.0
6	Proteína de suero	%	0.6-0.65	0.6-0.65
7	Ácido cítrico	%	0,1	0,1
8	Minerales	%	0.5-0.7	0.5-0.7
9	pH		6.4-6.2	5.0-4.6
10	SH Valor		alrededor de 4	20-25

Fuente: Dairyforall (2008; Internet).

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Dairyforall (2008: Internet). El contenido de materia grasa del suero depende principalmente del contenido en materia grasa de la leche de quesería. Un alto contenido de grasa en la leche de quesería lleva a una mayor pérdida de grasa en el suero, más aún, cuando el queso de leche no se ha homogeneizado. Cuando el contenido en materia grasa del suero de leche es superior a 0,1%.

La crema obtenida sea transformada en suero de mantequilla o utilizados en la normalización de la grasa de la leche de quesería. El suero de leche contiene vitaminas B y C, vitamina B2 y Lactoflavina que se encarga de la coloración verde amarillo de suero de leche.

Tabla 5
Composición del suero dulce

Código	1067		Categoría	PRODUCTOS LACTEOS Y SIMILARES
Nombre Común:	SUERO DULCE DE LECHE			
Nombre en Inglés:	WHEY SWEET, FLUID			
Agua	93.12 %	Vit. A Equiv. Retinol	3.00 mcg	
Energía	27.00 Kcal.	Ác. Grasos Mono-Insat.	0.10 g	
Proteína	0.85 g	Ác. Grasos Poli-Insat.	0.01 g	
Grasa	0.36 g	Ác. Grasos Saturados	0.23 g	
Carbohidratos	5.14 g	Colesterol	2.00 mg	
Fibra Diet. Total	0.00 g	Potasio	161.00 mg	
Ceniza	0.53 g	Sodio	54.00 mg	
Calcio	47.00 mg	Zinc	0.13 mg	
Fósforo	46.00 mg	Magnesio	8.00 mg	
Hierro	0.06 mg	Vitamina B6	0.03 mg	
Tiamina	0.04 mg	Vitamina B12	0.28 mcg	
Ribofavina	0.16 mg	Acido Fólico	0.00 mcg	
Niacina	0.07 mg	Folato Equiv. FD	1.00 mcg	
Vitamina C	0.00 mg	Fracción Comestible	1.00 %	

Fuente: Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP).

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

- **Bioconservante “Nisina”**

Schmidt Hernann (1979). Aditivo alimentario es una sustancia de carácter generalmente no nutritivo, de composición conocida y que se incorpora a un alimento en cantidades pequeñas y cuidadosamente controladas para cumplir

un fin tecnológico, destinado principalmente a mejorar sus condiciones de presentación (caracteres organolépticos) o de conservación.

Con excepción de unos pocos aditivos (ácido ascórbico, propionato de calcio, gelatina) es justamente la carencia de valor nutritivo lo que diferencia el Aditivo del Suplemento Nutritivo que se agrega al alimento para el enriquecimiento de su valor nutritivo, como son las vitaminas, minerales, proteínas y aminoácidos.

Funciones principales de los aditivos.

- mejorar el valor nutricional
- conservar y proteger
- ayudar en la producción
- modificar nuestra percepción.

Existen más" de veinte grupos distintos de aditivos y cada uno desempeña una o más de estas funciones. Cada grupo contiene sustancias con propiedades similares.

Sarmiento. A (2007). Entre los sistemas de conservación de alimentos, la bioconservación es un novedoso método que se basa en el empleo de microorganismos, o de sus productos metabólicos, para inhibir o destruir microorganismos indeseables.

La industria ha desarrollado aditivos extraídos de fuentes naturales capaces de potenciar el efecto conservante del tratamiento térmico uno de estos aditivos son las bacteriocinas, específicamente la "nisina" considerada por la FDA (Food and Drug Administration) como única bacteriocina GRAS (Generalmente reconocida como segura por sus siglas en inglés). El propósito de este estudio fue evaluar el efecto conservante de la concentración de la nisina comercial aplicada antes y después de la pasterización, así como los efectos que pudiesen tener en las características que determinen la vida de anaquel (acidez, color, viscosidad, sabor y recuento bacteriano) durante un periodo de

16 días con mediciones en intervalos de 4 días utilizando un diseño experimental BCA.

González et al. (2005). Los probióticos son microorganismos vivos que al ser ingeridos en cantidades adecuadas ejercen una influencia positiva en la salud o en la fisiología del hospedero. Una de las formas de acción de los probióticos es a través de la resistencia otorgada contra la invasión de microorganismos patógenos, lograda mediante la generación de diversas sustancias antimicrobianas entre las que se encuentran las bacteriocinas, consideradas como “péptidos biológicamente activos, poseen propiedades bactericidas contra especies estrechamente relacionadas con la cepa productora”.

- **Vida útil**

Ellis, (1994: Internet). La vida útil de un alimento se puede definir como el tiempo que transcurre entre la producción/envasado del producto y el punto en el cual se vuelve inaceptable bajo determinadas condiciones ambientales. La finalización de la vida útil de alimentos implica que el consumo sea un riesgo para la salud del consumidor, o que las propiedades sensoriales se deterioren hasta niveles en que el alimento es rechazado. En este último caso la evaluación sensorial es el principal método de evaluación, ya que no existen métodos instrumentales o químicos que reemplacen adecuadamente a nuestros sentidos.

Brody (2003:). La vida útil (VU) es un período en el cual, bajo circunstancias definidas, se produce una tolerable disminución de la calidad del producto. La calidad engloba muchos aspectos del alimento, como sus características físicas, químicas, microbiológicas, sensoriales, nutricionales y referentes a

inocuidad. En el instante en que alguno de estos parámetros se considera como inaceptable el producto ha llegado al fin de su vida útil.

Este período depende de muchas variables en donde se incluyen tanto el producto como las condiciones ambientales y el empaque. Dentro de las que ejercen mayor peso se encuentran la temperatura, pH, actividad del agua, humedad relativa, radiación (luz), concentración de gases, potencial redox, presión y presencia de iones.

Charm (2007).La VU se determina al someter a estrés el producto, siempre y cuando las condiciones de almacenamiento sean controladas. Se pueden realizar las predicciones de VU mediante utilización de modelos matemáticos (útil para evaluación de crecimiento y muerte microbiana), pruebas en tiempo real (para alimentos frescos de corta vida útil) y pruebas aceleradas (para alimentos con mucha estabilidad) en donde el deterioro es acelerado y posteriormente estos valores son utilizados para realizar predicciones bajo condiciones menos severas.

Para predecir la VU de un producto es necesario en primer lugar identificar y/o seleccionar la variable cuyo cambio es el que primero identifica el consumidor meta como una baja en la calidad del producto (Brody, 2003), por ejemplo, en algunos casos esta variable puede ser la rancidez, cambios en el color, sabor o textura, pérdida de vitamina C o inclusive la aparición de poblaciones inaceptables de microorganismos.

2.3. FUNDAMENTACION LEGAL

Para la realización de la siguiente investigación se va a tomar en cuenta las siguientes normas:

- CODEX STAN 195 – 1995 Norma General para los Aditivos Alimentario
- Código Alimentario de Argentina (Capítulo XVIII) Artículo 1391 al 1406 “Aditivos alimentarios”
- CODEX STA 263-2007 Norma del Codex para el queso fresco
- Norma Australiana para uso de Nisina
- Normas INEN 9-2003. Leche cruda requisitos
- Ficha técnica de la nisina

2.4. CATEGORIAS FUNDAMENTALES

Proceso de conservación del suero dulce de quesería.

Recepción.- El suero dulce es la materia prima por tanto, este debe ser fresco, de buena calidad, no debe contener antibióticos, ni microorganismos patógenos.

Filtración.- Mediante la utilización del lienzo se procede a separar materiales extraños del suero

Adición de bioconservante.-Adición de nisina a diferentes concentraciones.

Análisis.-Análisis de pH, acidez y siembras microbiológicos de suero dulce.

Almacenado.-El suero será almacenado para su posterior industrialización.

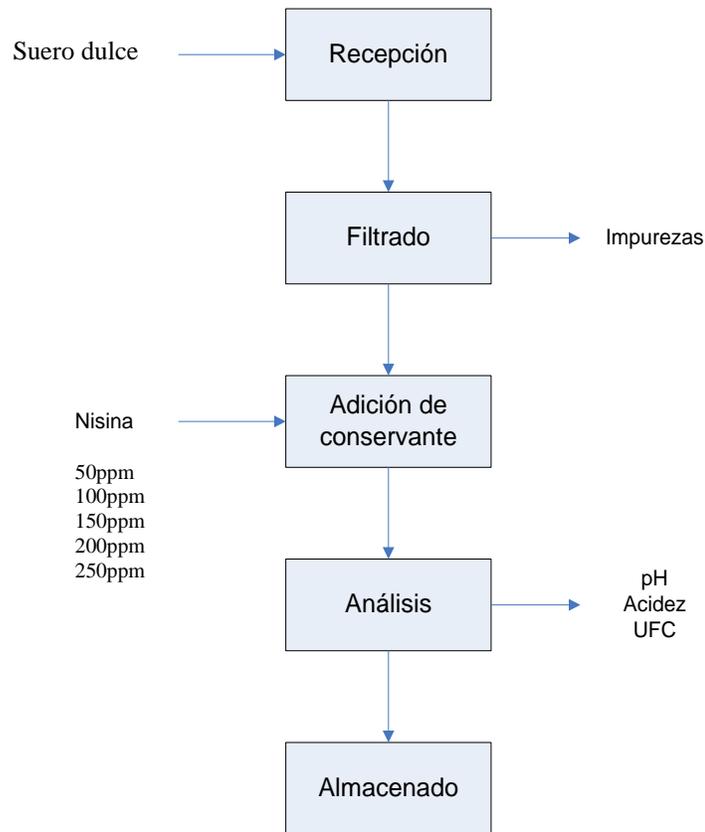


Gráfico 3. Diagrama de Flujo para la evaluación de Nisina en suero

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

2.4.1 Marco conceptual variable independiente

- **Deficiente información de aplicación bioconservantes “nisina”.**

Nisina

Sangronis Elba (2007: Internet). El uso de la nisina, una bacteriocina natural, es una alternativa para disminuir los riesgos de la elaboración de queso con leche cruda, aumentarle la vida útil del producto y en consecuencia mejorar su comercialización. En este estudio se evaluó el efecto de dos concentraciones de nisina (10 y 16,7 mg/kg queso), en las características físicas, químicas y en

la calidad sensorial del queso "telita" elaborado con 3 partidas de leche fresca de diferente procedencia. El queso "telita" sin la adición de nisina se usó como control. Se prepararon 3 lotes de quesos. A la leche cruda se le determinó densidad, pH, acidez, proteínas, grasa, cenizas, fósforo y calcio. Se le determinó humedad, proteínas, grasas, aw, pH y calidad sensorial a 24 h de elaborados los quesos. Se observaron variaciones significativas en la composición de las tres partidas de leche utilizadas.

La nisina es un antibiótico originado por cepas de la bacteria que normalmente corta la leche, el *Streptococcus lactis*.

Este producto es empleado principalmente para prevenir la putrefacción de productos alimenticios procesados térmicamente y empacados. La inocuidad de la nisina para organismos vivos y su rápida destrucción por enzimas del tracto gástrico e intestinal, donde las razones que estimularon su amplio uso en muchos países, incluyendo los más estrictos en materia de regulaciones para aditivos alimenticios como los países de la Unión Europea y los EUA. El empleo de la nisina como conservador de alimentos "debería considerarse aceptable siendo la ingesta media diaria incondicional de 0-33.000 U/kg de peso" (OMS, 1969). (Hay unos 40,000,000 de unidades por gramo de nisina pura; para la conservación de alimentos se recomiendan de 100 a 400 unidades por gramo de alimento (ó 2.5-10 ppm). Actualmente se elabora nisina en China, Rusia, Polonia y Reino Unido y su empleo está permitido en unos 20 países.

La nisina es un efectivo preservativo para muchos productos alimenticios. La estabilidad de la nisina en medio ácido hace posible realizar procesos térmicos de productos sin pérdidas visibles de la actividad preservadora.

La aplicación de la nisina es efectiva para la preservación de los siguientes productos:

- Queso y preparaciones de queso procesado. La adición de nisina a 100-250 mg/kg incrementa la vida de anaquel del queso al menos por 6 meses.
- Leche pasteurizada y esterilizada y saborizada. La adición de nisina a 50 mg/kg antes de la pasteurización incrementa la vida de anaquel a temperatura ambiente de 2 a 6 días.
- Leche evaporada enlatada. La adición de nisina a 80-100 mg/kg previene completamente el crecimiento de bacterias típicas formadoras de esporas. Y permite la reducción del tiempo de proceso por 10 minutos.
- Postres de leche, incluyendo harinas, azúcar, crema o leche. La adición de nisina a 50-100 mg/kg hace posible la reducción del nivel de calor de proceso y mejora la calidad del producto.
- Chícharos, frijoles y papas enlatadas. La adición de nisina a 100-150 mg/kg aumenta la vida de anaquel en climas cálidos por al menos 2 años y permite procesarlos a menor temperatura, mantener las propiedades de sabor e integridad del producto.
- Hongos enlatados. La adición de nisina a 100-200 mg/kg previene la germinación de esporas después del proceso térmico y hace posible el garantizar la mayor vida de anaquel en climas cálidos.

Tabla 6

Características físicas - químicas de la nisina

pH de 10% solución acuosa	3,10 -3,60
Humedad	Menor que 3%
Metales pesados (Pb)	Menor 2mg kg ⁻¹
Arsénico (As)	Menor 1mg kg
Potencia hidratante	Menor 1000 IUg ⁻¹

Fuente: ficha técnica de la Nisina (PROQUIGA sa.).

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Especificaciones microbiológicas

Recuento total es menor de 10 UFC g⁻¹

Sarmiento. A (2007). Los bioconservantes no se trata de un proceso de esterilización física ni química, que persigue prolongar la vida útil del producto, siempre con unos niveles de seguridad aceptables, mediante la utilización de microflora natural o controlada y los productos derivados de su metabolismo (bacteriocinas). Como ejemplo de esta bioconservación se puede destacar la adición de bacterias ácido-lácticas que impiden por biocompetencia la proliferación de bacterias patógenas en el alimento. Generalmente la bioconservación va acompañada de otros procedimientos físicos de conservación, aunque atenuados con respecto a los habituales, como resumen se podría decir que en nuestro país, de los métodos de conservación mas utilizadas son; altas presiones, irradiación, cocción al vacío, productos de IV gama y pulsos eléctricos.

2.4.2 Marco conceptual variable dependiente

- Reducido tiempo de vida útil

Alvarado Juan (1996). El estudio de la vida útil tiene como objetivo evaluar el comportamiento de los productos en desarrollo y tradicionales a los que se les ha hecho algún cambio en la receta o en el proceso, durante un tiempo determinado y a diferentes temperaturas. La vida útil de un alimento se puede definir como el período de tiempo durante el cual el producto almacenado no se percibe significativamente distinto al producto inicial o recién elaborado. Para la evaluación de los productos se utilizan técnicas de evaluación sensorial, análisis físicos; químicos y microbiológicos.

El interés sobre el mejor modo de conservar los alimentos para disponer de ellos en épocas de carestía o cuando éstos no se podían producir se remonta

muy atrás en el tiempo. Fruto de esa búsqueda han surgido el secado al sol y al aire, la salazón, el escabeche, las fresqueras. La mayoría de los alimentos que consumimos han sido manipulados o transformados antes de llegar a nuestra mesa, ya que, en general, la vida útil de los productos frescos es muy limitada si no se les aplica un sistema adecuado de conservación.

Científicos de la UNL estudian cómo intervienen la humedad del producto y la temperatura en estos procesos. El objetivo es fijar fechas de vencimiento más exactas y posibilitar un manejo más eficiente. El estudio de la vida útil tiene como objetivo evaluar el comportamiento de los productos en desarrollo y tradicionales a los que se les ha hecho algún cambio en la receta o en el proceso, durante un tiempo determinado y a diferentes temperaturas. La vida útil de un alimento se puede definir como el período de tiempo durante el cual el producto almacenado no se percibe significativamente distinto al producto inicial o recién elaborado. Para la evaluación de los productos se utilizan técnicas de evaluación sensorial, análisis físicos; químicos y microbiológicos.

Labuza T (1982). La vida útil de un alimento se puede definir como el tiempo que transcurre entre la producción/envasamiento del producto y el punto en el cual se vuelve inaceptable bajo determinadas condiciones ambientales. La finalización de la vida útil de alimentos puede deberse a que el consumo implique un riesgo para la salud del consumidor, o porque las propiedades sensoriales se han deteriorado hasta hacer que el alimento sea rechazado. En éste último caso el análisis sensorial es la principal herramienta de evaluación, ya que no existen métodos instrumentales o químicos que reemplacen adecuadamente a nuestros sentidos.

2.4.3 Gráficos de inclusión interrelacionados

- **Súper-ordinación conceptual**

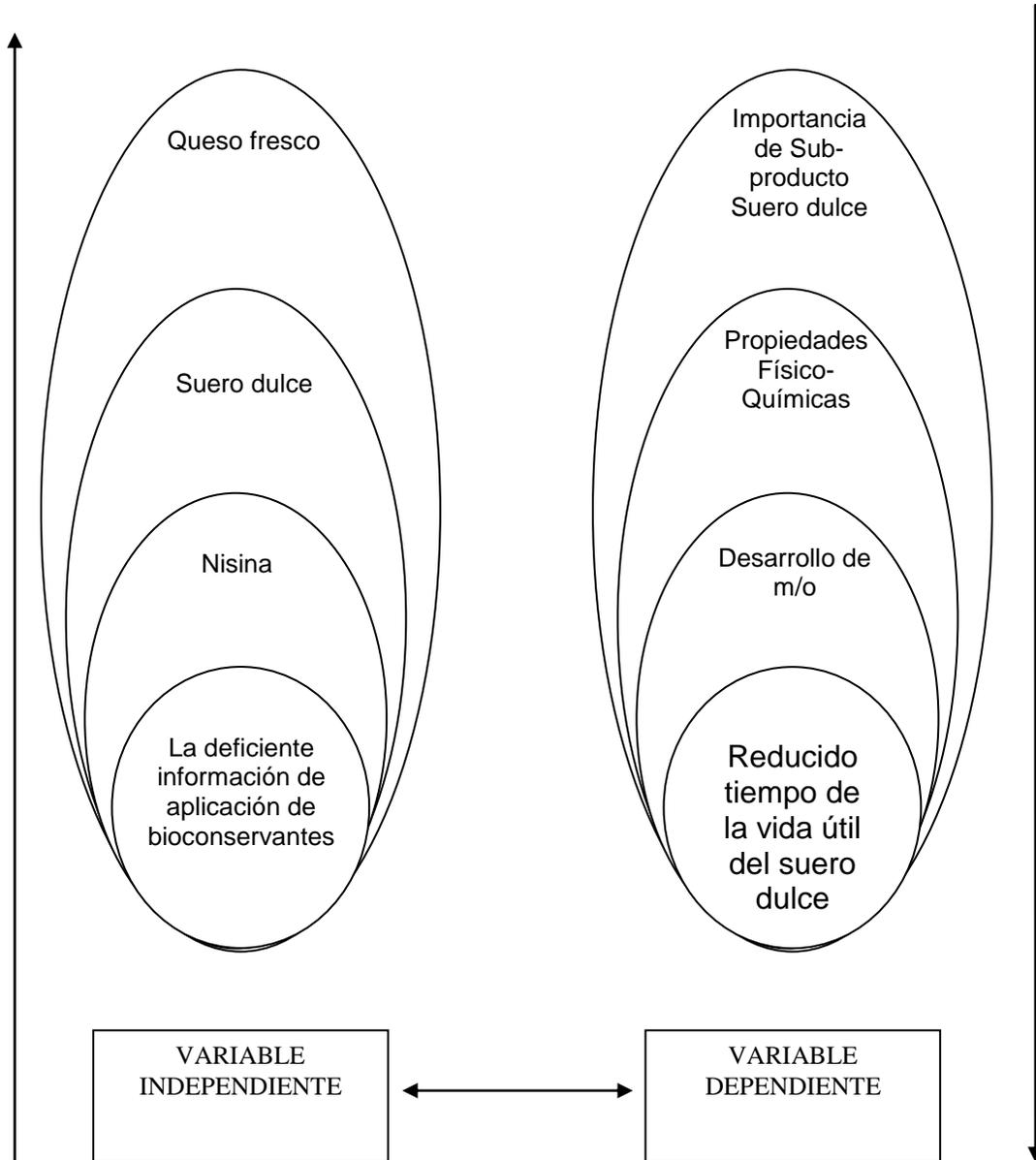


Gráfico 4. Supra-ordinación

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

2.5 HIPOTESIS

Hipótesis nula:

Ho: Las distintas concentraciones de Nisina aplicadas en suero dulce de quesería producen igual efecto en la en la vida útil del mismo.

$$T_1 = T_2 = T_3 = \dots T_n$$

Hipótesis alternativa

H1: Las distintas concentraciones de Nisina aplicadas en suero dulce de quesería producen efecto distinto en la en la vida útil del mismo.

$$T_1 \neq T_2 \neq T_3 \neq \dots T_n$$

2.6 SEÑALAMIENTO DE VARIABLES

Variable independiente: La deficiente información de aplicación de bioconservantes

Variable dependiente: Reducido tiempo de la vida útil del suero dulce.

CAPITULO III

METODOLOGIA

3.1. ENFOQUE

Hernández R et al, (2002).Éste tipo de investigación se lleva a cabo predominantemente un enfoque cualitativo. Primero descubre y afina las preguntas de investigación; no necesariamente se prueban hipótesis, frecuentemente se basa en métodos de recolección de datos (descripciones y observaciones) sin medir numéricamente. En este enfoque, las preguntas y las hipótesis, cuando existen, surgen como parte del proceso de investigación y es flexible; su propósito consiste en “reconstruir” la realidad, tal y como la observan los actores de un sistema social que hemos definido previamente. Generalmente lo llamamos “holístico” porque se presume de considerar el “todo” y no se reduce al estudio de sus partes o elementos que lo conforman.

Este enfoque permitirá también se guía por temas o aspectos importantes en la investigación, en vez de establecer preguntas de investigación y de plantear hipótesis antes de recolectar los datos, los estudios cualitativos pueden hacer preguntas de investigación e hipótesis antes, entre o después de la recolección y el análisis de los datos obtenidos, esto sirve para descubrir las preguntas de investigación y para afinarlas y responderlas. El énfasis no está en medir las variables involucradas en el fenómeno, como lo hace el otro enfoque, sino en entenderlo.

3.2. MODALIDAD BASICA DE LA INVESTIGACION

El presente trabajo investigativo se fundamenta en las siguientes modalidades:

Abril Víctor (2009). Investigación bibliográfica – documental.- Tiene el propósito de conocer, comparar, ampliar, profundizar y deducir diferentes enfoques, teorías, conceptualizaciones y criterios de diversos autores sobre una cuestión determinada, basándose en documentos (fuentes primarias), o en libros, revistas, periódicos y otras publicaciones (fuentes secundarias).

Investigación experimental o de laboratorio.- Es el, con el propósito de precisar la relación causa – efecto. Estos estudios son por lo general, considerados como los que mayor validez tienen en sus resultados.

Emplea un grupo experimental y uno de control para poder comparar los resultados. Realiza un control riguroso de las variables sometidas a experimentación por medio de procedimientos estadísticos. Provoca intencionalmente el fenómeno para observarlo con la ayuda de aparatos, equipos que permitan mayor rigor científico a los hallazgos.

3.3 NIVEL O TIPO DE INVESTIGACION

Para la realización del proyecto se utilizará los siguientes tipos de investigación:

Abril Víctor (2009). Investigación Exploratoria: Este tipo de investigación reconoce, registra, o averiguar con diligencia una cosa o un lugar.

Permitirá conocer la concentración exacta para conseguir las condiciones apropiadas para la conservación de del suero dulce de quesería y permita mantener las propiedades de las mismas y alargar el tiempo de vida útil.

Investigación Explicativa: Este tipo de investigación permite un análisis profundo de las causas del problema en donde se puede identificar las posibles soluciones e implementar estrategias necesarias.

Permitirá realizar un análisis profundo del problema para identificar las soluciones viables para combatir el problema

3.4. POBLACION Y MUESTRA

3.4.1 Población

Para el proyecto investigativo se tiene como población los productos y subproductos que se que se obtienen en Productos Lácteos “PROALPI”

3.4.2 Muestra

De toda la población de productos y subproductos lácteos se ha seleccionado el suero dulce obtenido de la elaboración de Queso Fresco.

FACTORES Y NIVELES

Para este estudio del Diseño experimental a emplearse es A*B cuyos factores de estudio son:

Factores o Variables de estudio

Niveles

Temperatura de Conservación

$a_0 = T.$ Ambiente (21 °C).

$a_1 = T.$ Refrigeración (4 °C).

Concentraciones de Nisina

$b_0 = 50\text{ppm}$

$b_1 = 100\text{ppm}$

$b_2 = 150\text{ppm}$

$b_3 = 200\text{ppm}$

$b_4 = 250\text{ppm}$

3.5. OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

Cuadro: La variable independiente “La deficiente información de aplicación de bioconservante Nisina “

Conceptualización	Categoría	Indicadores	Ítems	Instrumentos e instrumentos
El desconocimiento de bioconservantes “nisina” puede considerarse como falta de interés en el efecto de conservación en alimentos	Conservante	50 ppm 100 ppm 150 ppm 200 ppm 250 ppm	¿Existirá diferencia entre las diferentes concentraciones de nisina?	Visual Balanza y equipos volumétricos Norma Codex 192 (2005) Norma Australiana del Uso de la Nisina Application A565 2006 Ficha Técnica para el uso de Nisina

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Cuadro: La variable dependiente “Reducido tiempo de vida útil del suero dulce”

Categoría	Sub-categoría	Indicadores	Ítems	Técnicas e instrumentos
Propiedades físico químicas	Análisis físico químicas	pH acidez	¿Existirá diferencia entre las propiedades físico-químicas?	NORMA INEN 2003-01 Hoja guía Ing. Paredes M.
Inocuidad alimentaria	vida útil	Recuentos de UFC	¿Existirá diferencia en el tiempo de vida útil del suero?	Hoja guía Ing. Alvarado J. 2008

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

3.6. RECOLECCION DE INFORMACION

Metodológicamente para **Herrera Luis. Et al (2002)**, la construcción de la información se opera en dos fases: plan para la recolección de información y plan para el procesamiento de información.

3.6.1 Plan para la recolección de información

Este plan contempla estrategias metodológicas requeridas por los objetivos e hipótesis de investigación, de acuerdo con el enfoque escogido, considerando los siguientes elementos:

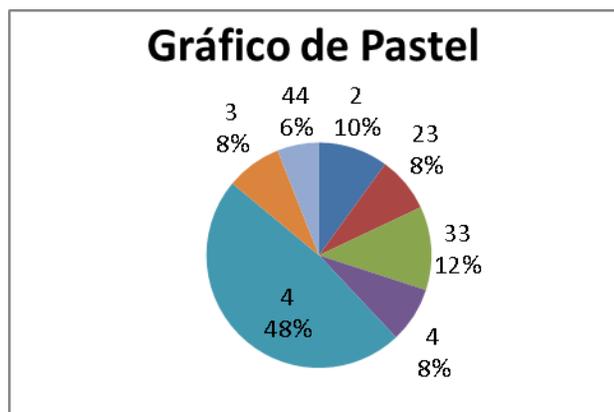
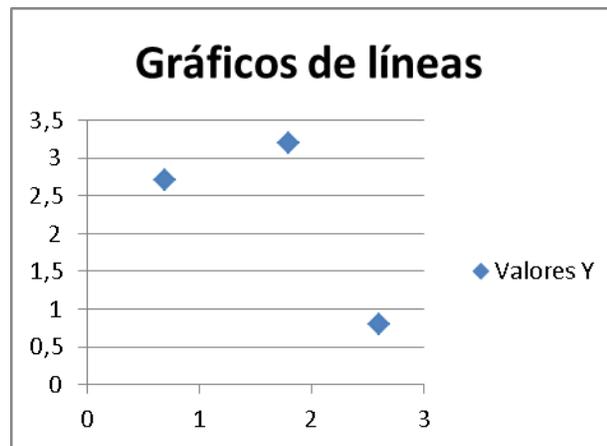
- Definición de los sujetos: personas u objetos que van a ser investigados.
En esta investigación que se va a realizar tiene como objeto el efecto de la nisina en la vida útil del suero dulce de quesería, mediante el análisis de pH y acidez del mismo.
- Selección de las técnicas a emplear en el proceso de recolección de información: Instrumentos seleccionados o diseñados de acuerdo con la técnica escogida para la investigación.
La técnica que se va utilizar para la investigación es la recolección de datos en tablas. **(ANEXO2)**
- Selección de recursos de apoyo (equipos de trabajo).
Sr. López Óscar
Sr. Romero Vinicio
- Explicitación de procedimientos para la recolección de información, cómo se va a aplicar los instrumentos, condiciones de tiempo y espacio, etc.
- El procedimiento para la recolección de datos se va a realizar mediante el método experimental.

Abril Víctor (2009). Experimentar significa "ensayar" o "poner a prueba algo". La experimentación consiste en provocar intencionalmente un hecho o fenómeno, modificando las condiciones y controlando sus variables para estudiarlo en circunstancias en que naturalmente no se presenta.

3.7. PLAN DE PROCESAMIENTO DE LA INFORMACION

3.7.1 Plan de procesamiento de información

- Revisión crítica de la información recogida; es decir limpieza de información defectuosa: contradictoria, incompleta, no pertinente, etc.
- Repetición de la recolección, en ciertos casos individuales, para corregir fallas de contestación.
- Tabulación o cuadros según variables de cada hipótesis: manejo de información, estudio estadístico de datos para presentación de resultados.
- Representaciones gráficas. Se va utilizar las gráficas de dispersión



3.7.2 Análisis e interpretación de resultados

- Análisis de los resultados estadísticos, destacando tendencias o relaciones fundamentales de acuerdo con los objetivos e hipótesis.

Una vez recolectada toda la información en una libreta de campo, se procederá a tabular la información útil en el paquete informático Excel para proceder a procesar estos datos mediante las herramientas del mismo programa informático. Los resultados se expresarán mediante tablas de datos y gráficas de dispersión

- Interpretación de los resultados, con apoyo del marco teórico, en el aspecto pertinente.
- Comprobación de hipótesis.
- Establecimiento de conclusiones y recomendaciones

TABLA 7

Establecimiento de conclusiones y recomendaciones

OBJETIVOS ESPECIFICOS	CONCLUSIONES	RECOMENDACIONES
<ul style="list-style-type: none"> • Ensayar diferentes tratamientos con distintos niveles de concentración de nisina en suero dulce de quesería para la identificación de la concentración más adecuada. 		
<ul style="list-style-type: none"> • Evaluar la vida útil del suero dulce de quesería mediante análisis de laboratorio por medio de cambios de pH, acidez y conteo de colonias. 		
<ul style="list-style-type: none"> • Difundir a las queserías el uso de bioconservantes “nisina” en suero dulce de quesería para la prolongación de la vida útil 		

Elaborado por; Washington Ramírez, 2010.

CAPITULO IV

ANALISIS E INTERPRETACION DE RESULTADOS

4.1 Análisis de los Resultados

En el presente proyecto de investigación para lograr obtener los datos experimentales de pH, acidez y UFC se trabajo con muestras de suero dulce de quesería obtenido de la empresa PROALPI ubicada en el cantón Píllaro parroquia Marcos Espinel, los productos que elabora son queso fresco y yogurt.

pH

(Pearson 1996).La estabilidad de las proteínas también depende de la actividad del ion hidrógeno; de aquí que la medición del pH sea importante para conocer la eficiencia de los conservadores y vigilar las operaciones de fabricación del alimento. A medida que la acidez o la concentración de ion hidrógeno aumentan, el valor de pH se acerca a cero.

(Miranda O, *et-al* 2007).La inclusión de bacterias ácido-lácticas durante el proceso industrial primario resultó en una disminución del pH y del contenido de lactosa. El descenso en el contenido de lactosa del suero podría ser el resultado de la actividad fermentativa de los microorganismos entre los que encuentran bacterias ácido-lácticas como *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*: que desdoblan la lactosa: el disacárido estructural de la leche, en ácido láctico, y por consiguiente, causan un descenso del contenido del mismo en el suero de queso.

4.1.1 Análisis de pH

Día 1

Tabla 8. Datos experimentales de pH de suero dulce de quesería en el día 2, tratados a temperatura ambiente (21⁰C) y a temperatura de refrigeración (4⁰C) con diferentes concentraciones de nisina.

Tratamientos		Replicas		Promedio
		R1	R2	
T1	a0b0	6,45	6,44	6,445
T2	a0b1	6,45	6,48	6,465
T3	a0b2	6,48	6,45	6,465
T4	a0b3	6,44	6,46	6,450
T5	a0b4	6,40	6,43	6,415
T6	a1b0	6,46	6,44	6,450
T7	a1b1	6,46	6,49	6,475
T8	a1b2	6,49	6,47	6,480
T9	a1b3	6,49	6,53	6,510
T10	a1b4	6,51	6,52	6,515
Testigo (T. Ambiente)			Promedio	6.43
Testigo (T. Refrigeración)			Promedio	6.40

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010

SIMBOLOGÍA:

Factor A: Temperatura

Nivel a0 = Ambiente

Nivel a1 = Refrigeración

Factor B: Concentración de Nisina

Nivel b0 =50ppm

Nivel b1=100ppm

Nivel b2=150ppm

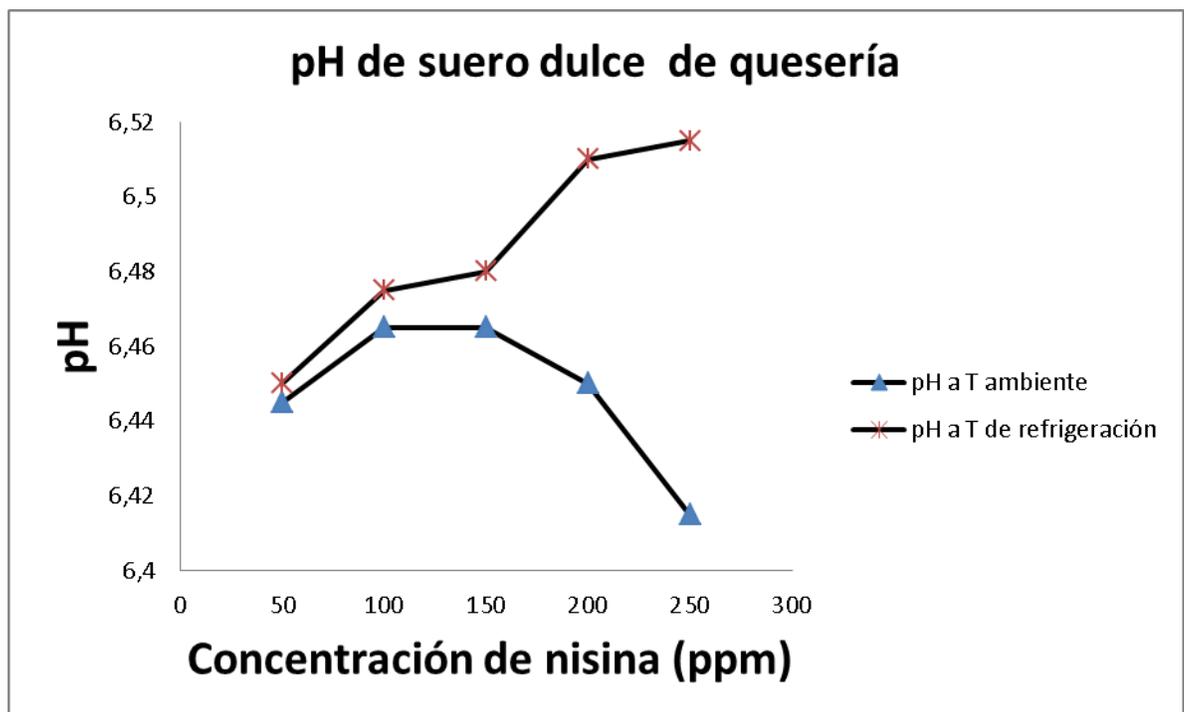
Nivel b3=200ppm

Nivel b4=250 ppm

En la tabla 8 se puede observar que el menor valor de pH es de 6,415 corresponde al (a0b4) que es de suero dulce a temperatura ambiente expuesta a una concentración de 250 ppm, mientras que el valor más alto de pH es de 6,515 que corresponde al tratamiento a1b4 (temperatura de refrigeración y a una concentración de 250ppm) en lo que correspondió en el día 1 de la experimentación, hay que recalcar que todos los tratamientos se encuentran

dentro de un rango de aceptación de pH según datos bibliográficos que dice que los valores de pH para el suero dulce va en un rango de 5.8 a 6.6 según (Pozo Germán y Viera Mónica 1996).

Gráfico 5. Promedio de pH de suero dulce de quesería en el día 1, tratados a temperatura ambiente (21°C) y a temperatura de refrigeración (4°C) con diferentes concentraciones de nisina (50, 100, 150, 200 y 250 ppm).



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010

En el gráfico 5 se puede apreciar que los valores de pH tanto a temperatura de refrigeración con a temperatura ambiente se encuentran en rangos similares ya que van valores de pH 6.415 a 6.515 en los tratamientos, cuyos valores fueron obtenidos en el primer día de experimentación.

Tabla 9. Análisis de varianza de pH de suero dulce de quesería en efecto combinado de temperatura (ambiente 21°C y de refrigeración 4°C) y concentraciones de nisina.

Fuente de variación	SC	GL	CM	F c	Ft	P
EFFECTOS PRINCIPALES						
C:Replicas	0,00032	1	0,00032	0,96644295	5,11735501	0.3513
A: temperatura	0,00722	1	0,00722	21,8053691	5,11735501	0.0012
B: Concentración	0,00237	4	0,0005925	1,78942953	3,63308851	0.2151
INTERACCIONES						
AB	0,00673	4	0,0016825	5,08137584	3,63308851	0.0202
RESIDUAL	0,00298	9	0,00033111			
Total	0,01962	19				

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010

En la Tabla 9 se presenta el Análisis de Varianza de pH para el suero dulce; después de su acondicionamiento, en ella se observa que existe diferencia altamente significativa, con un α 0,05% de significancia en los efectos principales: A (Temperatura), y la interacción AB (Temperatura/ Concentración). Haciendo una comparación entre los valores del fc y ft, los valores del fc son menores en relación al ft por lo cual se rechaza la hipótesis nula tanto para el efecto principal A (Temperatura) para la interacción (AB).

Tabla 10. Tukey para el nivel A (Temperatura).

Method: 95,0 percent Tukey HSD		
Temperaturas	Promedios	Grupos homogéneos
Ambiente	6,448	b
refrigeración	6,486	a

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010

En la tabla 10 mediante el análisis de la prueba de Tukey se observo que existe diferencia significativa (α 0,05%) para el Factor A (Temperatura); de las cuales la temperatura que contribuye a la disminución de pH es la temperatura

ambiente, a razón del criterio lo “mayor es lo mejor”. También pudiendo decir que el pH es inversamente proporcional a la temperatura.

Tabla 11. Tukey para la intersección A*B (Temperatura y Concentración de nisina).

		TUKEY =0,04117389									
		a0b4	a0b0	a0b3	a1b0	a0b1	a0b2	a1b1	a1b2	a1b3	a1b4
		6,415	6,445	6,45	6,45	6,465	6,465	6,475	6,48	6,51	6,515
a0b4	6,415	0	0,03	0,035	0,035	*0,05	*0,05	*0,06	*0,065	*0,095	* 0,1
a0b0	6,445		0	0,005	0,005	0,02	0,02	0,03	*0,035	*0,065	*0,07
a0b3	6,45			0	0	0,015	0,015	0,025	0,03	*0,06	*0,065
a1b0	6,45				0	0,015	0,015	0,025	0,03	*0,06	*0,065
a0b1	6,465					0	0	0,01	0,015	*0,045	*0,05
a0b2	6,465						0	0,01	0,015	*0,045	*0,05
a1b1	6,475							0	0,005	0,035	0,04
a1b2	6,48								0	0,03	0,035
a1b3	6,51									0	0,005
a1b4	6,515										0

*: Diferencia Significativa.

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010

Tabla 11 como se puede apreciar el análisis de la Prueba de Comparación Múltiple con diferencia significativa (α 0,05) para la interacción A*B. Los tratamientos que se destaca con el mas alto volar de pH es el tratamiento a1b4 (temperatura de refrigeración y una concentración de 250ppm de nisina) como también el a1b3 (temperatura de refrigeración y una concentración de 200ppm de nisina), el resto de tratamientos se los señala en la tabla con * correspondiente a la DMS encontrado en el test de Tukey.

Día 2

Tabla 12. Datos experimentales de pH de suero dulce de quesería en el día 2, tratados a temperatura ambiente (21⁰C) y a temperatura de refrigeración (4⁰C) con diferentes concentraciones de nisina.

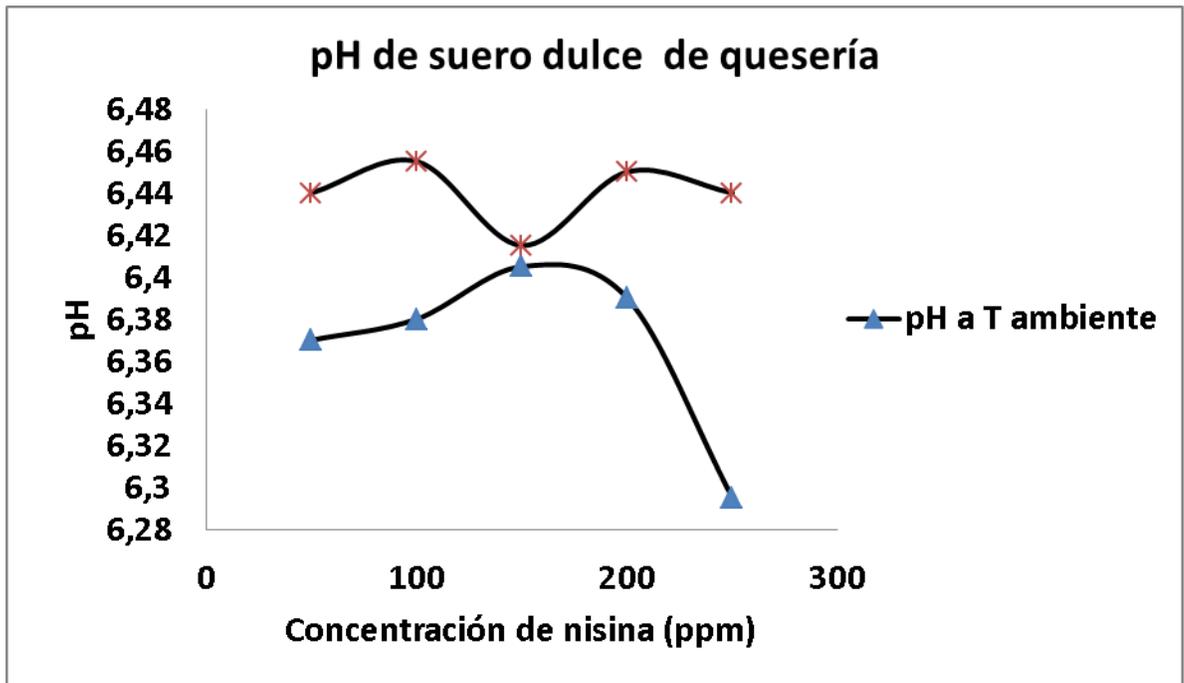
Tratamientos		Replicas		Promedio
		R1	R2	
T1	a0b0	6,39	6,35	6,37
T2	a0b1	6,36	6,4	6,38
T3	a0b2	6,38	6,43	6,405
T4	a0b3	6,40	6,38	6,39
T5	a0b4	6,28	6,31	6,295
T6	a1b0	6,45	6,43	6,44
T7	a1b1	6,44	6,47	6,455
T8	a1b2	6,4	6,43	6,415
T9	a1b3	6,42	6,48	6,45
T10	a1b4	6,43	6,45	6,44
Testigo (T. Ambiente)			Promedio	5.74
Testigo (T. Refrigeración)			Promedio	5.95

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010

En la tabla 12 se puede observar que los datos experimentales en día 2, los valores promedios de pH a variado detectando una baja de pH tanto para los tratamientos ya que el promedio de pH en el primer día a temperatura ambiente fue de 6,448 mientras que para este día es el promedio de 6,368 y a temperatura de refrigeración el valor promedio en el primer día es de 6,486 y por el día 2 es de 6,44 a las distintas concentraciones de nisina aun se encontraba se encuentra en rangos aceptables de pH ya que los valores citados por Pozo y Viera el pH va en un rango de 5.8 a 6.6. Al realizar una comparación entre los valores promedios de la muestra testigo se puede apreciar que la muestra tratada a temperatura de refrigeración aun se encontraba rangos aceptables de pH ya anteriormente mencionados mientras

que la muestra tratada a temperatura ambiente se encontraba fuera de los rangos de pH .

Gráfico 6. Promedio de pH de suero dulce de quesería en el día 2, tratados a temperatura ambiente (21°C) y a temperatura de refrigeración (4°C) con diferentes concentraciones de nisina.



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Como se puede apreciar en la figura 6 se identificó que empieza existir una diferencia entre las muestras trabajadas a temperatura de refrigeración y ambiente pudiendo estimar que los valores de pH que se trataron a temperatura de refrigeración con diferentes concentraciones de nisina tiene estabilidad en el pH, esto se dio por la acción de la nisina la cual actúa con mayor eficiencia a temperaturas bajas, en comparación con las muestras tratada a temperatura ambiente que hubo un descenso de pH de cuyo valor mayor fue de 6.40 perteneciente al T3 y el menor fue el T5 con un valor de 6.295.

Tabla 13. Análisis de varianza de pH de suero dulce de quesería en efecto combinado de temperatura (ambiente 21^oC y de refrigeración 4^oC) y concentraciones de nisina.

Variación de variación	SC	GL	CM	F c	Ft	P
EFFECTOS PRINCIPALES						
C:Replicas	0,00162	1	0,00162	2,92771084	5,11735501	0.1212
A: temperatura	0,02592	1	0,02592	46,8433735	5,11735501	0.0001
B: Concentración	0,00723	4	0,0018075	3,26656626	3,63308851	0.0648
INTERACCIONES						
AB	0,00933	4	0,0023325	4,21536145	3,63308851	0.0340
RESIDUAL	0,00498	9	0,00055333			
Total	0,04908	19				

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

En la Tabla 13 se presenta el Análisis de Varianza para el pH para el suero en el segundo día de experimentación; después de acondicionamiento, en ella se observo que existe diferencia significativa, con una α 0,05% de significancia en el efecto principal: el nivel A (temperatura) y la interacción AB (Temperatura/Concentración).

Tabla 14. Tukey para el nivel A (Temperatura)

Method: 95,0 percent Tukey HSD		
Temperatura	Promedios	Grupos homogéneos
Ambiente	6,368	b
Refrigeración	6,44	a

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010

En la Tabla 14 se observa que existe diferencia significativa (α 0,05%) al aplicar temperatura ambiente y refrigeración donde el menor valor promedio de pH es a temperatura ambiente ya que a esta temperatura se desarrolla mayor número de reacciones y es la temperatura ideal para el desarrollo de microorganismos, por lo cual existe mayor cantidad de ácido láctico porque al realizar su metabolismo emiten cantidades de ácido láctico.

Tabla 15. Tukey para la interacción AB (Temperatura/Concentración).

		TUKEY =0,05322656									
		a0b4	a0b0	a0b1	a0b3	a0b2	a1b2	a1b0	a1b4	a1b3	a1b1
		6,295	6,37	6,38	6,39	6,405	6,415	6,44	6,44	6,45	6,455
a0b4	6,295	0	*0,075	*0,085	*0,095	*0,11	*0,12	*0,145	*0,145	*0,155	*0,16
a0b0	6,37		0	0,01	0,02	0,035	0,045	0,07	*0,07	*0,08	*0,08
a0b1	6,38			0	0,01	0,025	0,035	0,06	*0,06	*0,07	*0,07
a0b3	6,39				0	0,015	0,025	0,05	0,05	*0,06	*0,06
a0b2	6,405					0	0,01	0,035	0,035	0,045	0,050
a1b2	6,415						0	0,025	0,025	0,035	0,04
a1b0	6,44							0	0	0,01	0,015
a1b4	6,44								0	0,01	0,015
a1b3	6,45									0	0,005
a1b1	6,455										0

*: Diferencia Significativa.

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010

En la Tabla 15 al desagregar la influencia mediante la prueba de Tukey se ha encontrado que la mejor combinación es la a1b1, es decir el tratamiento a temperatura de refrigeración y 100ppm. Esto en base al criterio “lo mayor es mejor” es decir que interesa el mayor valor promedio de pH, que precisamente en este caso es de 6.455.

Día 3

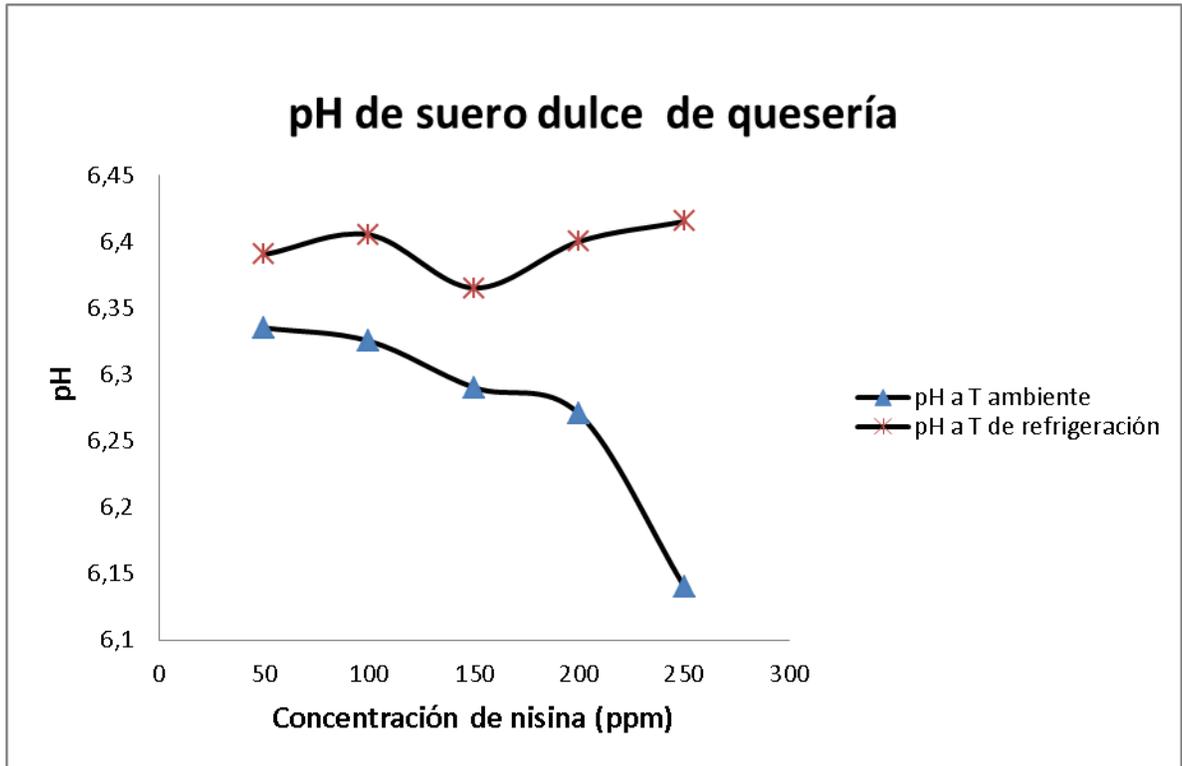
Tabla 16. Datos experimentales de pH de suero dulce de quesería en el 3 día, tratados a temperatura ambiente (21⁰C) y a temperatura de refrigeración (4⁰C) con diferentes concentraciones de nisina.

Tratamientos		Replicas		Promedio
		R1	R2	
T1	a0b0	6,32	6,35	6,335
T2	a0b1	6,36	6,29	6,325
T3	a0b2	6,28	6,3	6,290
T4	a0b3	6,25	6,29	6,270
T5	a0b4	6,15	6,13	6,140
T6	a1b0	6,37	6,41	6,390
T7	a1b1	6,39	6,42	6,405
T8	a1b2	6,41	6,32	6,365
T9	a1b3	6,4	6,4	6,400
T10	a1b4	6,44	6,39	6,415
Testigo (T. Ambiente)			Promedio	5.25
Testigo (T. Refrigeración)			Promedio	5.65

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010

En la tabla 16 se observó que las muestras de suero dulce a diferentes temperaturas y concentraciones de nisina aún se mantienen en rangos aceptables de pH y dentro de datos bibliográficos reportados por (Pozo Germán y Viera Mónica 1996) cuyos rangos van de 5.8 a 6.6 y los valores promedio de pH obtenidos en refrigeración es de 6,395 mientras que a temperatura ambiente es de 6,272. Con lo cual se afirma que están dentro de los rangos de aceptación anteriormente mencionados. Al realizar la comparación con las muestras testigos se puede apreciar que tanto a temperatura de refrigeración como temperatura ambiente se encuentran fuera de los rangos ya que tienen unos valores de pH de 5.25 y 5.65 y el rango mínimo aceptado es de 5.8.

Gráfico 7. Promedio de pH de suero dulce de quesería en el día 3, tratados a temperatura ambiente (21⁰C) y a temperatura de refrigeración (4⁰C) con diferentes concentraciones de nisina.



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

En el gráfico 7 se observó que los valores de pH de los tratamientos a temperatura de refrigeración con diferentes concentraciones de nisina mantienen aun una estabilidad de pH en el suero dulce, demostrando así que la nisina sigue actuando de manera efectiva ya que parámetro en análisis sigue rangos de aceptabilidad, mientras que las muestras de suero tratadas a temperatura ambiente siguen con una tendencia de descenso del pH de 6.335 el cual fue el valor más alto de pH del T1 y el más bajo valor es de 6.14, lo que nos indica que la acidez está en aumento en mayor proporción a temperatura ambiente ya que es directamente proporcional por ende su tiempo de vida útil será menor.

Tabla 17. Análisis de varianza de pH de suero dulce de quesería en efecto combinado de temperatura (ambiente 21⁰C y de refrigeración 4⁰C) y concentraciones de nisina.

Variación de variación	SC	GL	CM	F c	Ft	P
EFFECTOS PRINCIPALES						
C:Replicas	0,000245	1	0,000245	0,21191735	5,11735501	0.6562
A: temperatura	0,075645	1	0,075645	65,4305622	5,11735501	0.0000
B: Concentración	0,02003	4	0,0050075	4,33133109	3,63308851	0.0316
INTERACCION						
AB	0,03193	4	0,0079825	6,90461317	3,63308851	0.0079
RESIDUAL	0,010405	9	0,00115611			
Total	0,138255	19				

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

En la Tabla 17 se muestra el Análisis de Varianza para pH de suero dulce de quesería: después tratamiento de acondicionamiento, en ella se observa que existe diferencia altamente significativa, con un α 0,05%, en los efectos principales: A (Temperatura), B (Concentración), y las interacciones AB (Temperatura/ Concentración), por lo cual para los dos factores principales A y B y para la interacción AB se rechaza la hipótesis nula, ya que los valores de fc son mayores que ft.

Tabla 18. Prueba de Tukey para el Factor A (Temperatura)

 Method: 95,0 percent Tukey HSD

Temperatura Promedios Grupos Homogéneos

 Ambiente 6,272 b
 Refrigeración 6,395 a

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010

En la Tabla 18 se observó que existe diferencia significativa (α 0,05%) al factor A (Temperatura); de las cuales la temperatura que contribuye a la disminución de pH es la temperatura ambiente ya que existe un mayor número de reacciones y el desarrollo de microorganismos productores de ácido láctico lo cual contribuye en el descenso de pH.

Tabla 19. Prueba de Tukey para el Nivel B (Concentración de nisina)

Method: 95,0 percent Tukey HSD		
Concentraciones	Promedios	Grupos homogéneos
250ppm	6,2775	b
150ppm	6,3275	ba
200ppm	6,335	ba
50 ppm	6,3625	a
100ppm	6,365	a

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

La prueba de Tukey reportada en la tabla 19 permite observar desde una nueva perspectiva de la influencia de las concentraciones de nisina. En donde se observa un grupo homogéneos, conformado por las concentraciones de 100 ppm, 50ppm, 200ppm y de 150ppm, evidencian que existe una diferencia significativa ente la concentración de 250ppm con la concentración de 100 ppm. La concentración de 100 ppm sería la más aconsejable utilizar ya que mantiene un valor promedio de pH alto, pero también se podría utilizar la concentración de 50ppm, 100 ppm, 200 ppm y de 150 ppm que también tiene un promedio de pH que se encuentra dentro de valores reportados por referencias bibliográficas.

Tabla 20. Prueba de Tukey para la intersección A* B (Concentración de nisina)

		TUKEY =0.07693691									
		a0b4	a0b3	a0b2	a0b1	a0b0	a1b2	a1b0	a1b3	a1b1	a1b4
		6,14	6,27	6,29	6,325	6,335	6,365	6,39	6,4	6,405	6,415
a0b4	6,14	0	*0,13	*0,15	*0,185	*0,195	*0,225	*0,25	*0,26	*0,265	*0,275
a0b3	6,27		0	0,02	0,055	0,065	*0,095	*0,12	*0,13	*0,135	*0,145
a0b2	6,29			0	0,035	0,045	0,075	*0,1	*0,11	*0,115	*0,125
a0b1	6,325				0	0,01	0,04	0,065	0,075	*0,08	*0,09
a0b0	6,335					0	0,03	0,055	0,065	0,07	*0,08
a1b2	6,365						0	0,025	0,035	0,04	0,05
a1b0	6,39							0	0,01	0,015	0,025
a1b3	6,4								0	0,005	0,015
a1b1	6,405									0	0,01
a1b4	6,415										0
*: Diferencia Significativa.											

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Al desagregar la influencia mediante la prueba de Tukey en la tabla 20 se ha encontrado que la mejor combinación es la a_1b_4 , es decir el tratamiento correspondiente a temperatura de refrigeración y una concentración de 250ppm de nisina. Esto en base al criterio "lo mayor es mejor" es decir que interesa el más alto valor promedio de pH, que precisamente en este caso es de 6,415.

Día 4

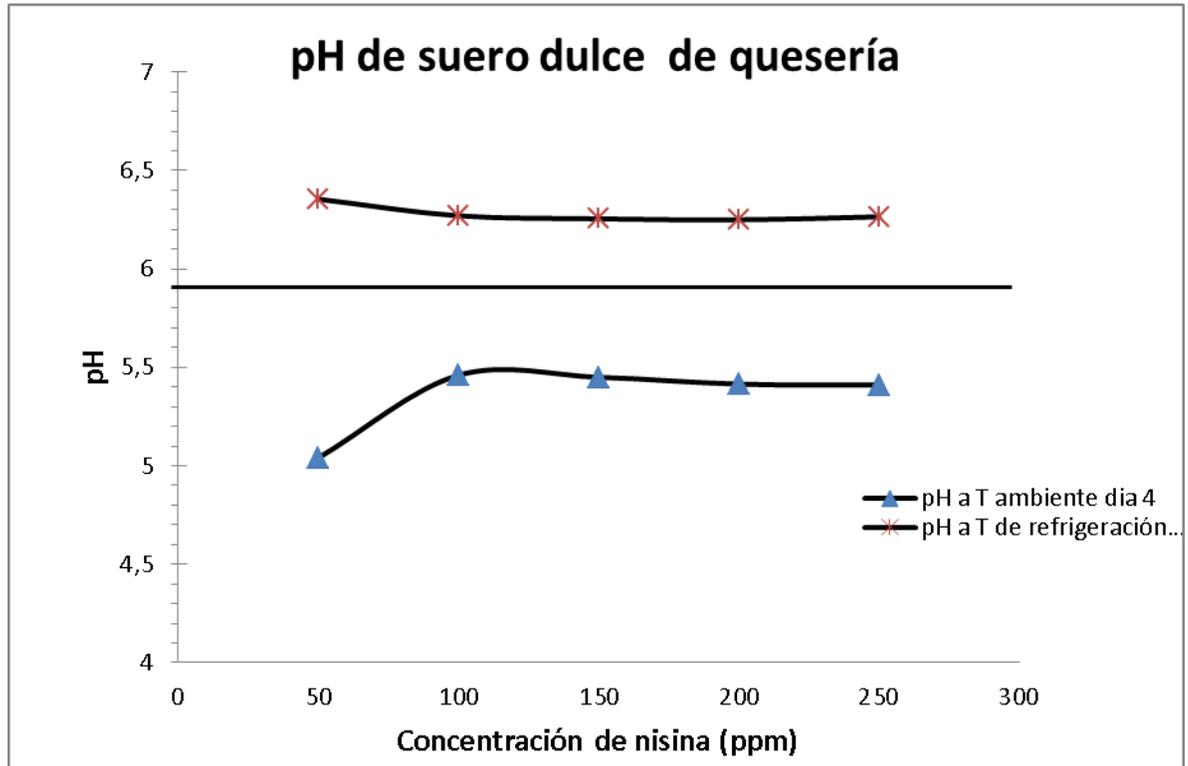
Tabla 21. Datos experimentales de pH de suero dulce de quesería en el cuarto día, tratados a temperatura ambiente (21⁰C) y a temperatura de refrigeración (4⁰C) con diferentes concentraciones de nisina.

Tratamientos		Replicas		Promedio
		R1	R2	
T1	a0b0	5,03	5,05	5,04
T2	a0b1	5,46	5,46	5,46
T3	a0b2	5,45	5,45	5,45
T4	a0b3	5,42	5,41	5,415
T5	a0b4	5,41	5,41	5,41
T6	a1b0	6.21	6.3	6.255
T7	a1b1	6,23	6,31	6,27
T8	a1b2	6,41	6,3	6,355
T9	a1b3	6,28	6,22	6,25
T10	a1b4	6,25	6,28	6,265
Testigo (T. Ambiente)			Promedio	4.40
Testigo (T. Refrigeración)			Promedio	5.35

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Mediante la interpretación de los datos reportados en la tabla 21, se ve que hubo un descenso del pH de los tratamientos que se los dejó a temperatura ambiente ya que se encuentran fuera de los rangos de pH que fueron reportados por (Pozo Germán y Viera Mónica 1996) cuyos rangos van de un valor de 5.8 a 6.6, mientras los que los tratamientos que fueron tratados a temperatura de refrigeración aun se encuentran dentro de los rangos de aceptación reportados en bibliografía. En lo que corresponde a las muestras testigos a las dos temperaturas los valores de pH están fuera de los rangos establecidos en bibliografía.

Gráfico 8. Promedio de pH de suero dulce de quesería en el día 4, tratados a temperatura ambiente (21⁰C) y a temperatura de refrigeración (4⁰C) con diferentes concentraciones de nisina.



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

En cuanto se puede evaluar del gráfico 8 donde se pudo observar que los tratamientos a temperatura de refrigeración y diferentes concentraciones de nisina se encuentran en los rangos aceptables ya que se encuentra sobre la línea donde el valor de pH mínimo que debe tener el suero dulce de quesería reportados en fuentes bibliográficas es de 5.8, mientras que al realizar una comparación con los tratamientos a temperatura ambiente se encuentra bajo de los límites de pH ya que se encuentran bajo la línea de límite de aceptación de rangos de pH lo que nos indica que el suero se encuentra demasiado ácido.

Tabla 22. Análisis de varianza de pH de suero dulce de quesería en efecto combinado de temperatura (ambiente 21⁰C y de refrigeración 4⁰C) y concentraciones de nisina.

Variación de variación	SC	GL	CM	F c	Ft	P
EFFECTOS PRINCIPALES						
C:Replicas	8E-05	1	8E-05	0,04580153	5,11735501	0.8353
A: temperatura	4,26888	1	4,26888	2444,01527	5,11735501	0.0000
B: Concentración	0,07402	4	0,018505	10,5944656	3,63308851	0.0019
INTERACCION						
AB	0,19272	4	0,04818	27,5839695	3,63308851	0.000
RESIDUAL	0,01572	9	0,00174667			
Total	4,55142	19				

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

La tabla 22 Análisis de Varianza para el pH, en ella se observa que existe diferencia significativa con un α 0,05%, encontrando diferencia significativa en los factores: A (Temperatura), B (Concentración) y la interacción A*B (Temperatura/Concentración). Se rechaza la hipótesis nula para los dos factores principales A y B y para la interacción AB por tener un valor de f_c mayor que el f_t .

Tabla 23 Prueba de Tukey para el Factor A (Temperatura)

Method: 95,0 percent Tukey HSD		
Temperatura	Promedios	Grupos homogéneos
Ambiente	5,355	b
Refrigeración	6,279	a

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

En la Tabla 23 se presenta la Prueba de Tukey para el Factor A (Temperatura), donde se puede apreciar que los tratamientos que tienen un valor promedio alto de pH a temperatura de refrigeración con un valor promedio de pH 6.279 tomando en cuenta el criterio el mayor es el mejor. La que también nos indica que la nisina actúa con mayor eficiencia a temperaturas bajas.

Tabla 24. Prueba de Tukey para el Nivel B (Concentración de nisina).

Method: 95,0 percent Tukey HSD		
Temperatura	Promedios	Grupos homogéneos
50 ppm	5,6975	b
200ppm	5,8325	a
250ppm	5,8375	a
150ppm	5,8525	a
100ppm	5,865	a

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

La prueba de Tukey reportada en la tabla 24, permite clarificar la influencia del efecto de la concentración. Así, observamos un rango homogéneo conformado por los niveles de concentración de 200ppm, 250ppm, 150ppm y 100ppm, pero la concentración de 50 ppm difiere del rango mencionado anteriormente. Nótese que la concentración de 50ppm es donde existe un bajo valor promedio de pH.

Tabla 25. Prueba de Tukey para la intersección A* B (Concentración de nisina).

		TUKEY=0,0945									
		a0b0	a0b4	a0b3	a0b2	a0b1	a1b3	a1b2	a1b4	a1b1	a1b0
		5,04	5,41	5,415	5,45	5,46	6,25	6,255	6,265	6,27	6,355
a0b0	5,04	0	*0,37	*0,375	*0,41	*0,42	*1,21	*1,215	*1,225	*1,23	*1,315
a0b4	5,41		0	0,005	0,04	0,05	*0,84	*0,845	*0,855	*0,86	*0,945
a0b3	5,415			0	0,035	0,045	*0,835	*0,84	*0,85	*0,85	*0,94
a0b2	5,45				0	0,01	*0,8	*0,805	*0,815	0,82	*0,905
a0b1	5,46					0	0,79	*0,795	*0,805	0,81	*0,895
a1b3	6,25						0	0,005	0,015	0,02	*0,105
a1b2	6,255							0	0,01	0,015	*0,1
a1b0	6,265								0	0,005	0,09
a1b1	6,27									0	0,085
a1b2	6,355										0

*: Diferencia Significativa.

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Al desagregar la influencia mediante la prueba de Tukey se ha encontrado que la mejor combinación es la a_1b_2 , es decir el tratamiento temperatura de refrigeración y una concentración de nisina de 50 ppm. Esto en base al criterio “lo mayor es mejor” es decir que interesa el mayor valor de pH cuyo valor promedio es 6,335 lo que esta dentro de de los rangos que se reporta en datos bibliográficos para suero dulce de quesería, como se muestra en la tabla 25.

Día 5

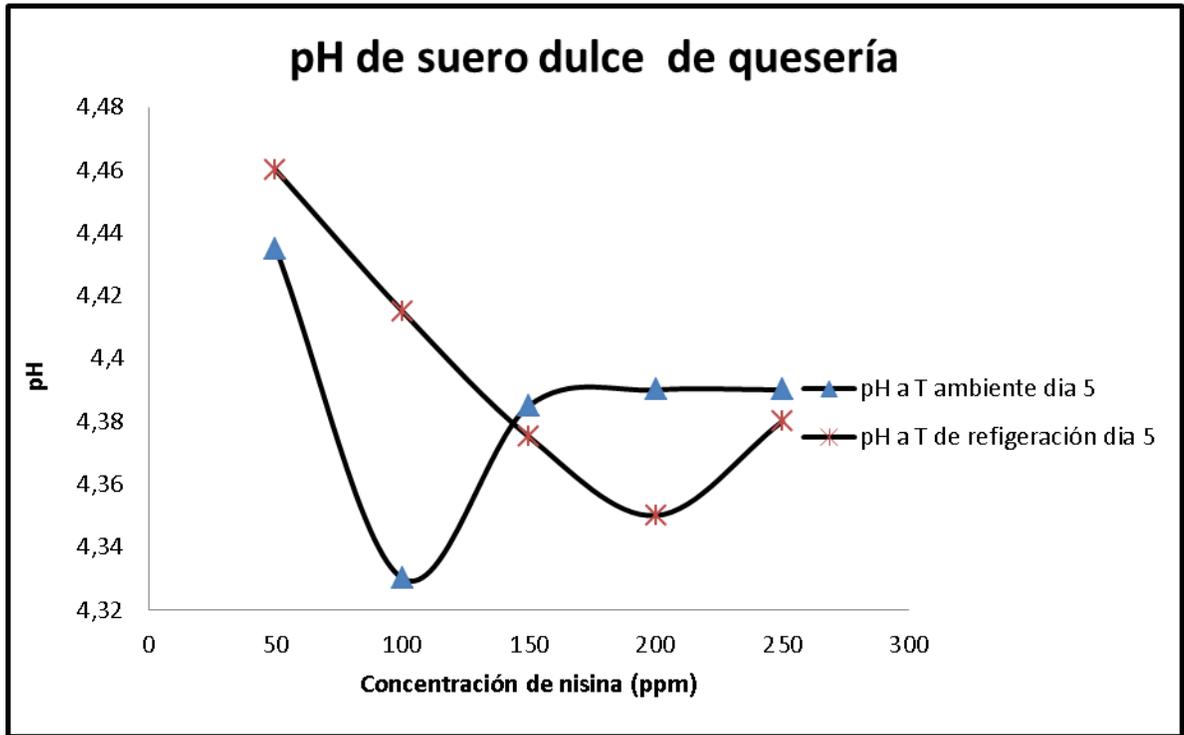
Tabla 26. Datos experimentales de pH de suero dulce de quesería en el quinto día, tratados a temperatura ambiente (21⁰C) y a temperatura de refrigeración (4⁰C) con diferentes concentraciones de nisina.

Tratamientos		Replicas		Promedio
		R1	R2	
T1	a0b0	4,46	4,41	4,435
T2	a0b1	4,31	4,35	4,330
T3	a0b2	4,4	4,37	4,385
T4	a0b3	4,35	4,43	4,390
T5	a0b4	4,33	4,45	4,390
T6	a1b0	4,47	4,45	4,460
T7	a1b1	4,43	4,4	4,415
T8	a1b2	4,38	4,37	4,375
T9	a1b3	4,35	4,35	4,350
T10	a1b4	4,38	4,38	4,380
Testigo (T. Ambiente)			Promedio	4.20
Testigo (T. Refrigeración)			Promedio	4.35

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Como se puede observar en la tabla 26 donde se pudo visualizar los datos experimentales obtenidos en el quinto día, se pudo apreciar que ninguno de los tratamientos tiene un valor promedio de pH ya que se el mayor valor pH es de 4.435 y al comparar con valores que se encuentran reportados en datos bibliográficos donde especifica un rango de pH de 5.8 a 6.6. Lo que nos indica que el efecto de la nisina se término por lo cual los valores de pH disminuyan hasta salirse de los rangos de aceptación reportados en datos bibliográficos.

Gráfico 9. Promedio de pH de suero dulce de quesería en el día 5, tratados a temperatura ambiente (21°C) y a temperatura de refrigeración (4°C) con diferentes concentraciones de nisina.



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

En el gráfico 9 se puede considerar que los valores de pH tanto para temperatura de refrigeración y ambiente a diferentes concentraciones de nisina (50ppm, 100ppm, 150ppm, 200ppm y 250ppm) están fuera de los rangos de aceptabilidad de pH, también se puede considerar que la nisina ya perdió su eficiencia en la conservación pero a la vez se puede expresar al realizar una comparación con el cuarto día de experimentación donde el poder de conservación de la nisina ayudo a que el pH del suero se mantenga dentro de los parámetros en comparación con las muestras testigos.

Tabla 27. Análisis de varianza de pH de suero dulce de quesería en efecto combinado de temperatura (ambiente 21⁰C y de refrigeración 4⁰C) y concentraciones de nisina.

Variación de variación	SC	GL	CM	F c	Ft	P
EFFECTOS PRINCIPALES						
C:Replicas	0,0005	1	0,0005	0,34351145	5,11735501	0.5722
A: temperatura	0,0005	1	0,0005	0,34351145	5,11735501	0.5727
B: Concentración	0,01653	4	0,0041325	2,83912214	3,63308851	0.0892
INTERACCION						
AB	0,00915	4	0,0022875	1,57156489	3,63308851	0.2628
RESIDUAL	0,0131	9	0,00145556			
Total	0,03978	19				

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

La tabla 27 Análisis de Varianza para el pH en el quinto día de experimentación, en ella se observa que no existe diferencia significativa con un α 0,05%, por lo cual no hay diferencia significativa en los factores principales: A (Temperatura), B (Concentración) ni en la interacción A*B (Temperatura/Concentración). Lo que conlleva aducir que no afecta al tratamiento la temperatura y concentración y por ende tampoco para la interacción, ya que los valores del f_c están dentro de los rangos del valor f_t por lo consiguiente se acepta las hipótesis nula donde se dice que no hay diferencia entre los tratamientos y su comportamiento es semejante en todo los factores y la interacción.

DIA 6

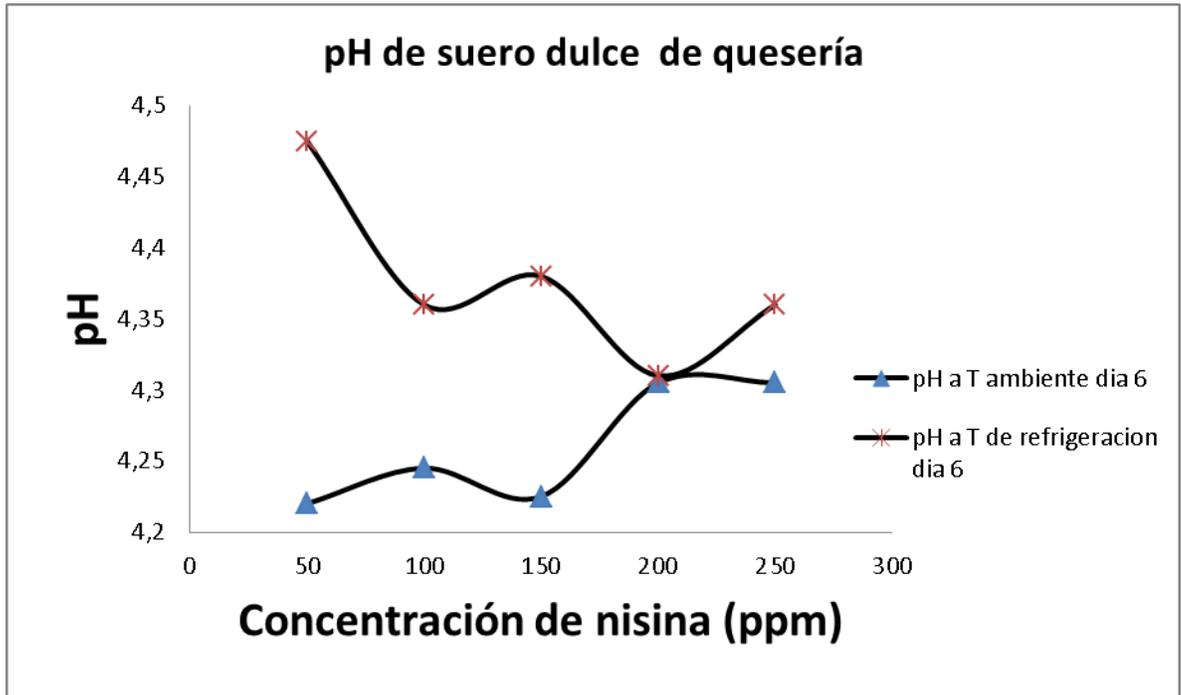
Tabla 28. Datos experimentales de pH de suero dulce de quesería en el día sexto, tratados a temperatura ambiente (21⁰C) y a temperatura de refrigeración (4⁰C) con diferentes concentraciones de nisina.

Tratamientos		Replicas		Promedio
		R1	R2	
T1	a0b0	4,22	4,22	4,22
T2	a0b1	4,29	4,2	4,245
T3	a0b2	4,22	4,23	4,225
T4	a0b3	4,36	4,25	4,305
T5	a0b4	4,3	4,31	4,305
T6	a1b0	4,46	4,49	4,475
T7	a1b1	4,42	4,3	4,36
T8	a1b2	4,38	4,38	4,38
T9	a1b3	4,31	4,31	4,31
T10	a1b4	4,35	4,37	4,36
Testigo (T. Ambiente)			Promedio	4.06
Testigo (T. Refrigeración)			Promedio	4.15

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Al igual que en tabla 26 en la tabla 28 se pudo visualizar y apreciar que ninguno de los tratamientos tiene un valor promedio de pH y no se encuentra dentro de rangos reportados bibliográficamente donde especifica un rango de pH de 5.8 a 6.6. Lo que nos indica que el efecto de la nisina se término por lo cual los valores de pH disminuyan hasta salirse de los rangos de aceptación reportados en bibliográficos.

Gráfico 10. Promedio de pH de suero dulce de quesería en el día 6, tratados a temperatura ambiente (21°C) y a temperatura de refrigeración (4°C) con diferentes concentraciones de nisina.



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

En el gráfico 10 se puede apreciar que los de pH graficados en función de la concentración ya son extremadamente bajos ya que el valor promedio tanto para los tratados a temperatura de refrigeración como ambiente es de 4,318 los cuales serían ideales para suero ácido en el cual el rango de aceptación se encuentran en un pH alrededor de 4.0 a 5.0 según datos bibliográficos reportados en el trabajo de (Pozo y Viera 1996) al igual que en otros autores. Para concluir se puede decir que el suero dulce con estos rangos de pH ya no serían útiles para la elaboración de algún tipo de producto alimenticio ya que afectaría el tiempo de vida útil del producto por su alta acidez.

Tabla 29. Análisis de varianza de pH de suero dulce de quesería en efecto combinado de temperatura (ambiente 21⁰C y de refrigeración 4⁰C) y concentraciones de nisina.

Variación de variación	SC	GL	CM	F c	Ft	P
EFFECTOS PRINCIPALES						
C:Replicas	0,003125	1	0,003125	1,88442211	5,11735501	0.2031
A: temperatura	0,068445	1	0,068445	41,2733668	5,11735501	0.0001
B: Concentración	0,00668	4	0,00167	1,00703518	3,63308851	0.2031
INTERACCION						
AB	0,03688	4	0,00922	5,55979899	3,63308851	0.0155
RESIDUAL	0,014925	9	0,00165833			
Total	0,130055	19				

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

En la Tabla 29 se presenta el Análisis de Varianza para pH del suero en el sexto día de experimentación, después de su acondicionamiento de temperaturas y concentraciones de nisina, se observa que existe diferencia significativa (α 0,05%) en los factores: A (Temperatura) y en la interacción de A*B (Temperatura/Concentración).

Tabla 30. Prueba de Tukey para el Factor A (Temperatura)

```

-----
Method: 95,0 percent Tukey HSD
Temperatura          Promedios      Grupos homogéneos
-----
Ambiente              4,26           b
Refrigeración        4,377         a
-----

```

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

En la Tabla 30 se observa que existe una diferencia significativa con un α 0,05 de significancia para el Factor A que corresponde a la temperatura (ambiente y refrigeración); de las cuales la que mejor valor promedio de pH es aplicando a temperatura de refrigeración.

Tabla 31. Prueba de Tukey para la intersección A* B (Concentración de nisina)

		TUKEY =0,0921									
		a0b0	a0b2	a0b1	a0b3	a0b4	a1b3	a1b1	a1b4	a1b2	a1b0
		4,22	4,225	4,245	4,305	4,305	4,31	4,36	4,36	4,38	4,475
a0b0	4,22	0	0,005	0,025	0,085	0,085	0,09	*0,14	*0,14	*0,16	*0,255
a0b2	4,225		0	0,02	0,08	0,08	0,085	*0,135	*0,135	*0,155	*0,25
a0b1	4,245			0	0,06	0,06	0,065	*0,115	*0,115	*0,135	*0,23
a0b3	4,305				0	0	0,005	0,055	0,055	0,075	*0,17
a0b4	4,305					0	0,005	0,055	0,055	0,075	*0,17
a1b3	4,31						0	0,05	0,05	0,07	*0,165
a1b1	4,36							0	0	0,02	*0,115
a1b4	4,36								0	0,02	*0,115
a1b2	4,38									0	*0,095
a1b0	4,475										0
*: Diferencia Significativa.											

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Tomando en cuenta el criterio “lo mayor es mejor”, nótese que la combinación a1b0, se obtienen el valores pH más alto de 4.475 pero aun este tratamiento no se encuentra dentro de rangos reportados en bibliografía por que nos indica que es suero está ya acidificado .

4.1.2 Análisis de Acidez

Acidez

La razón fundamental del empleo de la acidez titulable es el detectar la acidez de la leche o del suero y algunos métodos estándar la acidez se expresa incluso como porcentaje de ácido láctico, a pesar de que la leche fresca carece virtualmente del mismo. La acidez titulable de la mayoría de las leche fresca varían entre 14 y 21 mM, con una media de, aproximadamente, 17 y este rango no es adecuado para medir cantidades pequeñas de ácido láctico. **(Spreer E.1984)**

Ahora bien, un aumento en la acidez baja favorece la calidad de este suero, porque permite un mejor aprovechamiento de éste. La no-satisfacción de las especificaciones de calidad para las características físico-químicas del suero de leche puede determinar el destino último del subproducto para la producción de alimentos tanto para el consumo animal como humano. **(Miranda O, et-al 2007).**

Fórmula utilizada para calcular la cantidad de ácido láctico en %.

$$\% \text{Acido láctico} = \frac{(\text{ml gastados de NaOH}) * 0.09 * 100}{n}$$

Donde:

0.09= es el equivalente del peso en milisegundos de ácido láctico.

ml gastados de NaOH = 0.1 N.

n= peso de la muestra

4.1.2.1 Comportamiento de la Acidez a través de los días

Día 1

Tabla 32. Datos experimentales de Acidez en porcentaje (%) de ácido láctico del suero dulce de quesería en el primer día, tratados a temperatura ambiente (21⁰C) y a temperatura de refrigeración (4⁰C) con diferentes concentraciones de nisina.

Tratamientos		Replicas		Promedio
		R1	R2	
T1	a0b0	0,225	0,234	0,230
T2	a0b1	0,207	0,225	0,216
T3	a0b2	0,199	0,195	0,197
T4	a0b3	0,195	0,193	0,194
T5	a0b4	0,198	0,207	0,203
T6	a1b0	0,180	0,192	0,186
T7	a1b1	0,190	0,193	0,192
T8	a1b2	0,198	0,166	0,182
T9	a1b3	0,198	0,193	0,196
T10	a1b4	0,207	0,195	0,201
Testigo (T. Ambiente)			Promedio	0.288
Testigo (T. Refrigeración)			Promedio	0.225

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

SIMBOLOGÍA:

Factor A: Temperatura

Nivel a0 = Ambiente

Nivel a1 = Refrigeración

Factor B: Concentración de Nisina

Nivel b0 =50ppm

Nivel b1=100ppm

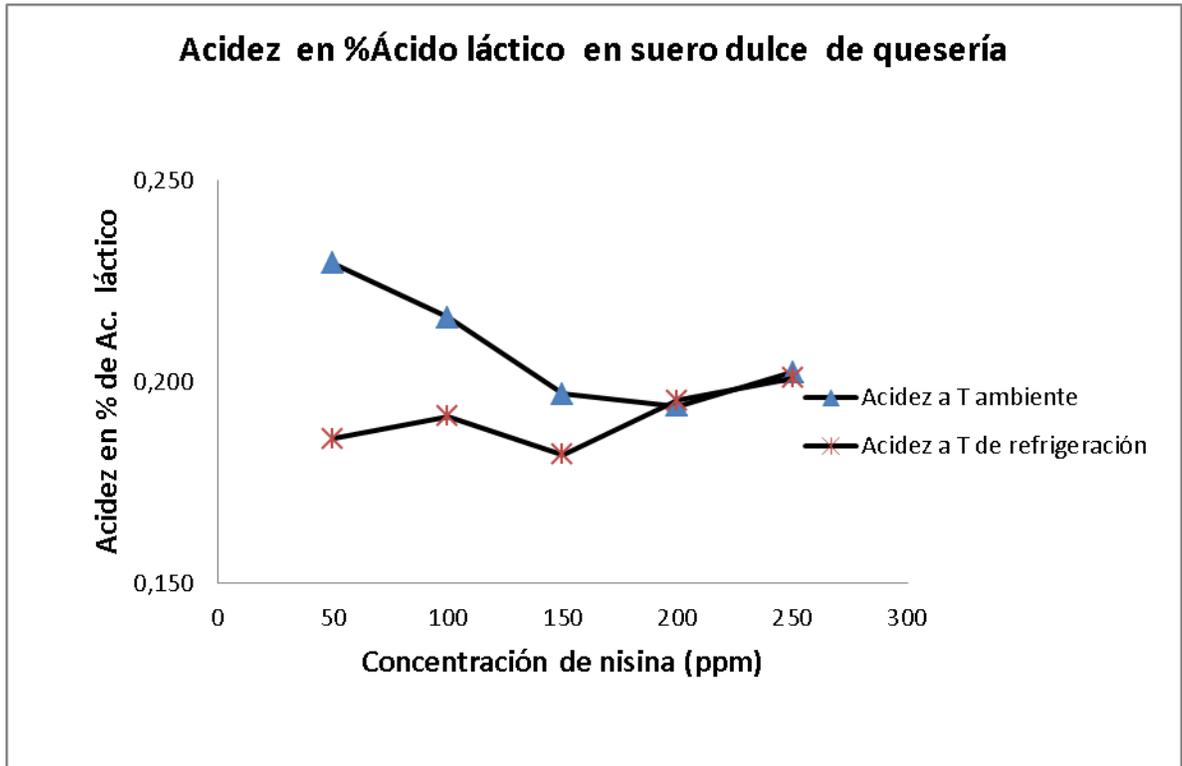
Nivel b2=150ppm

Nivel b3=200ppm

Nivel b4=250 ppm

Los valores obtenidos para acidez en porcentaje ácido láctico para el suero dulce se encuentran reportado en la tabla 32 para los 10 tratamientos analizadas con su respectiva réplica, valores que varían entre 0.186 a 0.230.

Gráfico 11. Acidez promedio en % de ácido láctico de suero dulce de quesería en el día 1, tratados a temperatura ambiente (21°C) y a temperatura de refrigeración (4°C) con diferentes concentraciones de nisina.



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Como se puede observar los valores de acidez expresado en porcentaje de ácido láctico tanto para los tratamientos ajustados a temperatura de refrigeración y ambiente y con la adición de las diferentes concentraciones de nisina, tienen valores similares entre ellos ya que se trata del primer día de experimentación, indicado en gráfico 11.

Tabla 33. Análisis de varianza de la acidez del suero dulce de quesería en efecto combinado de temperatura (ambiente 21⁰C y de refrigeración 4⁰C) y concentraciones de nisina.

Variación de variación	SC	GL	CM	F c	Ft	P
EFFECTOS PRINCIPLES						
C:Replicas	8E-07	1	8E-07	0,0077821	5,11735501	0.9316
A: temperatura	0,0013778	1	0,0013778	13,4027237	5,11735501	0.0052
B: Concentración	0,000855	4	0,00021375	2,07928016	3,63308851	0.1663
INTERACCION						
AB	0,000855	4	0,00021375	2,07928016	3,63308851	0.0647
RESIDUAL	0,0013442	4	0,00033605	3,26896887	3,63308851	
Total	0,0009252	9	0,0001028			
	0,004503	19				

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Mediante el análisis de los datos arrojados del análisis de varianza para la acidez del suero dulce en el día 1, se pudo apreciar que existe diferencia significativa (α 0,05%) en los factores: A (Temperatura) y en la interacción de A*B (Temperatura/Concentración). Como se lo reporta en la tabla 33.

Tabla 34 Prueba de Tukey para el Factor A (Temperatura)

Method: 95,0 percent LSD		
Temperatura	Promedios	Grupos homogéneos

Refrigeración	0,1912	b
Ambiente	0,2078	a

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

En la Tabla 34 se observa que existe una diferencia significativa con un α 0,05% de significancia para el Factor A que corresponde a las temperatura

(ambiente y refrigeración); de las cuales la que menor valor promedio de acidez expresado en % ácido láctico es la que se mantiene a temperatura de refrigeración.

Día 2

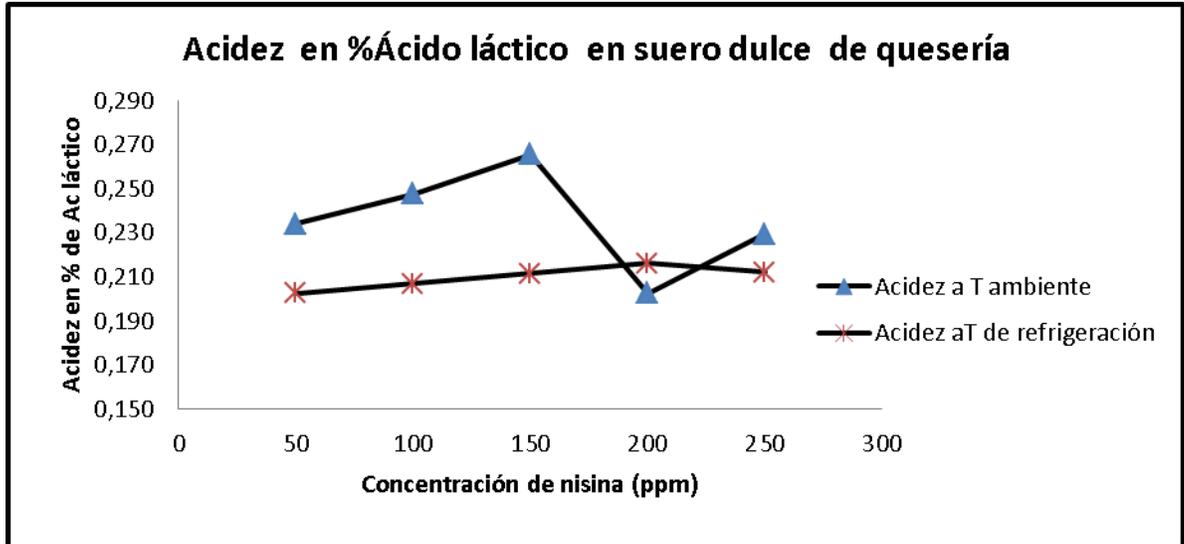
Tabla 35. Datos experimentales de Acidez en porcentaje (%) de ácido láctico del suero dulce de quesería en el día 2, tratados a temperatura ambiente (21⁰C) y a temperatura de refrigeración (4⁰C) con diferentes concentraciones de nisina.

Tratamientos		Replicas		Promedio
		R1	R2	
T1	a0b0	0,225	0,243	0,234
T2	a0b1	0,270	0,225	0,248
T3	a0b2	0,270	0,261	0,266
T4	a0b3	0,180	0,225	0,203
T5	a0b4	0,234	0,225	0,230
T6	a1b0	0,216	0,189	0,203
T7	a1b1	0,189	0,225	0,207
T8	a1b2	0,180	0,243	0,212
T9	a1b3	0,207	0,225	0,216
T10	a1b4	0,208	0,216	0,212
Testigo (T. Ambiente)			Promedio	0.405
Testigo (T. Refrigeración)			Promedio	0.360

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Los valores de Acidez de suero dulce en estudio se encuentran expresados en porcentaje de ácido láctico, se halla valores entre 0.203 hasta 0,266, analizando con los valores que se obtuvieron en el primer día se observa que existe un acenso mínimo de 0,0234% de ácido láctico de segundo día de experimentación.

Gráfico 12. Acidez promedio en % de ácido láctico de suero dulce de quesería en el día 2, tratados a temperatura ambiente (21⁰C) y a temperatura de refrigeración (4⁰C) con diferentes concentraciones de nisina.



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Como se puede apreciar en la gráfica 12 donde la acidez ha tomado un aumento de 0,0234% de ácido láctico además se puede identificar que la acidez de los tratamientos a temperatura ambiente tiene valores de acidez superiores.

Tabla 36. Análisis de varianza de la acidez del suero dulce de quesería en efecto combinado de temperatura (ambiente 21⁰C y de refrigeración 4⁰C) y concentraciones de nisina.

Variación de variación	SC	GL	CM	F c	Ft	P
EFFECTOS PRINCIPALES						
C:Replicas	0,0004802	1	0,0004802	0,86804049	5,11735501	0.3758
A: temperatura	0,00338	1	0,00338	6,109906	5,11735501	0.0355
B: Concentración	0,0018992	4	0,0004748	0,8582791	3,63308851	0.5239
INTERACCION						
AB	0,002657	4	0,00066425	1,20074114	3,63308851	0.3745
RESIDUAL	0,0049788	9	0,0005532			
Total	0,0133952	19				

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

En la Tabla 36 se presenta el Análisis de Varianza de la acidez del suero; donde se estudia la variabilidad de la acidez en los tratamientos debido a varios factores, en donde se determino que los factores tiene efecto estadísticamente significativo a un nivel de significancia de $\alpha = 0.05\%$ en el efecto principal: A (Temperatura).

Tabla 37. Prueba de Tukey para el Factor A (Temperatura).

Method: 95,0 percent Tukey HSD		
Temperaturas	Promedios	Grupos homogéneos

Refrigeración	0,2098	b
Ambiente	0,2358	a

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

En la Tabla 37 se observa que existe una diferencia significativa ($\alpha 0,05$) entre las temperatura ambiente y refrigeración, siendo la que menor valor de acidez, luego de aplicar los diferentes tratamientos de acondicionamiento es la temperatura de refrigeración.

Día 3

Tabla 38. Datos experimentales de Acidez en porcentaje (%) de ácido láctico del suero dulce de quesería en el día 1, tratados a temperatura ambiente (21⁰C) y a temperatura de refrigeración (4⁰C) con diferentes concentraciones de nisina.

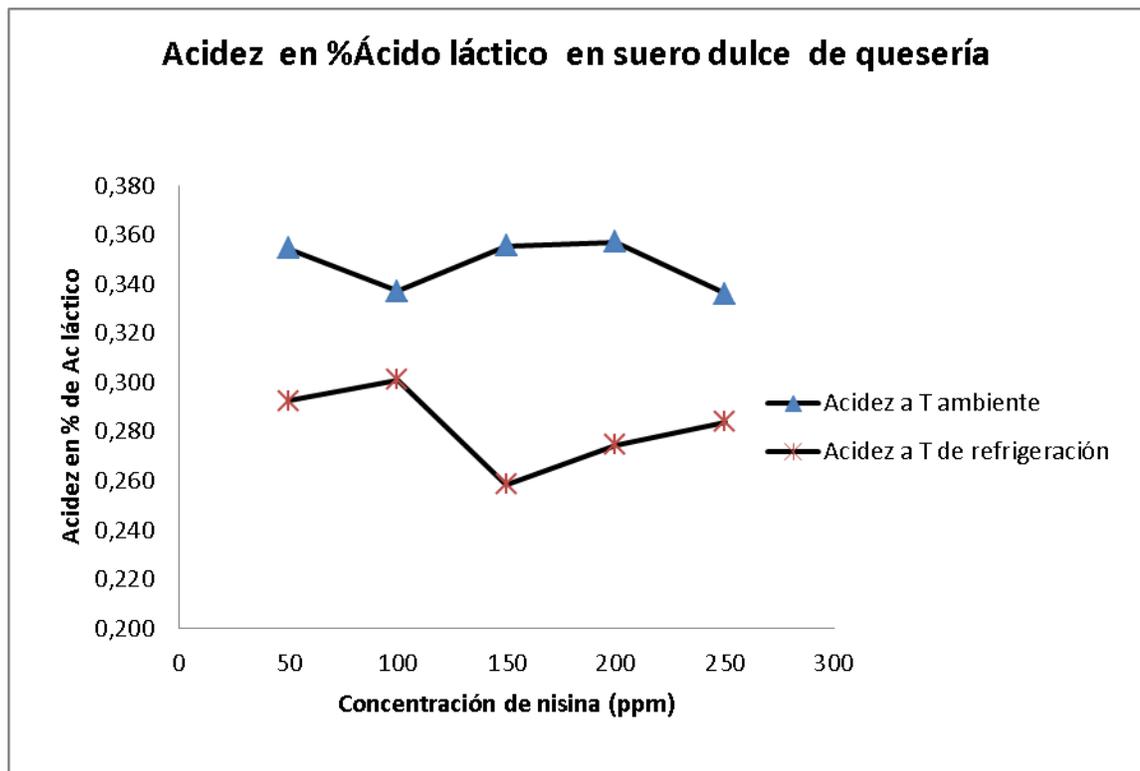
Tratamientos		Replicas		Promedio
		R1	R2	
T1	a0b0	0,367	0,342	0,355
T2	a0b1	0,341	0,333	0,337
T3	a0b2	0,360	0,351	0,356
T4	a0b3	0,355	0,359	0,357
T5	a0b4	0,360	0,312	0,336
T6	a1b0	0,296	0,289	0,293
T7	a1b1	0,307	0,295	0,301
T8	a1b2	0,250	0,267	0,259
T9	a1b3	0,271	0,278	0,275
T10	a1b4	0,281	0,287	0,284
Testigo (T. Ambiente)			Promedio	0.513
Testigo (T. Refrigeración)			Promedio	0.477

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Realizando un análisis minucioso se puede estimar en la tabla 38, donde se muestran los valores de acidez los cuales se tienen una tendencia de incremento a través del transcurso del tiempo pudiendo observarse que el valor mínimo de acidez expresada en porcentaje de ácido láctico es de 0.259 que corresponde al tratamiento a1b2, mientras que el valor más alto de acidez corresponde al 0,357 correspondiente al tratamiento a0b3. Mostrándose así que las concentraciones altas de Nisina ayudan de manera más efectiva en la conservación del suero. A nivel de refrigeración, el efecto de la Nisina es mucho más fuerte ya que no muestra hay un aumento brusco de acidez, ya que se

encuentran estables entre todas las muestras, lo que denota que para este día los tratamientos a temperatura de refrigeración se encuentran muy bien conservados mediante la combinación de temperaturas bajas (4°C) con la adición de Nisina, extendiendo más aún el tiempo de vida útil.

Gráfico 13. Acidez promedio en % de ácido láctico de suero dulce de quesería en el día 3, tratados a temperatura ambiente (21°C) y a temperatura de refrigeración (4°C) con diferentes concentraciones de nisina.



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Se puede observar de manera más precisa que los valores de la acidez ya empiezan a notarse una diferencia bien marcada entre los tratamientos pudiendo apreciar que el tratamiento que presenta menor acidez es a concentración de 150 ppm de nisina a temperatura de refrigeración cuyo valor de acidez es de 0.259. Lo que se puede apreciar en el gráfico 13.

Tabla 39. Análisis de varianza de la acidez de suero dulce de quesería en efecto combinado de temperatura (ambiente 21⁰C y de refrigeración 4⁰C) y concentraciones de nisina.

Variación de variación	SC	GL	CM	F c	Ft	P
EFFECTOS PRINCIPLES						
C:Replicas	0,0002812	1	0,0002812	1,63596704	5,1173550	0.2329
A: temperatura	0,0217140	1	0,02171405	126,305671	5,11735501	0,0000
B: Concentración	0,0007112	4	0,0001778	1,03422201	3,63308851	0.4407
INTERACCION						
AB	0,0023452	4	0,0005863	3,41037324	3,6330885	0.0584
RESIDUAL	0,0015472	9	0,0001719			
Total	0,0265989	19				

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

En la tabla 39 se reporta el análisis de varianza para el suero en el tercer día, pudiendo identificar que existe diferencia significativa, con un α 0,05% de significancia en el efecto principal: A (Temperatura).

Tabla 40. Prueba de Tukey para el Factor A (Temperatura)

```

-----
Method: 95,0 percent Tukey HSD
Temperatura      Promedios  Grupos  Homogén
-----
Refrigeración   0,2821           b
Ambiente        0,348           a
-----

```

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

En la Tabla 40 se observó que existe diferencia significativa (α 0,05%) al factor A (Temperatura); de las cuales la temperatura que contribuye en el asenso de la acidez del suero, tratadas a temperatura ambiente tiene un promedio de acidez de 0.348 mientras que a temperatura de refrigeración es de 0.2821

pudiendo concluir que a la temperatura en donde presenta el menor acenso de la acidez es a temperatura de refrigeración.

Día 4

Tabla 41. Datos experimentales de Acidez en % de ácido láctico del suero dulce de quesería en el día 4, tratados a temperatura ambiente (21⁰C) y a temperatura de refrigeración (4⁰C) con diferentes concentraciones de nisina.

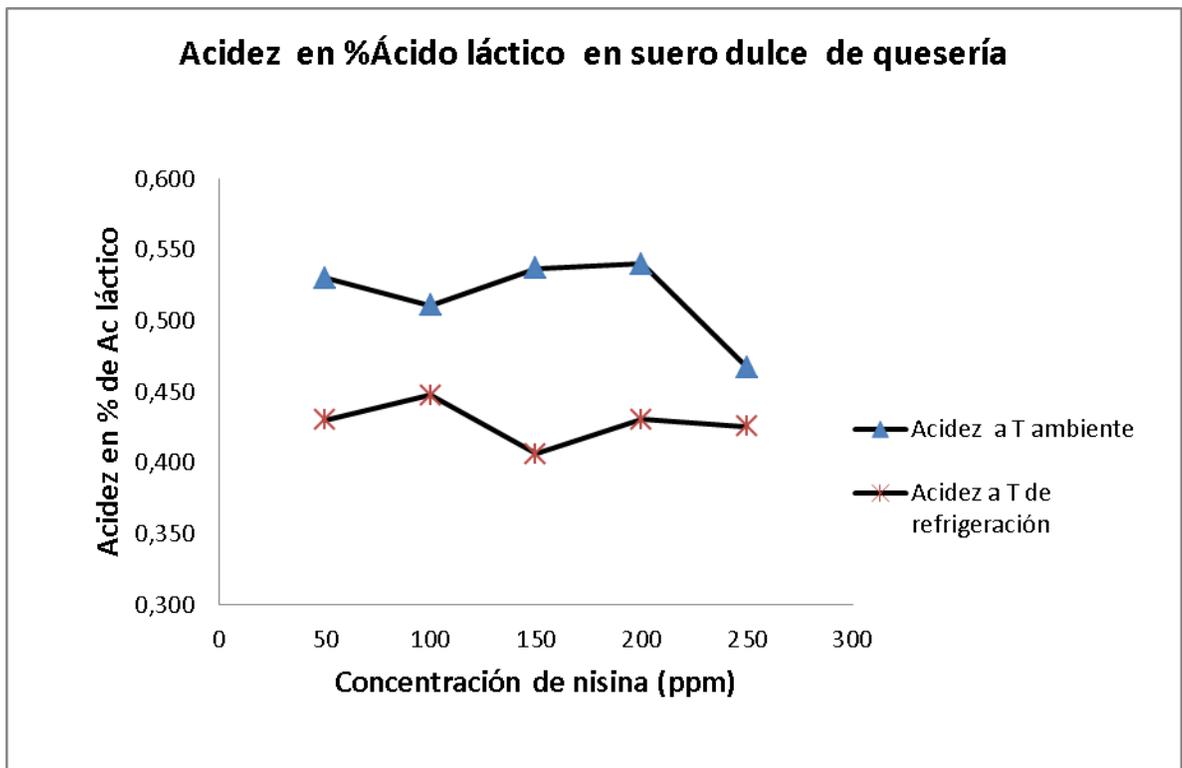
Tratamientos		Replicas		Promedio
		R1	R2	
T1	a0b0	0,540	0,520	0,530
T2	a0b1	0,517	0,505	0,511
T3	a0b2	0,532	0,542	0,537
T4	a0b3	0,536	0,544	0,540
T5	a0b4	0,495	0,439	0,467
T6	a1b0	0,429	0,431	0,430
T7	a1b1	0,426	0,469	0,448
T8	a1b2	0,423	0,389	0,406
T9	a1b3	0,436	0,425	0,431
T10	a1b4	0,425	0,426	0,426
Testigo (T. Ambiente)			Promedio	0.603
Testigo (T. Refrigeración)			Promedio	0.585

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

En la tabla 41 se puede apreciar que los valor de acidez reportada en porcentaje de ácido láctico va de un valor de 0.406 hasta 0.540, además se puedo identificar que los valores más altos de acidez se presenta en los tratamientos que se a trabajo a temperatura ambiente a acepción del tratamiento a0b4, haciendo una comparación la acidez del primer día de experimentación con los datos presentados de la tabla 43 se puede decir que la acidez ha venido en acenso y al realizar comparación con datos reportados en bibliografía que dice que los valores de acidez representada para el suero

dulce va en un rango de 0.1a 0.2 para el suero dulce y de 0.2 a 0.4 para suero medio ácido según (Pozo Germán y Viera Mónica 1996) . Tomando como referencia a los rangos de acidez de 0.2 a 0.4 para suero medio ácido.

Gráfico 14. Acidez promedio en % de ácido láctico de suero dulce de quesería en el día 4, tratados a temperatura ambiente (21⁰C) y a temperatura de refrigeración (4⁰C) con diferentes concentraciones de nisina.



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010

En la presente gráfica se puede identificar que en suero dulce de quesería, los valores del parámetro acidez expresada en porcentaje de ácido láctico, donde se aprecia que la solamente el tratamiento a1b2 correspondiente a una temperatura de refrigeración y una concentración de 150 ppm de nisina, tiene un valor de acidez que se encuentra cercano de los rangos de acidez

reportados en bibliografía donde dice que el valor de acidez para el valor de la acidez 0.37% según (Ron Fernando: 1997).

Tabla 42. Análisis de varianza de la acidez del suero dulce de quesería en efecto combinado de temperatura (ambiente 21°C y de refrigeración 4°C) y concentraciones de nisina.

Variación de variación	SC	GL	CM	F c	Ft	P
EFFECTOS PRINCIPALES						
C:Replicas	0,0002380	1	0,0002380	0,65932696	5,1173550	0.4377
A: temperatura	0,0396940	1	0,0396940	109,94059	5,1173550	0.0000
B: Concentración	0,0038177	4	0,0009544	2,64347043	3,6330885	0.1040
INTERACCION						
AB	0,0052117	4	0,0013029	3,6087107	3,6330885	0.05008
RESIDUAL	0,0032494	9	0,0003610			
Total	0,0522109	19				

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

En la Tabla 42 se presenta el Análisis de Varianza de color para el suero dulce después de tratamiento de Acondicionamiento, en ella se observa que existe diferencia significativa (α 0,05%) en el factores principales A (Temperatura).

Tabla 43. Prueba de Tukey para el Factor A (Temperatura)

Method: 95,0 percent Tukey HSD		
Temperaturas	Promedios	Grupos homogéneos

Refrigeración	0,4279	b
Ambiente	0,517	a

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010

Como es el caso de la prueba de Tukey para el factor de temperatura se aprecia que la temperatura en que existe un mayor aumento de la acidez es a

temperatura ambiente, tomando en cuenta el criterio “lo mejor es el valor menor” la temperatura de refrigeración es la temperatura más apropiada. Como se puede apreciar en la tabla 43.

Día 5

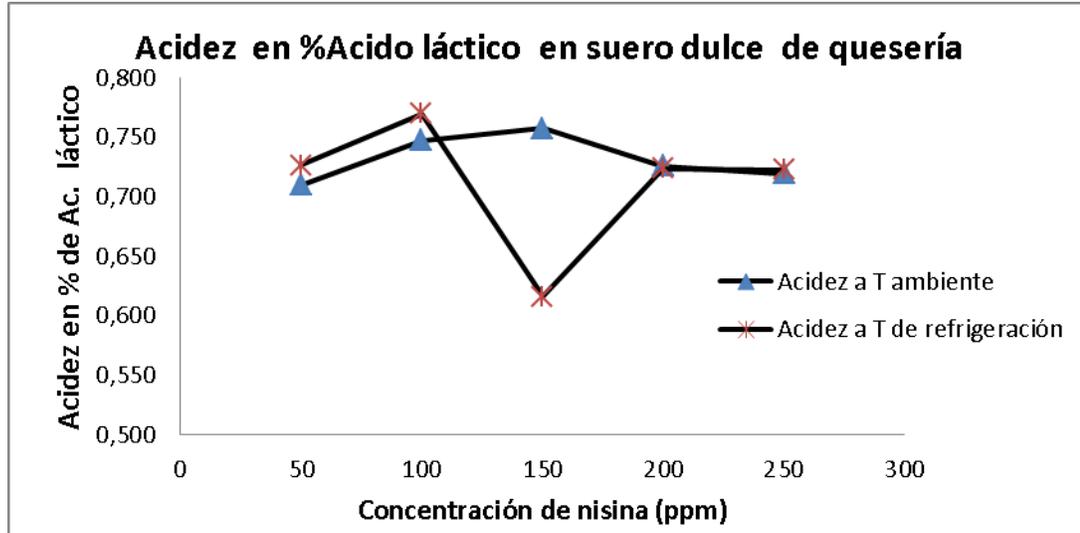
Tabla 44. Datos experimentales de Acidez en porcentaje (%)de ácido láctico del suero dulce de quesería en el día 5, tratados a temperatura ambiente (21⁰C) y a temperatura de refrigeración (4⁰C) con diferentes concentraciones de nisina.

Tratamientos		Replicas		Promedio
		R1	R2	
T1	a0b0	0,745	0,675	0,710
T2	a0b1	0,720	0,775	0,748
T3	a0b2	0,725	0,790	0,758
T4	a0b3	0,732	0,720	0,726
T5	a0b4	0,654	0,785	0,720
T6	a1b0	0,715	0,738	0,727
T7	a1b1	0,712	0,828	0,770
T8	a1b2	0,610	0,622	0,616
T9	a1b3	0,715	0,732	0,724
T10	a1b4	0,710	0,736	0,723
Testigo (T. Ambiente)			Promedio	0.765
Testigo (T. Refrigeración)			Promedio	0.648

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010

En la tabla 44 se puede apreciar los valores de Acidez en % de ácido láctico teniendo datos que van de una acidez desde 0.616 a un valor de 0.758, cuyos valores se encuentran fuera de los rangos establecidos según bibliografía de 0.2 a 0.4 para suero medio ácido (Pozo Germán y Viera Mónica 1996) .

Gráfico 15. Acidez promedio en % de ácido láctico de suero dulce de quesería en el día 5, tratados a temperatura ambiente (21⁰C) y a temperatura de refrigeración (4⁰C) con diferentes concentraciones de nisina.



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

En la gráfica 15 se puede observar que los rangos de acidez en el suero dulce son demasiados altos.

Tabla 45. Análisis de varianza de acidez de suero dulce de quesería en efecto combinado de temperatura (ambiente 21⁰C y de refrigeración 4⁰C) y concentraciones de nisina.

Variación de variación	SC	GL	CM	F c	Ft	P
EFFECTOS PRINCIPALES						
C:Replicas	0,0065703	1	0,0065703	3,76850646	5,1173550	0.0837
A: temperatura	0,0020706	1	0,0020706	1,18763249	5,1173550	0.3052
B: Concentración	0,0104619	4	0,0026154	1,50015415	3,6330885	0.2809
INTERACCION						
AB	0,0187469	4	0,0046867	2,68815228	3,6330885	0.1002
RESIDUAL	0,0156913	9	0,0017434			
Total	0,0535411	19				

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

En la Tabla 45 se presenta el Análisis de Varianza para la acidez del suero dulce de quesería: después tratamiento de acondicionamiento, en ella se observa que existe diferencia altamente significativa, con un α 0,05%.

Día 6

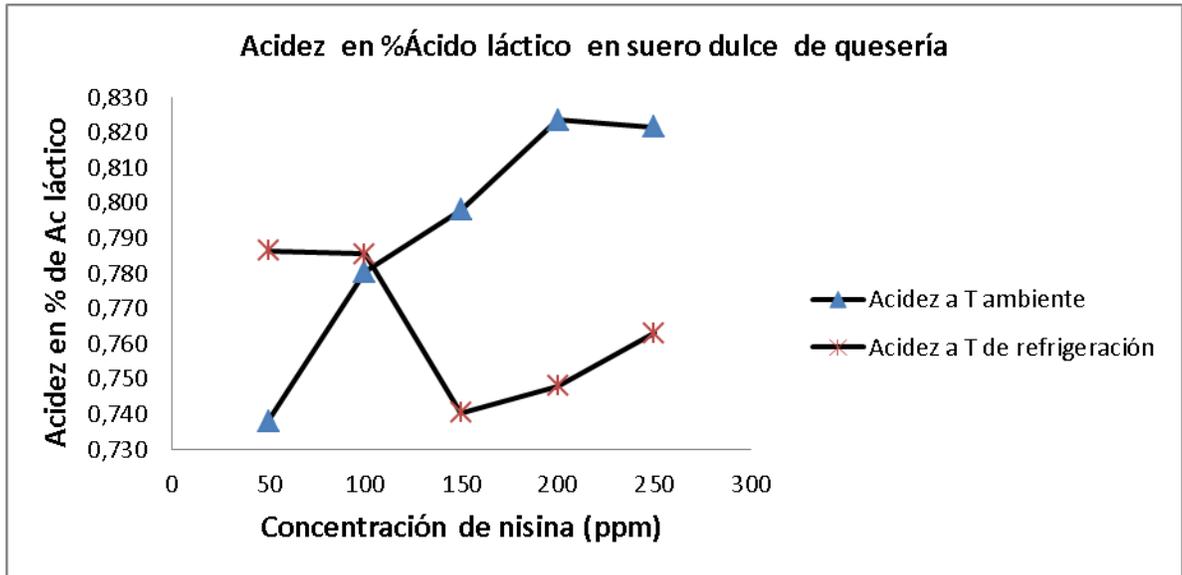
Tabla 46. Datos experimentales de Acidez en % de ácido láctico del suero dulce de quesería en el día 6, tratados a temperatura ambiente (21⁰C) y a temperatura de refrigeración (4⁰C) con diferentes concentraciones de nisina.

Tratamientos		Replicas		Promedio
		R1	R2	
T1	a0b0	0,756	0,720	0,738
T2	a0b1	0,765	0,796	0,781
T3	a0b2	0,786	0,810	0,798
T4	a0b3	0,810	0,837	0,824
T5	a0b4	0,855	0,788	0,822
T6	a1b0	0,819	0,754	0,787
T7	a1b1	0,746	0,825	0,786
T8	a1b2	0,736	0,745	0,741
T9	a1b3	0,732	0,764	0,748
T10	a1b4	0,764	0,762	0,763
Testigo (T. Ambiente)			Promedio	0.9
Testigo (T. Refrigeración)			Promedio	0.77

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Al igual que en la tabla 46 se puede apreciar que los valores de acidez para el suero dulce en el sexto día de experimentación reportados en la tabla 48, los valores de acidez en porcentaje de ácido láctico están fuera de los rangos de aceptación ya que los de acidez sobrepasan los rangos para suero ácido que van de 0.4 a 0.6 (Pozo Germán y Viera Mónica 1996)

Gráfico 16. Acidez promedio en % de ácido láctico de suero dulce de quesería en el día 6, tratados a temperatura ambiente (21⁰C) y a temperatura de refrigeración (4⁰C) con diferentes concentraciones de nisina.



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Como se puede apreciar en la presente gráfica los valores de la acidez para todos los tratamientos es extremadamente alto lo que nos indica que el poder de conservación de la nisina ya no cumple con su función.

Tabla 47. Análisis de varianza de pH de suero dulce de quesería en efecto combinado de temperatura (ambiente 21⁰C y de refrigeración 4⁰C) y concentraciones de nisina.

Variación de variación	SC	GL	CM	F c	Ft	P
EFFECTOS PRINCIPLES						
C:Replicas	5,12E-05	1	5,12E-05	0,04720441	5,11735501	
A: temperatura	0,0038088	1	0,0038088	3,51156549	5,11735501	
B: Concentración	0,002446	4	0,0006115	0,56377922	3,63308851	
INTERACCION						
AB	0,0109972	4	0,0027493	2,53474769	3,63308851	
RESIDUAL	0,0097618	9	0,001084644			
Total	0,027065	19				

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Se puede apreciar en la Tabla 47 el Análisis de Varianza para la acidez del suero dulce de quesería: después tratamiento de acondicionamiento donde se puede considerar que no existe diferencia altamente significativa hablando estadísticamente, con un α 0,05%.

4.1.3 Análisis UFC

- UFC

Se realizaron las siembras microbiológicas en medio de cultivo PCA (Plate Count Agar), para mesófilos aerobios totales en una diluciones (10^{-2}) con duplicados. Incubando las placas durante 48 horas a una temperatura de $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ para hacer el conteo tomando en cuenta solo las placas que presentaron entre 25 a 250 unidades formadoras de colonia.

Permite determinar el número de microorganismos presentes en una muestra en base a que se desarrollen en medio de cultivo, en placa, formando colonias. Por lo tanto se determinan por este método sólo las células microbianas viables en las condiciones de trabajo (nutrientes, atmósfera, temperatura).

Frazier W (1986). Como las colonias pueden originarse tanto de una célula como de un grupo de células, se utiliza el término: Unidades formadoras de colonia (ufc) para expresar el resultado. Además, a los efectos de que todas las células que están en una placa tengan una adecuada disponibilidad de nutrientes, y que la incertidumbre del método sea menor, se establece que las condiciones óptimas de recuento se dan cuando desarrollan entre 25 y 250 colonias por placa en medios no selectivos (otros autores indican 30 a 300) para recuento de bacterias y levaduras.

Si fuera posible y necesario se puede repetir el recuento para obtener placas con un número de colonias óptimas.

Cuando la leche se “agria “suele considerarse alterada, especialmente si se cuaja, aunque éstos son precisamente los fenómenos de los que se hacen para la fabricación de feches fermentadas y quesos.

La formación de ácido se manifiesta inicialmente por el olor y sabor agrio y la coagulación de la leche, que produce una cuajada consistencia gelatinosa o más débil, que libera un suero claro. La fermentación láctica tiene lugar en general cuando se lo deja durante algún tiempo a la temperatura ambiente.

Los gérmenes lácteos causantes de esta fermentación puede ser homofermentativos, que producen casi exclusivamente ácido láctico y cantidades mínimas de otras sustancias: ácido acético, dióxido de carbono y otros productos volátiles; o heterofermentativos, que producen a más de ácido láctico, cantidades apreciables de productos volátiles.

El agriado de la leche o el suero a temperaturas entre 10 y 37⁰C, generalmente es causada por el *Streptococcus lactis*, un germen homofermentativo, ayudado quizá por gérmenes coliformes, microcos, lactobacilos y enterococos, a temperaturas superiores (entre 37 y 50⁰C), el *S. thermophilus* y *S. faecalis* producen alrededor del 1% de ácido láctico, acción puede continuar los lactobacilos, tales como *Lactobacillus bulgaricus*, que acidifican mucho.

4.1.3.1 Crecimiento de m/o a través de los días

Día 1

Tabla 48. Datos experimentales de recuentos de UFC en muestras de suero dulce de quesería en el primer día, tratados a temperatura ambiente (21⁰C) y a temperatura de refrigeración (4⁰C) con diferentes concentraciones de nisina.

Tratamientos		Replicas		Promedio
		R1	R2	
T1	a0b0	4600	3900	4250
T2	a0b1	4500	4300	4400
T3	a0b2	4200	4200	4200
T4	a0b3	4300	3800	4050
T5	a0b4	4300	3900	4100
T6	a1b0	3700	3400	3550
T7	a1b1	4100	3700	3900
T8	a1b2	3500	3700	3600
T9	a1b3	3600	4300	3950
T10	a1b4	4600	4800	4700
Testigo (T. Ambiente)			Promedio	4150
Testigo (T. Refrigeración)			Promedio	3950

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

SIMBOLOGÍA:

Factor A: Temperatura

Nivel a0 = Ambiente

Nivel a1 = Refrigeración

Factor B: Concentración de Nisina

Nivel b0 =50ppm

Nivel b1=100ppm

Nivel b2=150ppm

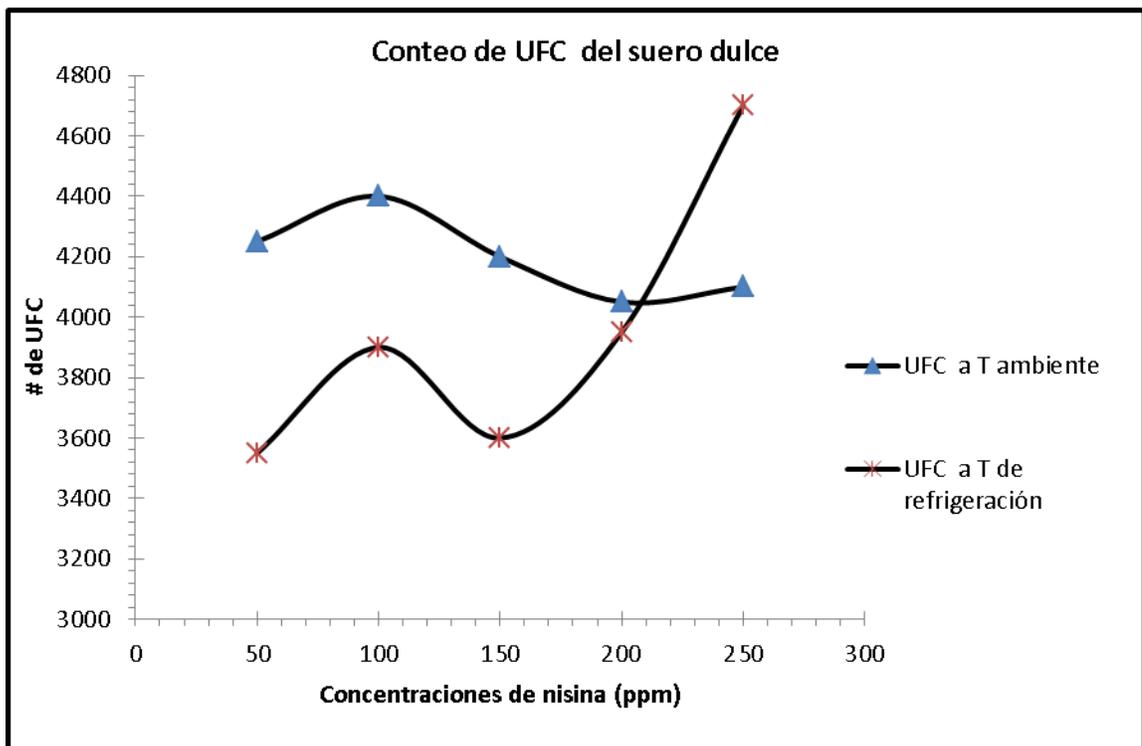
Nivel b3=200ppm

Nivel b4=250 ppm

En la tabla 48 se pudo observar el número inicial de unidades formadoras de colonias en el suero dulce de quesería, pudiendo darse cuenta que el número

de UFC para todos los tratamientos son casi similares e incluso en las muestras testigos las cuales los cuales no forman parte del diseño experimental empleado en la experimentación. Realizando una comparación en el número UFC en el primer día, se detecto que se encuentra en un rango que va desde 3550 a 4700 (UFC).

Gráfico 17. Datos experimentales de recuento de UFC en muestras de suero dulce de quesería en el primer día, tratados a temperatura ambiente (21°C) y a temperatura de refrigeración (4°C) con diferentes concentraciones de nisina.



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

En la gráfica 18 se puede identificar de mejor forma el número de UFC presente en cada uno de los tratamientos para poder irnos dando cuenta cómo va incrementando el número de microorganismo en los tratamientos de acuerdo al transcurso del tiempo en los diferentes tratamientos.

Tabla 49. Análisis de varianza de recuento de UFC de suero dulce de quesería en efecto combinado de temperatura (ambiente 21⁰C y de refrigeración 4⁰C) y concentraciones de nisina.

Variación de variación	SC	GL	CM	F c	Ft	P
EFFECTOS PRINCIPLES						
C:Replicas	98000	1	98000	1,12787724	5,11735501	0.3159
A: temperatura	338000	1	338000	3,89002558	5,11735501	0.0800
B: Concentración	712000	4	178000	2,04859335	3,63308851	0.1708
INTERACCION						
AB	1132000	4	283000	3,25703325	3,63308851	0.0652
RESIDUAL	782000	9	86888,8889			
Total	3062000	19				

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

En la tabla 49 que corresponde al Análisis de Varianza de recuento de UFC para el primer día, donde observamos que los factores de estudio (Temperatura y Concentración de Nisina) no presentan diferencia significativa demostrando que todos los tratamientos tienen un comportamiento similar, con un α 0,05%.

Día 3

Tabla 50. Datos experimentales de recuento de UFC en muestras de suero dulce de quesería en el tercer día, tratados a temperatura ambiente (21⁰C) y a temperatura de refrigeración (4⁰C) con diferentes concentraciones de nisina.

Tratamientos		Replicas		Promedio
		R1	R2	
T1	a0b0	5800	5500	5650
T2	a0b1	5100	6300	5700
T3	a0b2	7300	7900	7600
T4	a0b3	6900	4700	5800
T5	a0b4	6200	5500	5850
T6	a1b0	4600	4900	4750
T7	a1b1	5800	6700	6250
T8	a1b2	5400	6100	5750
T9	a1b3	4400	5500	4950
T10	a1b4	3900	4800	4350
Testigo (T. Ambiente)			Promedio	Incontable
Testigo (T. Refrigeración)			Promedio	8250

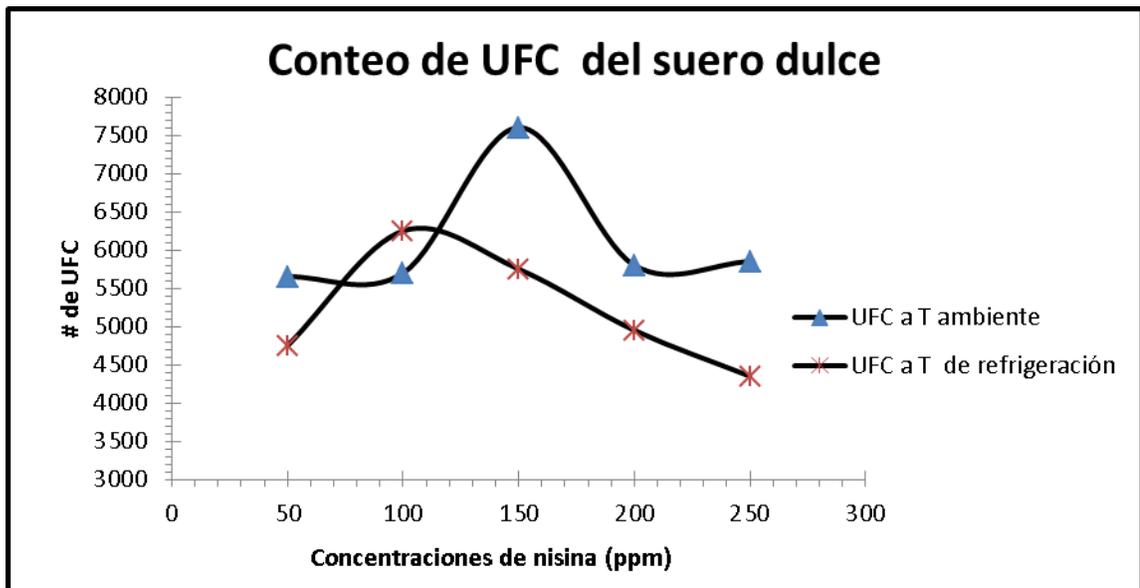
Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

En la tabla 50, se puede notar que el número de UFC en el tercer día existe un incremento significativa a comparación del primer día de experimentación donde se hallaba con un rango de 3550 a 4700 (UFC), mientras que para el tercer día va en un rango de 4350 a 5850 (UFC), pudiéndose notar que el número de unidades formadoras de colonias se encuentran en mayor número en los tratamientos que se trabajo a temperatura ambiente, en cuanto a las muestras testigo a temperatura ambiente el contaje de UFC son incontables ya que a esta determinada temperatura los microorganismos encuentran las condiciones ideales para su crecimiento, desarrollo y reproducción, en lo concerniente a la muestra testigo de a tempera de refrigeración tiene 8250 (UFC) cuyo valor de unidades formadoras de colonia es extremadamente altos

a comparación de los tratamientos a la misma temperatura pero con la adición del bioconservante en diferentes concentraciones.

Lo cual nos indica el poder de conservación de la nisina ya que el principal problema de la utilización del suero dulce de quesería es que se debe utilizarse pocas horas después de su obtención, ya que es un alimento altamente perecedero por su misma composición.

Gráfico 18. Datos experimentales de recuento de UFC en muestras de suero dulce de quesería en el primer día, tratados a temperatura ambiente (21°C) y a temperatura de refrigeración (4°C) con diferentes concentraciones de nisina.



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

En la gráfica 18 se puede observar de manera didáctica e identificar de manera rápida el tratamiento que tiene un mayor número de UFC como es el caso de tratamiento a0b3 que se trata del tratamiento acondicionado a temperatura ambiente y una concentración de 150ppm, mientras que el tratamiento a1b4 que corresponde una concentración de 250ppm y a temperatura de refrigeración.

Tabla 51. Análisis de varianza para el recuento de UFC del suero dulce de quesería en efecto combinado de temperatura (ambiente 21°C y de refrigeración 4°C) y concentraciones de nisina.

Variación de variación	SC	GL	CM	F c	Ft	P
EFFECTOS PRINCIPLES						
C:Replicas	312500	1	312500	0,56221889	5,11735501	0.4725
A: temperatura	4140500	1	4140500	7,44917541	5,11735501	0.0233
B: Concentración	6943000	4	1735750	3,12278861	3,63308851	0.0720
INTERACCION						
AB	3367000	4	841750	1,5143928	3,63308851	0.2773
RESIDUAL	5002500	9	555833,333			
Total	19765500	19				

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010

Mediante los datos de análisis de varianza para el conteo de UFC, se identifica que existe diferencia significativa estadísticamente para el factor principal A (temperatura), ya que el fc es mayor que el ft por lo cual se rechaza la hipótesis nula para este factor. Con un α 0,05%.

Tabla 52. Prueba de Tukey para el Factor A (Temperatura)

```

-----
Method: 95,0 percent Tukey HSD
Temperatura      Promedios      Grupos homogéneo
-----
Refrigeración   5210,0         b
Ambiente        6120,0         a
-----

```

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010

En la tabla 52 se reporta la prueba de Tukey para el efecto de la temperatura, con la cual nos permite clarificar su influencia en el desarrollo de microorganismos por lo tanto también un incremento en el número unidades

formadoras de colonias, bajo el criterio lo “menor es lo mejor” los tratamientos que tienen el menor número de UFC es a temperatura de refrigeración ya que presenta un valor promedio menor en comparación a la de temperatura ambiente que presenta un valor promedio alto.

Día 5

Tabla 53. Datos experimentales de conteo de UFC en muestras de suero dulce de quesería en el quinto día, tratados a temperatura ambiente (21⁰C) y a temperatura de refrigeración (4⁰C) con diferentes concentraciones de nisina.

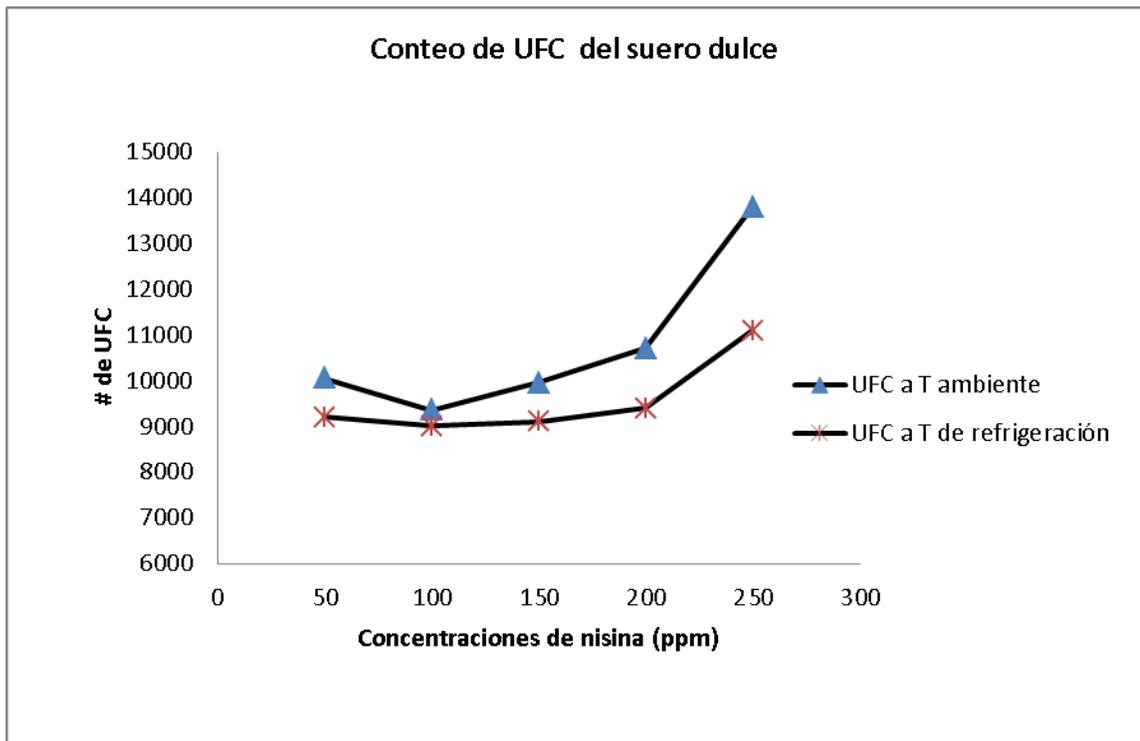
Tratamientos		Replicas		Promedio
		R1	R2	
T1	a0b0	10000	10100	10050
T2	a0b1	8400	10300	9350
T3	a0b2	9300	10600	9950
T4	a0b3	10200	11200	10700
T5	a0b4	13500	14100	13800
T6	a1b0	9300	9100	9200
T7	a1b1	8900	9100	9000
T8	a1b2	9200	9000	9100
T9	a1b3	9300	9500	9400
T10	a1b4	11000	11200	11100
Testigo (T. Ambiente)			Promedio	Incontable
Testigo (T. Refrigeración)			Promedio	Incontable

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Observando los datos que se presenta en la tabla 53 se puede valorar que el número de UFC se ha incrementado en doble en comparación con el tercer día, pudiendo identificar que los tratamientos que cuenta con un menor número de UFC son los tratamientos a1b0, a1b1, a1b2 y a0b1. Haciendo una comparación entre los parámetros de acidez en porcentaje de ácido láctico y pH se puede apreciar que el tratamiento a1b2 se encuentra en rangos de aceptables de

estos parámetros según datos bibliográficos reportados, y concuerda que este tratamiento contiene la menor cantidad de unidades formadoras de colonias no se puede realizar una comparación de UFC con datos bibliográficos ya que no se existen estudios realizados, lo que nos indica que existe concordancia en los datos presentados en el presente proyecto.

Gráfico 19. Datos experimentales de recuento de UFC en muestras de suero dulce de quesería en el primer día, tratados a temperatura ambiente (21°C) y a temperatura de refrigeración (4°C) con diferentes concentraciones de nisina.



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

En el gráfico 19 se puede apreciar la diferencia que se presenta entre los tratamientos acondicionados a temperatura de refrigeración y a temperatura ambiente, pudiendo decir que el menor número de UFC que se presenta es a temperatura de refrigeración.

Tabla 54. Análisis de varianza para el recuento de UFC del suero dulce de quesería en efecto combinado de temperatura (ambiente 21°C y de refrigeración 4°C) y concentraciones de nisina.

Variación de variación	SC	GL	CM	F c	Ft	P
EFFECTOS PRINCIPALES						
C:Replicas	1300500	1	1300500	5,48348559	5,11735501	0.0439
A: temperatura	7320500	1	7320500	30,8664793	5,11735501	0.0004
B: Concentración	27663000	4	6915750	29,1598735	3,63308851	0.0000
INTERACCION						
AB	3227000	4	806750	3,4016163	3,63308851	0.0588
RESIDUAL	2134500	9	237166,667			
Total	41645500	19				

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

En la tabla 54 que corresponde al análisis de varianza para el recuento de UFC en los diferentes tratamientos, en lo que se refiere a su análisis de varianza se puede observar que si existe diferencia significativa entre los tratamientos a $\alpha = 0.05\%$ de significancia, para los factores principales; A (temperatura), B (concentraciones) y C (replicas).

Tabla 55. Prueba de Tukey para el Factor A (Temperatura)

```

-----
Method: 95,0 percent Tukey HSD
Temperatura      Promedios      Grupos homog
-----
Refrigeración    9560,0          b
Ambiente         10770,0         a
-----

```

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

En la tabla 55 se puede identificar mediante la Prueba de Tukey para el Factor A (Temperatura) se pudo identificar que la temperatura en que menor número de UFC se presenta es a temperatura de refrigeración en comparación a la temperatura ambiente.

Tabla 56. Prueba de Tukey para el Factor B (Concentración).

Method: 95,0 percent Tukey HSD		
Concentraciones	Promedios	Grupos homogé

100ppm	9175,0	b
150ppm	9525,0	b
50 ppm	9625,0	b
200ppm	10050,0	b
250ppm	12450,0	a

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

La prueba de Tukey reportada en tabla 56, permite clarificar la influencia del efecto de la concentración. Así, observamos un rango homogéneo conformado por los niveles de concentración son; 100ppm, 150ppm, 50ppm y 200 ppm y la concentración de 100ppm difiere de 250ppm de nisina. Nótese que la concentración de 250ppm es donde existe un alto valor promedio de UFC.

Tabla 57. Prueba de Tukey para el Factor C (Replicas)

Method: 95,0 percent Tukey HSD		
Replicas	Promedios	Grupos homogé

R1	9910,0	b
R2	10420,0	a

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

En la tabla 57 se puede identificar mediante la Prueba de Tukey para el Factor C (Replicas) se pudo identificar en la R2 tiene un valor promedio de UFC mayor en relación a la R1. Esto se pudo haber dado al momento de tomar la muestra para la siembra.

4.1.3 Análisis de vida útil

Singh (2000). La vida útil (VU) es un período en el cual, bajo circunstancias definidas, se produce una tolerable disminución de la calidad del producto. La calidad engloba muchos aspectos del alimento, como sus características físicas, químicas, microbiológicas, sensoriales, nutricionales y referentes a inocuidad. En el instante en que alguno de estos parámetros se considera como inaceptable el producto ha llegado al fin de su vida útil

Brody (2003). Este período depende de muchas variables en donde se incluyen tanto el producto como las condiciones ambientales y el empaque. Dentro de las que ejercen mayor peso se encuentran la temperatura, pH, actividad del agua, humedad relativa, radiación (luz), concentración de gases, potencial redox, presión y presencia de iones

Charm (2007). La VU se determina al someter a estrés el producto, siempre y cuando las condiciones de almacenamiento sean controladas. Se pueden realizar las predicciones de VU mediante utilización de modelos matemáticos (útil para evaluación de crecimiento y muerte microbiana), pruebas en tiempo real (para alimentos frescos de corta vida útil) y pruebas aceleradas (para alimentos con mucha estabilidad) en donde el deterioro es acelerado y posteriormente estos valores son utilizados para realizar predicciones bajo condiciones menos severas.

Para predecir la VU de un producto es necesario en primer lugar identificar y/o seleccionar la variable cuyo cambio es el que primero identifica el consumidor meta como una baja en la calidad del producto (**Brody, 2003**), por ejemplo, en algunos casos esta variable puede ser la rancidez, cambios en el color, sabor o textura, pérdida de vitamina C o inclusive la aparición de poblaciones inaceptables de microorganismos. Posteriormente es necesario analizar la cinética de la reacción asociada a la variable seleccionada, que depende en gran medida de las condiciones ambientales. Es importante recalcar que la VU no es función del tiempo en sí, sino de las condiciones de almacenamiento del

producto y los límites de calidad establecidos tanto por el consumidor como por las normas que rigen propiamente los alimentos (**Labuza, 1982**).

4.1.3.1 Análisis de vida útil en el suero dulce de quesería

Tabla 58. Datos experimentales de tiempos de vida útil para suero dulce de quesería, tratado a temperatura ambiente (21⁰C) y a temperatura de refrigeración (4⁰C) con diferentes concentraciones de nisina.

Tratamientos		Vida útil del suero dulce (Días).		
		Acidez	pH	Recuento de UFC.
T1	a0b0	2,30	2,40	2.55
T2	a0b1	2,30	2,50	2.51
T3	a0b2	2,32	2,60	2.82
T4	a0b3	2,20	2,51	2.45
T5	a0b4	2,29	2,45	2.65
T6	a1b0	2,80	3,28	2.78
T7	a1b1	2,75	3,20	3.25
T8	a1b2	3,00	3,30	3.43
T9	a1b3	2,8	3,20	3.18
T10	a1b4	2,91	3,25	3.22
Testigo (T. Ambiente)		1.00	0.90	
Testigo (T. Refrigeración)		1.30	1.40	

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

En la tabla 58. Se puede apreciar los tiempo de vida útil (días) de los 10 tratamientos, la metodología que se utilizó para este cálculo fue mediante gráficas en Excel en el caso de los parámetros de acidez y pH para la determinación de la vida útil mediante el recuento de UFC se considero el método propuesto por Alvarado (1996). El suero dulce de quesería sin ningún tipo de tratamiento o adición de un conservate a temperatura de refrigeración tiene una vida útil máximo de 1.4 días dependiendo de varios factores, pudiendo apreciar que el mejor tratamiento tomando en consideración del

parámetro de pH es el T3 perteneciendo a la combinación a0b2 con un tiempo de vida útil de 2.6 días a temperatura ambiente y una concentración de nisina de 150ppm y a temperatura de refrigeración fue de 3.3 días perteneciente al T8 y la combinación es a1b2 con una concentración de 150ppm, mientras que los mejores tratamientos tomando en cuenta el parámetro de acidez expresada en porcentaje de ácido láctico se encontró tanto para la temperatura ambiente como para la temperatura de refrigeración es a concentración de 150ppm, el tiempo de VU para temperatura ambiente es de 2.32 días mientras que para la temperatura de refrigeración fue de 3 días y finalmente el tiempo de vida útil del mejor tratamiento mediante el recuento de UFC también se trato de los tratamientos al igual que en el pH y acidez fue a la concentración de 150ppm tanta a temperatura de refrigeración como a temperatura ambiente para el primer caso el tiempo de vida útil es de 3,43 días y para temperatura ambiente es de 2,82 días con lo cual se puede concluir que a adición de nisina para la conservación del suero dulce de quesería es bueno ya que a temperatura de refrigeración el tiempo de VU es mayor llegando hasta duplicar el tiempo de vida útil en los tres parámetros tomado en cuenta.

La fecha de vencimiento indicada en productos es un atributo crítico de gran importancia que no sólo previene el mal uso del producto (Charm, 2007) sino que permite entregar al consumidor un producto de calidad y evitar pérdidas generadas por falta de rotación en el puesto de venta, que se origina por desconocimiento de los empleados mismos. (ANEXO 4).

4.2 Interpretación de datos

La interpretación de datos en relación al estudio del mejor tratamiento se lo ha realizado con programas estadísticos Microsoft office Excel, en donde se

concluye que el mejor tratamiento desarrollado para la conservación del suero dulce de quesería corresponde al tratamiento a1b2 que pertenece a una temperatura de refrigeración y a una concentración de nisina de 150ppm, ya que al calcular el tiempo de vida útil de este tratamiento tomando en cuenta el parámetro de la acidez expresada en porcentaje de ácido láctico presente, se puede decir que el incremento de la vida útil del suero dulce de quesería es de un mayor al 100%.

Comparando el número de unidades formadoras de colonia (UFC) en el control y los tratamientos se observó que la nisina aplicada logró disminuir el crecimiento bacteriano si se comparan los valores de estos con el testigo. Al realizar una comparación del número de UFC obtenidos experimentalmente en el suero con las normas para leche pasteriza se puede apreciar que el número máximo de unidades formadoras de colonias es de 20000 y el valor máximo que se obtuvo en el suero fue de 13800, lo que nos indica que la nisina actúa eficientemente en la conservación del suero.

En consecuencia, si bien el efecto de la nisina sobre bacterias de la especie *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Pediococcus* y *Lactobacillus* se hizo evidente gracias a la disminución del ácido láctico presente en las muestras con nisina, el análisis microbiológico demuestra que bacterias de este tipo no son las únicas presentes en el suero dulce de quesería, esto explica el porqué de la igualdad entre la cantidad de UFC de todas las muestras

4.3 Verificación de las hipótesis

Para poder realizar la verificación de la hipótesis realizamos una comparación entre los valores de F calculados con el valor de F de tablas para poder aceptar o rechazar la hipótesis nula.

Hipótesis nula:

Ho: Las distintas concentraciones de Nisina aplicadas en suero dulce de quesería producen igual efecto en la vida útil del mismo.

$$T_1 = T_2 = T_3 = \dots T_n$$

Hipótesis alternativa

H1: Las distintas concentraciones de Nisina aplicadas en suero dulce de quesería producen efecto distinto en la vida útil del mismo.

$$T_1 \neq T_2 \neq T_3 \neq \dots T_n$$

A un nivel de confianza de 95 % existe diferencia en las características físico – químicas, microbiológicas, en el suero dulce de quesería. Esto se ha podido comprobar debido a que el valor de F calculado se encuentra fuera del límite con respecto al valor F de tablas. Rechazando de esta manera la hipótesis nula.

Aceptando la hipótesis alternativa que al menos uno de los tratamientos es diferente del resto de tratamientos.

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

En la realización de este trabajo se cumplieron los objetivos propuestos, generales y específicos, los cuales se detallan a continuación:

- La adición de nisina logró conservar el suero dulce de quesería por 3 días ya que sin ningún tratamiento su tiempo de vida útil es de 1.3 días logrando incrementar en 1.7 días la vida útil tomando en cuenta el parámetro de acidez expresado en porcentaje de ácido láctico, mientras que tomando en cuenta el parámetro de pH su conservación es de 3.3 días a temperatura de refrigeración (4⁰C) y se logro incrementar el tiempo de vida útil en 1.9 días más de los que se trabajo sin bioconservante, esto se logro por el efecto de la nisina sobre bacterias y su resistencia contra la invasión de microorganismos patógenos, lograda mediante la generación de diversas sustancias antimicrobianas.
- Mediante la realización de varios ensayos cuyas concentraciones de nisina fueron de 50ppm, 100ppm, 150ppm, 200ppm y 250ppm tratadas a temperatura ambiente y refrigeración, se llevo a la conclusión mediante el análisis de los parámetros de acidez, pH y recuentos de UFC que la concentración más adecuada para la conservación del suero dulce de quesería es la concentración de 150ppm a temperatura de refrigeración y ambiente, teniendo un mejores resultados a temperatura de refrigeración.

- La evaluación de la vida útil calculada para el suero dulce de quesería tomando en cuenta rangos de pH, acidez expresada en porcentaje de ácido láctico establecidos en referencias bibliográficas y mediante recuento de UFC, la conservación es aproximado de 1.7 días más ya que la muestra testigo tiene una vida útil de 1.3 días y la tratada con nisina es de 3 días tomando en cuenta su acidez, mientras que para el parámetro de pH su vida útil es de 3.3 días a una concentración de 150ppm a 4°C y de 1.4 días la muestra testigo teniendo un incremento de 1.9 días, la determinación del tiempo de vida útil mediante de análisis microbiológicos nos dio resultados similares ya que se obtuvo un tiempo de vida útil de 3.43 días, también pudiendo identificar que el número unidades formadoras de colonias compradas con las de la leche pasteurizada donde el número máximo de UFC son 20000 según especificaciones microbiológicas establecidas en las Normas INEN y el suero tratado tuvo el número máximo de 13800 UFC.
- Al finalizar el trabajo de investigación, se puede concluir que los objetivos planteados se cumplen a cabalidad y se logra solucionar el grave problema existente en las empresas queseras, mediante el uso de bioconservantes “nisina” se logra incrementar el tiempo de vida útil del suero dulce para su posterior industrialización y elaboración de alimentos alternativos mediante la implementación de la técnica de conservación su divulgación se lo realizará mediante la entrega de los resultados de la investigación, conferencias de capacitación y mediante la información del costo de la conservación del suero para empresas que se encuentren interesen en la conservación y su posterior industrialización aprovechando su alto valor nutricional y su bajo costos ya que el litro de suero tratado con nisina es de 0.071 centavos

5.2 Recomendaciones

- Para la fase de filtrado se recomienda realizarlo con lienzo muy fino y esterilizado mientras más fino será mejor el filtrado y en lo posterior no existirá precipitación.
- Se recomienda trabajar con suero fresco para la adición de “Nisina” ya que si es un suero con algunas horas de haber sido recogido puede que su composición se vea alterada por la presencia de ácido láctico.
- La temperatura recomendada para que el suero dulce de queso tenga un mayor incremento en la vida útil es a temperatura de refrigeración (4°C).
- Incentivar la utilización de suero dulce como materia prima para la elaboración de bebidas en las empresas dedicadas a la producción de derivados lácteos.
- Implementar tecnología acorde con la materia prima disponibles en la empresa a fin de aprovechar los subproductos.
- Ensayar en el producto diferentes formulaciones a fin de obtener un producto más aceptado por el cliente.
- Considerar el grado de responsabilidad de que se debe tener ante la realización de la propuesta, es necesario tener una visión clara de lo que se va a proponer en ejecutar.
-

CAPITULO VI

PROPUESTA

6.1 Datos informativos

- **Título:**

“Estudio del efecto de la nisina en suero dulce de quesería en una concentración de 150 ppm en temperatura de refrigeración”.

- **Institución Ejecutora:** Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

- **Beneficiarios:** Industrias queseras.

- **Ubicación:** Ambato – Ecuador.

- **Director del Proyecto:** Ing. César German.

- **Personal Operativo:** Egdo. Mesías Washington Ramírez Guerrero.

- **Tiempo estimado para la ejecución:** 4 meses.

Inicio: Enero del 2010 **Final:** Mayo del 2010.

6.2 Antecedentes de la propuesta

Algunos efluentes de la industria lechera forman parte de los contaminantes más severos que existen, tal es el caso del suero de leche, un subproducto de la manufactura de quesos, caseína, caseinatos y mantequilla, que representa del 80 al 90 por ciento del volumen del lácteo transformado por la industria lechera y que para su tratamiento biológico demanda una elevada cantidad de oxígeno. Con la finalidad de disminuir el problema de la contaminación, es necesario depurar el suero lácteo antes de descargarlo en los cuerpos de agua o al suelo. Los costos de tratamiento de la mayoría de los sistemas utilizados en la actualidad son relativamente altos, sobre todo de los que se emplean convencionalmente en las plantas de tratamiento de aguas residuales. La metodología empleada contempla desde la puramente microbiológica, el aislamiento de cepas y su identificación, hasta el seguimiento del comportamiento de cepas individuales mediante técnicas de biología molecular. También se evaluó el comportamiento hidrodinámico de las torres de contacto utilizando metodología desarrollada en el Laboratorio de Fermentaciones de la ENCB. Asimismo, se desarrolló la metodología para el análisis del comportamiento de los cultivos y para la generación de modelos biocinéticos empleando herramientas de programación relativamente sofisticadas. (José Luis Carrillo Aguado 2002)

Como subproducto de la fabricación de quesos se obtiene el “suero de quesería” o “suero dulce”. Durante años este subproducto se ha considerado

como un desecho, y en consecuencia, ha sido vertido en los ríos aledaños a los centros industriales, con graves daños al medioambiente.

En aras de aprovechar este suero de quesería, se propuso inicialmente la separación del mismo en sus constituyentes.

Finalmente, este subproducto de la industria láctea atrajo la atención de una nueva generación de científicos a partir de los años 1980's, quienes pusieron de relieve sus beneficios alimentarios y nutricionales. (Del Socorro Herrera 2005)

La provincia Granma es la que cuenta con el mayor potencial ganadero del país. La obtención de importantes volúmenes anuales de leche trajo consigo la construcción de varios establecimientos dedicados a la manufactura de diferentes variedades de queso, quienes producen grandes cantidades de suero de queso. Para evitar mayores daños al medio ambiente circundante, estos subproductos pudieran utilizarse en la elaboración de alimentos destinados tanto a seres humanos como animales.

La caracterización físico-química de los sueros de queso constituye entonces un paso importante en la utilización de estos subproductos de la industria láctea en los distintos procesos industriales propios tanto de la alimentación humana como animal. (Miranda O, *et-al* 2007).

Alpina busca disminuir la carga orgánica que llega a la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR), reincorporando el suero generado durante la producción de quesos mediante un proceso de pulverización que permite usarlo como materia prima en la elaboración de nuevos productos lácteos.

La fabricación de quesos requiere desestabilizar el contenido proteínico de la leche, cuya composición corresponde a 12% de sólidos y 88% de agua. Después del proceso de formación y posterior separación del cuajo, queda un líquido fluido llamado suero con un contenido de nutrientes o sólidos lácteos de 5.5% a 7%. Con el proyecto de pulverización de los sueros generados durante la producción de quesos, Alpina se propuso reducir las cargas orgánicas

residuales dirigidas a la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales y elaborar otros productos a partir de esta materia prima.

6.3 Justificación

La presente investigación tiene un enfoque en la conservación y su posterior utilización de un sub producto de la industria quesera, específicamente del suero dulce que se lo obtiene de la elaboración de queso fresco, mediante la tecnología de la utilización de un bioconservante como es caso de la “nisina”, se podría alargar el tiempo de vida útil y luego su posterior industrialización, lo que permitirá obtener un valor agregado de la producción de queso fresco en las industrias lácteas.

En la actualidad no se ha implementado una metodología que ayude a la conservación del suero, por lo cual es utilizado para alimentación animal o se lo desecha a las fuentes de agua, que origina el consumo de oxígeno disuelto en ella, empobreciendo y afectando así la vida animal y vegetal.

Este proyecto permitirá establecer la tecnología de conservación del suero dulce mediante la utilización de concentraciones de bioconservante lo cual será una herramienta importante para el crecimiento de la industria láctea.

Mediante la conservación del suero y su posterior acopio, se podría elaborar en un producto que tenga como materia prima para su elaboración el suero y que tenga alto valor nutritivo y con un tiempo de vida útil mayor y de bajo costo.

6.4 Objetivos

OBJETIVO GENERAL

- Promocionar a las industrias queseras el uso de la nisina para la conservación del suero dulce.

OBJETIVOS ESPECIFICOS.

- Desarrollar una metodología que permita incrementar el tiempo de vida útil del suero dulce de quesería.
- Proponer la mejor concentración de bioconservante “Nisina” en ppm para la conservación y alargamiento de vida útil en el suero dulce de quesería.

6.5 Análisis de factibilidad

El proyecto de investigación es de tipo tecnológico, ya que con ello se puede implementar una nueva metodología de conservación, con la cual se logre aprovechar de una mejor forma el suero dulce de quesería y de esta manera lograr que el sub producto de quesería dure por un tiempo prolongado en donde sus propiedades y características nutricionales no se vean afectadas.

De la investigación efectuada se desprende que la presente propuesta es factible de realizarla. Los recursos humanos, materiales y financieros están al alcance de quienes llevaran adelante las acciones del indicado trabajo, conviene tener en cuenta varios aspectos como:

- Político: Predisposición de las autoridades para otorgar permisos necesarios.

- Sociocultural: Su implantación fortalecería beneficio compartido (dueños de quesería-habitantes de la zona).
- Tecnológico: Esta propuesta consta con la tecnología adecuada, ya que no se necesita de equipos específicos, solamente se necesita de una balanza y materiales que poseen las industrias queseras.

Tabla59: Valores económicos de la propuesta

RECURSOS HUMANOS	UTA	GRADUANDO
TUTOR		50,00
GRADUANDO		2577,30
RECURSOS FISICOS		
MATERIAS PRIMAS		5,00
USO DE LABORATORIO	50,00	
MATERIAL DE ESCRITORIO		25,00
ENVASES		
RECURSOS ECONOMICOS		
TRANSPORTE		50,00
IMPREVISTOS		50,00
PUBLICACIONES		100,00
SUMAN	50,00	2857,30
TOTAL	2907,30	

Elaborado por: Washington Ramírez ,2010.

El Costo total estimado que se utilizara para el desarrollo de la propuesta es de dos mil novecientos siete dólares con treinta centavos.

Desglose del costo estimado

- Costo de la universidad: 50,00(dólares).
- Aporte personal: 2857.30 (dólares).

Tabla 60: Análisis de costo para la aplicación de nisina en suero dulce.

Frasco de nisina 500gr	160
Aplicación de nisina	2gr/30 lt
Costo de procesar 30kg de suero duce con nisina	0,64 \$
Costo de procesar 1kg de suero dulce con nisina	0,0713

Elaborado por: Washington Ramírez ,2010.

Asumiendo que el costo de producir 1kg de suero es de 0.05 entonces el nuevo costo de procesar el suero con nisina sería 0.071centavos.

6.6 Fundamentación

Los probióticos son microorganismos vivos que al ser ingeridos en cantidades adecuadas ejercen una influencia positiva en la salud o en la fisiología del hospedero. Una de las formas de acción de los probióticos es a través de la resistencia otorgada contra la invasión de microorganismos patógenos, lograda mediante la generación de diversas sustancias antimicrobianas entre las que se encuentran las bacteriocinas, consideradas como “péptidos biológicamente activos, poseen propiedades bactericidas contra especies estrechamente relacionadas con la cepa productora” (González *et al.* 2003).

Las bacterias productoras de ácido láctico (consideradas como probióticos) se han utilizado durante mucho tiempo en la industria alimentaria debido a las sustancias que producen, cuyo efecto conservante ha sido ampliamente estudiado. Por otra parte, las bacterias ácido lácticas (BAL) proporcionan características como sabor y textura en algunos alimentos. Actualmente, la industria ha logrado aislar bacteriocinas de BAL para ser utilizadas como bioconservantes en alimentos.

La nisina, un péptido de 34 aminoácidos y bajo peso molecular producido por la bacteria ácido láctica *Lactococcus lactis ssp lactis* (Cintas *et al.* 2001), es el bioconservante más estudiado en la actualidad. Considerada por la FDA como la única bacteriocina GRAS (generalmente reconocida como segura, por sus siglas en inglés), es utilizada ampliamente en la industria láctea para la conservación de quesos y productos fermentados, sin embargo, existen pocas referencias sobre su aplicación directa en suero dulce fluido.

Normatividad:

- Norma Australiana del Uso de la Nisina Application A565-2006.
- Ficha Técnica para el uso de Nisina.

6.7 Metodología

La propuesta consta de las siguientes etapas:

- Estudio y revisión bibliográfica.
- Formulación de los tratamientos.
- Pruebas preliminares
- Fase experimental
- Obtención de resultados
- Selección del mejor resultado

Descripción del proceso:

Recepción.- El suero dulce es la materia prima por tanto, este debe ser fresco, de buena calidad, no debe contener antibióticos, ni microorganismos patógenos.

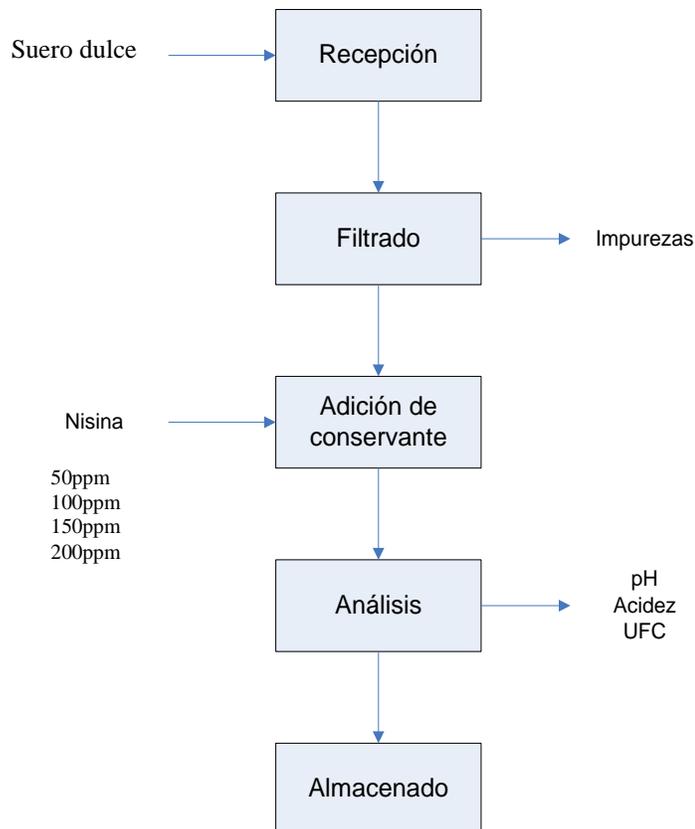
Filtración.- Mediante la utilización del lienzo se procede a separar materiales extraños del suero.

Adición de bioconservante.- Adición de nisina a diferentes concentraciones.

Análisis.- Análisis pH y acidez del suero y siembras microbiológicas.

Almacenado.-El suero será almacenado para su posterior industrialización.

Diagrama de flujo para la conservación del suero dulce



Elaborado por: Washington Ramírez ,2010.

6.8 Administración

La ejecución de la propuesta estará coordinada por los responsables del proyecto Ing. César German y el egresado Washington Ramírez y los interesados, en este caso la industria quesera, los mismos que dejen de desechar el suero dulce de quesería por desagües o utilizar para alimentación animal y lo conservaran para elaborar productos alimenticios para consumo humano con un alto valor nutritivo y a un costo accesible.

Tabla 61: Modelo operativo (plan de acción)

Fases	Metas	Actividades	Responsables	Recursos	Costo	Tiempo
1 Formulación de la propuesta	Capacitar a las empresas queseras sobre el uso de "nisina" para la conservación del suero dulce de quesería para su posterior industrialización	Revisión bibliográfica.	Egd. Washington Ramírez. Ing. César German.	Humanos Técnicos Económicos	\$ 10	1 semana
2 Desarrollo	Elaborar u folleto guía que indique la	Elaboración del folleto	Egd. Washington Ramírez.	Humanos Técnicos	\$ 120	2 semana

preliminar de la propuesta	tecnología propuesta		Ing. César German.	Económicos		
3 Implementación de la propuesta	Ejecutar la propuesta en un 100%	Conferencia	Egd. Washington Ramírez. Ing. César German.	Humanos Técnicos Económicos	\$ 40	4 horas
4 Evaluación de la propuesta	Comprobar errores y aciertos en el proceso de implementación	Encuestas a dueños de queseras de la conservación del suero	Egd. Washington Ramírez. Ing. César German.	Humanos Técnicos Económicos	\$ 30	1 mes

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Tabla 62. Previsión de la evaluación

Preguntas básicas	Explicación
¿Quién solicita evaluar?	- Dueños y trabajadores de queseras.
¿Por qué evaluar?	- Verificar la calidad del suero. - Corregir errores de conservaciones.
¿Para que evaluar?	- Determinar una tecnología que permita conservar el suero mayor tiempo.
¿Qué evaluar?	- La tecnología utilizada. - El producto terminado. - Conocimientos de

	los trabajadores de las queseras.
¿Quién evalúa?	- Director del proyecto - Calificadores
¿Cuándo evaluar?	- Todo el tiempo desde las pruebas preliminares, hasta la capacitación de los trabajadores de las queseras.
¿Cómo evaluar?	- Mediante instrumentos de evaluación.
¿Con que evaluar?	- Experimentales. - Normas. - Cuestionarios.

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

CAPITULO VII

6.1 Bibliografía

1. ABRIL Hugo (2008). Metodología de la investigación; Maestría en Psicología Educativa, Centro de Estudios de Posgrado, Universidad Técnica de Ambato. Ecuador –Ambato, pp.7-16 y 30-31.
2. ALVARADO, Juan (1996). Principios de Ingeniería Aplicados a Alimentos”. Ecuador –Ambato, pp. 25-35.

3. BRODY, A.L. (2003). Predicting Packaged Food Shelf Life. *Food Technology*. 57 (4):100-102.
4. CARRILLO José (2002). "Tratamiento y Reutilización del Suero de Leche". *Revista Conversus*, No. 10, México, pp.2-5.
5. CHARM S.E (2007). Food engineering applied to accommodate food regulations, quality and testing. *Alimentos Ciencia e Ingeniería*. 16 (1): 5-8.
6. CITAS, L; HERRANZ, P. (2001). Review: Bacteriocins of Acid Lactic Bacteria. *Food Science and Technology International*. Consejo superior de investigaciones científicas. Madrid, España, pp. 24.
7. Herrera M (2005). El suero de queso: ¿Producto vital o simple desecho? *Rev. Ciencia Hombre*, México, pp. 2-3.
8. GOMES J (2009). Según ganadero, precio de la leche no compensa gastos ni el trabajo .*Diario EL UNIVERSO*. Guayaquil –Ecuador, pp. 8. Sábado 25 de julio del 2009.
9. GONZÁLES, B; et al (2005). Bacteriocinas de Probióticos; *Mundo Alimentario*. Facultad de salud Pública y Nutrición. México-Nuevo León, pp. 19.
10. GUTIÉRREZ J (2007). *Tecnología de Lácteos*. Ecuador-Ambato. pp. 30-35.

11. ERRERA E. Luís, MEDINA F. Arnaldo, NARANJO L. Galo, "Tutoría de la Investigación Científica", Guía para elaborar en forma amena el trabajo de Graduación, Diemerino Editores, Quito - Ecuador, pp. 204, 252. H
12. HERNANDEZ R, FERNANDEZ C, BAPTISTA P (2002). Metodología de la investigación. Mac Graw Hill. México, pp. 27.
13. LEON Calor y PHILCO (1982.) Wilson. "Obtención de un concentrado proteínico a partir de suero fresco y su utilización en la fabricación de fideos. Tesis de Grado, UTA-FCIAL .Ambato –Ecuador, pp. 45-49.
14. LABUZA T (1982). Shelf Life Dating of Foods. Primera Edición, Editorial Food and Nutrition Press, INC. Westport – Connecticut, pp. 200 – 203.
15. MIRANDA O, FONSECA P, PONCE I, CEDEÑO C, SAM L, MARTÍ L (2007). Elaboración de una bebida fermentada a partir del suero de queso; Características distintivas y control de la calidad. RCAN Rev Cubana; Aliment Nutr. 17:103-8.
16. PEÑAHERRERA Bassia y ZAMORA Héctor. "Obtención de un concentrado proteínico a partir de salvado de trigo usando agua y suero dulce de queso como solvente". Tesis de grado, UTA-FCIAL .Ambato - Ecuador .1999.
17. PEARSON (1996). Composición y análisis de alimentos de Pearson, Novena edición, Editorial Continental S.A. México, pp .17.

18. POZO Germán y VIERA Mónica. "Fermentación de suero dulce de queso para alimentación de cerdos ". Tesis de grado, UTA-FCIAL .Ambato -Ecuador .1996.
 19. SARMIENTO Andrés (2007). Evaluación de Nisina como bioconservante. Zamorano Ed; Honduras, pp. Vi.
 20. SCHMIDT Hernann (1979). Aditivos y contaminantes de los alimentos". Editorial Universitaria, Santiago (Chile), pp.37-40.
 21. SINGH, R.P (2000). Scientific Principles of Shelf-Life Evaluation *in* MAN, C.M.D.; JONES, A.A. 2000. Shelf-life Evaluation of Foods. Springer. INTERNET:<http://books.google.co.cr/books?id=ovoNjpn6aLUC&printsec=frontcover>.
 22. SPREER Edgar (1984). "Lactología industrial". Zaragoza (España), Editorial Acriba S.A, 2^{do} edición. pp. 380-385.
 23. ULLOA J, 2006. "Posibilidades de industrialización del suero de queso; Ministerio de la Industria Alimenticia". Folleto, pp.1-5.
1. CHIRIFE J, ROSA J. DE KANTEREWICZ ETHEL AMATO DE LAGARDE (1985) ." Preservation of Concentrated Cheese Whey by Combined Factors: interned.1992.Disponible en <http://www3.interscience.wiley.com/journal/119507906/abstract#ss1> . (01/08/09).
 2. CUELLAS Anahi V. (2008) .Aprovechamiento industrial del suero de quesería. Obtención de una bebida energizante a partir del efluente. (en

línea) http://www.portalechero.com/ver_items_descrip.asp?wVarItem=19
(28/07/09).

3. DAIRYFORALL.2008. Suero. (en línea) disponible en www.dairyforall.com. (27/07/09).

4. ELLIS, 1994 Warner, 1995, “Curso Taller Vida útil Sensorial de alimentos”, Instituto Superior Experimental de Tecnología Alimentaria, Departamento de Evaluación Sensorial de Alimentos, disponible en www.cytex.org (20/03/2009).

5. F
ARÍA Francisco, COROMOTO Aleida, GARCÍA Urdaneta y HERNÁNDEZ Aiza (2002). Efecto de la tecnología quesera sobre la composición del suero lácteo. [line]. Disponible en http://www.interciencia.org/v24_03/gomez.pdf (02/08/09).

6. G
ÓMEZ Reinaldo, GONZÁLEZ Gloria, Amanda, GALLÓN Inés, Ramírez Auxilio (1999). La obtención de una bebida refrescante y nutritiva (en línea) http://www.interciencia.org/v24_03/gomez.pdf (31/07/09)

7. I
nstituto de Nutrición de centro América y Panamá “tabla de composición de los alimentos”. Disponible. www.tabladealimentos.net. (31/07/09)

8. I
NCAAP (2008). Producción lechera. Disponible en www.incaap.gov.ec (24/08/2009).

9. J
UNCIONI Luciana de Arauz, FAUSTINO Angela , Gabriel SOARES,

GAVA Priscila, PESSOA, VESSONI Adalberto (2008).” Nisin expression production from *Lactococcus lactis* in milk whey medium “[on line]. disponible en [http://www3.interscience.wiley.com/journal.\(01/08/2009\)](http://www3.interscience.wiley.com/journal.(01/08/2009)).

10. M
 ACHADO Vegas, GRAZIELLA Ana (2002). Desalinización del suero lácteo por electrodiálisis utilizando un equipo piloto de ASHI GLASS,Co [en línea] disponible en <http://www.cdc.fonacit.gov>. (27/07/09).
11. M
 AGAP (2007). Producción de leche [disponible] www.magap.gov.ec. (15/06/09).
12. M
 AWSON, A. J. & COSTARK. (1993) “Effects of nisin addition on the ethanol fermentation of casein whey permeate”. Disponible en: <http://www3.interscience.wiley.com/cgi>. (01/08/09).
13. Q
 UIMINET (2009). “Nisina” disponible en <http://www.quiminet.com/> . (31/07/09).
14. S
 ANGRONIS, Elba y GARCIA, 2007. Efecto de la adición de nisina en los parámetros físicos, químicos y sensoriales del queso "telita". *An Venez Nutr.* [online]. jun. 2007, vol.20, no.1 [citado 31 Julio 2009], p.12-16.Disponible: <http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script>. (30/06/09).
15. S
 ICA 2009 Otra opción es potenciar la producción de quesos, [disponible] www.sica.gov.ec). (20/05/2009).

Normas utilizadas:

- CODEX STAN 192 - 1995 Norma General para los Aditivos Alimentario
- Código Alimentario de Argentina (Capitulo XVIII) Artículos 1391 al 1406)
“Aditivos alimentarios”
- CODEX STAN 262-2007 Norma del Codex para el queso fresco.
- Ficha técnica de la Nisina (PROQUIGA sa.).
- Norma Australiana para uso de Nisina
- Norma INEN 013 para determinación de acidez
- Normas Técnicas Ecuatorianas NTE INEN 07-1987.Queso fresco
requisitos
- Normas Técnicas Ecuatorianas NTE INEN 9-2003. Leche cruda
requisitos

6.2 Anexos

ANEXO

ANEXO 1

MATRIZ DE ANALISIS DE SITUACIONES

MATRIZ DE ANALISIS DE SITUACIONES			
<i>Situación actual real negativa</i>	<i>Identificación del problema a ser investigado</i>	<i>Situación futura deseada positiva</i>	<i>Propuestas de solución al problema planteado</i>
<ul style="list-style-type: none"> • Inutilización industrial del suero dulce • Desconocimiento de bioconservadores • Inadecuado eliminación del suero dulce de quesería. 	Desconocimiento del efecto de la nisina en el suero dulce de queserías	Incrementar el tiempo de vida útil del suero dulce de queserías mediante el uso de nisina.	Utilización de la nisina par incrementar el tiempo de vida útil del suero.

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

ANEXO 2

HOJA DE RECOLECCION DE INFORMACIÓN

EVALUACIÓN FISICO - QUIMICA DEL SUERO DULCE DE QUESERIA CON NISINA

Responsable:Fecha:

Concentración:

Día	pH	Acidez
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		

Elaborado por; Washington Ramírez, 2010.

ANEXO 3

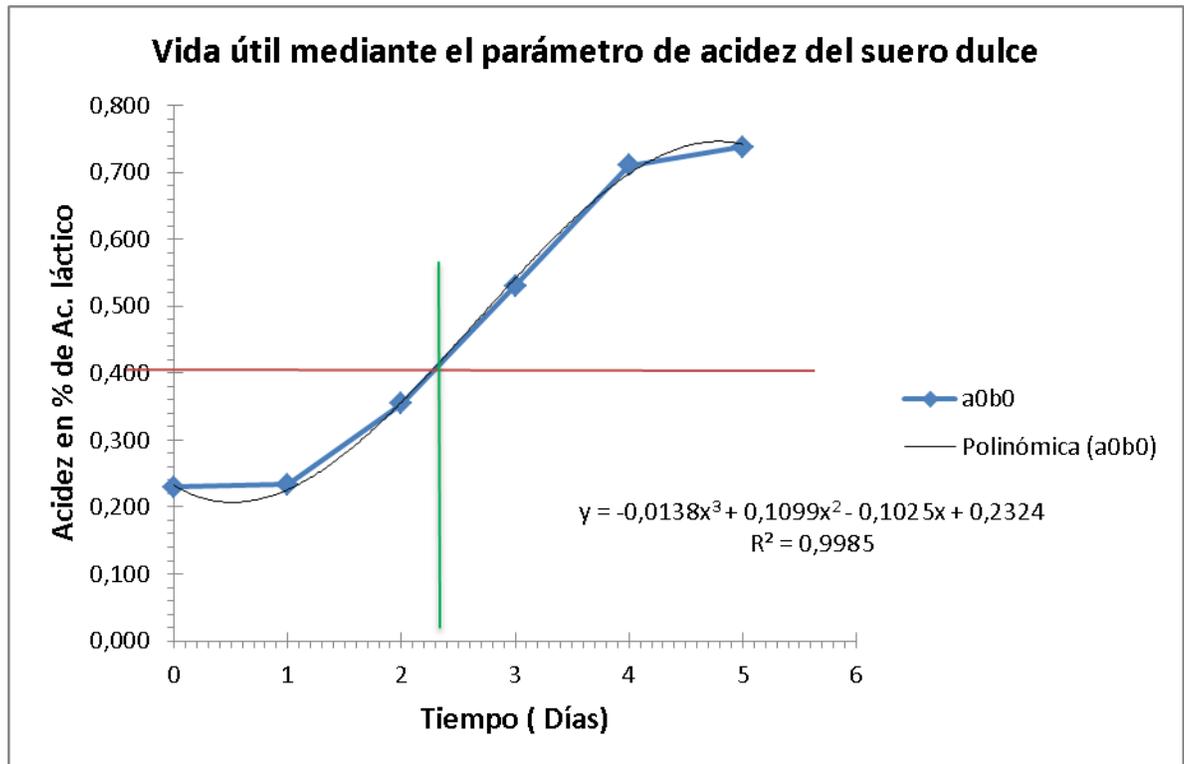
Fotografías de los análisis de pH, acidez y siembras microbiológicas

	
<p>Muestra de los tratamientos</p>	<p>Análisis de pH</p>
	
<p>Análisis de acidez</p>	<p>Materiales utilizados para las siembras</p>
	
<p>Acondicionamiento de las siembras microbiológicas.</p>	<p>Mantenimiento de los tratamientos a temperaturas óptimas de trabajo.</p>
<p>Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.</p>	

ANEXO 4

Gráficos para determinación de vida útil en base a la acidez expresada en porcentaje de ácido láctico en el suero dulce de quesería.

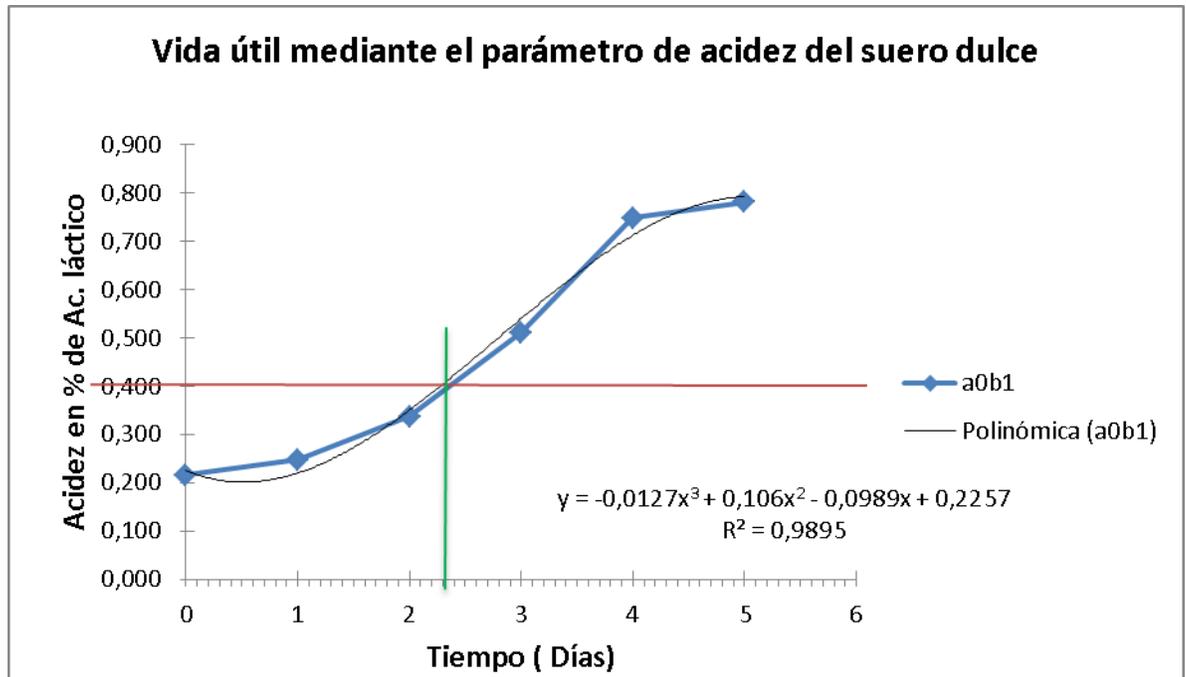
Gráficos 1A. Gráfico para la determinación de la vida útil para el tratamiento a0b0



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Tiempo de vida útil del suero dulce de quesería en base a la acidez expresada en porcentaje de ácido láctico en la muestra tratada a temperatura ambiente con una concentración de nisina de 50ppm es de 2.3días.

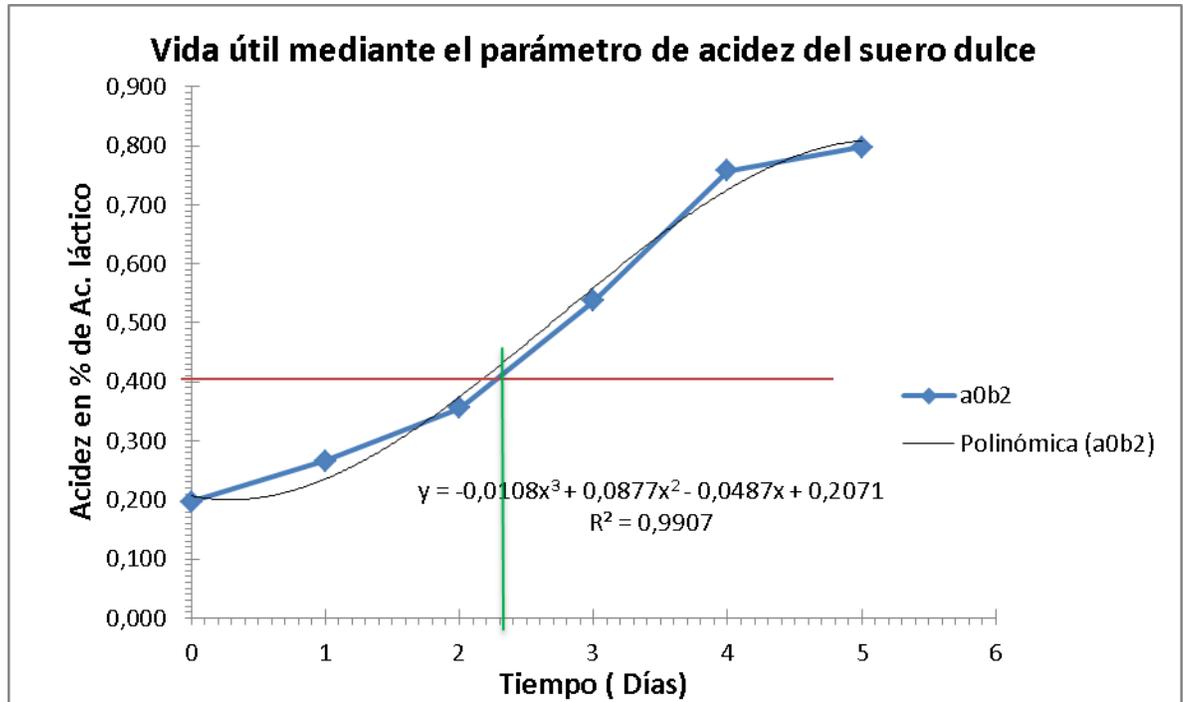
Gráficos 2A. Gráfico para la determinación de la vida útil para el tratamiento a0b1



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Tiempo de vida útil del suero dulce de quesería en base a la acidez expresada en porcentaje de ácido láctico en la muestra tratada a temperatura ambiente con una concentración de nisina de 100ppm es de 2.30días.

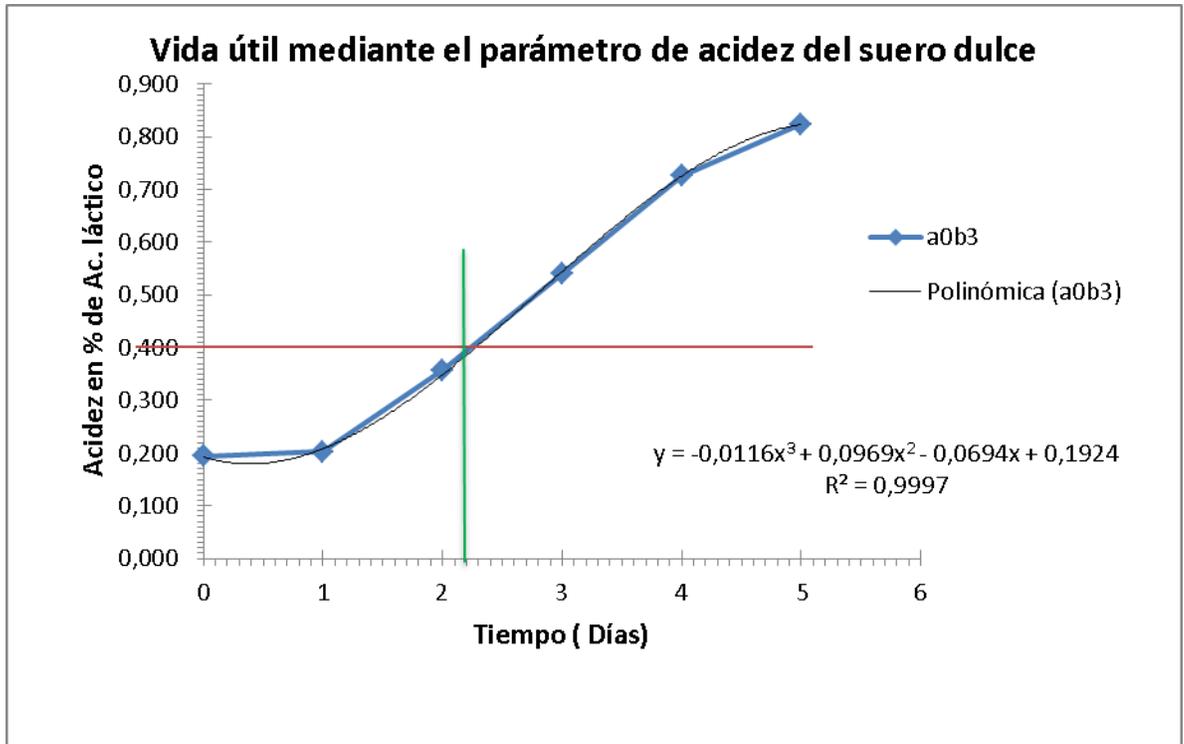
Gráficos 3A. Gráfico para la determinación de la vida útil para el tratamiento a0b2



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Tiempo de vida útil del suero dulce de quesería en base a la acidez expresada en porcentaje de ácido láctico en la muestra tratada a temperatura ambiente con una concentración de nisina de 150ppm es de 2.32 días.

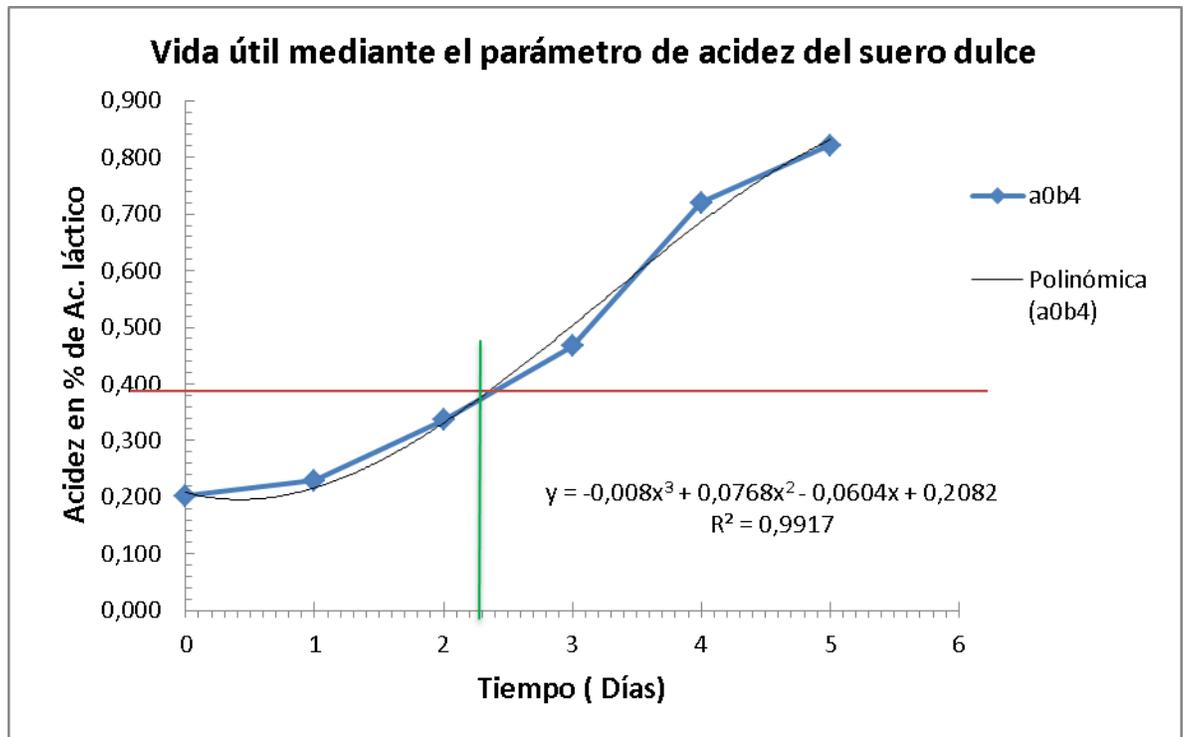
Gráficos 4A. Gráfico para la determinación de la vida útil para el tratamiento a0b3



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Tiempo de vida útil del suero dulce de quesería en base a la acidez expresada en porcentaje de ácido láctico en la muestra tratada a temperatura ambiente con una concentración de nisina de 200ppm es de 2.20 días.

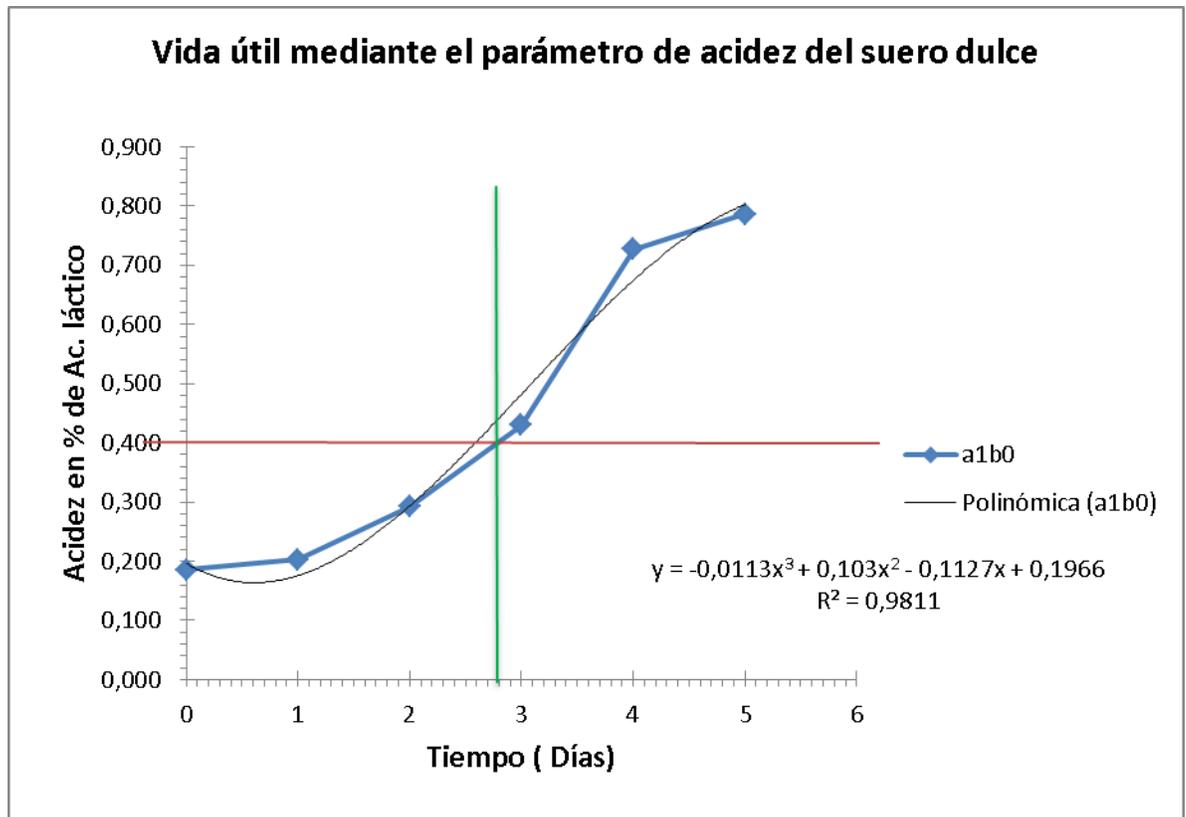
Gráficos 5A. Gráfico para la determinación de la vida útil para el tratamiento a0b4



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Tiempo de vida útil del suero dulce de quesería en base a la acidez expresada en porcentaje de ácido láctico en la muestra tratada a temperatura ambiente con una concentración de nisina de 250ppm es de 2.29 días.

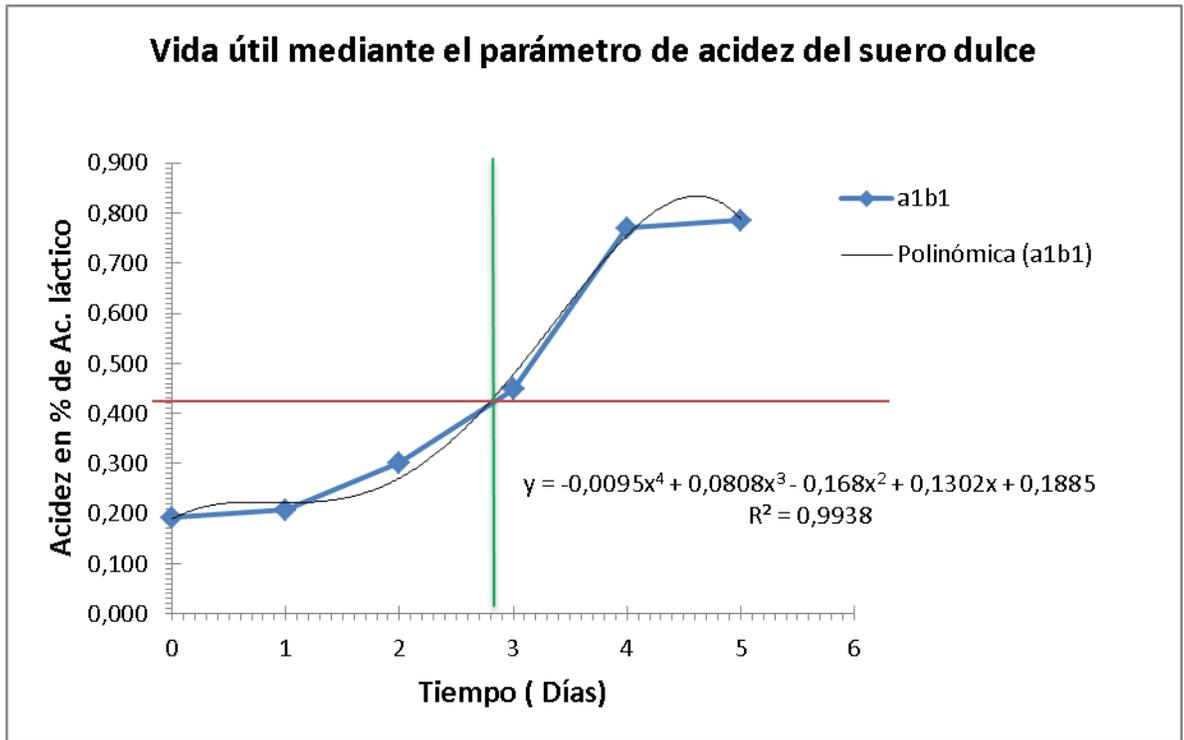
Gráficos 6A. Gráfico para la determinación de la vida útil para el tratamiento a1b0



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Tiempo de vida útil del suero dulce de quesería en base a la acidez expresada en porcentaje de ácido láctico en la muestra tratada a temperatura de refrigeración con una concentración de nisina de 50ppm es de 2.8 días.

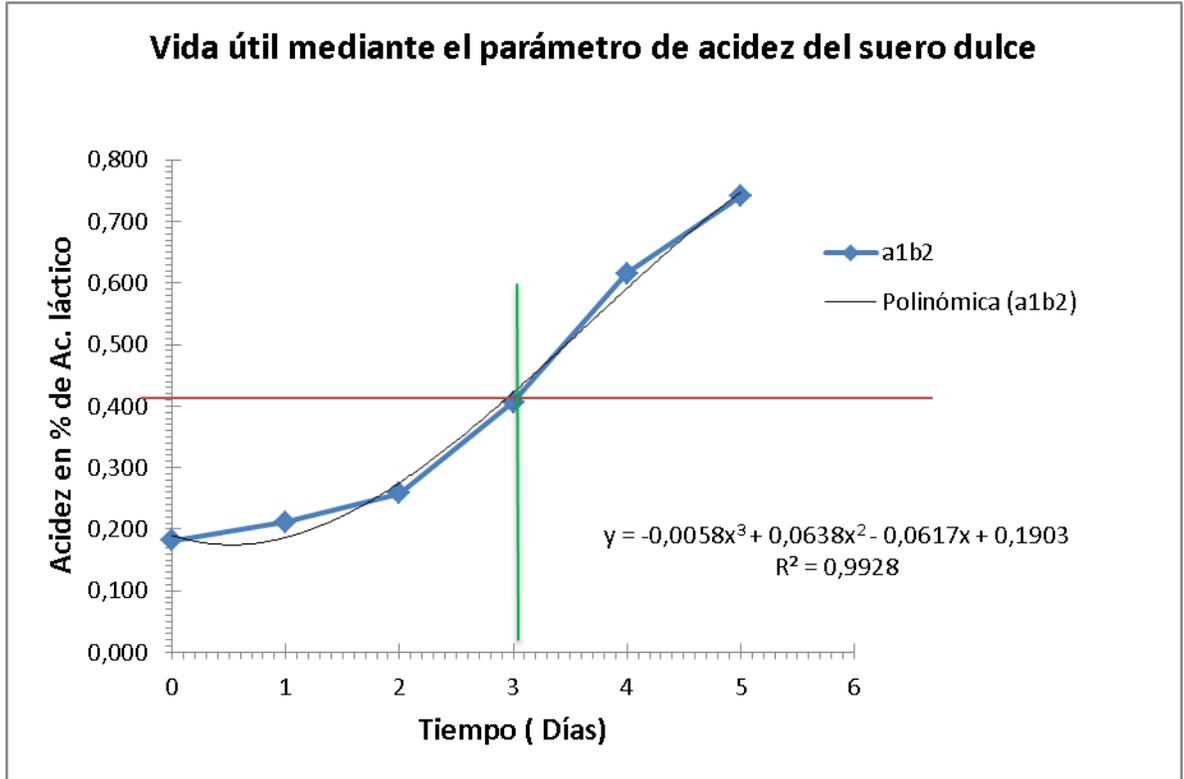
Gráficos 7A. Gráfico para la determinación de la vida útil para el tratamiento a1b1



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Tiempo de vida útil del suero dulce de quesería en base a la acidez expresada en porcentaje de ácido láctico en la muestra tratada a temperatura de refrigeración con una concentración de nisina de 100ppm es de 2.8días

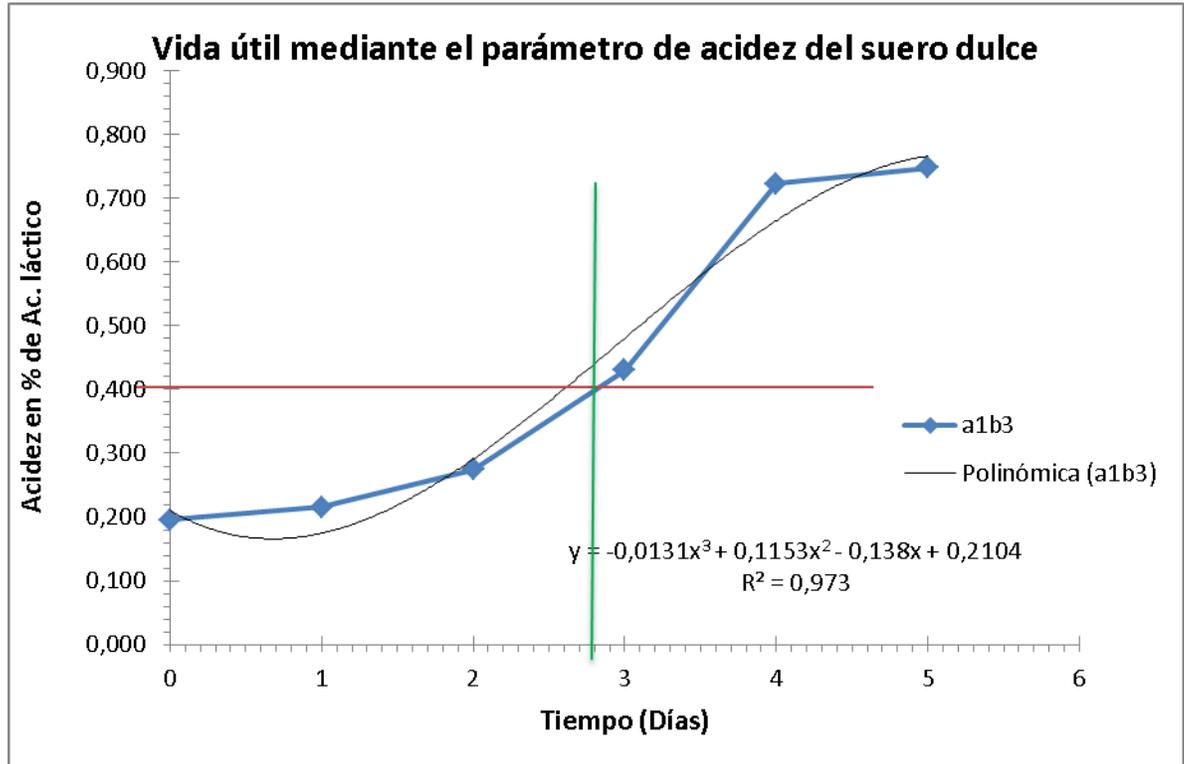
Gráficos 8A. Gráfico para la determinación de la vida útil para el tratamiento a1b2



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Tiempo de vida útil del suero dulce de quesería en base a la acidez expresada en porcentaje de ácido láctico en la muestra tratada a temperatura de refrigeración con una concentración de nisina de 150ppm es de 3.00días.

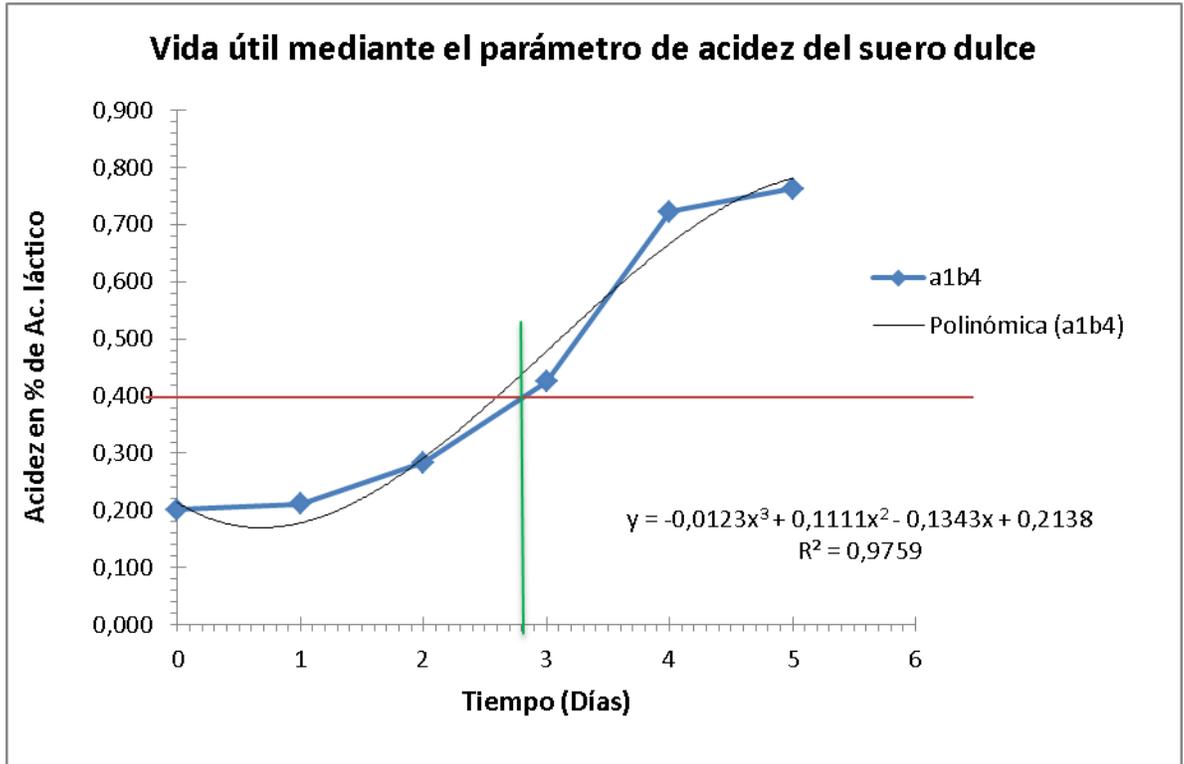
Gráficos 9A. Gráfico para la determinación de la vida útil para el tratamiento a1b3



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Tiempo de vida útil del suero dulce de quesería en base a la acidez expresada en porcentaje de ácido láctico en la muestra tratada a temperatura de refrigeración con una concentración de nisina de 50ppm es de 2.8 días.

Gráficos 10 A. Gráfico para la determinación de la vida útil para el tratamiento a1b4

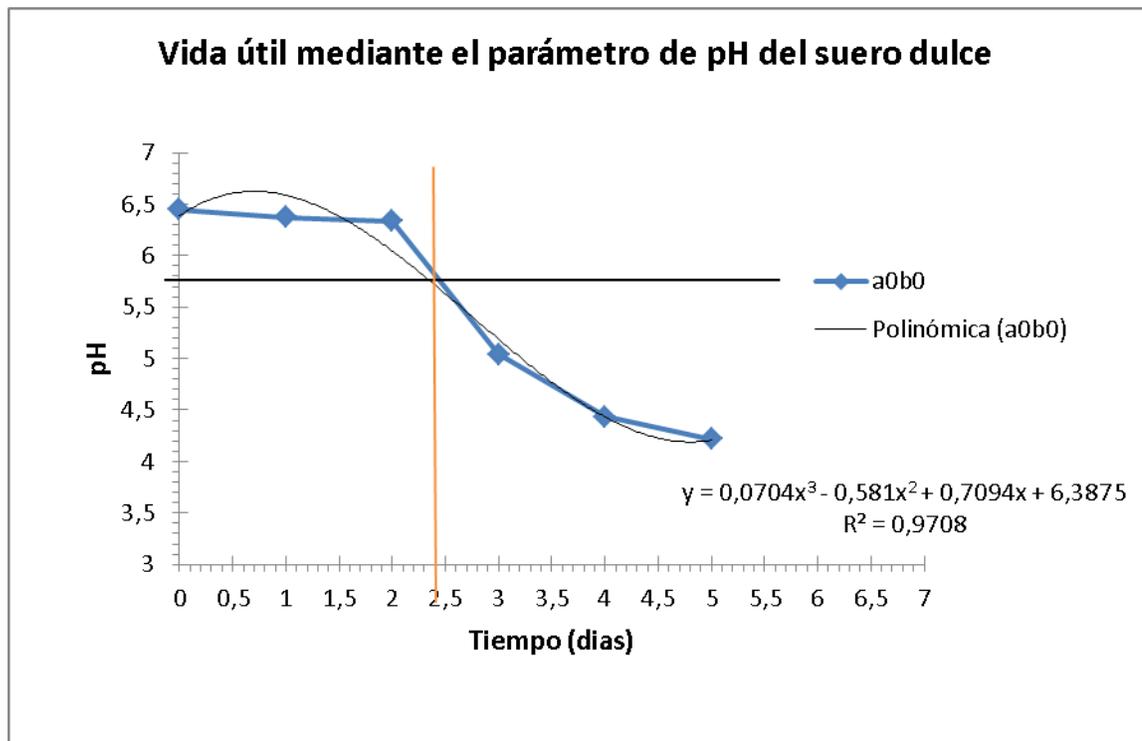


Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Tiempo de vida útil del suero dulce de quesería en base a la acidez expresada en porcentaje de ácido láctico en la muestra tratada a temperatura de refrigeración con una concentración de nisina de 50ppm es de 2.91 días.

Gráficos para determinación de vida útil en base al parámetro del pH suero dulce de quesería.

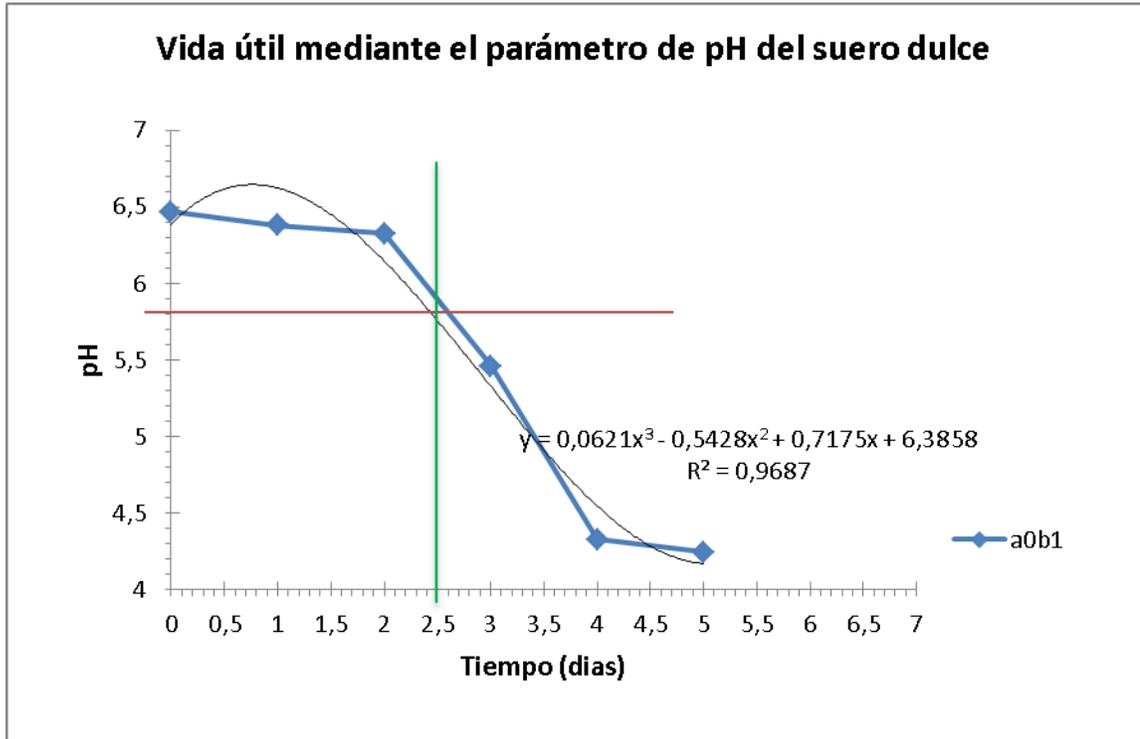
Gráficos 11A. Gráfico para la determinación de la vida útil para el tratamiento a0b0



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Tiempo de vida útil del suero dulce de quesería en base al pH en la muestra tratada a temperatura ambiente con una concentración de nisina de 50ppm es de 2.4 días.

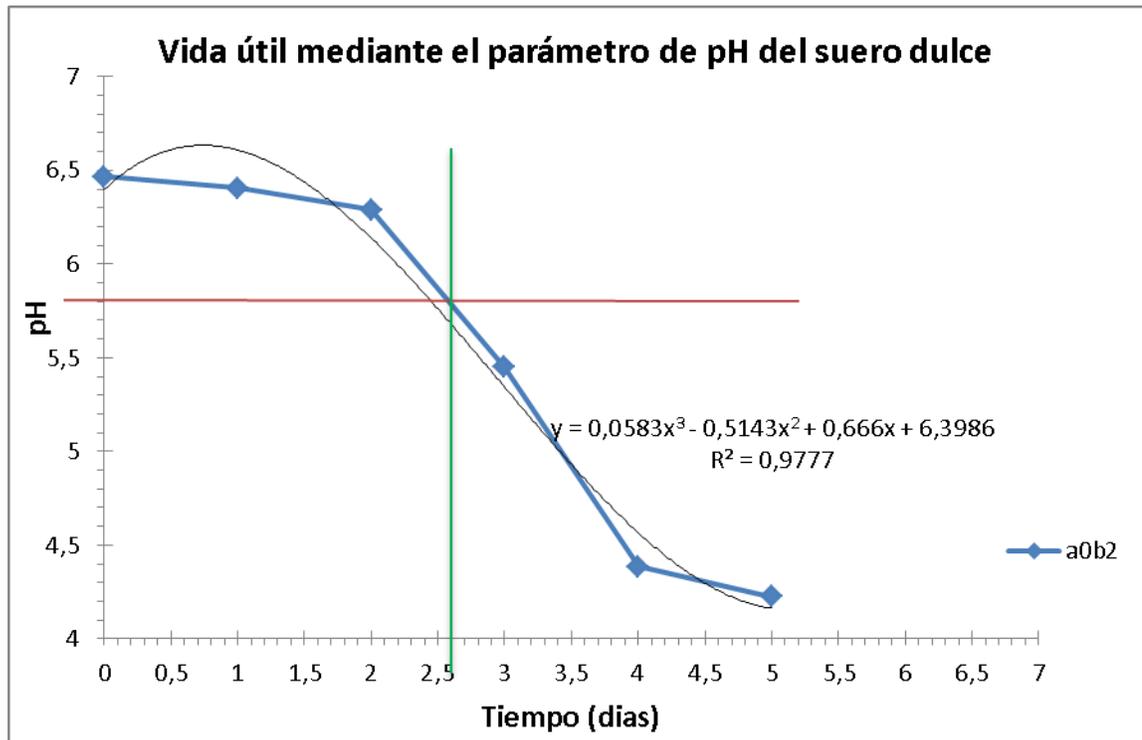
Gráficos 12A. Gráfico para la determinación de la vida útil para el tratamiento a0b1



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Tiempo de vida útil del suero dulce de quesería en base al pH en la muestra tratada a temperatura ambiente con una concentración de nisina de 100ppm es de 2.5 días.

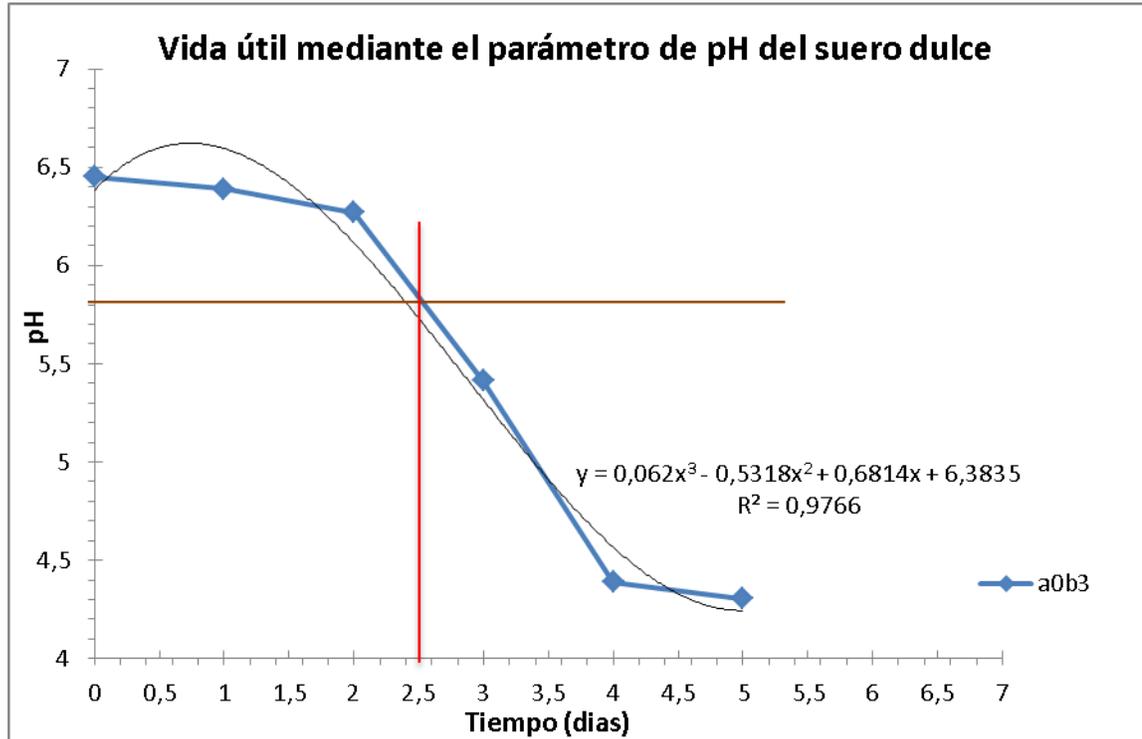
Gráficos 13A. Gráfico para la determinación de la vida útil para el tratamiento a0b2



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Tiempo de vida útil del suero dulce de quesería en base al pH en la muestra tratada a temperatura ambiente con una concentración de nisina de 150ppm es de 2.60 días.

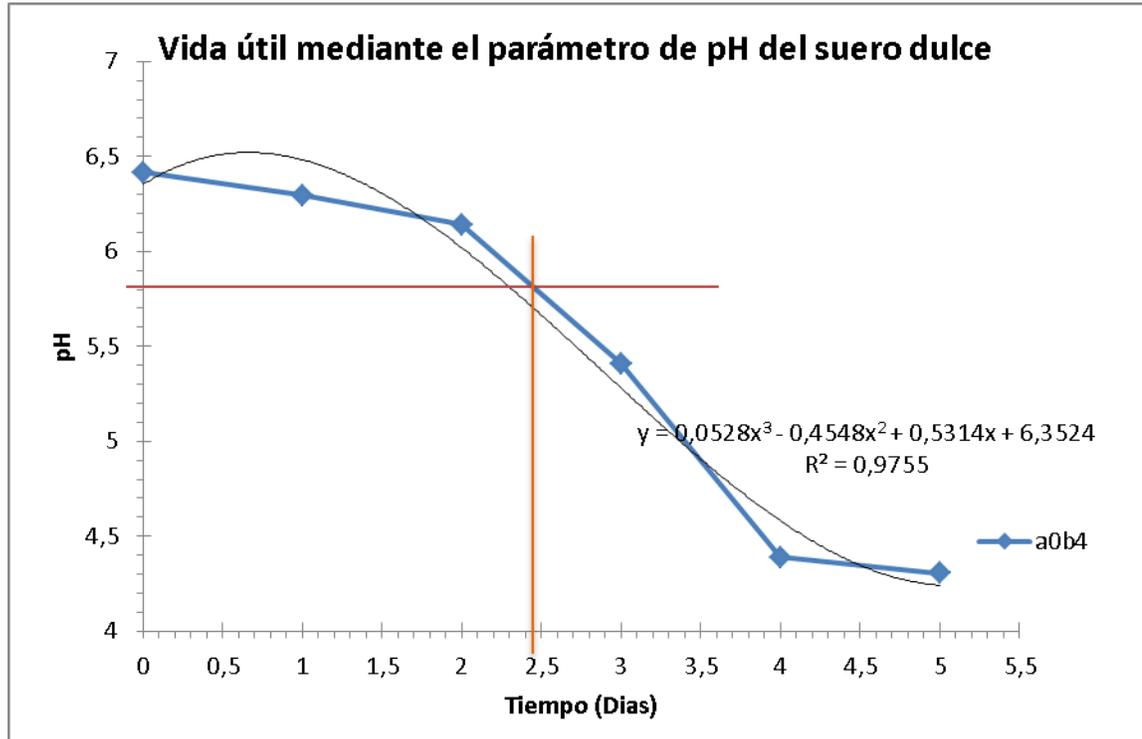
Gráficos 14A. Gráfico para la determinación de la vida útil para el tratamiento a0b3



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Tiempo de vida útil del suero dulce de quesería en base al pH en la muestra tratada a temperatura ambiente con una concentración de nisina de 200ppm es de 2.51 días.

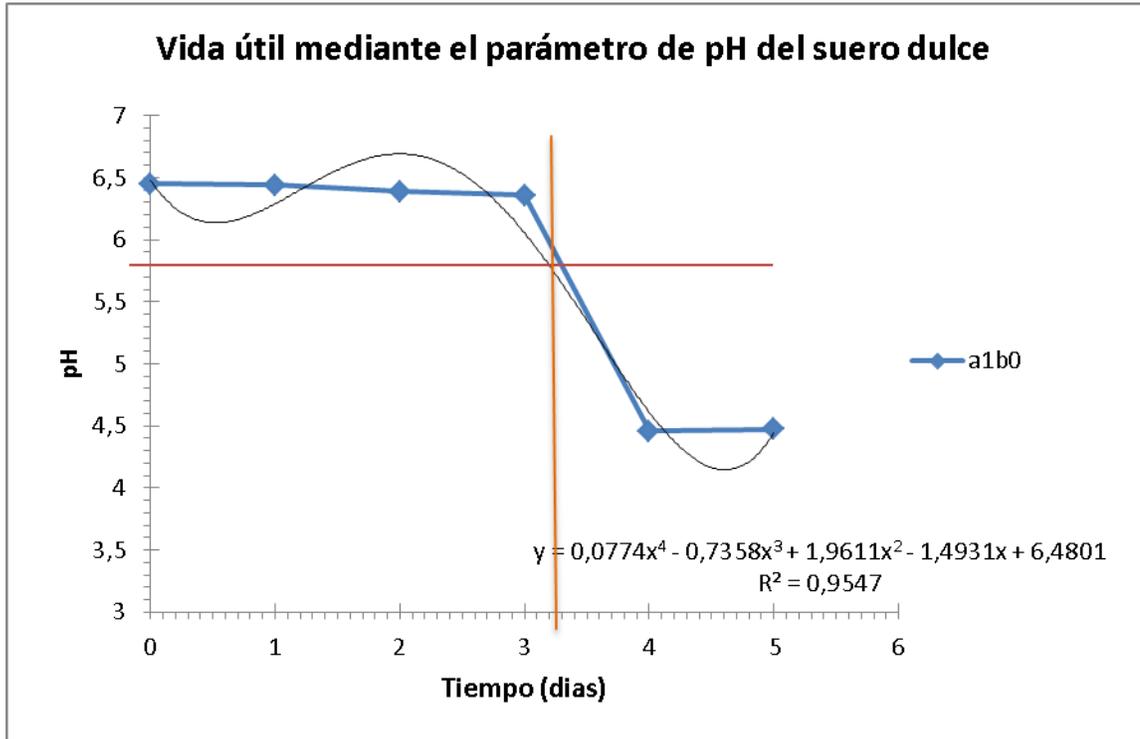
Gráficos 15A. Gráfico para la determinación de la vida útil para el tratamiento a0b4



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Tiempo de vida útil del suero dulce de quesería en base al pH en la muestra tratada a temperatura ambiente con una concentración de nisina de 250 ppm es de 2.45 días.

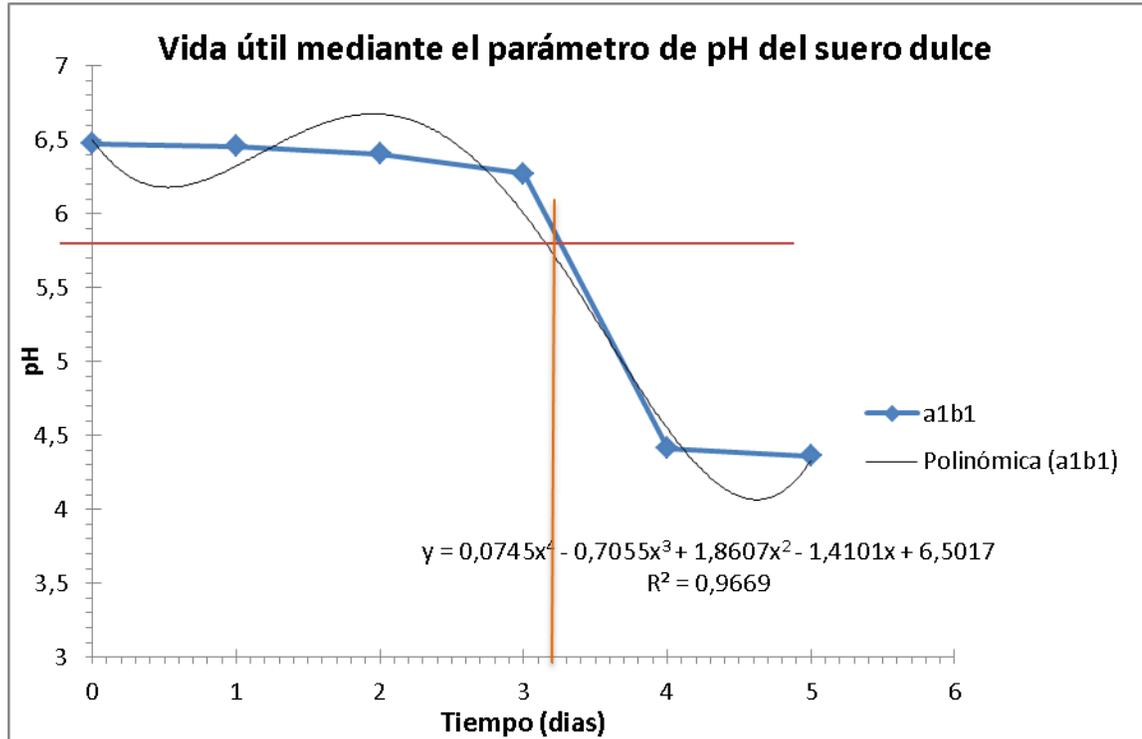
Gráficos 16A. Gráfico para la determinación de la vida útil para el tratamiento a1b0



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Tiempo de vida útil del suero dulce de quesería en base al pH en la muestra tratada a temperatura de refrigeración con una concentración de nisina de 50ppm es de 3.28días.

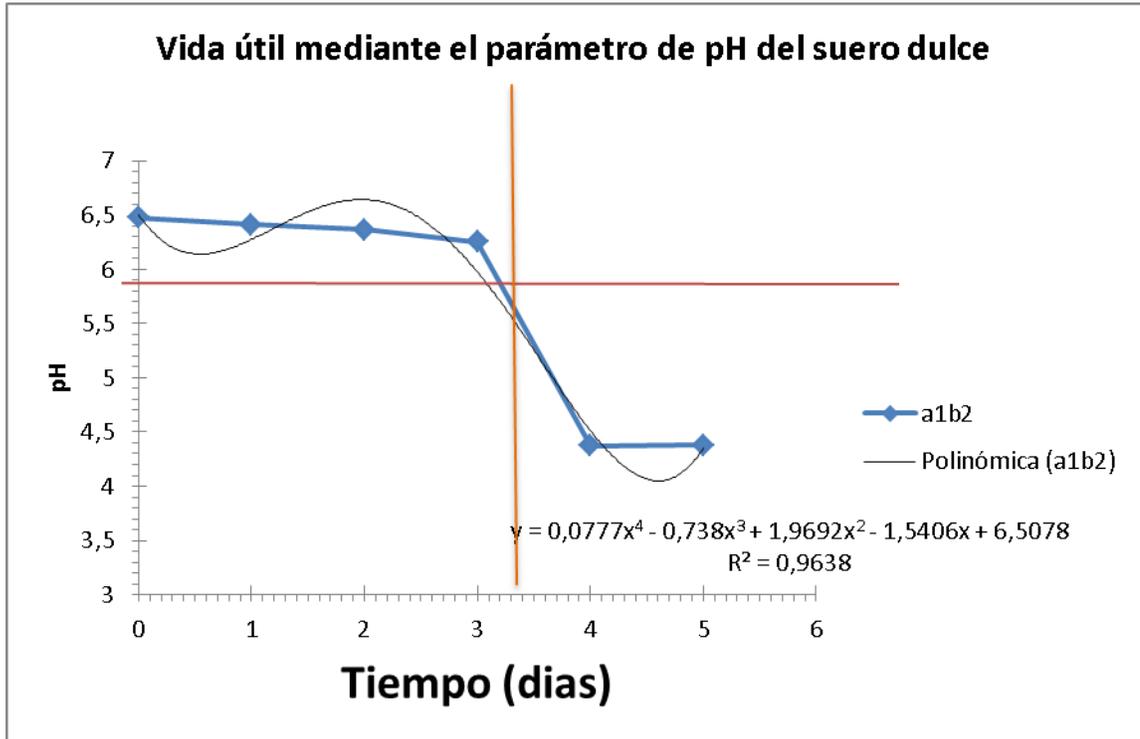
Gráficos 17A. Gráfico para la determinación de la vida útil para el tratamiento a1b1



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Tiempo de vida útil del suero dulce de quesería en base al pH en la muestra tratada a temperatura de refrigeración con una concentración de nisina de 100ppm es de 3.20días.

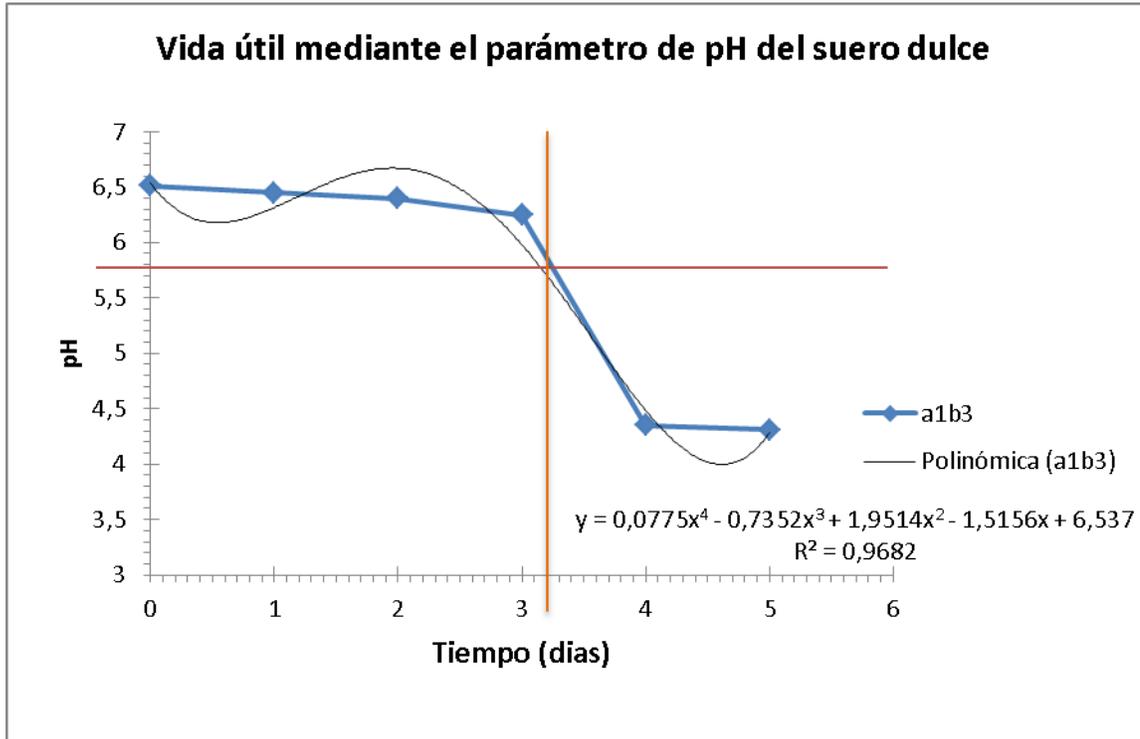
Gráficos 18A. Gráfico para la determinación de la vida útil para el tratamiento a1b2



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Tiempo de vida útil del suero dulce de quesería en base al pH en la muestra tratada a temperatura de refrigeración con una concentración de nisina de 150ppm es de 3.30 días.

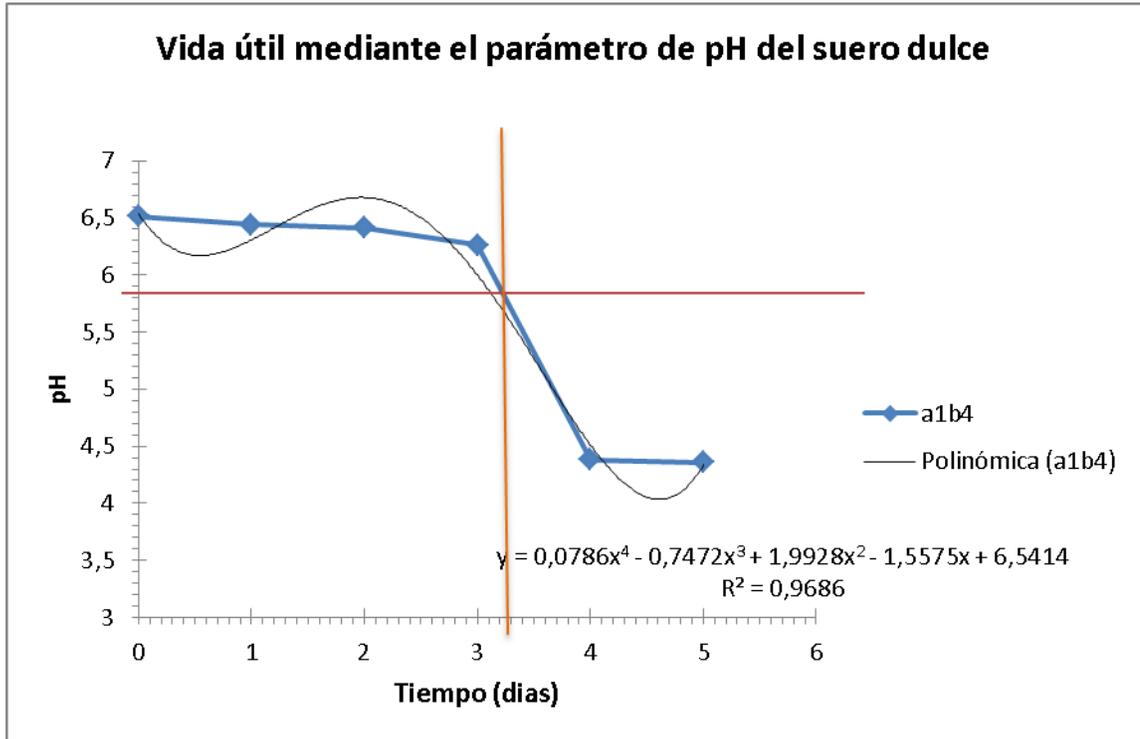
Gráficos 19A. Gráfico para la determinación de la vida útil para el tratamiento a1b3



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Tiempo de vida útil del suero dulce de quesería en base al pH en la muestra tratada a temperatura de refrigeración con una concentración de nisina de 200ppm es de 3.20 días.

Gráficos 20A. Gráfico para la determinación de la vida útil para el tratamiento a1b4



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Tiempo de vida útil del suero dulce de quesería en base al pH en la muestra tratada a temperatura de refrigeración con una concentración de nisina de 250ppm es de 3.25días.

Determinación de vida útil en base al recuento de UFC en muestras de suero dulce de quesería.

El cálculo de vida útil mediante el recuento de UFC se utilizó la siguiente ecuación:

$$t = \frac{(\ln_c + \ln_{Co})}{K}$$

Donde:

\ln_{Co} = Valor obtenido de la gráfica.

K = Constante de crecimiento de número de UFC

t = tiempo de vida útil en segundos.

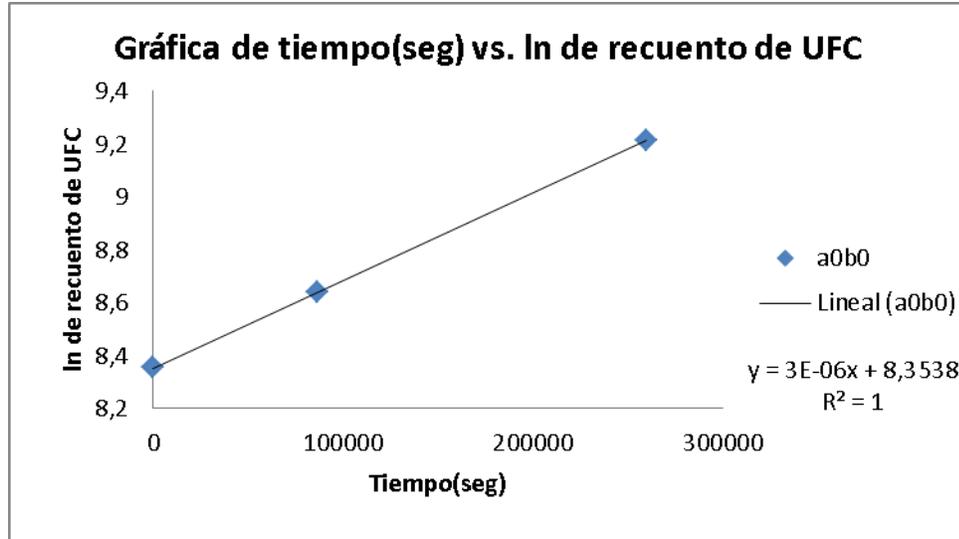
Cálculo de vida útil mediante recuentos de UFC en el suero dulce de quesería.

Tabal 1A. In del recuento de UFC en el tratamiento a0b0

Tiempo (seg).	Recuento de UFC	In de UFC
0	4250	8,35467426
86400	5650	8,63941082
259200	10050	9,21532791

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Gráfico 21A. Gráfica para encontrar (K) constante de crecimiento de microorganismos en el tratamiento a0b0



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

La constante de crecimiento para el tratamiento a0b0 es de $3E-06$.

Cálculo de vida útil para el tratamiento a0b0

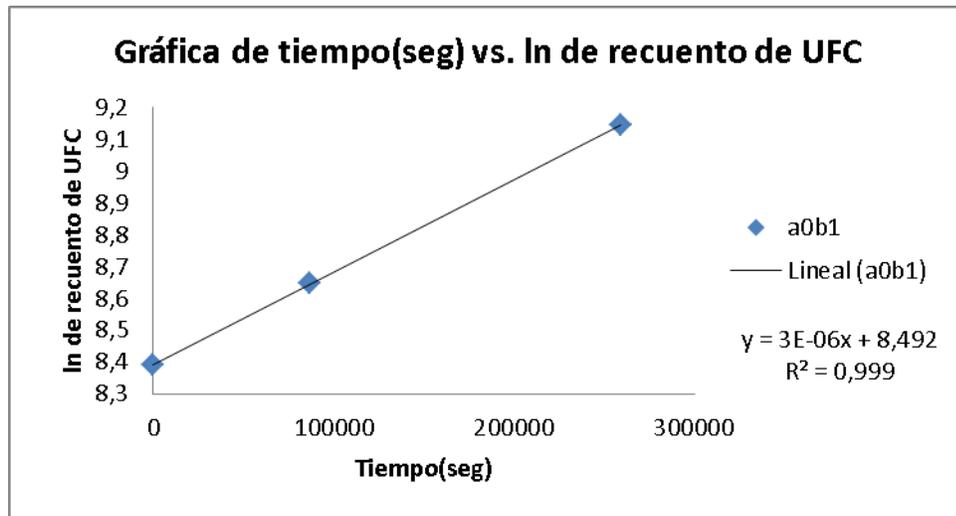
Vida útil (seg)= 220775,971
 Vida útil (días)= 2,55527744

Tiempo de vida útil del suero dulce de quesería en base al recuento de UFC para la muestra tratada a temperatura ambiente con una concentración de nisina de 50ppm es de 2.55 días.

Tabal 2A. In del recuento de UFC en el tratamiento a0b1

Tiempo (seg).	Recuento de UFC	In de UFC
0	4400	8,38935982
86400	5700	8,64822145
259200	9350	9,14313162

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Gráfico 22A. Gráfica para encontrar (K) constante de crecimiento de microorganismos en el tratamiento a0b1

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

La constante de crecimiento para el tratamiento a0b1 es de 3E-06.

Cálculo de vida útil para el tratamiento a0b1

Vida útil (seg)= 217043,874

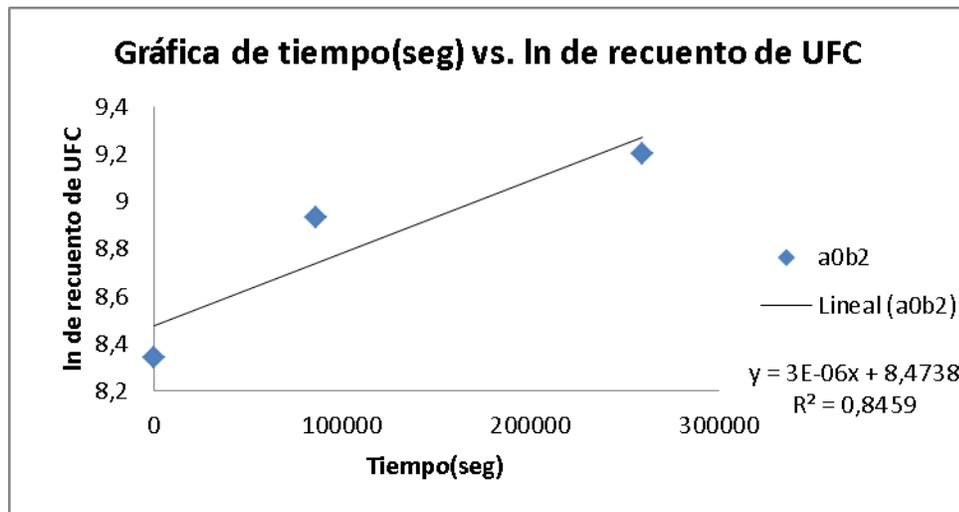
Vida útil (días)= 2,51208188

Tiempo de vida útil del suero dulce de quesería en base al recuento de UFC para la muestra tratada a temperatura de ambiente con una concentración de nisina de 100ppm es de 2.51 días.

Tabal 3A. In del recuento de UFC en el tratamiento a0b2

Tiempo (seg).	Recuento de UFC	In de UFC
0	4200	8,3428398
86400	7600	8,93590353
259200	9950	9,20532783

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Gráfico 23 A. Gráfica para encontrar (K) constante de crecimiento de microorganismos en el tratamiento a0b2

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

La constante de crecimiento para el tratamiento a0b2 es de 3E-06.

Cálculo de vida útil para el tratamiento a0b2

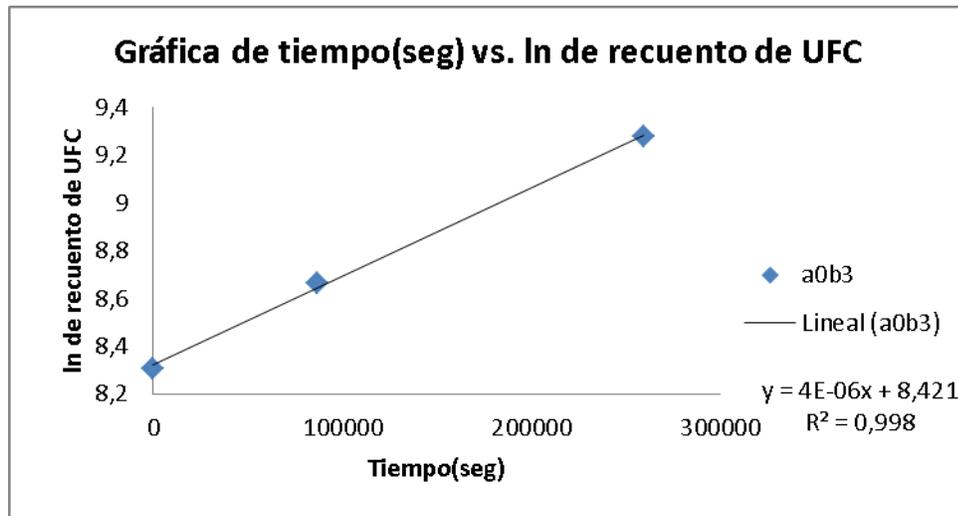
Vida útil (seg)= 244109,277
Vida útil (días)= 2,82533885

Tiempo de vida útil del suero dulce de quesería en base al recuento de UFC para la muestra tratada a temperatura de ambiente con una concentración de nisina de 150ppm es de 2,82 días.

Tabal 4A. In del recuento de UFC en el tratamiento a0b3

Tiempo (seg).	Recuento de UFC	In de UFC
0	4050	8,30647216
86400	5800	8,6656132
259200	10700	9,27799902

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Gráfico 24 A. Gráfica para encontrar (K) constante de crecimiento de microorganismos en el tratamiento a0b3

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

La constante de crecimiento para el tratamiento a0b3 es de 4E-06.

Cálculo de vida útil para el tratamiento a0b3

Vida útil (seg)= 211749,755

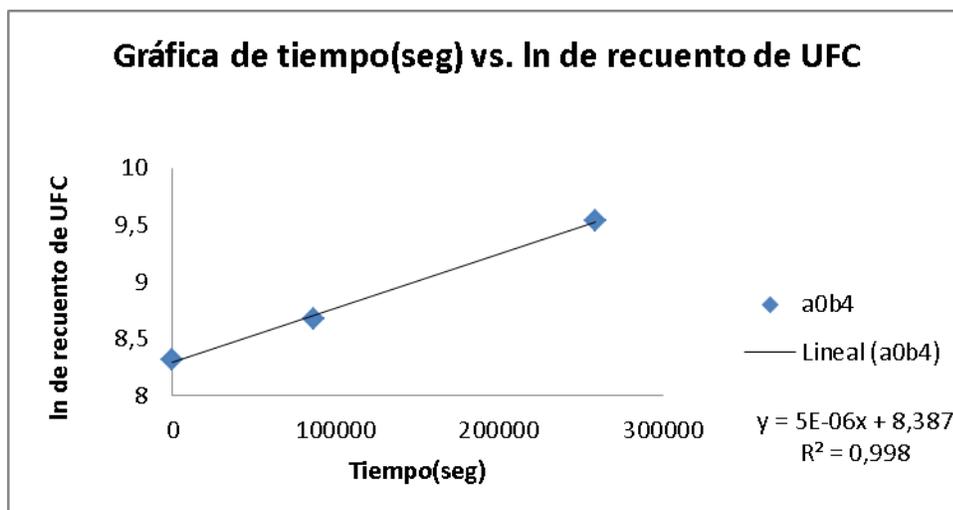
Vida útil (días)= 2,45080735

Tiempo de vida útil del suero dulce de quesería en base al recuento de UFC para la muestra tratada a temperatura de ambiente con una concentración de nisina de 200ppm es de 2.45 días.

Tabal 5A. In del recuento de UFC en el tratamiento a0b4

Tiempo (seg).	Recuento de UFC	In de UFC
0	4100	8,31874225
86400	5850	8,67419694
259200	13800	9,53242387

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Gráfico 25A. Gráfica para encontrar (K) constante de crecimiento de microorganismos en el tratamiento a0b4

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

La constante de crecimiento para el tratamiento a0b4 es de 5E-06.

Cálculo de vida útil para el tratamiento a0b4

Vida útil (seg)= 229084,774

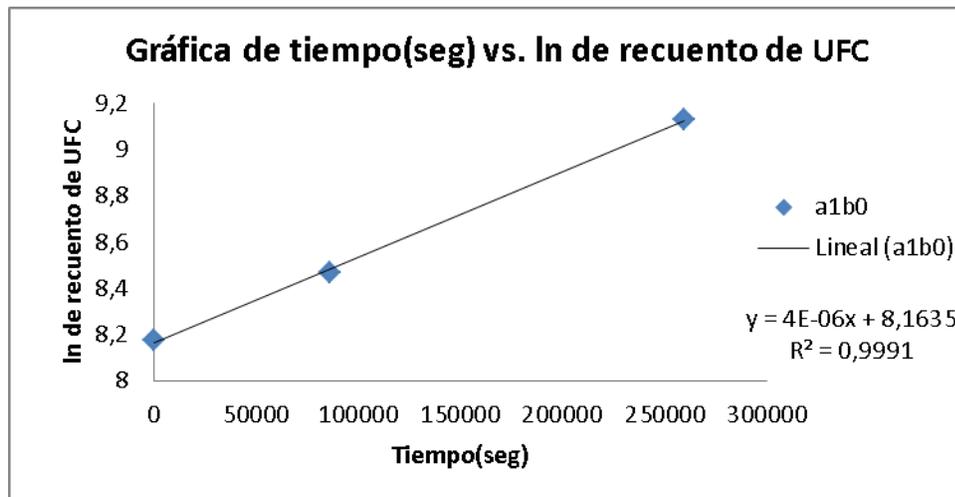
Vida útil (días)= 2,65144415

Tiempo de vida útil del suero dulce de quesería en base al recuento de UFC para la muestra tratada a temperatura de ambiente con una concentración de nisina de 250ppm es de 2.65 días.

Tabal 6A. In del recuento de UFC en el tratamiento a1b0

Tiempo (seg).	Recuento de UFC	In de UFC
0	3550	8,17470288
86400	4750	8,4658999
259200	9200	9,12695876

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Gráfico 26A. Gráfica para encontrar (K) constante de crecimiento de microorganismos en el tratamiento a1b0

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

La constante de crecimiento para el tratamiento a1b0 es de 4E-06.

Cálculo de vida útil para el tratamiento a1b0

Vida útil (seg)= 240989,691

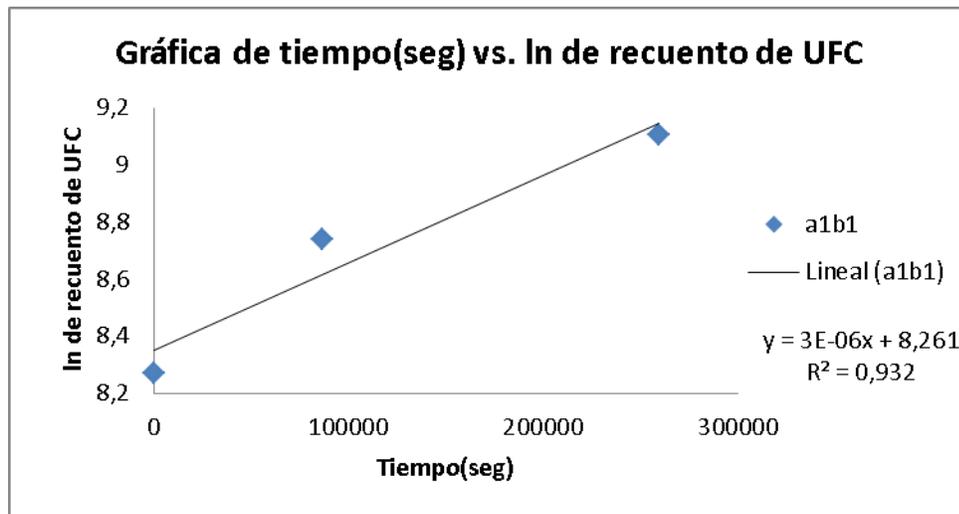
Vida útil (días)= 2,78923253

Tiempo de vida útil del suero dulce de quesería en base al recuento de UFC para la muestra tratada a temperatura de refrigeración con una concentración de nisina de 50ppm es de 2.78 días.

Tabal 7A. In del recuento de UFC en el tratamiento a1b1

Tiempo (seg).	Recuento de UFC	In de UFC
0	3900	8,26873183
86400	6250	8,74033674
259200	9000	9,10497986

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Gráfico 27A. Gráfica para encontrar (K) constante de crecimiento de microorganismos en el tratamiento a1b1

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

La constante de crecimiento para el tratamiento a1b1 es de $3E-06$.

Cálculo de vida útil para el tratamiento a1b1

Vida útil (seg)= 281326,619
 Vida útil (días)= 3,25609512

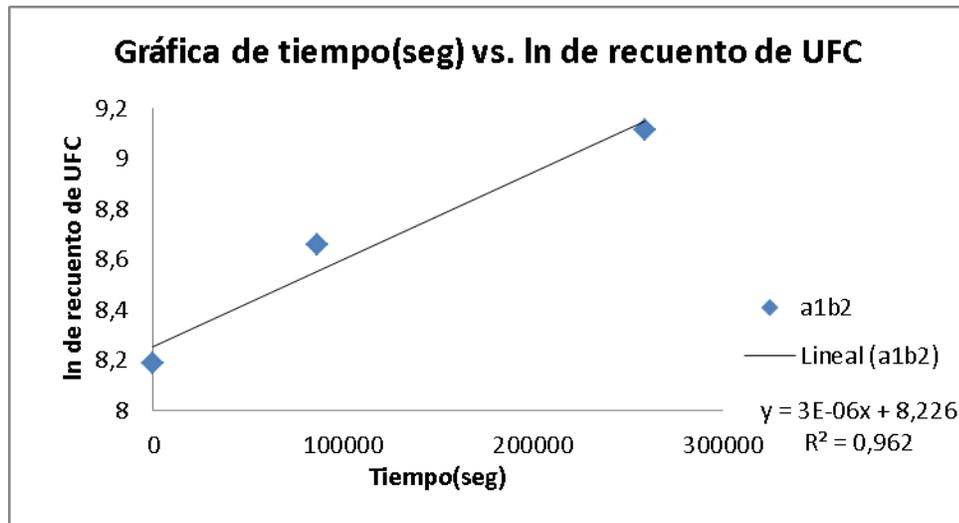
Tiempo de vida útil del suero dulce de quesería en base al recuento de UFC para la muestra tratada a temperatura de refrigeración con una concentración de nisina de 100 ppm es de 3.25 días.

Tabal 8A. In del recuento de UFC en el tratamiento a1b2

Tiempo (seg).	Recuento de UFC	In de UFC
0	3600	8,18868912
86400	5750	8,65695513
259200	9100	9,11602969

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Gráfico 28A. Gráfica para encontrar (K) constante de crecimiento de microorganismos en el tratamiento a1b2



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

La constante de crecimiento para el tratamiento a1b2 es de 3E-06.

Cálculo de vida útil para el tratamiento a1b2

Vida útil (seg)= 296676,564
 Vida útil (días)= 3,43375653

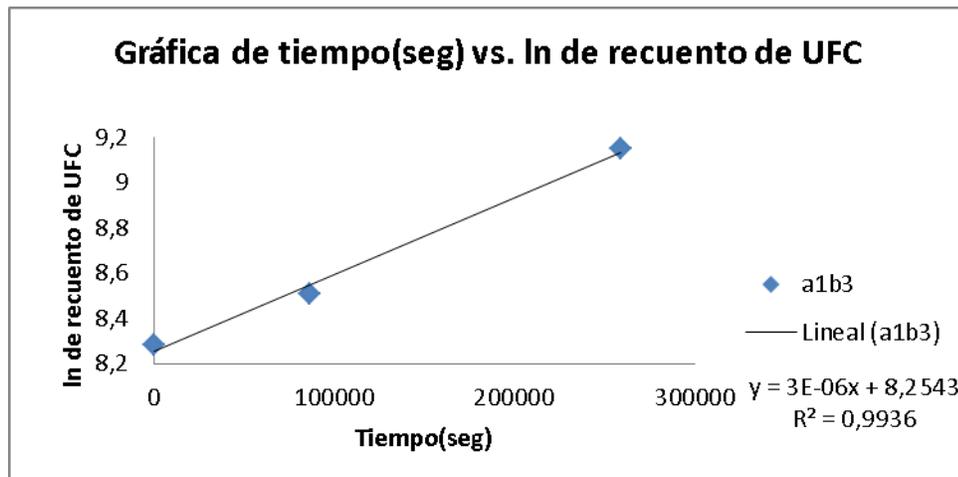
Tiempo de vida útil del suero dulce de quesería en base al recuento de UFC para la muestra tratada a temperatura de refrigeración con una concentración de nisina de 150 ppm es de 3.43 días.

Tabal 9A. In del recuento de UFC en el tratamiento a1b3

Tiempo (seg).	Recuento de UFC	In de UFC
0	3950	8,28147086
86400	4950	8,50714286
259200	9400	9,14846497

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Gráfico 29A. Gráfica para encontrar (K) constante de crecimiento de microorganismos en el tratamiento a1b3



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

La constante de crecimiento para el tratamiento a1b3 es de $3E-06$.

Cálculo de vida útil para el tratamiento a1b3

Vida útil (seg)= 274821,656

Vida útil (días)= 3,1808062

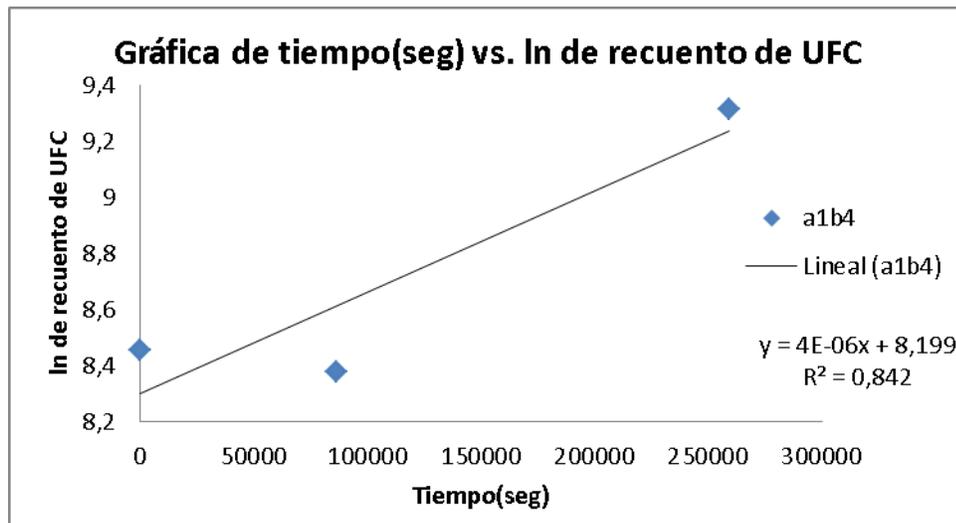
Tiempo de vida útil del suero dulce de quesería en base al recuento de UFC para la muestra tratada a temperatura de refrigeración con una concentración de nisina de 200 ppm es de 3.18 días.

Tabal 10A. In del recuento de UFC en el tratamiento a1b4

Tiempo (seg).	Recuento de UFC	In de UFC
0	4700	8,45531779
86400	4350	8,37793112
259200	11100	9,31470039

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

Gráfico 30A. Gráfica para encontrar (K) constante de crecimiento de microorganismos en el tratamiento a1b4



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

La constante de crecimiento para el tratamiento a1b4 es de 4E-06.

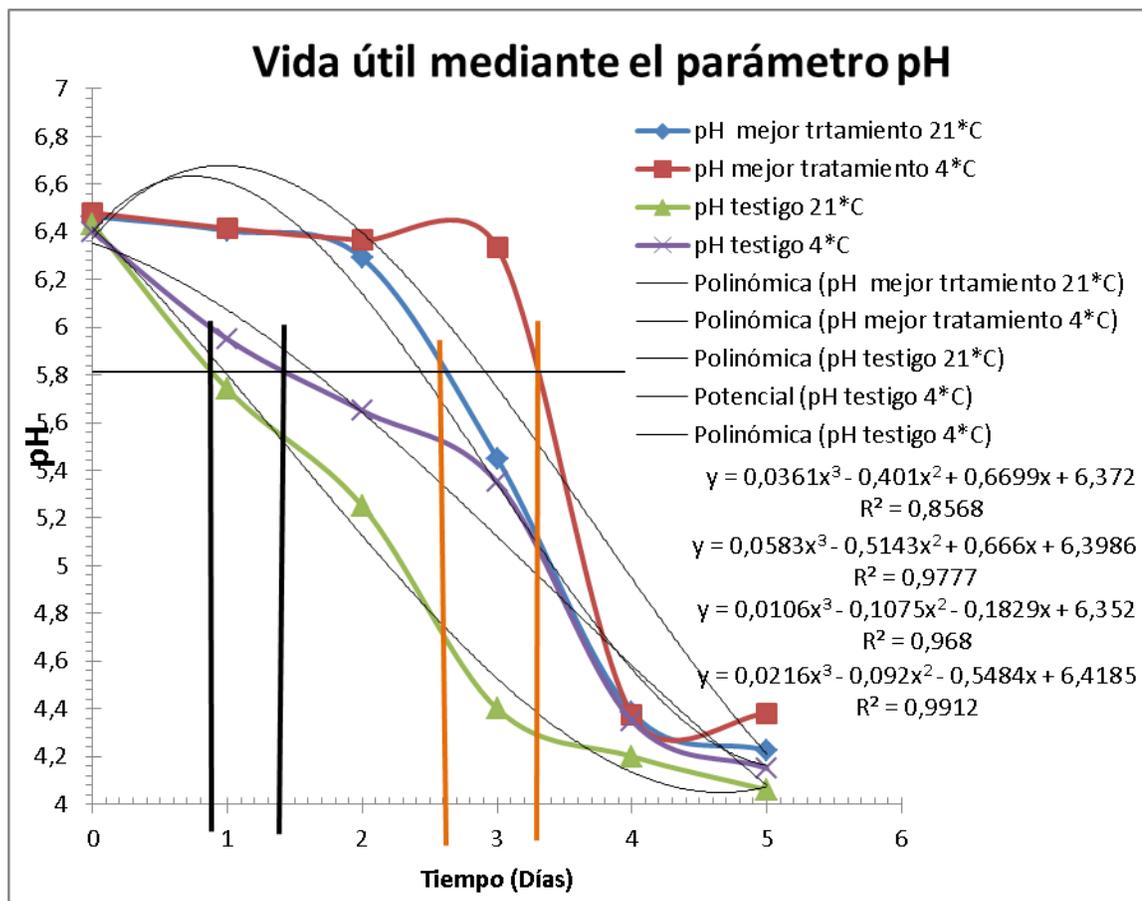
Cálculo de vida útil para el tratamiento a1b4

Vida útil (seg)= 278925,097
 Vida útil (días)= 3,22829973

Tiempo de vida útil del suero dulce de quesería en base al recuento de UFC para la muestra tratada a temperatura de refrigeración con una concentración de nisina de 250 ppm es de 3.22 días.

Gráfico para la comparación de la vida entre el mejores tratamiento y la muestra testigo.

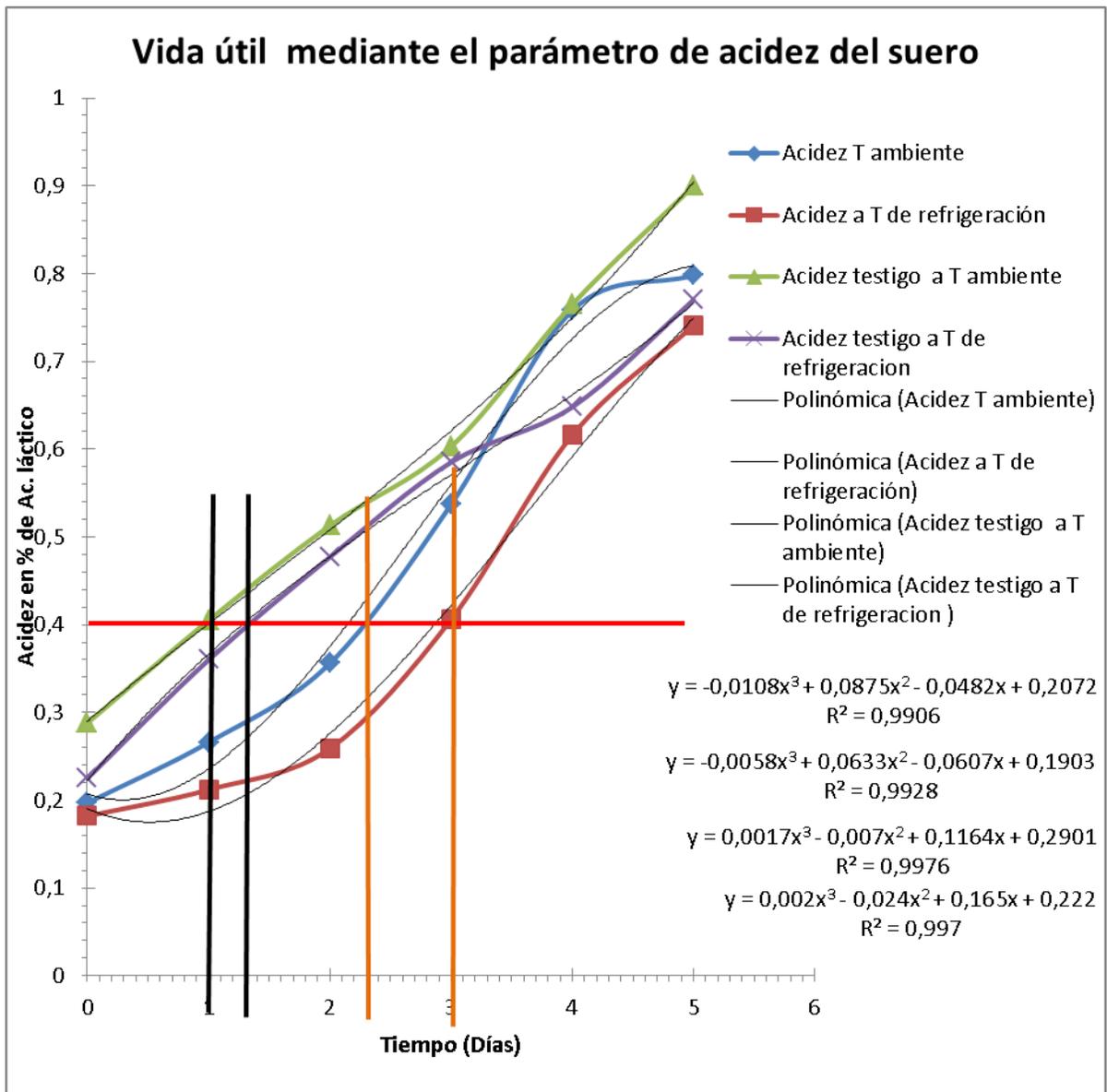
Gráfica 31A. Gráfico de vida útil de la muestra testigo y el tratamiento a0b2 y a1b2 mediante el parámetro de pH del suero



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

En la gráfica 31 A se puede apreciar una comparación entre el mejor tratamiento y la muestra testigo, donde el mejor tratamiento, el tiempo de vida útil a temperatura ambiente (21°C) es de 2.6 días y a temperatura de refrigeración (4°C) es de 3.30 días mientras que en la muestra testigo tiene una vida útil de 0.9 días a temperatura ambiente (21°C) y a temperatura de refrigeración (4°C) es de 1.40 días mediante el parámetro de pH del suero.

Gráfica 32A. Gráfico de vida útil de la muestra testigo y el mejor tratamiento a0b2 y a1b2 mediante el parámetro de acidez expresada en porcentaje de ácido láctico



Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

En la gráfica 32 A se puede apreciar una comparación entre el mejor tratamiento y la muestra testigo, donde el mejor tratamiento, el tiempo de vida útil a temperatura ambiente (21 °C) es de 2.32 días y a temperatura de refrigeración (4 °C) es de 3 días mientras que en la muestra testigo tiene una vida útil de 1 días a temperatura ambiente (21 °C) y a temperatura de refrigeración (4 °C) es de 1.30 días mediante el parámetro de acidez expresado en porcentaje de ácido láctico.

Tabla 1 A. Datos de pH de la muestra testigo y del mejor tratamiento tanto a temperatura ambiente (21 °C) y a temperatura de refrigeración (4°C)

	Parámetro de pH del suero			
	T ambiente		T de refrigeración	
	Mejor tratamiento	Testigo	Mejor tratamiento	Testigo
	pH	pH	pH	pH
1	6,465	6,43	6,48	6,4
2	6,405	5,74	6,415	5,95
3	6,29	5,25	6,365	5,65
4	5,45	4,4	6,335	5,35
5	4,385	4,2	4,375	4,35
6	4,225	4,06	4,38	4,15

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

En la tabla 1A se indica los valores de pH tanto para el mejor tratamiento (a0b2 y a1b2) como también para la muestra testigo donde los valores de pH para el mejor tratamiento a temperatura ambiente (21 °C) va desde un valor de 6.465 hasta un valor de 4.225 y en la muestra testigo va de 6.43 hasta un valor de 4.06 en el sexto día de experimentación mientras que a temperatura de refrigeración (4°C) en el caso del mejor tratamiento es de 6.48 hasta llegar a un valor de 4.38 741 y para la muestra testigo tiene un valor inicial de pH de 6.4 hasta llegar a 4.15 en el sexto día.

Tabla 2 A. Datos de acidez expresado en porcentaje de ácido láctico de la muestra testigo y del mejor tratamiento tanto a temperatura ambiente (21 °C) y a temperatura de refrigeración (4°C)

Parámetro de acidez del suero

	T ambiente		T de refrigeración	
	Mejor tratamiento	Testigo	Mejor tratamiento	Testigo
0	0,197	0,288	0,182	0,225
1	0,266	0,405	0,212	0,36
2	0,356	0,513	0,259	0,477
3	0,537	0,603	0,406	0,585
4	0,758	0,765	0,616	0,648
5	0,798	0,9	0,741	0,77

Elaborado por: Washington Ramírez, 2010.

En la tabla 2A se indica los valores de acidez expresa en porcentaje de ácido láctico tanto para el mejor tratamiento (a0b2 y a1b2) como también para la muestra testigo donde los valores de acidez para el mejor tratamiento a temperatura ambiente (21 °C) va desde un valor de 0.197 hasta un valor de 0.798 y en la muestra testigo va de 0.288 hasta un valor de 0.9 porcentaje de ácido láctico presente en el sexto día de experimentación mientras que a temperatura de refrigeración (4°C) en el caso del mejor tratamiento es de 0.182 hasta llegar a un valor de 0.741 y para la muestra testigo tiene un valor inicial de acidez de 0.225 hasta llegar a 0.77 en el sexto día.