



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS CARRERA

DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

**LA EVALUACIÓN DE NISINA EN LA VIDA ÚTIL DEL SUERO
ÁCIDO DE QUESERÍA**

Trabajo de Investigación (graduación). Modalidad: Seminario de Graduación.
Presentando 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: Vinicio Sebastián Romero Bustillos

Tutor: César A. German T.

2010

AMBATO - ECUADOR

2010

Ing. César A. German T.

ii

TUTOR DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

CERTIFICA:

Que el presente Trabajo de Investigación: **"LA EVALUACIÓN DE NISINA EN LA VIDA ÚTIL DEL SUERO ÁCIDO DE QUESERÍA"**, desarrollado por el Egdo. Vinicio Sebastián Romero Bustillos; observa las orientaciones metodológicas de la Investigación Científica:

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

Por lo expuesto:

Autorizo su presentación entre los organismos competentes para la respectiva calificación

Ambato a 18 de mayo de 2010

Ing. César A. German T. **TUTOR
DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN**

AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

La responsabilidad del contenido del Trabajo de Investigación, corresponde a Vinicio Sebastián Romero Bustillos y del Ing. César A. German T., y el patrimonio intelectual de la misma a la Universidad Técnica de Ambato

Vinicio Romero Bustillos
Autor

Trabajo de Investigación
Ing. César A. German T

A CONSEJO DIRECTIVO DE LA FCIAL

4

Tutor

Trabajo de Investigación

El Tribunal de Defensa del Trabajo de Investigación **"LA EVALUACIÓN DE
NISINA EN LA VIDA ÚTIL DEL SUERO ÁCIDO DE QUESERÍA"**,

presentada por el Sr. Vinicio Sebastián Romero Bustillos y conformada por: Ing. William Teneda, Ing. María Pacheco Miembros del Tribunal de Defensa y Tutor del Trabajo de Investigación Ing. César A. German T. y presidido por el Ingeniero Romel Rivera , Presidente de Consejo Directivo, Ingeniero Mario Manjarrez, Coordinador del Noveno Seminario de Graduación FCIAL - UTA, una vez escuchada la defensa oral y revisado el Trabajo de Investigación escrito en el cuál se ha constatado el cumplimiento de las observaciones realizadas por el Tribunal de Defensa del Trabajo de Investigación para uso y custodia en la Biblioteca de la FCIAL.

AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

Ing. Romel Rivera **Presidente Consejo Directivo**

Ing. Mario Manjarrez
Coordinador Noveno Seminario de Graduación

Ing. William Teneda **Miembro del Tribunal**

Ing. María Pacheco **Miembro del Tribunal**

DEDICATORIA

A mis padres Fausto y Rosita, de manera especial a mi madre que es la persona que mas quiero en el mundo, ya que con su comprensión, su apoyo y sus consejos me ha orientado siempre por el camino correcto de mi vida.

A mis hermanos por estar a mi lado en los buenos y malos momentos, por darme la fuerza, apoyo y cariño siempre que lo necesito.

El presente trabajo de investigación esta dedicado a cada uno de mis amigos y personas que siempre se encontraron a mi lado dándome su apoyo.

*Vinici
o*

AGRADECIMIENTO

A Dios por darme la vida y la fuerza necesaria para culminar todos los objetivos propuestos en mi vida.

A mis padres, por su apoyo incondicional y haber luchado incansablemente por mí y mis hermanos.

A la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, donde recibí valores y conocimientos que me servirán tanto en mi vida personal como profesional.

*A mi Director de Tesis Ing. César German, por la confianza depositada en mí,
su apoyo para la facilitación de este trabajo.*

*A mis compañeros y entrañables amigos que me han acompañado y
estuvieron conmigo para cruzar juntos esta etapa de mi vida.*

*Vinici
o*

Pág.

ÍNDICE GENERAL

viii

Resumen Ejecutivo	XI
Importancia del Estudio	XII

CAPITULO I PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

1.1 Tema	1
1.2 Planteamiento del problema	1
1.2.1 Contextualización	1
1.2.2 Análisis crítico	4
1.2.3 Prognosis	5
1.2.4 Formulación del problema	5
1.2.5 Preguntas directrices	6
1.2.6 Delimitación	6
1.3 Justificación	6
1.4 Objetivos	8
1.4.1 Objetivo General	8
1.4.2 Objetivos Específicos	8

CAPITULO II MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes Investigativos	9
2.2. Fundamentación Filosófica	11
2.3. Fundamentación Legal	12
2.4. Categorías Fundamentales	12
2.4.1. Marco conceptual variable independiente	13
2.4.2. Marco conceptual variable dependiente	14
2.4.3. Gráficos de Inclusión Interrelacionados	15
2.5. Hipótesis	25

**CAPITULO VI
PROPUESTA**

ix

CAPITULO III METODOLOGÍA

3.1. Enfoque	26
3.2. Modalidad Básica de Investigación	26
3.3. Nivel o Tipo de Investigación	28
3.4. Población y Muestra	28
3.5. Operacionalización de Variables	29
3.5.1 Variable Independiente	29
3.5.2 Variable Dependiente	30
3.6. Recolección de Información	30
3.7. Procesamiento y Análisis de la Información	32

CAPITULO IV

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1. Análisis de los Resultados	33
4.1.1. Análisis de pH	33
4.1.2. Análisis de Acidez	36
4.1.3. Análisis UFC	37
Análisis Estadístico	39
4.2.1. Análisis de pH	39
4.2.2. Análisis de Acidez	41
4.2.3. Análisis UFC	43
4.3. Vida Útil	45
4.4. Verificación de Hipótesis	48

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

	4
5.1. Conclusiones	9
5.2. Recomendaciones	5
	1

6.1.	Datos Informativos	5
		2
6.2.	Antecedentes de la Propuesta	5
		3
6.3.	Justificación	5
		4
6.4.	Objetivos	5
		5
6.5.	Análisis de Factibilidad	5
		5
6.6.	Fundamentación	5
		6
6.7.	Metodología. Modelo Operativo	5
		9
6.8.	Administración	6
		0
6.9.	Previsión de la Evaluación	6
		1
	CAPITULO VII	
	BIBLIOGRAFÍA	62
	ANEXOS	67

CAPITULO VI

PROPUESTA

11

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Bacteriocinas de la clase I producidas por bacterias ácido lácticas

Tabla 2. Cifras de VB, DV y PER de las proteínas del suero **Tabla 3.**

Composición Suero Ácido

Tabla 4. Verificación de la hipótesis de los parámetros analizados **Tabla 5.**

Balance de Costo para Suero Ácido de Quesería con Nisina **Tabla 6.** Modelo

Operativo (Plan de acción) **Tabla 7.** Administración de la Propuesta **Tabla 8.**

Previsión de la Evaluación

Gráfico 1. El Árbol de Problema

Gráfico 2. Diagrama de Flujo para la evaluación de Nisina en suero ácido de
quesería

Gráfico 3. Super-Ordinación

Gráfico 4. Vida Útil de Suero Ácido de Quesería a Temperatura Ambiente (Mejor
Tratamiento)

Gráfico 5. Vida Útil de Suero Ácido de Quesería a Temperatura Refrigeración
(Mejor Tratamiento)

Gráfico 6. Diagrama de Flujo para el tratamiento del Suero Ácido de Quesería
con Nisina

El presente trabajo de investigación abarca un objetivo fundamental que es aumentar la vida útil del suero ácido de queso para su posterior aprovechamiento, para lo cual se evaluó mediante análisis de laboratorio por medio de cambios de pH, acidez y conteo de colonias, aplicando un diseño

experimental AxB, ya que los factor que intervenían en el estudio fueron la temperatura de almacenamiento y las distintas concentraciones a utilizarse de bioconservante (Nisina).

Para todos los tratamientos y cada uno de los análisis realizados, se realizó un análisis estadístico para determinar cual de los tratamientos logró mantener las mejores características para conservar al suero ácido de quesería con sus características iniciales el mayor tiempo posible durante el tiempo que duró la experimentación; utilizado un patrón para realizar las respectivas

comparaciones, se encontró que los mejores resultados se presentaban en las muestras tratadas con mayores concentraciones de Nisina y a temperatura de refrigeración

Todos los análisis realizados persiguen el uso de Nisina para aumentar el tiempo de conservación tan reducido del suero ácido de quesería. Con los análisis realizados para la evaluación de la vida útil del suero ácido se logró identificar la concentración más adecuada para la conservación de este valioso aporte, considerando como la más adecuada la adición de 200ppm de esta

bacteriocina que ha recibido amplia aceptación internacional como aditivo alimentario, por lo que su empleo es permitido en más de cincuenta países, para la inhibición de *Clostridium* spp en queso, alimentos enlatados, leche pasteurizada y para controlar el crecimiento de bacterias ácido lácticas.

La idea de este estudio fue escogida debido a que se quiere demostrar que la utilización de un conservante alimenticio de origen natural como es la Nisina puede ayudar a elevar el tiempo de vida útil del suero ácido de quesería, ya que el suero de quesería que tanto a sido despreciado en gran parte por el

desconocimiento del gran aporte nutritivo que este nos puede brindar a sido mal manejado y desechado.

Además se pretende dar la iniciativa de crear nuevas tecnologías en el país para posteriores tratamientos que se le pueden dar al suero de quesería debido a que se logrará estimular a un mejor manejo del suero de quesería, el cuál es subutilizado o a su vez considerado como un desecho; mediante nuevas tecnologías el suero de quesería puede ser utilizado como complemento alimenticio en la dieta de animales, generalmente para la crianza de cerdos.

Este líquido de color verde-amarillento se separa de la leche cuando ésta se coagula, y su eliminación directa en los cauces de agua puede provocar daños importantes en los ecosistemas afectados, de ahí la importancia de someterlo a un proceso de industrialización para aprovechar sus bondades nutricionales y evitar la contaminación que ocasiona. Cabe mencionar que las proteínas del suero lácteo son de elevada digestibilidad y poseen aminoácidos esenciales en una equilibrada proporción.

También puede ser procesado para productos de consumo humano, como concentrados de proteína de suero que son bajos en grasa pueden ser utilizado como materia prima y mejoradores de las características de innumerables productos de consumo masivo como son sopas, salsas, pan, caramelos, helados y otros postres lácteos congelados, inclusive la proteína de suero es muy conveniente para su aplicación en bebidas isotónicas, ya que las proteínas de suero tienen el justo balance de los aminoácidos esenciales y no esenciales para el rendimiento óptimo del cuerpo humano.

CAPITULO I EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 TEMA

"La Evaluación de Nisina en la Vida Útil del Suero Ácido de Quesería"

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 1.2.1

Contextualización

- Contextualización Macro

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 (SICA: 2009)

- Contextualización Meso

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. MAGAP (2009).

La producción lechera se concentra en la región interandina, donde se ubican los mayores hatos lecheros. Esto se confirma según los últimos datos del Censo Agropecuario del año 2000, donde el 73% de la producción nacional de leche se la realiza en la Sierra, aproximadamente un 19% en la Costa y un 8% en el Oriente y Región Insular.

El 90% de las industrias se encuentran ubicadas en el callejón interandino con una fuerte concentración en las provincias del centro norte de la sierra (Pichincha, Cotopaxi, Imbabura, Carchi) y se dedican principalmente a la producción de leche pasteurizada, quesos, crema de leche y otros derivados en menor proporción. SICA (2009)

- Contextualización Micro

Datos estadísticos del Sistema de Información y Censo Agropecuario (Sica) se establece que en Tungurahua se producen 265 mil litros de leche diarios.

Ante estas circunstancias, el Departamento de Producción del Consejo Provincial de Tungurahua busca mejorar la comercialización y la agroindustria. SICA (2009)

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 Pillaro, Pelileo, Ambato, Tisaleo, Patate y Quero, donde existen once queserías rurales en los cantones mencionados anteriormente, exceptuando a Pelileo. SICA (2009)

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. (<http://sisbib.unmsm.edu.pe>)

El suero de leche es un líquido obtenido en el proceso de fabricación del queso y de la caseína, después de la separación de la cuajada o fase micelar. Sus características corresponden a un líquido fluido, de color verdoso amarillento, turbio, de sabor fresco, débilmente dulce, de carácter ácido, con un contenido de nutrientes o extracto seco del 5.5% al 7% provenientes de la leche.

Según J. Gómez (2009), en la cuenca (zona) lechera de Píllaro que produce 100 mil litros diarios, los industriales elaboran derivados, quesos (60%), yogurt (20%) y lo demás se consume como leche cruda (10%) y pasteurizada (10%).

Según boletín de prensa, la Subsecretaría de Fomento Ganadero realiza a nivel nacional operativos de control del precio oficial en finca del litro de leche, fijado en \$0.3575.

1.2.2 Análisis Crítico

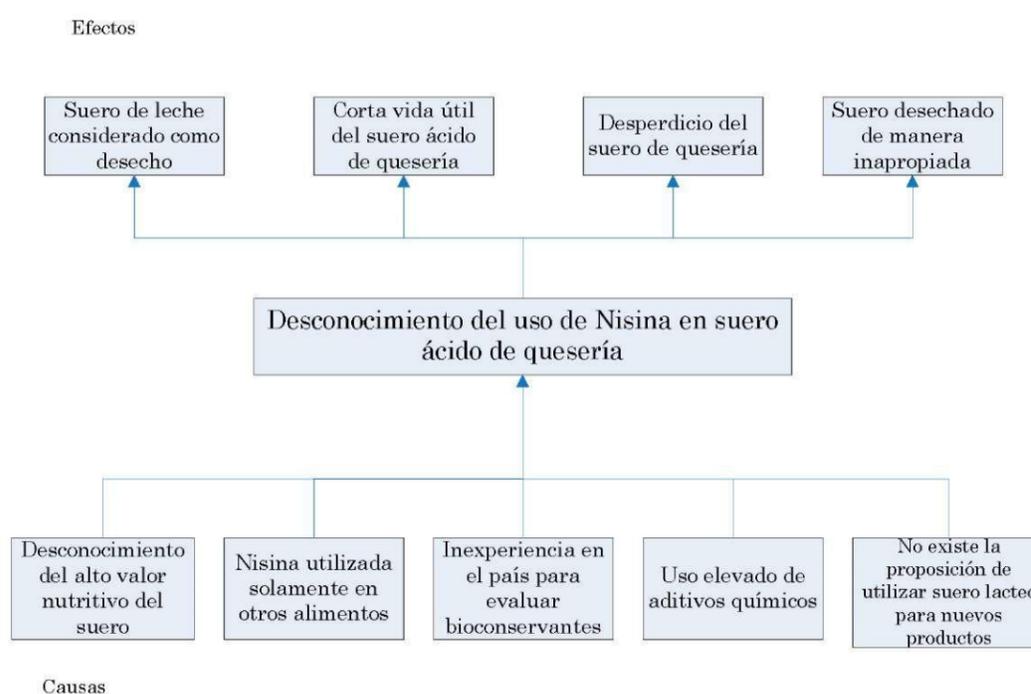


Grafico 1. Árbol del Problema

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

- Relación Causa Efecto

Causa:

Inexperiencia en el país para evaluar bioconservantes.

Efecto:

Corta vida útil de suero ácido de quesería mozzarella.

Debido a que el suero de quesería tiene un tiempo muy reducido de vida útil es considerado como un desecho y por tal motivo es subutilizado en el país debido al desconocimiento del alto valor nutritivo que este nos puede brindar a nuestro organismo, por dicha razón se ha visto en la necesidad de evaluar los efectos de la adición de un conservante natural (Nisina) en el suero ácido de quesería con el fin de aumentar el tiempo de vida útil del mismo.

1.2.3 Prognosis

El presente estudio constituirá una variante de investigación tecnológica para la evaluación de un bioconservante (Nisina) y orientar su uso en suero de quesería, ya que el desconocimiento del valor nutritivo del suero de quesería y del poder conservante de la Nisina que podría alargar la vida útil del suero de quesería ha provocado la subutilización del mismo, a pesar que este puede ser aprovechado de muchas maneras por su bajo contenido graso y gran calidad nutritiva para la elaboración de nuevos productos para alimentación humana y animal, por dicho desconocimiento el suero de quesería es considerado como desecho en toda industria láctea en el Ecuador, y esto ha inducido en la gente a que el suero de quesería sea desperdiciado y desechado de manera inapropiada y como no existe una disposición final para el suero, de forma que no afecte al medio ambiente provoca una grave contaminación de ríos y efluentes ya que por su alto contenido de latosa el suero es un producto muy contaminante.

1.2.4 Formulación del Problema

¿Es la inexperiencia para evaluar bioconservantes lo que provoca un desconocimiento del uso de Nisina en el suero ácido de quesería con la finalidad de aumentar la vida útil del suero ácido obtenido de la elaboración de queso mozzarella procesado en Productos Lácteos "ROZU" durante el segundo semestre del año 2009?

1.2.5 Preguntas Directrices

- ¿Qué concentración de Nisina será la más adecuada de utilizar en suero ácido de quesería?
- ¿Qué métodos de almacenamiento, transporte y manejo se le puede dar al suero de quesería para disminuir pérdidas económicas y de procesamiento?
- ¿La conservación de suero ácido de quesería provocará interés para la utilización del mismo en nuevos productos?
- ¿Qué métodos de tratamiento se le puede dar al suero de quesería para el posterior desecho?

1.2.6 Delimitación

- **Campo:** Productos Lácteos
- **Área:** Investigación Tecnológica
- **Aspecto:** Bioconservantes
- **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:** Segundo Semestre del 2009

1.3 JUSTIFICACIÓN

Con este estudio se quiere demostrar que la utilización de un conservante alimenticio de origen natural como es la Nisina puede ayudar a elevar el tiempo de vida útil de este valioso aporte de la naturaleza como es el suero de quesería que tanto a sido despreciado en gran parte por el desconocimiento del gran aporte nutritivo que este nos puede brindar, y que con la iniciativa de crear nuevas tecnologías en el país, el suero de quesería

puede ser utilizado como complemento alimenticio en la dieta de animales, generalmente para la crianza de cerdos.

7

El suero de quesería también puede ser procesado para productos de consumo humano, como concentrados de proteína de suero que son bajos en grasa y pueden ser utilizados como materia prima, mejoradores de las características de innumerables productos de consumo masivo como son sopas, salsas, pan, caramelos, helados y otros postres lácteos congelados, inclusive la proteína de suero es muy conveniente para su aplicación en bebidas isotónicas, ya que las proteínas de suero tienen el justo balance de los aminoácidos esenciales y no esenciales para el rendimiento óptimo del cuerpo humano.

Los beneficiarios de este estudio será todo el sector dedicado a la Industria Láctea en el Ecuador, debido a que se logrará estimular a un mejor manejo del suero de quesería, el cuál es subutilizado o a su vez considerado como un desecho, ya con esto se evitará pérdidas económicas y de procesamiento a los productores lácteos, y el pueblo ecuatoriano en general ya que si se llegará a considerar el uso de la proteína de suero en productos de consumo masivo favorecería en gran medida a la nutrición de las personas y especialmente en niños.

El estudio se presenta factible de realizarlo ya que el suero es fácilmente de conseguir en grandes cantidades, además que las pruebas de laboratorio necesarias para la evaluación de la Nisina en la vida útil del suero ácido de quesería se los realizará en los laboratorios de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato.

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 Objetivo General

- Estudiar el poder conservante de la Nisina en la vida útil del suero ácido de quesería.

1.4.2 Objetivos Específicos

- Ensayar con diferentes concentraciones de Nisina en suero ácido de quesería con el fin de identificar la concentración más adecuada.

- Evaluar la vida útil del suero ácido de quesería mediante análisis de laboratorio por medio de cambios de pH, acidez y conteo de colonias.
- Sugerir a las queserías el uso de Nisina y su mejor concentración como bioconservante en suero ácido de quesería.

CAPITULO II MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

Según Spreer (1975), en el pasado se consideraba al suero como un producto residual y no se le daba tampoco una aplicación. En realidad se trata de un subproducto integrado por valiosas materias, cuya obtención y oportuno aprovechamiento revisten una gran importancia para la economía nacional.

alta acidez, baja actividad de agua; se pueden utilizar para incrementar la vida útil de muchos alimentos.

9

Basándose en Garcés y López (1986), el suero es considerado como un desecho de las queserías; una pequeña parte se lo usa en la alimentación de los animales, mientras que la mayor parte al descargarse en los efluentes provoca contaminación ambiental.

Según Almanza (1991), el suero ácido proveniente de quesos en que el coagulo ha sido formado fundamentalmente por acidificación mediante la adición de ácidos orgánicos o inorgánicos, diluidos, así también la caseína láctica.

Basándose en Huffman (1996), en la actualidad muchos países estudian las propiedades de la proteína de suero para la aplicación en el desarrollo de productos alimenticios innovadores, utilizando sus propiedades de viscosidad, gelatinización, adhesión, emulsificación y espumante. En

De acuerdo a Grasselli y col (1997), aproximadamente, la cantidad de suero residual es 5 a 10 veces mayor que la de queso producido. Se calcula que en Europa se producen 75 millones de toneladas anuales de suero de queso, 27 en América del norte y 8 en otras áreas del mundo, lo que resulta en un total de 110 millones de toneladas.

Según Grasselli y col (1997), las proteínas del suero del queso tienen excelentes propiedades funcionales y un valor nutritivo muy alto debido a su excepcional contenido en lisina, triptófano y aminoácidos azufrados. A pesar de estas cualidades, durante muchos años las proteínas del suero no se usaron para consumo humano, sino que sirvieron de alimento para porcinos, fueron eliminadas por las cloacas y los ríos, o se dispersaron sobre los campos por lo que así provocaron una importante contaminación del medio ambiente. Se ha calculado que el efecto contaminante de 1.000 litros de suero del queso es equivalente al que producirían 400 personas.

Según Mawson y col (1993), la Nisina es un polipéptido bacteriocina producida por cepas de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* y ampliamente utilizado como un conservante de alimentos (profundiza - Broughton 1990). Es activo frente a una

bebidas en las que se ha utilizado suero¹⁰ lácteo como ingrediente se ha podido obtener un producto de fácil elaboración, buen sabor, valor nutricional considerable y muchas más ventajas.

serie de Bacterias Gram-positivas, incluidas otras láctico bacterias ácido que son frecuentes el deterioro organismos en las fermentaciones alcohólicas.

Según Madrid col (2001), el crecimiento de las bacterias está limitado en gran medida por las variaciones de las condiciones externas que pueden soportar y las condiciones óptimas para su desarrollo, entre las que se encuentran: Disponibilidad de elementos nutrientes, humedad del medio, actividad de agua, temperatura, oxígeno, acidez y concentración de sales.

Según Arques (2003), Nisina, su origen natural permite su uso como protector de alimentos. Su incorporación en los alimentos permite reducir o eliminar el uso de aditivos químicos de síntesis. Por ser resistentes al calor,

Según López y col (2004), A fin de evitar el crecimiento de microorganismos deterioradores y patógenos en alimentos se han usado tradicionalmente conservadores químicos. Actualmente ante la demanda de los consumidores de alimentos mínimamente procesados, el uso de bacteriocinas, péptidos con actividad antimicrobiana producidos por bacterias lácticas se han convertido en una alternativa.

Basándose en Nuñez y col (2007), el uso propuesto de las bacteriocinas como preservadores potenciales de alimentos no se entiende como un medio primario de preservación. La mayoría de los investigadores consideran que las bacteriocinas contribuyen a la tecnología de «obstáculos» («hurdle approach») para la preservación y seguridad de los alimentos.

2.2 FUNDAMENTACIÓN FILOSÓFICA

El enfoque que orienta a la presente investigación se basa en un paradigma Positivista según:

Según Dobles, Zúñiga y García (1998), la teoría de la ciencia que sostiene el positivismo se caracteriza por afirmar que el único conocimiento verdadero es

alta acidez, baja actividad de agua; se pueden utilizar para incrementar la vida útil de muchos alimentos.

11

aquel que es producido por la ciencia, particularmente con el empleo de su método.

Por ende, la ciencia positivista se cimienta sobre el supuesto de que el sujeto tiene una posibilidad absoluta de conocer la realidad mediante un método específico.

- CODEX STAN 192 - 1995 Norma General para los Aditivos Alimentario
- Código Alimentario de Argentina (Capítulo XVIII) Artículos 1391 al 1406) "Aditivos alimentarios"
- Norma Australiana para uso de Nisina. (Food Standards, Australia New Zeland, 2006)
- Ficha Técnica para el uso de Nisina. (Anexo D)
- Norma INEN 09:2003 Leche cruda. Requisitos.

2.4 CATEGORÍAS FUNDAMENTALES

El suero ácido de quesería posee corto tiempo de vida útil, por lo que se propone realizar ensayos con diferentes concentraciones de Nisina. En conformidad al Gráfico 2, se realiza la siguiente descripción del tratamiento a realizarse para su conservación, cumpliendo con los requisitos higiénicos y sanitarios correspondientes para generar un producto inocuo y de calidad.

Recepción. Obtenemos el suero ácido de quesería de buena calidad, proveniente la elaboración de queso Mozzarella, tratando de evitar cualquier contaminación cruzada lo cual alteraría los resultados finales de la experimentación.

Filtrado. La filtración se lo realiza con el propósito de eliminar cualquier sustancia o material extraño que se encuentre en el suero de quesería. Se lo puede realizar a través de telas, paños, filtros metálicos.

Adición de bioconservante. Es el paso más importante en la evaluación, la adición de Nisina se lo hará a diferentes concentraciones.

Análisis. Pruebas diarias de pH y acidez del suero.

Almacenado. El suero será almacenado para su posterior industrialización.

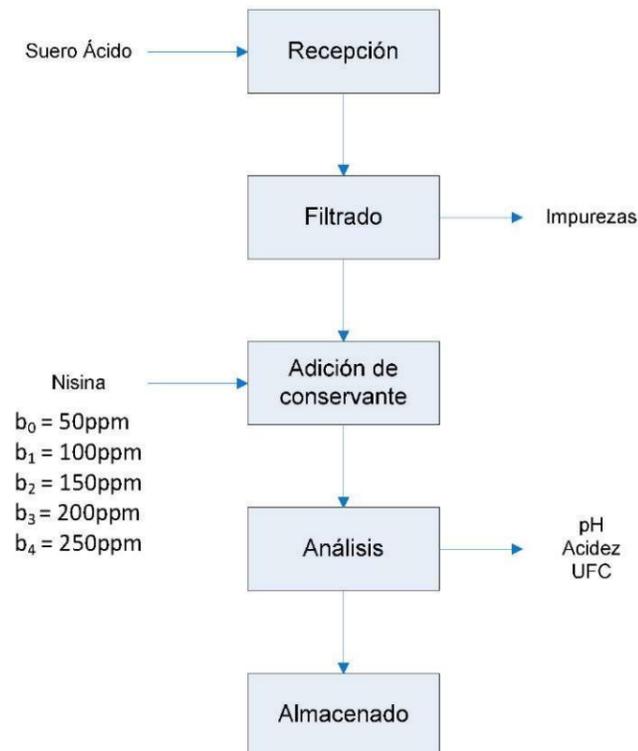


Gráfico 2. Diagrama de Flujo para la evaluación de Nisina en suero ácido de quesería

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

2.4.1 Marco conceptual variable independiente

Inexperiencia en el país para evaluar bioconservantes.

Según Mawson (1993), la Nisina es un polipéptido bacteriocina producida por cepas de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* y ampliamente utilizado como un conservante de alimentos (profundiza – Broughton 1990). Es activo frente a una serie de Bacterias Gram-positivas, incluidas otras láctico bacterias ácido que son frecuentes el deterioro organismos en las fermentaciones alcohólicas.

Según Nuñez y col (2007), determinadas cepas bacterianas generan pequeñas proteínas conocidas como bacteriocinas. Estos biocompuestos funcionan como antibióticos de reducido espectro ya que tienden a dañar

solo aquellos microorganismos similares a las bacterias que los producen. La Nisina es uno de esos compuestos. Aislada en 1928, comenzó a utilizarse como antimicrobiano en algunos alimentos en la década del '50 y actualmente reviste la categoría de GRAS («Generally Reconized as Safe»: reconocido generalmente como seguro) por la FDA (Food and Drug Administration, USA)

2.4.2 Marco conceptual variable dependiente

Corta vida útil de suero ácido de quesería mozzarella.

Según Machado (2002), el suero lácteo es producido durante la fabricación de queso en una proporción de 9 kilogramos de suero por cada kilogramo de queso elaborado, 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.

Según Herrera y col (2005), de la fabricación de quesos se obtiene un suero que durante años se ha considerado como un desecho; este subproducto, conocido también como "suero de quesería" o "suero dulce", ha sido vertido en los ríos, lo que está ocasionando graves daños al medio ambiente. Dicho suero ha motivado numerosos trabajos de investigación, que comenzaron proponiendo el separar sus macro componentes para aprovecharlos.

El suero de queso representa, entre otras cosas, un producto o una mezcla importante de proteínas que poseen un amplio rango de propiedades químicas, físicas y funcionales, y que entre otros beneficios pueden ayudarnos a conservar la salud y evitar ciertas enfermedades. Las proteínas lácteas se han dividido en dos grandes grupos: las caseínas, que representan 80% del total, y las proteínas del suero o seroproteínas, que constituyen el porcentaje restante.

Según Ellis (2004), 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.

2.4.3 Gráficos de inclusión interrelacionados

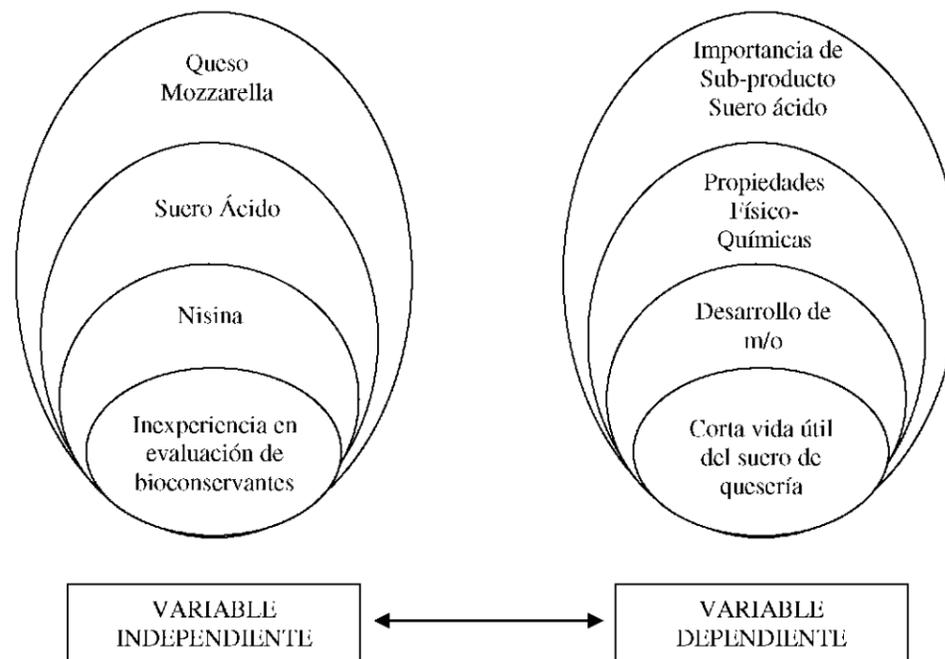


Gráfico 3. Super-ordinación
Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Inexperiencia en la Evaluación de Bioconservantes

Basándose en Bouksaim y col. (1998), para evaluar el potencial de la Nisina en las comidas, es necesario estudiar su comportamiento en un alimento complejo. Los productos alimenticios son complejos sistemas de multi-

componentes. La determinación de concentraciones de bacteriocina en alimentos es importante para estudiar el comportamiento de la bacteriocina durante su aplicación como preservante de alimentos. Sin embargo, la medida de concentraciones de la bacteriocina en ciertos productos, como queso o leche y suero, todavía no es posible usando los métodos existentes. Esta información es requerida cuando se estudie la relación entre la actividad y concentración de bacteriocina durante el proceso de producción, o al agregar la bacteriocina como los preservante de alimentos. El desarrollo de una alternativa más específico y de un método más exacto es completamente necesario para conducir tal estudio.

Nisina

Basándose en Sarmiento (2007), 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 la única bacteriocina GRAS (generalmente reconocida como segura, por sus siglas en inglés).

Las bacteriocinas se pueden clasificar de acuerdo al tipo de bacterias que la producen, la forma más común de clasificar esta sustancia es en dos grupos: Bacteriocinas producidas por bacterias Gram-negativa y bacteriocinas producidas por bacterias Gram-positiva (Muñoz, 2006). Dentro del grupo de las bacteriocinas Gram-Positiva, las bacteriocinas producidas por bacterias ácido lácticas son las más utilizadas dentro de la industria Láctea.

En 1988, Klaenhammer propuso una clasificación para las Bacteriocinas producidas por bacterias ácido lácticas (BAL).

Clase I: Lantibióticos, llamados así por contener aminoácidos modificados como Lantionina o p-metil Lantionina. Con un tamaño menor a los 5KDa. Este grupo a su vez se subdivide en Lantibióticos del tipo A y B.

Los Lantibióticos del tipo A, grupo al cual pertenece la Nisina, actúan mediante la despolarización de la membrana citoplasmática. Los Lantibióticos del tipo B, funcionan por medio de la inhibición enzimática (Seppo et al, 1998).

Clase II: Bacteriocinas no modificadas, de pequeño tamaño y estables al calor. Es el grupo más numeroso y comprende las bacteriocinas de tamaño inferior a 10KDa, son termoestables y sin aminoácidos modificados en su estructura a diferencia de las bacteriocinas del tipo I.

Clase III: Bacteriocinas no modificadas, de gran tamaño y sensibles al calor. Son las bacteriocinas de mayor tamaño (más de 30Kda). Termolábiles. Son las de menor interés industrial.

Por su abundancia y sus posibles usos en la industria alimenticia las bacteriocinas pertenecientes a las clases I y II han sido las más estudiadas (Seppo y col; 1998).

Tabla 1. Bacteriocinas de la clase I producidas por bacterias ácido lácticas

Lantibiótico	Cepa Productora	Masa Molecular	Actividad Antimicrobiana
Carnocina UI49	<i>Carnobacterium piscicola</i> UI49	4635 Da	<i>Carnobacterium</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Pediococcus</i> y <i>Lactococcus</i>
Citolisina L1	<i>Enterococcus faecalis</i>	4164 Da	
Citolisina L2	<i>Enterococcus faecalis</i>	2631 Da	
Lactisina 418	<i>Lc. lactis</i> 481	2901 Da	Bacterias ácido lácticas y <i>Clostridium tyrobutyricum</i>
Lactocina S	<i>Lb. Sake</i> 145	3769 Da	<i>Lactobacillus</i> , <i>Pediococcus</i> , <i>Leuconostoc</i>
Lactococcina	<i>Lc. Lactis</i> ADRI85L030	2300 Da	<i>C. tyrobutyricum</i> , <i>Lb. Heleveticus</i> y <i>Streptococcus thermophilus</i>
Mutacina	<i>Sc. Mutans</i>	3245 Da	
Nisina A	<i>Lc. Lactis ssp lactis</i>	3488 Da	<i>Lactococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Pediococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Listeria</i> , <i>Mycobacterium</i> , <i>Clostridium</i> (+ esporas) y <i>Bacillus</i> (+ esporas)
Nisina Z	<i>Lc. Lactis ssp lactis</i> NIZO 22186	3453 Da	Igual al anterior
Salvaricina A	<i>Sc. Salivarius</i> 20P3	2315 Da	<i>Micrococcus luteus</i>
Streptococcina A-FF22	<i>Sc. pyogenes</i>	2795 Da	

Fuente: Seppo, von Wright (1998). **Elaborado:** Vinicio Romero, 2010

Suero Acido

Es el subproducto común de la fabricación de queso blanco y requesón y por el elevado pH (4,6) resulta corrosivo para los metales. Contiene una mayor proporción de nitrógeno no proteico (27% del total) y posee menos lactosa en concentración (4,3%) ya que, por provenir de leches ácidas, parte de la lactosa se convierte en ácido láctico por la fermentación. Por ello, tiene más cantidad de ácido láctico (0,75%). Debido a la desnaturalización, es más pobre en proteínas (0,6%). Suele tener menor concentración de sales, minerales y grasas, cuyas concentraciones varían de especie a especie.

A partir de 10 litros de leche de vaca se ¹⁹puede producir de 1 a 2 kg de queso (es decir, en su mayor parte de caseína) y un promedio de 8 a 9 kg de suero de leche.

El valor nutricional de las proteínas el suero es excelente. Su proporción de eficiencia proteica (PER) se encuentra en el rango de 3.0 a 3.2 comparado con el de la caseína de 2.5; y sus aminoácidos esenciales son fácilmente metabolizados. Prácticamente esto hace que el suero sea particularmente efectivo en la suplementación de otros alimentos proteínicos de bajo valor proteico. Garcés y López (1986).

Las proteínas del suero tiene las siguientes cifras para valor biológico (VB), digestibilidad verdadera (DV) y proporción de eficiencia proteica (PER), las cuales se comparan con valores para caseína y proteína total de la leche. Porter (1986).

Producto	VB	DV	PER
Caseína	0.80	0.97	2.5
Proteínas del Suero	1.00	0.97	3.0
Proteínas de la leche	0.88	0.98	2.7

Fuente: Garcés y López (1986). Elaborado: Vinicio Romero, 2010

El suero es el conjunto de todos los componentes de la leche que no se integran en la coagulación de la caseína, y de acuerdo con el tipo de leche (es decir, de la especie de la que proviene) se pueden tener dos tipos de sueros, clasificados por el sabor:

Queso Mozzarella

La Mozzarella es un queso no madurado conforme con la *Norma General para el Queso* (CODEX STAN 283-1978) y la *Norma parra el Queso no Madurado, Incluido el Queso Fresco* (CODEX STAN 221-2001). Se trata de

La Mozzarella de alto contenido de humedad es un queso blando con capas superpuestas que pueden formar bolsas que contengan un líquido de apariencia lechosa. Puede envasarse con o sin el líquido. El queso presenta una coloración casi blanca.

un queso blando y elástico con una estructura fibrosa de largas hebras de proteínas orientadas en paralelo, que no presenta gránulos de cuajada. El queso no tiene corteza y se le puede dar diversas formas. La Mozzarella de bajo contenido en humedad es un queso homogéneo firme/semiduro sin agujeros y que puede desmenuzarse.

La Mozzarella se elabora mediante el proceso de "pasta filata", que consiste en calentar el requesón con un valor de pH adecuado antes de someterlo al tratamiento subsiguiente de mezcla y estiramiento hasta que quede suave y sin grumos. Mientras el requesón esté caliente debe cortarse y colocarse en moldes para que se enfríe en salmuera o agua refrigerada para que adquiera firmeza. (CODEX STAN 262-2007).

Vida Útil

Según Ellis (1994), 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.

Basándose en Alvarado (1996), los cambios que ocurren en los alimentos son el resultado de numerosas y complejas reacciones químicas y bioquímicas, acompañadas de diversos efectos físicos.

Todos los cambios pueden ser descritos por ecuaciones cinéticas, lo que resalta la importancia que tiene su conocimiento.

²¹**Desarrollo de m/o**

Brennan y col. (citados por Mariño y Mejía, 2001), los microorganismos constituyen la principal causa de deterioro de los alimentos. Si existe la cantidad suficiente de nutrientes, a partir de un microorganismo que se divide cada 10 minutos y en cinco horas puede existir más de mil millones de microorganismos.

Los métodos más comunes para controlar el ataque de los microorganismos son: disminuir la temperatura para retardar o prevenir su crecimiento y reproducción; elevar la temperatura para destruirlos, remover el agua ligada para retardar o prevenir su crecimiento, bajar o regula el pH por adición de compuestos químicos o fermentación.

Propiedades Físico-Químicas

Los lactatos y los fosfatos (sales muy comunes en el suero) ayudan a guardar el equilibrio ácido-base e influyen mucho en las propiedades del suero (estabilidad y precipitación térmica). El suero tiene una proporción baja de proteínas, sin embargo poseen más calidad nutritiva que las caseínas del queso. La excesiva producción de suero al elaborar queso ha sido siempre una preocupación y se han ideado muchas formas de aprovecharlo. Una de las más sencillas, de tipo casero, es calentarlo para precipitar las proteínas y luego prensarlo o filtrarlo. En muchas poblaciones de México suele comerse inmediatamente después de salarlo (y recibe el nombre de requesón). Sus aplicaciones industriales suelen venir una vez que se le deshidrata, cuando es poco soluble. Durante la evaporación (para eliminar el agua) y la aspersion (para secarlo) puede perder sus propiedades nutricionales por lo que el pH y la temperatura de estos dos procesos deben vigilarse con esmero durante el secado del extracto.

Las proteínas del suero son compactas, globulares, con un peso molecular que varía entre 14,000 y 1,000,000 de daltones, y son solubles en un amplio intervalo de pH (se mantienen intactas cuando la leche se corta de manera natural, ya que no ha habido presencia de calor que desnaturalice las proteínas). En estado natural no se asocian con las caseínas, pero en la leches tratadas térmicamente y homogeneizadas, una parte de estas proteínas sí lo hace. Las proteínas del suero constan por lo menos de 8 fracciones diferentes, todas sensibles a

temperaturas altas (procesos térmicos) y por ello son las primeras en degradarse con procesos como la pasteurización o la UHT. La razón por la que la leche no se descompone estando fuera de refrigeración una vez tratada térmicamente es porque las proteínas del suero, al desnaturalizarse, liberan un grupo sulfhidrilo que reduce la actividad de la oxidación de manera parcial. Las proteínas del suero con mayor importancia en la leche son:

a) α -lactalbúmina: constituye el sistema enzimático requerido para la síntesis de la lactosa. Las leches de animales que no presentan esta proteína tampoco contiene lactosa. No posee sulfhidrilos libres pero sí cuatro disulfuros que ceden las cistinas, por lo que tiene 2.5 más azufre que la caseína. Posee bajo peso molecular y un alto contenido en triptófano. Se considera que hace mucho tiempo, las aves y los bovinos estuvieron unidos por un tronco común genético (no taxonómico) debido a que la secuencia de aminoácidos de esta proteína es semejante a la lisozima del huevo. Se desnaturaliza a 63°C.

b) β -lactoglobulina: insoluble en agua destilada y soluble en diluciones de sales, se desnaturaliza y precipita a menos de 73°C (no resiste la pasteurización). Esta proteína no se encuentra en la leche humana, siendo abundante especialmente en rumiantes y es considerada la responsable de ciertas reacciones alérgicas en los infantes. Existen tratamientos industriales que permiten modificar los componentes de la leche de vaca para que se parezcan a los de la leche humana y poder así dársela a los bebés. En estos procesos se elimina ésta fracción proteínica por precipitación con

polifosfatos o por filtración en gel, para después mezclarla con otros componentes (caseína, aceite de soja, minerales, vitaminas, lisozima, etc.).

c) Proteína ácida del suero (WAP, en inglés): es un componente de la leche que sólo se encuentra en la categoría GLIRES, que agrupa a roedores y lagomorfos, aunque se han encontrado secuencias relacionadas en el cerdo. Del hecho de que contienen dominios similares a inhibidores de la proteasa se observa que su función es antimicrobiana y protectora de las mucosas orales.

d) inmunoglobulinas: suman el 10% del total de las proteínas del suero y provienen de la sangre del animal. Pertenecen a los tipos IgA e IgE y proceden de las células plasmáticas del tejido conjuntivo de la mama (Bloom-Fawcett, 1999). Algunos científicos, según se ha dicho antes, ven en ello la razón de ser de la leche, ya que permiten transmitir cierta inmunidad a la cría (principalmente la memoria de las enfermedades que la madre ha sufrido). Suelen ser muy abundantes en el calostro (hasta 100g/L).

Tabla 3. Composición Suero Ácido

Código:	1066	Categoría:	PRODUCTOS LACTEOS Y SIMILARES
Nombre Común:	SUERO ÁCIDO DE LECHE	Nombre Científico:	
Nombre en Inglés:	WHEY ACID, FLUID		
Agua	93.42 %	Vit. A Equiv. Retinol	2.00 mcg
Energía	24.00 Kcal.	Ác. Grasos Mono-Insat.	0.03 g
Proteína	0.76 g	Ác. Grasos Poli-Insat.	0.00 g
Grasa	0.09 g	Ác. Grasos Saturados	0.06 g
Carbohidratos	5.12 g	Colesterol	1.00 mg
Fibra Diet. Total	0.00 g	Potasio	143.00 mg
Ceniza	0.61 g	Sodio	48.00 mg
Calcio	103.00 mg	Zinc	0.43 mg
Fósforo	78.00 mg	Magnesio	10.00 mg
Hierro	0.08 mg	Vitamina B6	0.04 mg
Tiamina	0.04 mg	Vitamina B12	0.18 mcg
Ribofavina	0.14 mg	Acido Fólico	0.00 mcg
Niacina	0.08 mg	Folato Equiv. FD	2.00 mcg
Vitamina C	0.00 mg	Fracción Comestible	1.00 %

Fuente: Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (2009)

Elaborado: Vinicio Romero, 2010

Importancia de Suero.

Según Ayala y Vázquez (2000), en el suero existen muchos componentes que pueden ser aprovechados y que en nuestro medio podrían mejorar la dieta de gran parte de la población, por lo que es necesario que se sigan realizando trabajos, utilizando este recurso que actualmente se desecha.

Almanza (1991) señala: la leche, los productos lácteos y sus derivados son utilizados en la industria alimentaria por tres razones fundamentales:

- Proveen un enriquecimiento nutricional
- Confieren ciertas características físicas a los productos terminados (textura, consistencia, capacidad de batido).
- Contribuyen a que el producto tenga una buena aceptabilidad por el consumidor (mejoramiento de la palatabilidad). Razón por la cual se utiliza en la elaboración de quesos, yogurt, sorbetes, helados, productos lácteos, panes, confitería.

El aprovechamiento del suero ha sido tema de varias investigaciones de tesis en la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, pues se ha comprobado que este subproducto presenta componentes importantes para la dieta humana y animal, entre los estudios realizados se reportan:

- Garcés y López (1986). "Enriquecimiento proteínico del Lactosuero mediante fermentación"
- Pazán y Viteri (1992). "Elaboración de un Subproducto lácteo "Postre Flan" mediante la sustitución parcial de leche por suero lácteo"
- Ayala y Vázquez (2000). "Producción de una bebida fermentada utilizando suero lácteo desmineralizado"
- Mariño y Mejía (2001). "Elaboración de una bebida fermentada en base a suero dulce de queso fresco y harina de maíz germinado"

Sin embargo ninguno de los casos se ha propuesto la evaluación de la vida útil del suero mediante la utilización de un bioconservante como es la Nisina.

2.5 HIPÓTESIS Hipótesis nula:

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

$$T_1 * T_2 * T_3 * \dots T_n$$

2.6 SEÑALAMIENTO DE VARIABLES

Variable Independiente: Inexperiencia en el país para evaluar bioconservantes.

Variable Dependiente: Corta vida útil del suero ácido de quesería

CAPITULO III METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 ENFOQUE

Según Pita Fernández y col. (2002), la investigación cualitativa trata de identificar la naturaleza profunda de las realidades, su sistema de relaciones, su estructura dinámica. La investigación cuantitativa trata de determinar la fuerza de asociación o correlación entre variables, la generalización y objetivación de los resultados a través de una muestra para hacer inferencia a una población de la cual toda muestra procede. Tras el estudio de la asociación o correlación pretende, a su vez, hacer inferencia causal que explique por qué las cosas suceden o no de una forma determinada.

La presente investigación tendrá enfoque cualitativo y cuantitativo. La primera porque se enfatizará revisiones bibliográficas y lo segundo porque se obtendrán resultados experimentales que serán analizados estadísticamente.

3.2 MODALIDAD BÁSICA DE LA INVESTIGACIÓN

Las modalidades de investigación en las que se enmarca la presente investigación serán Bibliográfica y Experimental.

3.2.1 Bibliográfica Documental

Para Abril (2009), la 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).

Con la realización del presente trabajo se aportará con información relevante que complementará a la reportada bibliográficamente respecto a la conservación de suero ácido de quesería mediante el uso de Nisina.

3.2.2 Experimental

Para Abril (2009), la experimental o de laboratorio es el estudio en que se manipula ciertas variables independientes para observar los efectos en las respectivas variables dependientes, 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.

Es así que en el presente trabajo investigativo permitirá el conocimiento y uso de un conservante natural como es la Nisina en suero ácido de quesería para aumentar la vida útil del mismo, mediante la recopilación de información obtenida de los análisis de laboratorio realizados en la experiencia.

3.3.1 Exploratoria

Según Zikmund (1998), la investigación exploratoria se conduce con la expectativa de que se requerirá una investigación subsecuente para proporcionar dicha evidencia concluyente. Permitirá conocer las condiciones apropiadas para la conservación suero ácido de quesería por medio de la dosificación de Nisina en concentraciones adecuadas, de tal manera que permita mantener las propiedades del suero y alargar el tiempo de vida útil.

3.3.2 Explicativa

Para Gil (2009), la investigación explicativa que permite al investigador controlar rigurosamente las condiciones en que se desarrolla y manipula la(s) variable(s) independiente(s) para observar o medir las modificaciones que se producen en la variable dependiente, controlando además las variables intervinientes. Permitirá realizar un análisis profundo de las causas del problema en donde se puede identificar las posibles soluciones e implementar las medidas necesarias para la solución del problema.

3.4 POBLACIÓN 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 "ROZU"

3.4.2 Muestra

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

3.4.3 Diseño Experimental

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 = Ambiente (21°C) a ₁ = Refrigeración (4°C)
Concentraciones de Nisina	b ₀ = 50ppm b ₁ = 100ppm b ₂ = 150ppm b ₃ = 200ppm b ₄ = 250ppm

3.5 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

3.5.1 Operacionalización de la Variable Independiente Evaluación de bioconservantes.

Conceptualización	Categorías	Indicadores	Items Básicos	Técnicas e Instrumentos
La inexperiencia en evaluación de bioconservantes alimenticios puede considerarse como un desinterés en el estudio del efecto causado por la adición de conservantes naturales en alimentos y su resultado a lo largo del tiempo.	- Conservante	Concentraciones 50ppm 100ppm 150ppm 200ppm 250ppm	¿Estos análisis nos permitirán conocer los efectos del conservante a lo largo del tiempo? ¿Qué concentración será la adecuada? ¿Existirá cambios físicos en las muestras adicionadas con el conservante?	Visual Balanza y equipos volumétricos Norma Codex 192 (2005) Norma Australiana del Uso de Nisina, Application A565 (2006) Ficha Técnica para el uso de Nisina

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

3.5.2 Operacionalización de la Variable Dependiente Corta vida útil del suero ácido de queso mozzarella.

Conceptualización	Categorías	Indicadores	Ítems Básicos	Técnicas e Instrumentos
La corta vida útil del suero ácido de quesería es considerada como el deterioro rápido de sus características físicas y químicas conllevando a la subutilización.	-Suero ácido de quesería	pH Acidez UFC	¿Estos análisis nos permitirán conocer la variación en el tiempo de vida útil del suero? ¿Las características del suero ácido serán adecuadas para su posterior aprovechamiento? ¿La cantidad de colonias estará dentro de los límites?	Norma INEN 09:2003 Hojas guías de microbiología de los alimentos. Paredes M. 2009 Placas Petri Hoja guía de Alvarado J., 2009

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

3.6 RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

Metodológicamente para Herrera y col. (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 la presente investigación que se realizó tiene como objeto evaluar el efecto de un conservante natural (Nisina) en la vida útil de del suero ácido de quesería, mediante el análisis de laboratorio como son pruebas de pH, acidez y conteo de colonias.
- **Instrumentos seleccionados o diseñados de acuerdo con la técnica escogida para la investigación.** Los instrumentos utilizados para este proyecto son balanzas y equipo volumétrico correctamente calibrados a fin de evitarse fallas en las medidas de pesos y volúmenes.
- **Selección de recursos de apoyo (equipos de trabajo).**
Para la realización de la fase experimental mi equipo de trabajo fue el egresado en Alimentos Fabián Saltos; para la ejecución del experimento que fue realizado en Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos la persona que se encargará de ayudar en la recolección de datos será la egresada en Alimentos Diana González.
- **Explicitación de procedimientos para la recolección de información, cómo se va a aplicar los instrumentos, condiciones de tiempo y espacio.** Los procedimientos a realizados fueron basados Normas Codex e INEN que están acorde la fundamentación legal, además que la prueba microbiológica se la realizará de acuerdo a la hoja guía de Microbiología de los Alimentos así como también se utilizará la hoja guía según Juan de Dios Alvarado para el cálculo de vida útil. Los datos obtenidos se los recogerá en tablas y gráficos de dispersión.

3.7 PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS

3.7.1 Plan de Procesamiento de Información

- Revisión crítica de la información recogida; es decir limpieza de información defectuosa: contradictoria, incompleta, no pertinente.
- 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.
- Los ensayos se realizaron por duplicado para todas las muestras de suero, para lo cual se utilizó la prueba Tukey y la tabla de Anova para

determinar el mejor tratamiento mediante el programa de Statgraphics Plus.

- Representaciones gráficas.

3.7.2 Plan de Análisis e Interpretación de Resultados

- Análisis de los resultados estadísticos, destacando tendencias o relaciones fundamentales de acuerdo con los objetivos e hipótesis.
- Interpretación de los resultados, con apoyo del marco teórico, en el aspecto pertinente.
- Comprobación de hipótesis.
- Establecimiento de conclusiones y recomendaciones.

Los datos obtenidos en este estudio se interpretaron mediante análisis estadísticos que fueron procesados en el programa estadístico STATGRAPHICS PLUS 7; dicho programa permite realizar cálculos complejos, tiene gráficos que permiten un mejor análisis, consta de diseños estadísticos, permite analizar información trabajando con Gráficos y Opciones de los Gráficos, realiza análisis de regresión avanzada, permite ver el grado de distribución de los datos, análisis de hipótesis nula y alternativa.

CAPITULO IV ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1 ANÁLISIS DE RESULTADOS 4.1.1 Análisis de pH

4.1.1.1 Comportamiento del pH a través de los días

Los resultados obtenidos en la experimentación se muestran en el Anexo A; donde se observa el efecto producido por la Nisina en los valores de pH del suero ácido de quesería durante los 7 días que se realizó la experimentación para el pH.

Los resultados de pH obtenidos en los primeros días (Tabla A.1, A.2) permiten observar que los valores experimentales de pH se encuentran en un rango de 5.6, estos resultados son ligeramente superiores al ser comparados con los reportados por Pozo, G. y Viera, M. (1996), que indican valores de 4.0 - 5.0 de pH para suero ácido de quesería.

En la Tablas A.3 se presentan los valores de pH al tercer día, donde se observa que los tratamientos a temperatura ambiente (21°C) tienden a bajar su pH rápidamente, teniendo un proceso más acelerado la muestra testigo

que para el tercer día tiene un pH de 3.83, observando el efecto de la Nisina sobre la estabilidad de pH en las muestras tratadas con esta bacteriocina.

33

Por otro lado los resultados de pH de los tratamientos en refrigeración (4°C), la acción de la Nisina es más eficiente, ya que la caída de pH que se da a lo largo de los días, posteriormente tiende a estabilizarse, de esta manera prolongando la conservación del suero ácido por la inhibición de bacterias propias y extrañas del suero.

En la Tabla A.4 se muestra los valores de pH para los tratamientos a0b0, a0b1 con concentraciones de Nisina 50ppm y 100ppm respectivamente, de igual manera para la muestra testigo, almacenados a temperatura ambiente (21°C) revelan una caída brusca del pH, posicionándose en valores inferiores a 4.0 de pH; para los demás tratamientos a temperatura ambiente el pH se encuentra sobre el valor de 4.0 de pH, mostrándose así que las concentraciones mas altas de Nisina ayudan de manera efectiva en la conservación del suero, pero notándose que existe un sobrenadado debido a la inestabilidad de las proteínas a pH bajos.

Según Shafiur (2003), las proteínas muestran una evidente dependencia del pH, la seroalbúmina posee mayor capacidad emulsionante a pH de 4-9, la p-lactoglobulina es estable a pH inferior a 4, las caseínas precipitan a pH de 4.6; además que las hidrofobicidades de diversas proteínas del suero lácteo varían con el pH.

A nivel de refrigeración (4°C), el efecto de la Nisina es más eficiente ya que no muestra una caída brusca de pH y los valores se encuentran estables entre todos los tratamientos, lo que indica que para este día los tratamientos a temperatura de refrigeración se encuentran bien conservados con la combinación de temperaturas bajas (4°C) y la adición de la bacteriocina Nisina, extendiendo por más tiempo la vida útil, por la inhibición de bacterias productoras de ácido láctico.

En las tablas A.5 y A.6 correspondientes al quinto y sexto día de experimentación, los resultados obtenidos revelan que todos los tratamientos a temperatura ambiente (21°C) presentan los valores de pH por debajo de un pH de 4.0, valores que no se encuentran en el rango aceptable según Pozo, G. y

Viera, M. (1996), los que indican valores aceptables de pH entre 4.0 - 5.0 para suero ácido de quesería.

En los tratamientos en refrigeración los resultados indican que el descenso de pH es lento, permitiendo evidenciar que las mayores concentraciones de Nisina actúan mejor bajo estas condiciones; en el sexto día de análisis los valores de pH se encuentran levemente sobre el valor aceptable de pH siendo este 4.0, lo que no se puede decir de la muestra testigo que muestra un valor inferior al mismo.

Basándose en Shafiur (2003), a unos pH de aproximadamente 4.2 se controlan bien casi todos los microorganismos que producen intoxicaciones alimentarias, pero microorganismos tales como bacterias acidolácticas se desarrollan bien a valores de pH inferiores a este, por ejemplo bacterias como los *Lactobacillus* poseen como valor mas bajo para su desarrollo a pH 3.0.

Finalmente para el último día de análisis, los resultados se presentan en la tabla A.7 donde se puede determinar que para temperatura ambiente (21°C) el efecto inhibitorio de la Nisina no tiene resultados favorables en la conservación del suero ácido de quesería, ya que se dan resultados de pH en un promedio alrededor de 3.5; en cuanto a los valores obtenidos de pH para los tratamientos tratados con altas concentraciones de Nisina (150ppm, 200ppm, 250ppm) y combinadas con temperaturas bajas (4°C) muestra que el suero ácido se conserva de manera eficaz, ya que su pH no disminuye a valores inferiores de 4.0.

4.1.2 Análisis de Acidez

4.1.2.1 Comportamiento de la Acidez a través de los días

Los resultados obtenidos en la experimentación se muestran en el Anexo A desde la Tabla A.8 hasta la Tabla A.14, donde se presenta el efecto producido por la Nisina en los valores de acidez del suero ácido de quesería expresado en % de Acido Láctico.

Los resultados obtenidos en el inicio de la experimentación con suero ácido (Tablas A.8 y A.9), se observa que los valores experimentales de % de ácido

láctico se encuentran en un promedio de 0.3 - 0.4, estos valores se acercan mucho a los reportados por Pozo, G. y Viera, M. (1996), donde indican valores de 0.4 - 0.6 para suero ácido de quesería.

En las Tablas A.10 y A.11, se presentan los valores de % de ácido láctico al tercer y cuarto día de estudio, donde se puede notar que los tratamientos a temperatura ambiente (21°C) y refrigeración (4°C) poseen un comportamiento similar en ambos días en cuanto a que los tratamientos con menores concentraciones de Nisina tienden a subir de manera acelerada la acidez; apreciando de esta manera que para el cuarto día los mejores tratamientos son los que poseen concentraciones más altas (150ppm, 200ppm, 250ppm), prolongando de esta manera la vida útil del suero ácido por la inhibición de bacterias lácticas que lo acidifican.

Por otro lado si se compara los valores de las muestras testigo a las condiciones diferentes de temperatura de almacenamiento se puede observar que existe una diferencia marcada en los valores de acidez.

Según Sarmiento (1997), la Nisina es más efectiva ante bacterias Gram positivas productoras de ácido láctico como pueden ser: *Lactococcus*, *Streptococcus* y *Lactobacillus*. y esto puede ser comprobado al comparar los valores de acidez entre la muestra testigo y los diferentes tratamientos con el agregado Nisina.

En la Tabla A.12 referente al día quinto de experimentación se puede observar que para este día todos los tratamientos almacenados a temperatura ambiente los resultados de acidez (% de Acido Láctico) ya revelan valores altos que se encuentran sobre el rango aceptable expuesto por Pozo, G. y Viera, M. (1996), superando de esta manera el 0.6 % de ácido láctico; pero pudiéndose apreciar lo contrario en los resultados obtenidos a nivel de refrigeración, donde se considera que las altas concentraciones de Nisina en los tratamientos a₁b₂; a₁b₃; a₁b₄ presentan los valores dentro del nivel aceptado.

En las tablas A.13 y A.14 que corresponden al sexto y séptimo día de experimentación, los resultados obtenidos muestran el efecto inhibitorio de la Nisina en los tratamientos almacenados a temperatura de refrigeración, pudiéndose observar que el efecto deseado de la Nisina en suero ácido de quesería resulta más eficiente desde 200pm ya que la acidez aumenta a lo largo de los días y después tiende a estabilizarse.

4.1.3 Análisis UFC

4.1.3.1 Carga microbiana de m/o a través de los días

Los resultados obtenidos en la experimentación para recuento total de bacterias mesófilas se muestran en el Anexo A, a partir de la tabla A.15; la siembra fue efectuada en medio PCA (Plate Count Agar) y hasta una dilución 10^{-2} ; donde se indica el efecto producido por la Nisina en el crecimiento de bacterias en el suero ácido de quesería.

Los resultados de UFC mostrados en la Tabla A.15 obtenidos de la primera siembra, permiten observar la carga microbiana inicial del suero ácido, siendo los valores similares en todos los tratamientos y a las dos diferentes temperaturas de almacenamiento.

En la Tabla A.16 se muestran los resultados de la segunda siembra de las muestras de suero ácido de quesería que se realizaron al tercer día de experimentación, para este día ya se puede apreciar que el agregado Nisina produce un efecto inhibitorio sobre las bacterias presentes en las muestras tratadas con diferentes concentraciones, esto se puede comparar con la muestra sin tratamiento almacenada a temperatura ambiente que para este día el crecimiento bacteriano fue incontable; en temperatura de refrigeración puede notarse que el efecto de la Nisina se refuerza con la utilización de bajas temperaturas.

Según Seeley, la influencia de la temperatura sobre el crecimiento de los microorganismos es, en realidad, una medida de la influencia de la temperatura

sobre las actividades enzimáticas de la célula. Cuando desciende la temperatura disminuye la actividad enzimática y en consecuencia el crecimiento de la célula.

Los resultados para recuento de colonias en el quinto día de experimentación, se encuentran en la Tabla A.17, revelan que existe un comportamiento de crecimiento bacteriano similar entre los diferentes tratamientos, notándose que los tratamientos con las concentraciones superiores mantienen un recuento de colonias bajo, y esto se puede contrastar con las muestras patrón siendo para estas el crecimiento microbiano incontable.

La Norma Australiana para uso de Nisina dice que esta bacteriocina es activa en contra de un amplio rango de bacterias Gram-positivas, y particularmente sobre bacterias formadoras de esporas, incluidas *Bacillus*, *Clostridium* y *Lactobacillus*, como también sobre *Listeria monocytogenes*. La Nisina sin embargo, resulta inefectiva en contra de bacterias Gram- negativas, levaduras y mohos.

4.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

38

4.2.1 Análisis de pH

Al realizar un análisis de varianza de los resultados de pH obtenidos en la experimentación con suero ácido de quesería, tomando en cuenta que "lo mayor es lo mejor"; los resultados se reportan en la Tabla B.1 y trabajando con un 95% de nivel de confianza se determinó que no existe diferencia significativa en los factores. Los valores de F calculados son bajos, lo que denota que el primer día de experimentación no se aprecia el efecto conservante de la Nisina.

En la Tabla B.2 y B.5 mediante el análisis de varianza de pH en el segundo día y tercer día de experimentación con un 95% de nivel de confianza se determinó que existe significancia en los dos factores (A: Temperatura; B: Concentración de Nisina) lo que significa que la temperatura y el agregado Nisina logra hacer efecto en el suero.

En la Tabla B.3 y B.6 al realizar la Prueba de Tukey para la Temperatura de almacenamiento se observa que existe diferencia significativa entre los promedios de los tratamientos a temperatura de refrigeración y nos permite notar que los promedios de pH se encuentran con valores altos que los almacenados a temperatura ambiente.

En la Tabla B.4 y B.7 mediante la Prueba de Tukey para las Concentraciones de Nisina en las muestras de suero ácido se puede notar que los valores de pH todavía no tiene una diferencia muy marcada y se considera que para el segundo y tercer día tienen un comportamiento similar, pero se nota que los tratamientos con menor concentración (50ppm) tiene el valor de pH más bajo a comparación de los demás tratamientos.

Realizando el Análisis de Varianza para los resultados obtenidos en el cuarto día de la experimentación que corresponden a la Tabla B.8 donde se puede observar que los factores de estudio (Temperatura y Concentración de Nisina) presentan diferencia, los valores de F son altos, dándonos así la pauta para demostrar que todos los tratamientos tienen distinto comportamiento

presentando mayor diferencia de comportamiento en el factor Temperatura como se puede apreciar en la Tabla B.9 que corresponde a la prueba de Tukey.

De acuerdo a la Tabla B.10 y al realizar la prueba de Tukey para el Factor B en el cuarto día de la experiencia, se puede observar que los promedios de pH de los tratamientos ya presenta diferencias significativas al utilizar un nivel de confianza del 95%, demostrando de esta manera que todos los tratamientos tienen distinto comportamiento y que las mayores concentraciones Nisina logran mantener el pH entre los valores aceptados para suero ácido de quesería y que son reportados por Spreer (1975), donde señala que el pH del suero ácido se encuentra alrededor de 5.0.

Se puede notar que los tratamientos con 150 y 200ppm presentan igualdad y se encuentran en un grupo homogéneo por lo que cualquiera de estas dos concentraciones actuarían bien para la conservación del suero u otros productos lácteos, pero el tratamiento con 250ppm presenta el mejor promedio además de ser la muestra que presenta una diferencia significativa con todos los demás tratamientos.

En los posteriores Análisis de Varianza para los días quinto y sexto de estudio presentados en las Tablas B.11 y B.14 donde observamos que los factores de estudio (Temperatura y Concentración de Nisina) presentan diferencia significativa, demostrando que todos los tratamientos tienen distinto comportamiento presentando mayor diferencia el factor Temperatura.

En las Tablas B.12, B.15 y B.18 que corresponden a la Prueba de Tukey para el Factor Temperatura, se observa la diferencia significativa que existe entre las dos temperaturas de almacenamiento, notándose que la temperatura de refrigeración posee los valores más altos y por lo tanto valores aceptables de pH para la conservación del suero ácido, todo lo contrario a temperatura ambiente que se encuentra ya por debajo de los valores admitidos para pH, con lo que se puede confirmar que a partir del quinto día a temperatura ambiente donde el bioconservante Nisina no presenta efectividad.

De acuerdo a la Tabla B.13 correspondiente a la Prueba de Tukey para el Factor Concentración, en el quinto día se observa que la diferencia significativa entre las concentraciones bajas con las concentraciones altas, apreciando que las altas concentraciones cumplen con la finalidad y presentando diferencia significativa, notándose que el tratamiento a 200ppm se presenta igual a los tratamientos a 150ppm y 250ppm indicándonos que estos valores son los óptimos para procesos de conservación en productos y subproductos lácteos.

En las Tablas B.16 y B.19 correspondiente a la Prueba de Tukey para el Factor B los resultados de pH para los dos últimos días de experimentación se observa que los valores se comienzan a estabilizarse permitiéndonos advertir que entre los tratamientos que poseen la concentración mas baja (50ppm) y la concentración más alta (250ppm) existe diferencia significativa, pero que en realidad los valores de pH son eases+ parecidos permitiéndonos explicar que la Nisina a las diferentes concentraciones han adquirido un comportamiento similar.

4.2.2 Análisis de Acidez

Realizando un análisis de varianza de los resultados de acidez expresados en % de Acido Láctico alcanzados en la experimentación con suero ácido de quesería, que se reportan en el Anexo B, tomando en cuenta que "lo menor es lo mejor" se puede notar en la Tabla B.20 y trabajando con un 95% de nivel de confianza se determinó que existe diferencia significativa en los factores.

En las Tabla B.21 y B.24, que se refieren a la Prueba de Tukey para la Temperatura de almacenamiento y que hacen referencia a los dos primeros días de resultados; se puede observar que existe diferencia significativa entre los promedios de los factores y nos permite darnos cuenta que los valores de % de Acido Láctico para temperatura de refrigeración poseen un promedio mas bajo que a comparación del factor temperatura ambiente.

En las Tablas B.22 y B.25 mediante la Prueba de Tukey para el Factor B (Concentraciones de Nisina) en las muestras de suero ácido se puede notar que los valores de % de Acido Láctico no existe diferencia y entre los tratamientos y se considera que para el primer y segundo día tienen un comportamiento similar.

En las Tablas B.26 y B.29 se muestra el Análisis de Varianza para los resultados obtenidos en el tercer y cuarto día de la experimentación; donde observamos que los factores de estudio (Temperatura y Concentración de Nisina) presentan diferencia significativa ya que se muestran valores altos de F calculado, dándonos así la pauta para demostrar que todos los tratamientos tienen distinto comportamiento presentando mayor diferencia en el factor Temperatura.

De acuerdo a la Tabla B.28 y al realizar la prueba de Tukey para el Factor B en el tercer día de la experiencia, se puede notar que los promedios de % de Acido Láctico de los tratamientos ya presenta diferencias significativas al utilizar un nivel de confianza del 95%, demostrando de esta manera que todos los tratamientos tienen distinto comportamiento y que las muestras con mayor concentración del bioconservante logran mantener una acidez baja y a su vez entre los valores aceptados para suero ácido de quesería.

En las Tablas B.30, B.33 y B.36 que corresponden a la Prueba de Tukey para el Factor Temperatura, se observa la diferencia significativa que existe entre las dos temperaturas de almacenamiento, notándose que la temperatura de refrigeración posee valores más bajos y por lo tanto valores aceptables de % de Acido Láctico para la conservación del suero ácido, todo lo contrario a temperatura ambiente que se encuentra ya sobre los valores admitidos, con lo que se puede confirmar que a partir del quinto día a temperatura ambiente el bioconservante Nisina ya no presenta ninguna efectividad.

De acuerdo a la Tabla B.31 correspondiente a la Prueba de Tukey para el Factor Concentración en el cuarto día, se observa diferencia significativa entre las concentraciones bajas con las altas y que forman tres grupos homogéneos, apreciando que los tratamientos con mayor cantidad de Nisina cumplen con su

finalidad presentando diferencia significativa ante los tratamientos con concentraciones bajas, notándose que el tratamiento a 200ppm se presenta igual al tratamiento a 150ppm, indicándonos que estos valores son los óptimos para procesos de conservación en productos y subproductos lácteos.

En las Tablas B.34 y B.37 que corresponden a la Prueba de Tukey del Factor Concentración de Nisina para los dos últimos días de experimentación se observa que los valores se comienzan a estabilizar permitiéndonos advertir que entre los tratamientos que poseen la concentración mas baja de Nisina y las concentración altas existe diferencia significativa, pero que en realidad los valores de % de Acido Láctico ya se encuentran fuera del rango aceptado permitiéndonos notar que el conservante no logrará más efecto en días posteriores.

4.2.3 Análisis de UFC

Realizando un análisis de varianza de los resultados de recuento de colonias que se reportan en el Anexo B, tomando en cuenta que "lo menor es lo mejor". Con lo dicho anteriormente se puede notar en la Tabla B.38 y trabajando con un 95% de nivel de confianza se determinó que existe diferencia significativa en los factores en estudio.

En las Tabla B.39, que se refiere a la Prueba de Tukey para la Temperatura de almacenamiento y que hacen referencia al primer días de conteo de colonias; se puede observar que existe diferencia significativa entre los promedios de los niveles y nos permite darnos cuenta que los tratamientos a temperatura de refrigeración poseen un promedio mas bajo que a comparación del factor temperatura ambiente.

En las Tablas B.40 y B.43 mediante la Prueba de Tukey para el Factor B (Concentraciones de Nisina) en las muestras de suero ácido se puede notar que los valores UFC existe diferencia entre los tratamientos y se considera que para el primer y tercer día tienen un comportamiento diferente.

En las Tablas B.41 se muestra el Análisis de Varianza para los resultados obtenidos en el tercer día de resultados de recuento de colonias; donde observamos que los factores de estudio (Temperatura y Concentración de Nisina) presentan diferencia significativa ya que se muestran valores altos de F calculado, dándonos así la pauta para demostrar que todos los tratamientos tienen distinto comportamiento presentando mayor diferencia en el factor Temperatura.

En la Tabla B.44 se muestra el Análisis de Varianza para los resultados obtenidos en el quinto día de resultados de recuento de colonias; donde se aprecia que los Concentración de Nisina presenta mayor diferencia en indicándonos que las muestras con mayor concentración del bioconservante logran mantener conteo bajo.

De acuerdo a la Tabla B.46 y al realizar la prueba de Tukey para el Factor B de los resultados obtenidos del quinto día de la experiencia, se puede notar que los promedios del conteo de colonias de los tratamientos se encuentran casi estabilizados demostrando de esta manera que para este día los tratamientos tienen un comportamiento similar.

Basándose en 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

Según Alvarado (1996), los métodos comunes para controlar el ataque de los microorganismos bien sea disminuir la temperatura para retardar su crecimiento y reproducción; o, elevar la temperatura para destruirlos, de lo cual se desprende que los valores de estabilidad y tiempo de vida útil para el producto elaborado sean adecuados, permitiendo predecir y proveer las condiciones más idóneas de conservación y mantención de la calidad nutricional original del alimento.

Para calcular la vida útil del suero ácido de quesería se lo realizó con el mejor tratamiento, siendo la concentración de 200ppm, utilizando como atributo de calidad al pH, para lo cual se tomará que el %pH óptimo del suero es 28, este % es hasta que el pH del suero sea 4 que se considera como óptimo. (Anexo C)

Para poder determinar el tiempo de vida útil del suero ácido de quesería se utilizó el 28% de disminución de pH, ya que al momento de realizar un promedio de todos los resultados se obtiene como referencia este valor. Basado este método en el establecido por Alvarado (1996), tomando en cuenta que el pH mínimo para la conservación del suero ácido es 4.

Ecuación de Tiempo de Vida Útil para Suero Ácido de Quesería a Temperatura Ambiente con 200 ppm de Nisina

$$y = 0.364x - 3.993$$

$$\% \text{ pH} = 0.364t - 3.993$$

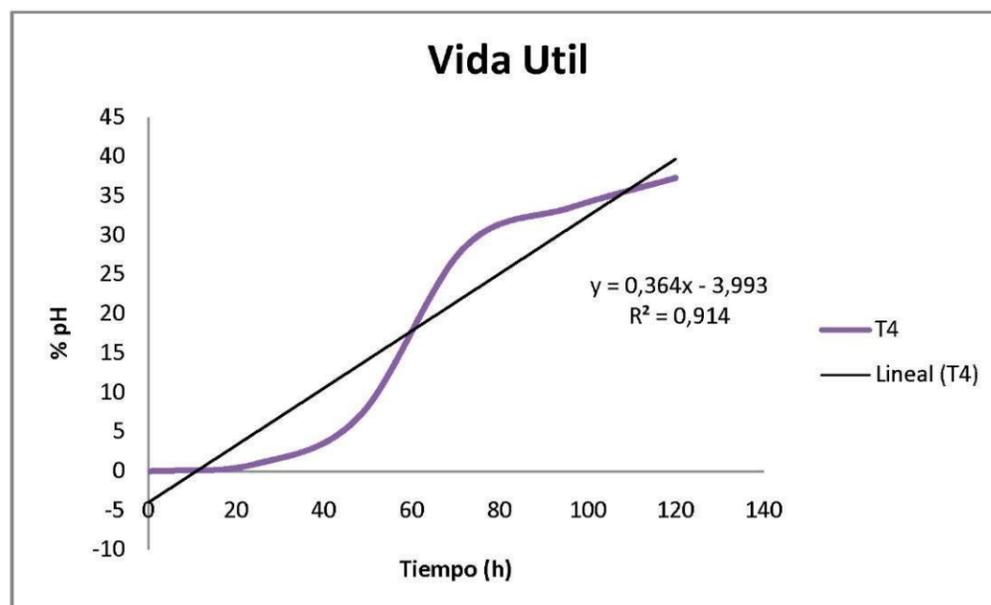


Gráfico 4. Vida Útil de Suero Ácido de Quesería a Temperatura Ambiente (Mejor Tratamiento)
Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

$$\% \text{ pH} = 0.364t - 3.993$$

$$t = \frac{\% \text{ pH} + 3.993}{0.364}$$

$$t = \frac{28 + 3.993}{0.364}$$

$$t = 87.9 \text{ horas}$$

$$t = 3.66 \text{ días}$$

Al evaluar la conservación del suero ácido mediante cambios de % de pH, se obtuvieron resultados para el cálculo de vida útil mediante este factor de estudio, se logró establecer que para el caso del mejor tratamiento a temperatura ambiente (21°C) la vida útil del suero ácido de quesería se logró incrementar hasta los 4 días aproximadamente.

Ecuación de Tiempo de Vida Útil para Suero Ácido de Quesería a Temperatura de Refrigeración con 200 ppm de Nisina

$$y = 0.216x - 5.590$$

$$\% \text{ pH} = 0.216t - 5.590$$

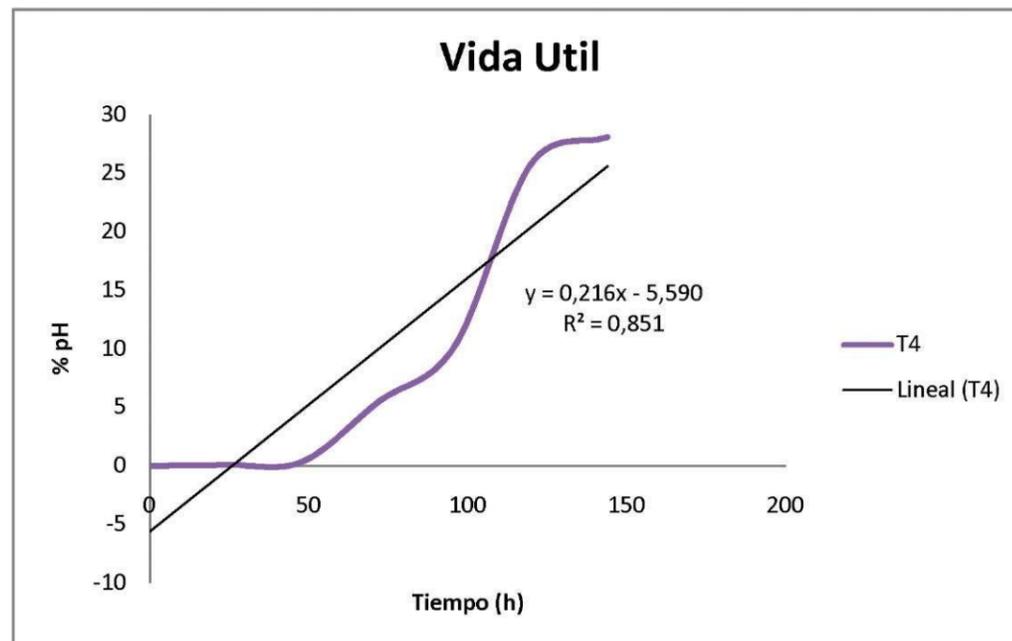


Gráfico 5. Vida Útil de Suero Ácido de Quesería a Temperatura de Refrigeración (Mejor Tratamiento)
Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

$$\% \text{ pH} = 0.216t - 5.590$$

$$t = \frac{\% \text{ pH} + 5.590}{0.216}$$

$$t = \frac{28 + 5.590}{0.216}$$

$$t = 155.5 \text{ horas}$$

$$t = 6.5 \text{ días}$$

Al evaluar la conservación del suero ácido mediante cambios de % de pH a temperatura de refrigeración (4°C) el incremento fue hasta los 7 días aproximadamente, llegando a verse muy conveniente el uso de la Nisina en combinación con bajas temperaturas para el incremento de la vida útil de este tipo de subproducto lácteo.

4.4 VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS

Hipótesis nula:

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

Hipótesis alternativa

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

Tabla 4. Verificación de la hipótesis de los parámetros analizados

Respuesta Experimental	Factor de Estudio		Valor F	Probabilidad
pH	A	Temperatura	561.02	0.0000
	B	Concentración	7.36	0.0065
% Acido Láctico	A	Temperatura	24.42	0.0008
	B	Concentración	5.87	0.0132
UFC	A	Temperatura	0.76	0.4049
	B	Concentración	1.22	0.3658

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

A un nivel de confianza del 95 % existe diferencia en los factores de estudio de las respuestas experimentales. Esto se ha podido comprobar debido a que el valor de F calculado se encuentra fuera del límite con respecto al valor de probabilidad. Rechazando de esta manera la hipótesis nula y aceptando la hipótesis alternativa.

CAPITULO V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

5.1.1 Al estudiar el poder conservante que ofrece la Nisina se logró resolver el problema de desconocimiento para alargar el tiempo de vida útil del suero ácido de quesería con la utilización de un bioconservante (Nisina), tomando en cuenta que al utilizar el mejor tratamiento encontrado estadísticamente, la Nisina empleada como bioconservante en suero ácido de quesería permite el alargamiento de la vida útil hasta 7 días aproximadamente, para así obtener mayor tiempo de almacenamiento para un posterior acopio y un oportuno aprovechamiento de las valiosas materias que este aporta.

5.1.2 Al ensayar con diferentes concentraciones de Nisina en suero ácido de quesería se logró evidenciar el efecto conservante que este produce a distintas concentraciones, se logró encontrar que el mejor tratamiento es la combinación de bajas temperaturas con una concentración alta de Nisina, siendo a₁b₃ (Refrigeración; 200ppm) teniendo en cuenta que esta combinación fue obtenida mediante la aplicación de ANOVA y TUKEY, mostrándonos que la combinación

escogida presenta una diferencia significativa alta en comparación a los demás tratamientos.

50

- 5.1.3** Al evaluar la conservación del suero ácido mediante cambios de pH, cabe mencionar que para un mejor cálculo de vida útil se utilizó la respuesta experimental pH, utilizándose este parámetro de calidad debido a la menor variabilidad entre datos, con lo cual se logró establecer que para el caso de los tratamientos a temperatura ambiente la vida útil del suero ácido de quesería se logró incrementar de 2.1 días hasta 4 días aproximadamente, y para el caso de almacenamiento a refrigeración el incremento fue de los 3.6 días calculados para la muestra testigo hasta los 6.5 días con el mejor tratamiento.
- 5.1.4** El uso de la Nisina en concentración 200ppm en combinación con bajas temperaturas para el incremento de la vida útil de suero ácido de quesería llega a ser favorable ya que el efecto inhibitorio de la Nisina reduce el crecimiento y actividad de las células viables mediante la refrigeración conlleva a que el suero mantenga el mayor tiempo posible el grado más alto de la calidad del alimento, tratando de disminuir los efectos sobre los diversos mecanismos de alteración, dicho método se lo puede sugerir a las empresas de productos lácteos y que produzcan queso mozzarella de donde se obtiene el suero ácido, se puede informar a los productores mediante capacitaciones y mediante costos de la utilización de Nisina en la conservación del suero para su posterior acopiamiento.
- 5.2.1** Manejar adecuadamente los subproductos obtenidos de la elaboración de productos lácteos, con su debida inocuidad y cuidado para evitar contaminaciones que a la larga afectarían la conservación y su posterior aprovechamiento.
- 5.2.2** Realizar nuevos estudios de conservación de suero ácido de quesería utilizando nuevas combinaciones como pueden ser Nisina, Refrigeración

5.2 RECOMENDACIONES

51

y Electrolisis, con la finalidad de mejorar la eficiencia antimicrobiana de este bioconservante.

CAPITULO VI PROPUESTA

6.1 DATOS INFORMATIVOS

- **Título:** "Uso de Nisina como bioconservante en suero ácido de quesería"
- **Institución Ejecutora:** Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Laboratorio de la Unidad Operativa de Investigaciones en Tecnología de Alimentos UOITA.
- **Beneficiarios:** Productores de quesos mozzarella
- **Ubicación:** Ambato - Ecuador
- **Tiempo estimado para la ejecución:** 7 meses
Inicio: Diciembre de 2009 **Final:** Junio de 2010

- **Equipo técnico responsable:** Egdo.⁵³ Vinicio S. Romero B., Ing. Cesar German Tómalá MSc.
- **Costo:** \$ 5051.20

6.2 ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA

Como subproducto de la fabricación de quesos se obtiene el "suero de quesería". 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 medio ambiente.

Las proteínas del suero del queso tienen excelentes propiedades funcionales y un valor nutritivo muy alto debido a su excepcional contenido en lisina, triptofano y aminoácidos azufrados. A pesar de estas cualidades, durante muchos años las proteínas del suero no se usaron para consumo humano, sino que sirvieron de alimento para porcinos, fueron eliminadas por las cloacas y los ríos, o se dispersaron sobre los campos por lo que así provocaron una importante contaminación del medio ambiente.

En la actualidad muchos países estudian las propiedades de la proteína de suero para la aplicación en el desarrollo de productos alimenticios innovadores, utilizando sus propiedades de viscosidad, gelatinización, adhesión, emulsificación y espumante.

A fin de evitar el crecimiento de microorganismos deterioradores y patógenos en alimentos se han usado tradicionalmente conservadores químicos. Actualmente ante la demanda de los consumidores de alimentos mínimamente procesados, el uso de bacteriocinas, péptidos con actividad antimicrobiana producidos por bacterias lácticas se ha convertido en una alternativa.

El bioconservante más utilizado es la Nisina, ya que su origen natural permite su uso como protector de alimentos. Su incorporación en los alimentos permite reducir o eliminar el uso de aditivos químicos de síntesis. Por ser resistentes al calor, alta acidez, baja actividad de agua; se pueden utilizar para incrementar la vida útil de muchos alimentos.

6.3 JUSTIFICACIÓN

La Nisina tiene un amplio espectro de acción sobre bacterias grampositivas, es la única bacteriocina que ha recibido amplia aceptación internacional como aditivo alimentario, por lo que su empleo es permitido en más de cincuenta países, para la inhibición de *Clostridium* spp en queso, alimentos enlatados, leche pasteurizada y para controlar el crecimiento de bacterias ácido lácticas en la producción de cerveza.

La Nisina es una bacteriocina producida por *Lactococcus lactis*, que inhibe bacterias grampositivas, incluyendo el *S. aureus* y otros microorganismos patógenos, es atóxica, estable, se inactiva por las enzimas del tracto digestivo del humano y su uso en productos lácteos es permitido.

Por su origen natural las bacteriocinas permiten 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. Además, por ser resistentes al calor y a la acidez entre otros, se pueden utilizar para incrementar la vida útil de muchos alimentos.

El suero es considerado en general como un subproducto molesto de difícil aprovechamiento, presentando posibles opciones de utilización que permiten disminuir la carga contaminante que aporta este subproducto. Con el uso de la Nisina se puede tratar de preservar las componente y nutrientes, debiendo aplicar una concentración considerable de la bacteriocina y ser enfriado y almacenado a 3 - 4 °C.

6.4.1 OBJETIVO GENERAL

- Sugerir a las queserías el uso de Nisina y su mejor concentración como bioconservante en suero ácido de quesería.

6.4 OBJETIVOS

55

6.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la mejor concentración de Nisina para aumentar la vida útil del suero de quesería.
- Comprobar la disminución de bacterias grampositvas en el suero de quesería tratado con Nisina.
- Demostrar la conservación de los nutrientes del suero con el uso de la Nisina.

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 de productos lácteos, para de esta forma lograr que el producto dure por un tiempo prolongado en donde sus propiedades y características nutricionales no se vean afectadas.

El análisis de factibilidad además es de carácter socio económico y ambiental, ya que esto no solo puede evitar pérdidas económicas a los productores de productos lácteos debido a la producción exagerada de suero de quesería, sino también evita que el medio ambiente sea víctima de contaminación por la presencia de microorganismos.

Tabla 5. Balance de Costo para Suero Acido de Quesería con Nisina

Ingredientes	Unidad	Valor Unitario	Valor Total
Suero ácido de quesería	10 lt.	0.04	0.40
Nisina	200 ppm/lt	0.06	0.64
Sub. Total	\$1.04		
	Porcentaje	Valor total	
Suministros	10%	0.10	
Equipo y maquinaria	10%	0.10	
Mano de obra	25%	0.26	
Imprevistos	5%	0.05	
Electricidad	5%	0.05	
Utilidad	20%	0.21	
Sub. Total			0.77
Balance total de costos			\$1.81

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

$$\text{Costo Total de Tratamiento de Suero con Ni sin a} = \frac{\text{Costo Total}}{\text{It s}}$$

$$\text{Costo Total de Tratamiento de Suero con Ni sin a} = \frac{1.81}{10}$$

$$\text{Costo Total de Tratamiento de Suero con Ni sin a} = \$0.18/ \text{It}$$

6.6 FUNDAMENTACIÓN

Los productos lácteos que mayor demanda tiene en nuestra ciudad, son la leche fluida, queso mozzarella y mantequilla siendo los dos últimos grandes productores de suero el mismo que con un tratamiento microbiológico se puede utilizar en variedad de alimentos con alto valor proteínico. Siendo recomendado su consumo, debido a que es un alimento muy nutritivo, rico en micronutrientes, minerales, y proteínas, y representa un valioso complemento en las dietas pobres en vitaminas y minerales esenciales.

La versatilidad del suero (por su contenido de lactosa) es sorprendente pues además de servir como base para la producción de jarabe edulcorante utilizado por ejemplo en confitería, helados, panificación, para conversión a fructosa.

El suero de queso representa, entre otras cosas, un producto o una mezcla importante de proteínas que poseen un amplio rango de propiedades químicas, físicas y funcionales, y que entre otros beneficios pueden ayudarnos a conservar la salud y evitar ciertas enfermedades. Las proteínas lácteas se han dividido en dos grandes grupos: las caseínas, que representan 80% del total, y las proteínas del suero o seroproteínas, que constituyen el porcentaje restante.

En la actualidad, los alimentos cobran mayor importancia cuando se les cataloga como alimentos funcionales. Un alimento es llamado "funcional" cuando se demuestra satisfactoriamente que actúa de una manera benéfica en alguna actividad o función fisiológica y que va más allá de un simple efecto nutricional.

En efecto, las proteínas del suero del queso no sólo desempeñan un papel nutritivo importante como una fuente balanceada de aminoácidos, sino que además parecen tener en muchos casos efectos biológicos y fisiológicos positivos en nuestro organismo.

Descripción de tratamiento del Suero Ácido de Quesería con Nisina

Recepción. Obtenemos el suero ácido de quesería de buena calidad, proveniente la elaboración de queso Mozzarella, tratando de evitar cualquier contaminación cruzada lo cual alteraría los resultados finales de la experimentación.

Filtrado. La filtración se lo realiza con el ⁵⁸ propósito de eliminar cualquier sustancia o material extraño que se encuentre en el suero de quesería. Se lo puede realizar a través de telas, paños, filtros metálicos.

Adición de bioconservante. Es el paso más importante en la conservación del suero acido de quesería, la adición de 200 ppm de nisina que actuara como bioconservante, atacando especialmente a las bacterias grampositivas presentes en el suero.

Análisis. Pruebas diarias de pH y acidez del suero.

Almacenado. El suero será almacenado para su posterior industrialización.

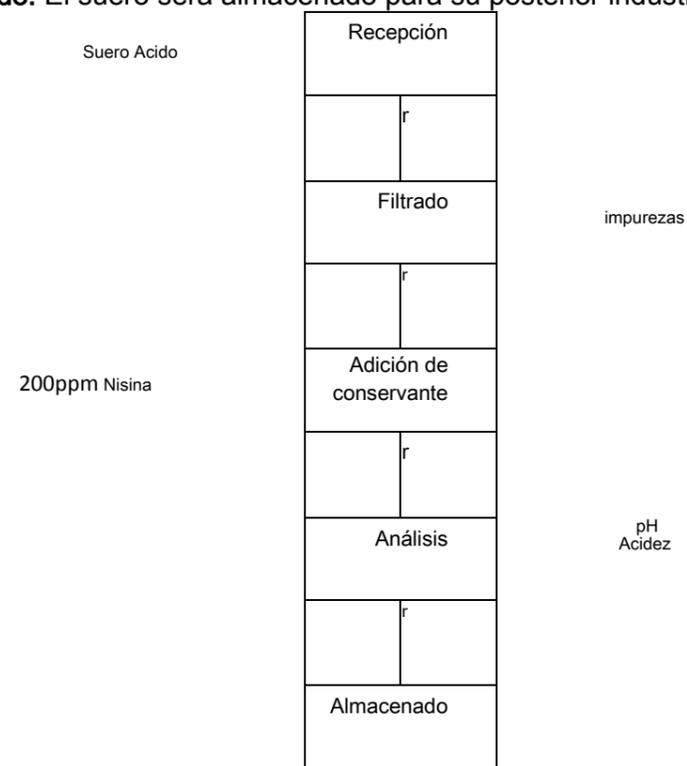


Gráfico 6. Diagrama de Flujo para el tratamiento del Suero Ácido de Quesería con Nisina

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

6.7 METODOLOGÍA MODELO OPERATIVO

Para el proceso de conservación del suero ácido de quesería con Nisina se sigue el procedimiento normal indicado en el gráfico 6, teniendo en cuenta que el proceso debe ser lo más inocuo posible para garantizar la eficiencia calidad del producto.

Tabla 6. Modelo Operativo (Plan de acción)

Fases	Metas	Actividades	Responsables	Recursos	Presupuesto	Tiempo
1. Formulación de la propuesta	Aumentar el tiempo de vida útil del suero ácido de quesería	Revisión bibliográfica	Investigador	Humanos Técnicos Económicos	\$ 1200	1 mes
2. Desarrollo preliminar de la propuesta	Elaborar lo que se propone en la propuesta en un 100%	Elaboración del producto	Investigador	Humanos Técnicos Económicos	\$ 1540	2 meses
3. Implementación de la propuesta	Ejecutar la propuesta en un 100%	Tecnología de la elaboración del producto	Investigador	Humanos Técnicos Económicos	\$ 1311.20	2 meses
4. Evaluación de la propuesta	Comprobar errores y aciertos en el proceso de la implementación.	Encuestas a consumidores y productores	Investigador	Humanos Técnicos Económicos	\$ 1000	2 meses

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

6.8 ADMINISTRACIÓN

La ejecución de la propuesta estará coordinada por los responsables del proyecto Ing. Cesar Germán, y Egdo. Vinicio Romero

Tabla 7. Administración de la Propuesta

Indicadores a mejorar	Situación actual	Resultados esperados	Actividades	Responsables
Suero ácido de quesería.	Subproducto contaminante de medio ambiente y alimentación animal	Obtener un suero ácido de quesería de excelente calidad microbiológica sin alteraciones a las características nutricionales	<p>Determinar si la concentración de nisina disminuye mayormente la carga microbiana</p> <p>Realizar análisis microbiológicos y físico - químicos.</p> <p>Determinar el tiempo de vida útil.</p>	<p>Investigador:</p> <p>Vinicio Romero</p> <p>Ing. Cesar German</p>

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

6.9 PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN

Tabla 8. Previsión de la Evaluación

Preguntas Básicas	Explicación
¿Quiénes solicitan evaluar?	Organismos protectores ambientales Queseros de la provincia de Tungurahua.
¿Por qué evaluar?	Verificar la calidad de los productos Corregir errores de conservación.
¿Para qué evaluar?	Determinar una tecnología que permita conservar el suero ácido de quesería por mayor tiempo
¿Qué evaluar?	Tecnología utilizada. Materias primas. Análisis realizados Producto terminado
¿Quién evalúa?	Tutor Calificadores
¿Cuándo evaluar?	Todo el tiempo desde las pruebas preliminares, hasta la obtención del producto.
¿Cómo evaluar?	Mediante instrumentos de evaluación.
¿Con qué evaluar?	Experimentación. Normas establecidas

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

CAPITULO VII

BIBLIOGRAFÍA

1. ABRIL, V.H. (2009), "Enfoques, Métodos y Técnicas de Investigación Científica", Módulo de Maestría en Gestión de Proyectos Socio Productivos, 2008, CEPOS: UTI, Ambato - Ecuador.
2. ALMANZA, F. (1991), "Tecnología de la Leche y Derivados" Unidad Universitaria del Sur. Bogotá - Colombia, pp. 177-184
3. ALVARADO, J de D. (1996), "Principios de Ingeniería Aplicados a Alimentos", Editorial Radio Comunicaciones. Quito-Ecuador, pp. 180, 382-395
4. ARQUES, J. (2003). Tratamientos combinados de bacteriocinas y otros tratamientos inhibitorios para la mejora de la seguridad de los productos lácteos. Madrid, España. Departamento de Nutrición y bromatología. Universidad Complutense de Madrid, pp. 198
5. AYALA, C., VAZQUEZ, D. (2000). "Producción de una bebida fermentada utilizando suero lácteo desmineralizado". Tesis de Grado. Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Ambato-Ecuador, pp. 58
6. BRENNAN, J. G., BUTTERS, J.R., COWELL, N. D. "Las Operaciones de la Ingeniería en Alimentos", Segunda edición. Editorial Acribia. Zaragoza-España.

7. GARCÉS, L., LOPEZ, C. (1986), "Enriquecimiento proteínico del lactosuero mediante fermentación". Tesis de grado. Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Ambato - Ecuador, pp. 1- 7
8. GÓMEZ, J. 2009. "Según ganaderos, precio de leche no compensa gastos ni el trabajo". Diario El Universo. Guayaquil, Ecuador. p. 8. Sábado 25 de Julio del 2009
9. HERRERA E. Luis, MORALES C. Rodrigo, NARANJO L. Galo, "Proyectos de Investigación Socio Educativa", Ciclo Doctoral, Facultad de Ciencias de la Educación, Universidad Técnica de Ambato, Ecuador, 1999, 152 pp.
10. HUFFMAN, L. (1996), "Processing whey protein for uses as a food ingredient" Food Technology. pp. 49-52
11. Instituto Nacional Ecuatoriano de Normalización NEN 9. (2003). Requisitos generales de la leche cruda
12. MARIÑO, J., MEJÍA, A. (2001). "Elaboración de una bebida fermentada a base de suero dulce d queso fresco y harina de maíz germinado (Zea mays var saccharata)". Tesis de Grado. Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Ambato-Ecuador. pp. 43
13. MUÑOZ, J. (2006). "Bacteriocinas: una estrategia de competencia microbiana propuesta como alternativa de antibióticos dirigidos para el futuro humano". Programa de ecología molecular y microbiana. Cuernavaca, Morelos. México. Universidad Nacional Autónoma de México. pp. 20
14. Norma Australiana para uso de Nisina. "Nisin-Extension of use as a Food Additive". Application A565. Food Standards Australia New Zeland, 2006.
15. PORTER, J. (1980). "The roel milk constituents in the human diet". FIL- IDF. Doc 125 Bélgica. pp. 14-21
16. POZO, G., VIERA, M. (1996). "Fermentación del Suero Dulce para Alimentación de Cerdos". Tesis de Grado. Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Ambato- Ecuador.
18. SEPPO, S., (1998). Lactic Acid Bacteria. Microbiology and Functional Aspects. New York, E.E.U.U. Editorial Marcel Dekker. pp. 617
19. SHAFIUR, M. (2003). "Manual de la Conservación de los Alimentos". Editorial Acribia. Zaragoza - España. pp. 416, 422

17. SEELEY, H. W., VAN DEMARK, P. J. (1973). "Microbios en Acción". Segunda Edición. Editorial Blume. Madrid - España. pp. 59-60, 63
64

20. SPREER, E. (1975). "Lactología Industrial". Segunda Edición. Editorial Acribia. Zaragoza - España. pp. 381-385

Webgrafía

1. BOUKSAIM, M., FLISS, I., MEGHROUS, J., SIMARD R., LACROIX, C. (1998). "Immunodot detection of nisin Z in milk and whey using enhanced chemiluminescence" [on line] *Journal of Applied Microbiology* 1998, 84, 176-184. Disponible en: <http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/fulltext/119136340/PDFSTART> (03.08.2009)
2. CODEX STAN 192 - 1995 "Norma General del Codex para los Aditivos Alimentarios" [en línea] Disponible en: http://www.codexalimentarius.net/gsfaonline/CXS_192s.pdf (01.08.2009)
3. CODEX STAN 262-2007, "Norma del Codex para la Mozzarella" [en línea] Disponible en: <http://www.pdf-search-engine.com/normas-codex-queso-mozzarella-pdf.html> (04.08.2009)
4. Código Alimentario Argentino (2007). "Aditivos Alimentarios", [en línea] Disponible en: [http://www.anmat.gov.ar/CODIGOA/Capitulo XVIII Aditivos 2007-05.pdf](http://www.anmat.gov.ar/CODIGOA/Capitulo_XVIII_Aditivos_2007-05.pdf) (01.08.2009)
5. ELLIS. 1994, WARNER. 1995, "Curso Taller Vida útil Sensorial de alimentos", [en línea] *Instituto Superior Experimental de Tecnología Alimentaria, Departamento de Evaluación Sensorial de Alimentos*. Disponible en: <http://www.desa.edu.ar/cursos-vidautil.htm> (03.08.2009)
6. GIL, M., (2009). "Tipos De Investigación" [en línea] Disponible en: <http://www.ucla.edu.ve/dmedicin/departamentos/medicinapreventivasocial/SEB/investigacion/tiposinvestigacion.pdf> (05.08.2009)
7. GRASELLI, M., NAVARRO, A., FERNÁNDEZ, H. M., MIRANDA, M. V., CAMPERI S. A., CASCONO O. (1997) "¿Qué hacer con el suero de
8. HERRERA M., VERDALET I. (2005). "El suero de queso: ¿producto vital o simple desecho?" [en línea] *Revista de divulgación científica y Tecnológica de la Universidad Veracruzana* Volumen 18 - N°2. Disponible en: <http://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol18num2/articulos/queso/index.htm> (03.08.2009)

queso?" [en línea] *Revista de Divulgación Científica y Tecnológica de la Asociación Ciencia Hoy* Volumen 8 - N°43. Disponible en:
<http://www.cienciahov.org.ar/hoy43/queso1.htm> (03.08.2009)

9. Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá INCAP, (2005). [en línea] Disponible en:
<http://www.tabladealimentos.net/tca/index.php/producto/detalleProducto/1066> (01.08.2009)
10. JUNCIONI, L., FAUSTINO, A., SOARES, G., GAVA, P., PESSOA, A., VESSONI, T. (2008). "Nisin expression production from *Lactococcus lactis* in milk whey medium" [on line]. Disponible en:
<http://www3.interscience.wiley.com/journal/117893359/abstract> (01.08.2009)
11. LÓPEZ, L. K., ESCUDERO, B. I., MENDOZA, P. G. (2004). "Efecto de la combinación de Nisina, Pediocina y Ácido Láctico sobre Patógenos en Alimentos" [en línea] *Revista Salud Pública y Nutrición*. Disponible en:
<http://www.respyn.uanl.mx/especiales/2005/ee-04-2005/carteles/DFECONTROL.htm> (03.08.2009)
12. MACHADO, A. G. (2002). "Desalinización del suero lácteo por electrodiálisis" [en línea] *Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación*. Disponible en: <http://www.cdc.fonacit.gov.ve/cqi-win/bealex.exe?Palabra=SUERO+L%C1CTEO&Nombrebd=fonacit> (03.08.2009)
13. MADRID, A., MADRID, J. (2001). "Nuevo manual de industrias alimentarias". Madrid, España. A. Madrid Vicente Ediciones. pp.608.
14. MAGAP, (2009). Disponible en: http://www.maq.gov.ec/docs/sit_aqro.htm
15. MAWSON, A. J., COSTAR, K. (1993). "Effects of nisin addition on the ethanol fermentation of casein whey permeate" [on line] *Letters in Applied Microbiology* 1993, 17, 256-258. Disponible en:

<http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/fulltext/119838906/PDFSTART>⁶⁶ (01.08.2009)

16. NUÑEZ, G., CAYRE, M., CASTRO, M., GARRO, O. (2007). "Efectividad y Modo de Acción de Nisina sobre *Lactobacillus fructivorans*" [en línea] *Mundo Lácteo y Cárnico*. Disponible en: <http://www1.unne.edu.ar/cyt/2002/08-Exactas/E-004.pdf> (03.08.2009)
17. PITA, S., PÉRTEGAS, S., "Metodología de la Investigación" [en línea] Disponible en: http://www.fisterra.com/mbe/investiga/cuanti_cuali/cuanti_cuali.asp (05.08.2009)
18. SARMIENTO, A., (2007). "Evaluación de Nisina como Bioconservante en leche fluida" [en línea] *Proyecto del programa de Ingeniero en Agroindustria Alimentaria, El Zamorano, Honduras*. 35 p. Disponible en: http://zamo-oti-02.zamorano.edu/tesis_infolib/2007/T2494.pdf (01.08.2009)
19. SICA, (2009). Disponible en:
http://www.sica.gov.ec/cadenas/leche/docs/produccion_link2.htm
http://www.sica.gov.ec/cadenas/leche/docs/produccion_link2.htm#produccion%20regional
[http://www.sica.gov.ec/cadenas/leche/docs/produccion_link2.htm#PLAN TAS%20Y%20CAPACIDAD%20INDUSTRIAL](http://www.sica.gov.ec/cadenas/leche/docs/produccion_link2.htm#PLAN_TAS%20Y%20CAPACIDAD%20INDUSTRIAL)
http://www.sica.gov.ec/cadenas/leche/docs/estadisticas_leche.htm
20. 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. Disponible en: <http://books.google.co.cr/books?id=ovoNjpn6aLUC&printsec=frontcover>.
21. ZIKMUND, W., "Investigación de Mercados". 6ta. Edición, México, 1998, Editorial: Prentice Hall. Disponible en: <http://www.gestiopolis.com/recursos/documentos/fulldocs/mar/conbasimuch.PDF> (05.08.2009)

ANEXOS

ANEXO A
TABLAS

Tabla A.5. Datos Experimentales de pH de las Muestras de Suero Ácido de Quesería con diferentes concentraciones de Nisina y Almacenado a dos Temperaturas (DÍA 5)

Tratamientos		Replicas		Promedio
		R1	R2	
T1	a0b0	5,64	5,69	5,665
T2	a0b1	5,65	5,67	5,660
T3	a0b2	5,64	5,68	5,660
T4	a0b3	5,68	5,66	5,670
T5	a0b4	5,68	5,65	5,665
T6	a1b0	5,68	5,64	5,660
T7	a1b1	5,68	5,66	5,670
T8	a1b2	5,65	5,67	5,660
T9	a1b3	5,67	5,65	5,660
T10	a1b4	5,69	5,64	5,665
Testigo (T. Ambiente) 21 °C			Promedio	5,68
Testigo (T. Refrigeración) 4°C			Promedio	5,69

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla A.2. Datos Experimentales de pH de las Muestras de Suero Ácido de Quesería con diferentes concentraciones de Nisina y Almacenado a dos Temperaturas (DÍA 2)

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla A.5. Datos Experimentales de pH de las Muestras de Suero Ácido de Quesería con diferentes concentraciones de Nisina y Almacenado a dos Temperaturas (DÍA 5)

Tratamientos		Replicas		Promedio
		R1	R2	
T1	a0b0	4,77	5,4	5,09
T2	a0b1	5,22	5,22	5,22
T3	a0b2	5,17	5,22	5,20
T4	a0b3	5,28	5,27	5,28
T5	a0b4	5,24	5,37	5,31
T6	a1b0	5,58	5,54	5,56
T7	a1b1	5,6	5,62	5,61
T8	a1b2	5,66	5,62	5,64
T9	a1b3	5,6	5,68	5,64
T10	a1b4	5,62	5,65	5,64
Testigo (T. Ambiente) 21 °C			Promedio	3,83
Testigo (T. Refrigeración) 4°C			Promedio	5,01

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla A.4. Datos Experimentales de pH de las Muestras de Suero Ácido de Quesería con diferentes concentraciones de Nisina y Almacenado a dos Temperaturas (DÍA 4)

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla A.5. Datos Experimentales de pH de las Muestras de Suero Ácido de Quesería con diferentes concentraciones de Nisina y Almacenado a dos Temperaturas (DÍA 5)

Tratamientos		Replicas		Promedio
		R1	R2	
T1	a0b0	3,71	3,7	3,71
T2	a0b1	3,78	3,8	3,79
T3	a0b2	4,04	4,06	4,05
T4	a0b3	4,05	4,06	4,06
T5	a0b4	4,35	4,39	4,37
T6	a1b0	5,1	5,12	5,11
T7	a1b1	5,14	5,2	5,17
T8	a1b2	5,26	5,34	5,30
T9	a1b3	5,32	5,38	5,35
T10	a1b4	5,37	5,3	5,34
Testigo (T. Ambiente) 21 °C			Promedio	3,26
Testigo (T. Refrigeración) 4°C			Promedio	4,46

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla A.5. Datos Experimentales de pH de las Muestras de Suero Ácido de Quesería con diferentes concentraciones de Nisina y Almacenado a dos Temperaturas (DÍA 5)

Tratamientos		Replicas		Promedio
		R1	R2	
T1	a0b0	3,61	3,63	3,62
T2	a0b1	3,67	3,66	3,67
T3	a0b2	3,76	3,77	3,77
T4	a0b3	3,78	3,76	3,77
T5	a0b4	3,83	3,81	3,82
T6	a1b0	4,9	4,81	4,86
T7	a1b1	4,91	4,95	4,93
T8	a1b2	5,08	5	5,04
T9	a1b3	5,1	5,06	5,08
T10	a1b4	5,16	5,2	5,18
Testigo (T. Ambiente) 21 °C			Promedio	3,16
Testigo (T. Refrigeración) 4°C			Promedio	3,75

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla A.6. Datos Experimentales de pH de las Muestras de Suero Ácido de Quesería con diferentes concentraciones de Nisina y Almacenado a dos Temperaturas (DÍA 6)

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla A.5. Datos Experimentales de pH de las Muestras de Suero Ácido de Quesería con diferentes concentraciones de Nisina y Almacenado a dos Temperaturas (DÍA 5)

Tratamientos		Replicas		Promedio
		R1	R2	
T1	a0b0	3,52	3,5	3,51
T2	a0b1	3,5	3,54	3,52
T3	a0b2	3,53	3,51	3,52
T4	a0b3	3,56	3,55	3,56
T5	a0b4	3,61	3,6	3,61
T6	a1b0	4,08	4,04	4,06
T7	a1b1	4,17	4,15	4,16
T8	a1b2	4,22	4,16	4,19
T9	a1b3	4,2	4,2	4,20
T10	a1b4	4,23	4,17	4,20
Testigo (T. Ambiente) 21 °C			Promedio	3,02
Testigo (T. Refrigeración) 4°C			Promedio	3,40

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla A.10. Datos Experimentales de %Ac. Láctico de las Muestras de Suero Ácido de Quesería con diferentes Concentraciones de Nisina y Almacenado a^ dos Temperaturas (DÍA 3)

73

Tratamientos		Replicas		Promedio
		R1	R2	
T1	a0b0	0.369	0.405	0.387
T2	a0b1	0.342	0.369	0.356
T3	a0b2	0.342	0.405	0.374
T4	a0b3	0.414	0.378	0.396
T5	a0b4	0.405	0.387	0.396
T6	a1b0	0.306	0.387	0.306
T7	a1b1	0.315	0.369	0.315
T8	a1b2	0.324	0.369	0.324
T9	a1b3	0.36	0.351	0.36
T10	a1b4	0.342	0.378	0.342
Testigo (T. Ambiente) 21 °C			Promedio	0,36
Testigo (T. Refrigeración) 4°C			Promedio	0,35

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010
R

Tabla A.9. Datos Experimentales de %Ac. Láctico de las Muestras de Suero Ácido de Quesería con diferentes Concentraciones de Nisina y Almacenado a dos Temperaturas (DÍA 2)

Tabla A.10. Datos Experimentales de %Ac. Láctico de las Muestras de Suero Ácido de Quesería con diferentes Concentraciones de Nisina y Almacenado a^ dos Temperaturas (DÍA 3)

74

Tratamientos		Replicas		Promedio
		R1	R2	
T1	a0b0	0.468	0.522	0.50
T2	a0b1	0.45	0.477	0.46
T3	a0b2	0.459	0.441	0.45
T4	a0b3	0.396	0.432	0.41
T5	a0b4	0.441	0.396	0.42
T6	a1b0	0.45	0.432	0.44
T7	a1b1	0.36	0.396	0.38
T8	a1b2	0.342	0.36	0.35
T9	a1b3	0.333	0.36	0.35
T10	a1b4	0.351	0.378	0.36
Testigo (T. Ambiente) 21 °C			Promedio	0,60
Testigo (T. Refrigeración) 4°C			Promedio	0,53

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010
R

Tabla A.11. Datos Experimentales de %Ac. Láctico de las Muestras de Suero Ácido de Quesería con diferentes Concentraciones de Nisina y Almacenado a^ dos Temperaturas (DÍA 4)

Tabla A.10. Datos Experimentales de %Ac. Láctico de las Muestras de Suero Ácido de Quesería con diferentes Concentraciones de Nisina y Almacenado a^ dos Temperaturas (DÍA 3)

75

Tratamientos		Replicas		Promedio
		R1	R2	
T1	a0b0	0.54	0.558	0.55
T2	a0b1	0.504	0.486	0.50
T3	a0b2	0.432	0.45	0.44
T4	a0b3	0.45	0.45	0.45
T5	a0b4	0.369	0.432	0.40
T6	a1b0	0.495	0.495	0.50
T7	a1b1	0.378	0.432	0.41
T8	a1b2	0.342	0.387	0.36
T9	a1b3	0.369	0.351	0.36
T10	a1b4	0.351	0.369	0.36
Testigo (T. Ambiente) 21 °C			Promedio	0,68
Testigo (T. Refrigeración) 4°C			Promedio	0,59

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

R

Tabla A.10. Datos Experimentales de %Ac. Láctico de las Muestras de Suero Ácido de Quesería con diferentes Concentraciones de Nisina y Almacenado a^ dos Temperaturas (DÍA 3)

76

Tratamientos		Replicas		Promedio
		R1	R2	
T1	a0b0	0.729	0.765	0.75
T2	a0b1	0.819	0.657	0.74
T3	a0b2	0.693	0.63	0.66
T4	a0b3	0.621	0.675	0.65
T5	a0b4	0.63	0.612	0.62
T6	a1b0	0.612	0.63	0.62
T7	a1b1	0.648	0.63	0.64
T8	a1b2	0.486	0.558	0.52
T9	a1b3	0.558	0.522	0.54
T10	a1b4	0.54	0.54	0.54
Testigo (T. Ambiente) 21 °C			Promedio	0,95
Testigo (T. Refrigeración) 4°C			Promedio	0,75

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010
R

Tabla A.13. Datos Experimentales de %Ac. Láctico de las Muestras de Suero Ácido de Quesería con diferentes Concentraciones de Nisina y Almacenado a^ dos Temperaturas (DÍA 6)

Tabla A.10. Datos Experimentales de %Ac. Láctico de las Muestras de Suero Ácido de Quesería con diferentes Concentraciones de Nisina y Almacenado a^ dos Temperaturas (DÍA 3)

77

Tratamientos		Replicas		Promedio
		R1	R2	
T1	a0b0	0.72	0.9	0.81
T2	a0b1	0.855	0.81	0.83
T3	a0b2	0.702	0.702	0.70
T4	a0b3	0.63	0.702	0.67
T5	a0b4	0.711	0.675	0.69
T6	a1b0	0.702	0.702	0.70
T7	a1b1	0.648	0.666	0.66
T8	a1b2	0.63	0.603	0.62
T9	a1b3	0.603	0.603	0.60
T10	a1b4	0.567	0.63	0.60
Testigo (T. Ambiente) 21 °C			Promedio	1,13
Testigo (T. Refrigeración) 4°C			Promedio	0,80

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010
R

Tabla A.10. Datos Experimentales de %Ac. Láctico de las Muestras de Suero Ácido de Quesería con diferentes Concentraciones de Nisina y Almacenado a^ dos Temperaturas (DÍA 3)

78

Tratamientos		Replicas		Promedio
		R1	R2	
T1	a0b0	3600	2900	3250
T2	a0b1	2600	2000	2300
T3	a0b2	2600	2300	2450
T4	a0b3	2500	3500	3000
T5	a0b4	2600	4100	3350
T6	a1b0	2700	3800	3250
T7	a1b1	4900	4700	4800
T8	a1b2	2400	2000	2200
T9	a1b3	3300	2800	3050
T10	a1b4	5300	6600	5950
Testigo (T. Ambiente) 21 °C			Promedio	5550
Testigo (T. Refrigeración) 4°C			Promedio	3250

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

R

Tabla A.16. Recuento total de bacterias (UFC/ ml suero ácido) de las Muestras con diferentes Concentraciones de Nisina y Almacenado a dos Temperaturas (DÍA 3)

Tratamientos		Replicas		Promedio
		R1	R2	
T1	a0b0	8800	9000	8900
T2	a0b1	11000	11000	11000
T3	a0b2	9400	10800	10100
T4	a0b3	8900	9500	9200
T5	a0b4	9300	18000	13650
T6	a1b0	12100	11500	11800
T7	a1b1	9800	8300	9050
T8	a1b2	8700	9900	9300
T9	a1b3	8100	9300	8700
T10	a1b4	9800	10500	10150
Testigo (T. Ambiente) 21 °C			Promedio	18000
Testigo (T. Refrigeración) 4°C			Promedio	18000

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

ANEXO B

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Tabla B.1. Análisis de Varianza para Datos Experimentales de pH del (DIA 1)

Fuente de Variación	Suma Cuadrados	GL	Cuadrados Med	Coeff F	P value
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Temperatura	0,000005	1	0,000005	0,01	0,9294
B: Concentr.	0,000028	4	0,000007	0,03	0,9975
C: Replicas	0,000125	1	0,000125	0,21	0,6596
INTERACCIONES					
AB	0,000022	4	0,000005	0,03	0,9829
RESIDUAL	0,005425	3	0,00002775		
TOTAL (CORRECTED)	0,005635	13			

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.2. Análisis de Varianza para Datos Experimentales de pH (DIA 2)

Fuente de Variación	Suma Cuadrados	df	Cuadrados Med	Coef-F ²	P-value
ESECTOS PRINCIPALES					
A: Temperatura	0,00512	1	0,00512	15,26	0,0036
B: Concentr.	0,00272	4	0,00068	2,03	0,1747
C: Replicas	0,00018	1	0,00018	0,54	0,4826
INTERACCIONES					
AB	0,00168	4	0,00042	1,10	0,4123
RESIDUAL	0,00302	8	0,00033556		

TOTAL (CORRECTO)	0,01252	19			

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.3. Prueba de Tukey para el Factor A "Temperatura" (DIA 2)

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey			
Temperatura	Frec.	Media	Grupos Homog.
-----	-----	-----	-----
Ambiente	10	5,616	b
Refrigeración	10	5,648	a

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.4. Prueba de Tukey para el Factor B "Concentración de Nisina" (DIA 2)

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey			
Concentra.	Frec.	Media	Grupos Homog.
-----	-----	-----	-----
50ppm	4	5,6125	a
100ppm	4	5,6275	a
150ppm	4	5,635	a
200ppm	4	5,6375	a
250ppm	4	5,6475	a

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.5. Análisis de Varianza para Datos Experimentales de pH (DIA 3)

Fuente de Variación	Suma Cuadrados	GL	Cuadrados Med.	Dev. Est.	P-Value
EFECTOS PRINCIPALES					
At:Temperatura	0,804775	1	0,804775	40,76	0,0001
B:Concentra.	0,05355	4	0,0133825	0,66	0,8239
C:Rep. Ions	0,036725	1	0,036725	1,83	0,2193
INTERACCIONES					
AB	0,01387	4	0,0034675	0,18	0,9453
RESIDUAL	0,157525	9	0,0175025		
TOTAL (CORREGIDA)	1,065325	19			

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.6. Prueba de Tukey para el Factor A "Temperatura" (DIA 3)

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey

Temperatura	Frec.	Media	Grupos Homog.
Ambiente	10	5,216	b
Refrigeración	10	5,617	a

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.7. Prueba de Tukey para el Factor B "Concentración de Nisina" (DIA 3)

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey

Concentra.	Frec.	Media	Grupos Homog.
50ppm	4	5,3225	a
100ppm	4	5,415	a
150ppm	4	5,4175	a
200ppm	4	5,4575	a
250ppm	4	5,47	a

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.8. Análisis de Varianza para Datos Experimentales de pH (DIA 4)

Fuente de Variación	Suma Cuadrados	Gl	Cuadrados Med.	Dev. Est.	P-valor
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Temperatura	7,92541	1	7,92541	8900,57	0,0000
B: Concentra.	0,51655	4	0,129138	142,78	0,0000
C: Rep. Ions	0,002845	1	0,002845	2,94	0,0207
INTERACCIONES					
AB	0,12377	4	0,0309425	34,34	0,0000
BC	0,006105	0	0,00305255		
TOTAL (CORREGIDA)	8,57426	19			

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.9. Prueba de Tukey para el Factor A "Temperatura" (DIA 4)

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey			
Temperatura	Frec.	Media	Grupos Homog.
Ambiente	10	3,394	b
Refrigeración	10	5,253	a

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.10. Prueba de Tukey para el Factor B "Concentración de Nisina" (DIA 4)

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey			
Concentra.	Frec.	Media	Grupos Homog.
50ppm	4	4,4075	d
100ppm	4	4,42	c
150ppm	4	4,675	b
200ppm	4	4,7025	b
250ppm	4	4,8525	a

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.11. Análisis de Varianza para Datos Experimentales de pH (DIA 5)

Fuente de Variación	Suma Cuadrados	Gl	Cuadrados Med	Coef-F'	P-value
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Temperatura	8,30761	1	8,30761	8104,98	0,0000
B: Concentr.	0,17505	4	0,0437625	42,70	0,0000
C: Replicas	0,001125	1	0,001125	1,10	0,3021
INTERACCIONES					
AB	0,00917	4	0,0022925	2,24	0,1453
RESIDUAL	0,009225	9	0,001025		
TOTAL (CORRECTED)	8,50217	19			

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.12. Prueba de Tukey para el Factor A "Temperatura" (DIA 5)

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey			
Temperatura	Frec.	Media	Grupos Homog.
Ambiente	10	3,728	b
Refrigeración	10	5,017	a

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.13. Prueba de Tukey para el Factor B "Concentración de Nisina" (DIA 5)

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey			
Concentra.	Frec.	Media	Grupos Homog.
50ppm	4	4,2375	c
100ppm	4	4,2975	c
150ppm	4	4,4025	b
200ppm	4	4,425	ba
250ppm	4	4,5	a

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.14. Análisis de Varianza para Datos Experimentales de pH (DIA 6)

Fuente de Variación	Suma Cuadrados	Gl	Cuadrados Med	Coef-F	P-value
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Temperatura	1,922	1	1,922	4435,38	0,0000
B:Concentr.	0,03137	4	0,0078425	18,10	0,0002
C:Replicas	0,002	1	0,002	4,62	0,0602
INTERACCIONES					
AB	0,00805	4	0,0020125	5,22	0,0187
RESIDUAL	0,0039	9	0,000433333		
TOTAL (CORRECTED)	1,96832	19			

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.15. Prueba de Tukey para el Factor A "Temperatura" (DIA 6)

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey			
Temperatura	Frec.	Media	Grupos Homog.
Ambiente	10	3,542	b
Refrigeración	10	4,162	a

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.16. Prueba de Tukey para el Factor B "Concentración de Nisina" (DIA 6)

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey			
Concentra.	Frec.	Media	Grupos Homog.
50ppm	4	3,785	c
100ppm	4	3,84	b
150ppm	4	3,855	ba
200ppm	4	3,8775	ba
250ppm	4	3,9025	a

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.17. Análisis de Varianza para Datos Experimentales de pH (DIA 7)

Fuente de Variación	Suma Cuadrados	Gl	Cuadrados Med	Coef-F'	P-value
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Temperatura	0,89888	1	0,89888	561,02	0,0000
B:Concentr.	0,0472	4	0,0118	7,36	0,0065
C:Replicas	0,00338	1	0,00338	2,11	0,1803
INTERACCIONES					
AB	0,01892	4	0,00473	2,95	0,0818
RESIDUAL	0,01442	9	0,00160222		
TOTAL (CORRECTED)	0,9828	19			

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.18. Prueba de Tukey para el Factor A "Temperatura" (DIA 7)

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey

Temperatura	Frec.	Media	Grupos Homog.
Ambiente	10	3,578	b
Refrigeración	10	4,002	a

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.19. Prueba de Tukey para el Factor B "Concentración de Nisina" (DIA 7)

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey

Concentra.	Frec.	Media	Grupos Homog.
50ppm	4	3,7125	b
100ppm	4	3,7575	ba
150ppm	4	3,8075	ba
200ppm	4	3,8275	a
250ppm	4	3,845	a

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.20. Análisis de Varianza Datos Experimentales de %Ac. Láctico (DIA 1)

Fuente	Suma Cuadrados	Gl	Cuadrados Med	Coef-F	P-Value
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Temperatura	0,00496125	1	0,00496125	7,83	0,0264
B: Concentr.	0,0021923	4	0,000548075	0,81	0,5483
C: Replicas	0,00369225	1	0,00369225	5,51	0,0435
INTERACCIONES					
AB	0,0005285	4	0,000131625	0,19	0,9396
RESIDUAL	0,00635445	8	0,000794305		
TOTAL (CORRECTED)	0,0180285	19			

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.21. Prueba de Tukey para el Factor A "Temperatura" (DIA 1)

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey

Temperatura	Frec.	Media	Grupos Homog.
Refrigeración	10	0,3501	b
Ambiente	10	0,3816	a

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.22. Prueba de Tukey para el Factor B "Concentración de Nisina" (DIA 1)

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey

Concentra.	Frec.	Media	Grupos Homog.
100ppm	4	0,34275	a
150ppm	4	0,36	a
50ppm	4	0,36675	a
200ppm	4	0,37575	a
250ppm	4	0,378	a

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.23. Análisis de Varianza Datos Experimentales de %Ac. Láctico (DIA 2)

Fuente	Suma Cuadrados	gl	Cuadrados Med	Coeff-F	P-Value
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamiento	0,0165688	1	0,0165688	24,00	0,0003
B: Concentr.	0,0005832	4	0,0001458	0,21	0,9259
C: Replicas	0,0013122	1	0,0013122	1,90	0,2015
INTERACCIONES					
AB	0,0018602	4	0,00046505	0,71	0,6059
RESIDUAL	0,0062208	8	0,0006812		
TOTAL (CORRECTED)	0,0266652	19			

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.24. Prueba de Tukey para el Factor A "Temperatura" (DIA 2)

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey			
Temperatura	Frec.	Media	Grupos Homog.
Refrigeración	10	0,36	b
Ambiente	10	0,4176	a

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.25. Prueba de Tukey para el Factor B "Concentración de Nisina" (DIA 2)

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey			
Concentra.	Frec.	Media	Grupos Homog.
100ppm	4	0,3825	a
200ppm	4	0,38475	a
150ppm	4	0,38925	a
250ppm	4	0,38925	a
50ppm	4	0,39825	a

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.26. Análisis de Varianza Datos Experimentales de %Ac. Láctico (DIA 3)

Fuente	Suma Cuadrados	Gl	Cuadrados Med	Coef-F	F-value
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Temperatura	0,02592	1	0,02592	54,14	0,0000
B: Concentr.	0,0190917	4	0,00477293	9,97	0,0003
C: Replicas	0,0010368	1	0,0010368	2,17	0,1750
INTERACCIONES					
AB	0,0015795	4	0,000394875	0,82	0,5414
RESIDUAL	0,0043092	9	0,0004788		
TOTAL (CORRECTED)	0,0519370	19			

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.27. Prueba de Tukey para el Factor A "Temperatura" (DIA 3)

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey			
Temperatura	Frec.	Media	Grupos Homog.
Refrigeración	10	0,3762	b
Ambiente	10	0,4482	a

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.28. Prueba de Tukey para el Factor B "Concentración de Nisina" (DIA 3)

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey			
Concentra.	Frec.	Media	Grupos Homog.
200ppm	4	0,38025	b
250ppm	4	0,3915	b
150ppm	4	0,4005	b
100ppm	4	0,42075	ba
50ppm	4	0,468	a

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.29. Análisis de Varianza Datos Experimentales de %Ac. Láctico (DIA 4)

Fuente de Variación	Suma Cuadrados	Gl	Cuadrados Med	Coef-F	P-value
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Temperatura	0,0246402	1	0,0246402	62,84	0,0000
B: Concentr.	0,0507465	4	0,0126866	32,30	0,0000
C: Replicas	0,00162	1	0,00162	4,00	0,0768
INTERACCIONES					
AB	0,0019683	4	0,000492075	1,22	0,3693
RESIDUAL	0,003645	9	0,000405		
TOTAL (CORRECTED)	0,08262	19			

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.30. Prueba de Tukey para el Factor A "Temperatura" (DIA 4)

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey			
Temperatura	Frec.	Media	Grupos Homog.
Refrigeración	10	0,3969	b
Ambiente	10	0,4671	a

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.31. Prueba de Tukey para el Factor B "Concentración de Nisina" (DIA 4)

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey			
Concentra.	Frec.	Media	Grupos Homog.
250ppm	4	0,38025	c
150ppm	4	0,40275	cb
200ppm	4	0,405	cb
100ppm	4	0,45	b
50ppm	4	0,522	a

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.32. Análisis de Varianza Datos Experimentales de %Ac. Láctico (DIA 5)

Fuente de Variación	Suma Cuadrados	Gl	Cuadrados Med	Coef-F	P-value
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Temperatura	0,0610724	1	0,0610724	27,23	0,0005
B: Concentr.	0,0460889	4	0,0115222	5,10	0,0198
C: Replicas	0,00068445	1	0,00068445	0,30	0,5947
INTERACCIONES					
AB	0,0020898	4	0,00052245	0,23	0,9184
RESIDUAL	0,0202541	9	0,00225045		
TOTAL (CORRECTED)	0,13039	19			

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.33. Prueba de Tukey para el Factor A "Temperatura" (DIA 5)

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey			
Temperatura	Frec.	Media	Grupos Homog.
Refrigeración	10	0,5724	b
Ambiente	10	0,6831	a

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.34. Prueba de Tukey para el Factor B "Concentración de Nisina" (DIA 5)

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey			
Concentra.	Frec.	Media	Grupos Homog.
250ppm	4	0,5805	a
150ppm	4	0,59175	a
200ppm	4	0,594	a
50ppm	4	0,684	a
100ppm	4	0,6885	a

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.35. Análisis de Varianza Datos Experimentales de %Ac. Láctico (DIA 6)

Fuente de Variación	Suma Cuadrados	GL	Cuadrados Med	Coef-F'	P-value
ELECTOS PRINCIPALES					
A: Temperatura	0,0554404	1	0,0554404	24,42	0,0003
B: Concentr.	0,0532737	4	0,0133184	5,87	0,0132
C: Replicas	0,00253125	1	0,00253125	1,11	0,3185
INTERACCIONES					
AB	0,0072333	4	0,00180832	0,80	0,5565
RESIDUAL	0,0204323	3	0,00227025		
TOTAL (CORRECTED)	0,139911	19			

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.36. Prueba de Tukey para el Factor A "Temperatura" (DIA 6)

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey			
Temperatura	Frec.	Media	Grupos Homog.
Refrigeración	10	0,6354	b
Ambiente	10	0,7407	a

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.37. Prueba de Tukey para el Factor B "Concentración de Nisina" (DIA 6)

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey			
Concentra.	Frec.	Media	Grupos Homog.
200ppm	4	0,6345	b
250ppm	4	0,64575	ba
150ppm	4	0,65925	ba
100ppm	4	0,74475	ba
50ppm	4	0,756	a

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.38. Análisis de Varianza Datos Experimentales de Recuento total de bacterias (UFC/ ml suero ácido) (DÍA 1)

Fuente de Variación	Suma Cuadrados	Gl	Cuadrados Med	Coef-F	P-value
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Temperatura	4,80256	1	4,80256	12,28	0,0007
B: Concentr.	1,156357	4	2,890893	7,89	0,0064
C: Replicas	242000,0	1	242000,0	6,62	0,4522
INTERACCIONES					
AB	8,27826	4	2,069565	5,28	0,0181
RESIDUAL	8,52826	9	94758,4		
TOTAL (CORREGIDA)					
	2,842827	19			

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.39. Prueba de Tukey para el Factor A "Temperatura" (DIA 1)

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey			
Temperatura	Frec.	Media	Grupos Homog.
Ambiente	10	2870,0	b
Refrigeración	10	3850,0	a

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.40. Prueba de Tukey para el Factor B "Concentración de Nisina" (DIA 1)

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey			
Concentra.	Frec.	Media	Grupos Homog.
150ppm	4	2325,0	b
200ppm	4	3025,0	b
50ppm	4	3250,0	ba
100ppm	4	3550,0	ba
250ppm	4	4650,0	a

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.41. Análisis de Varianza Datos Experimentales de Recuento total de bacterias (UFC/ ml suero ácido) (DÍA 3)

Fuente de Variación	Suma Cuadrados	Gl	Cuadrados Med	Coef-F	P-value
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Temperatura	3,042E6	1	3,042E6	5,02	0,0518
B: Concentr.	8,7375E	4	2,18425E6	3,61	0,0518
C: Replicas	578000,0	1	578000,0	0,95	0,3542
INTERACCIONES					
AB	4,1133E	4	1,02825E6	1,70	0,2339
RESIDUAL	5,4533E	9	605778,0		
TOTAL (CORRECTED)	2,1922E7	19			

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.42. Prueba de Tukey para el Factor A "Temperatura" (DIA 3)

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey			
Temperatura	Frec.	Media	Grupos Homog.
Refrigeración	10	4390,0	a
Ambiente	10	5160,0	a

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.43. Prueba de Tukey para el Factor B "Concentración de Nisina" (DIA 3)

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey			
Concentra.	Frec.	Media	Grupos Homog.
250ppm	4	3725,0	b
50ppm	4	4500,0	ba
200ppm	4	4900,0	ba
100ppm	4	4975,0	ba
150ppm	4	5750,0	a

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.44. Análisis de Varianza Datos Experimentales de Recuento total de bacterias (UFC/ ml suero ácido) (DÍA 5)

Fuente de Variación	Suma Cuadrados	GL	Cuadrados Med	Coef-F	P-value
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Temperatura	2,8645E6	1	2,8645E6	0,76	0,4049
B:Concentr.	1,9018E7	4	4,7545E6	1,22	0,2858
C:Replicas	7,0905E6	1	7,0905E6	1,90	0,2098
INTERACCIONES					
AB	2,1388E7	4	5,347E6	1,44	0,2970
RESIDUAL	3,4984E7	9	3,8871E6		
TOTAL (CORREGIDA)	8,4385E7	19			

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.45. Prueba de Tukey para el Factor A "Temperatura" (DIA 5)

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey			
Temperatura	Frec.	Media	Grupos Homog.
Refrigeración	10	9600,0	a
Ambiente	10	10570,0	a

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla B.46. Prueba de Tukey para el Factor B "Concentración de Nisina" (DIA 5)

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey			
Concentra.	Frec.	Media	Grupos Homog.
200ppm	4	9950,0	a
150ppm	4	9700,0	a
100ppm	4	10025,0	a
50ppm	4	10350,0	a
250ppm	4	11900,0	a

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

ANEXO C
TIEMPOS DE VIDA ÚTIL

Tabla C.1. Datos Experimentales de pH de las Muestras de Suero Ácido de Quesería con diferentes concentraciones de Nisina y Almacenado a 21°C

Tiempo (h)	pH					
	T1	T2	T3	T4	T5	Testigo
0	5,665	5,66	5,66	5,67	5,665	5,680
24	5,605	5,605	5,63	5,62	5,62	4,600
48	5,085	5,22	5,195	5,275	5,305	3,830
72	3,705	3,79	4,05	4,055	4,37	3,260
96	3,62	3,665	3,765	3,77	3,82	3,165
120	3,51	3,52	3,52	3,555	3,605	3,025

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

- Cálculo del % de cambio de pH en suero ácido de quesería a cada uno de los tratamientos a través de los días.

$$\% \text{Cambio pH} = \frac{pH_o - pH}{pH_o} \times 100$$

Donde:

% Cambio de pH = Porcentaje que disminuye el pH a lo largo de la experimentación

pH_o = pH inicial de la muestra de leche

pH = pH leído a lo largo del tiempo.

$$\% \text{Cambio pH} = \frac{pH_o - pH}{pH_o} \times 100$$

$$\% \text{Cambio pH} = \frac{5.665 - 5.605}{5.665} \times 100$$

$$\% \text{Cambio pH} = 1.059$$

Tabla C.2. Valores de porcentaje de cambio de pH de las Muestras de Suero Ácido de Quesería con Nisina Almacenado a 21°C

Tiempo (h)	% pH					
	T1	T2	T3	T4	T5	Testigo
0	0	0	0	0	0	0
24	1,05913504	0,97173145	0,53003534	0,88183422	0,79435128	19,0140845
48	10,2383054	7,77385159	8,2155477	6,9664903	6,35481024	32,5704225
72	34,5984113	33,0388693	28,4452297	28,4832451	22,8596646	42,6056338
96	36,0988526	35,2473498	33,4805654	33,5097002	32,5684025	44,278169
120	38,0406002	37,8091873	37,8091873	37,3015873	36,3636364	46,7429577

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

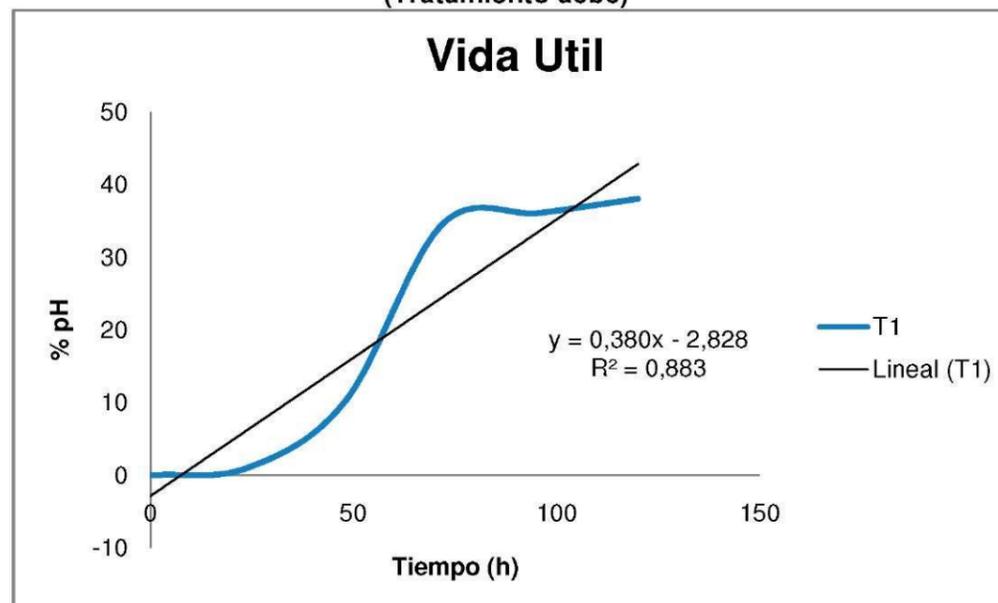
Gráficos para determinación de vida útil utilizando método propuesto por Alvarado (1996), utilizando como atributo de calidad al pH en el Suero Ácido de Quesería.

Ecuación de Tiempo de Vida Útil para Suero Ácido de Quesería a Temperatura Ambiente (21°C) con 50 ppm de Nisina

$$y = 0.380x - 2.828$$

$$\%pH = 0.380t - 2.828$$

Gráfico C.1. Vida Útil de Suero Ácido de Quesería a Temperatura Ambiente (Tratamiento a0b0)



Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Se toma que el %pH óptimo del suero es 28, este % es hasta que el pH del suero sea 4 que es el óptimo.

$$\%pH = 0.380t - 2.828$$

$$t = \frac{\%pH + 2.828}{0.380}$$

$$t = \frac{28 + 2.828}{0.380}$$

$$t = 81.13 \text{ horas}$$

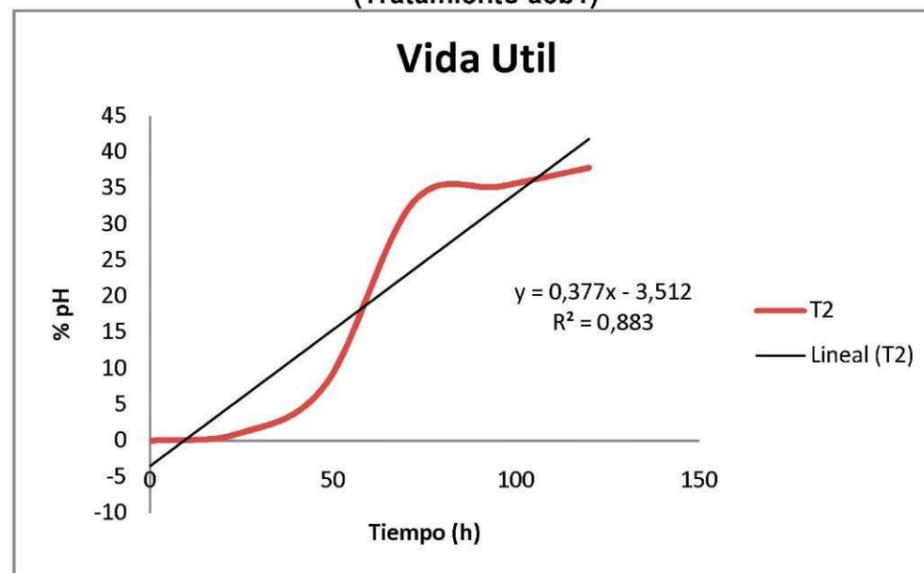
$$t = 3.4 \text{ días}$$

Ecuación de Tiempo de Vida Útil para Suero Ácido de Quesería a Temperatura Ambiente (21°C) con 100 ppm de Nisina

$$y = 0.377x - 3.512$$

$$\% \text{ pH} = 0.377t - 3.512$$

Gráfico C.2. Vida Útil de Suero Ácido de Quesería a Temperatura Ambiente (Tratamiento a0b1)



Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Se toma que el %pH óptimo del suero es 28, este % es hasta que el pH del suero sea 4 que es el óptimo.

$$\% \text{ pH} = 0.377t - 3.512$$

$$t = \frac{\% \text{ pH} + 3.512}{0.377}$$

$$t = \frac{28 + 3.512}{0.377}$$

$$t = 83.6 \text{ horas}$$

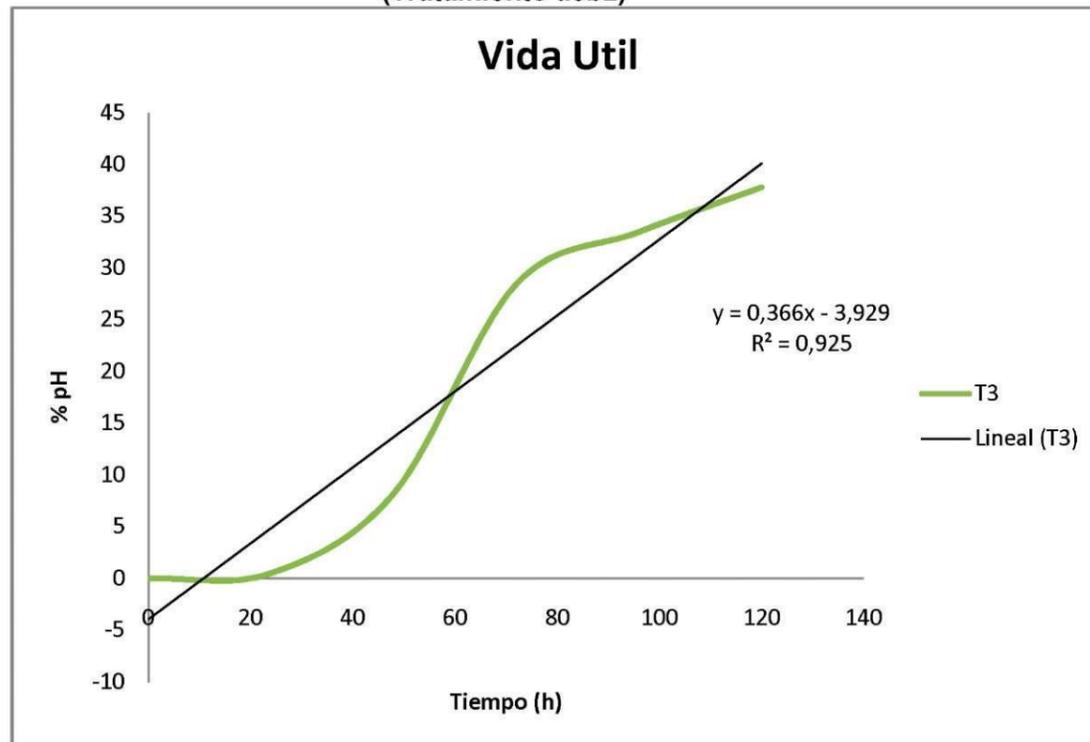
$$t = 3.5 \text{ días}$$

Ecuación de Tiempo de Vida Útil para Suero Ácido de Quesería a Temperatura Ambiente (21°C) con 150 ppm de Nisina

$$y = 0.366x - 3.929$$

$$\% \text{ pH} = 0.366t - 3.929$$

Gráfico C.3. Vida Útil de Suero Ácido de Quesería a Temperatura Ambiente (Tratamiento a0b2)



Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Se toma que el %pH óptimo del suero es 28, este % es hasta que el pH del suero sea 4 que es el óptimo.

$$\% \text{ pH} = 0.366t - 3.929$$

$$t = \frac{\% \text{ pH} + 3.929}{0.366}$$

$$t = \frac{28 + 3.929}{0.366}$$

$$t = 87.2 \text{ horas}$$

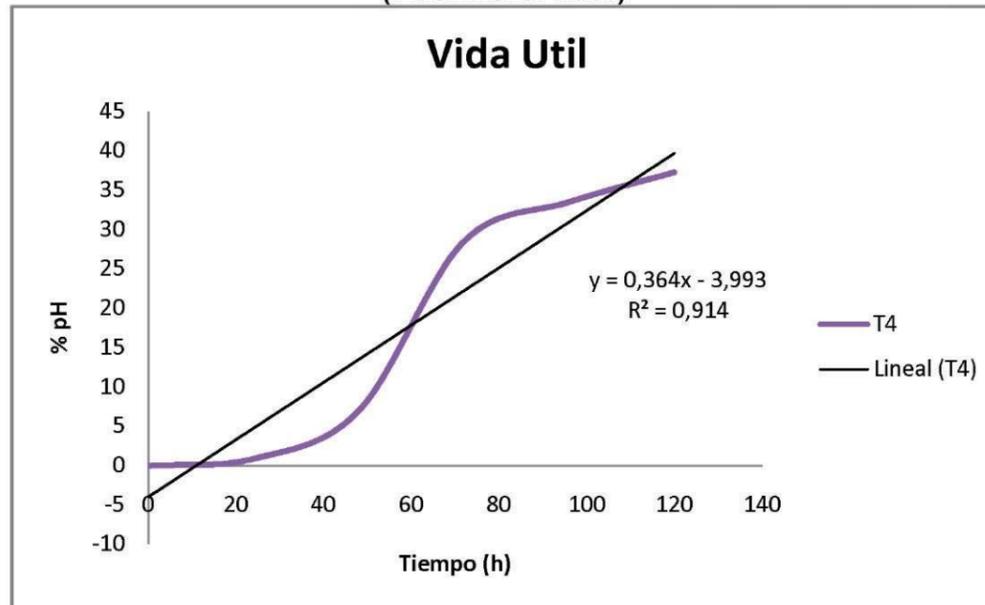
$$t = 3.6 \text{ días}$$

Ecuación de Tiempo de Vida Útil para Suero Ácido de Quesería a Temperatura Ambiente (21°C) con 200 ppm de Nisina

$$y = 0.364x - 3.993$$

$$\% \text{ pH} = 0.364t - 3.993$$

Gráfico C.4. Vida Útil de Suero Ácido de Quesería a Temperatura Ambiente (Tratamiento a0b3)



Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Se toma que el %pH óptimo del suero es 28, este % es hasta que el pH del suero sea 4 que es el óptimo.

$$\% \text{ pH} = 0.364t - 3.993$$

$$t = \frac{\% \text{ pH} + 3.993}{0.364}$$

$$t = \frac{28 + 3.993}{0.364}$$

$$t = 87.9 \text{ horas}$$

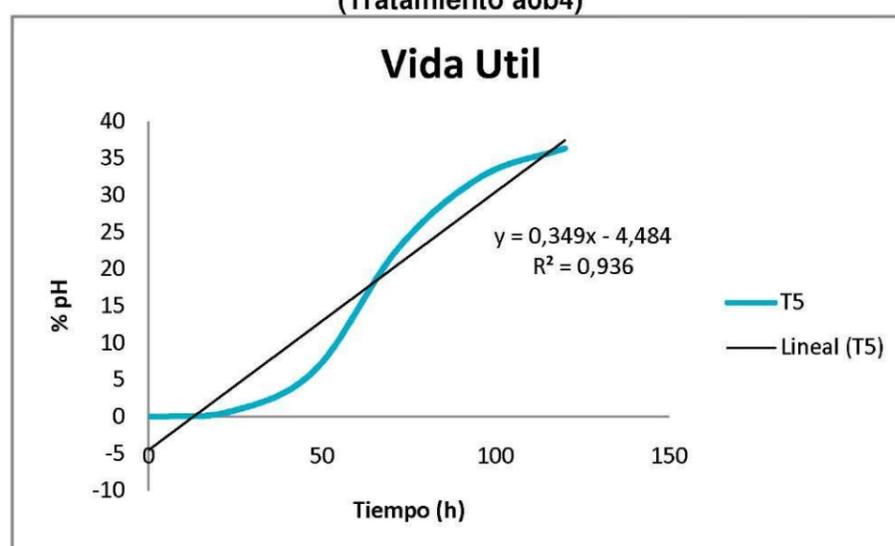
$$t = 3.66 \text{ días}$$

Ecuación de Tiempo de Vida Útil para Suero Ácido de Quesería a Temperatura Ambiente (21°C) con 250 ppm de Nisina

$$y = 0.349x - 4.484$$

$$\% \text{ pH} = 0.349t - 4.484$$

Gráfico C.5. Vida Útil de Suero Ácido de Quesería a Temperatura Ambiente (Tratamiento a0b4)



Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Se toma que el %pH óptimo del suero es 28, este % es hasta que el pH del suero sea 4 que es el óptimo.

$$\% \text{ pH} = 0.349t - 4.484$$

$$t = \frac{\% \text{ pH} + 4.484}{0.349}$$

$$t = \frac{28 + 4.484}{0.349}$$

$$t = 93.1 \text{ horas}$$

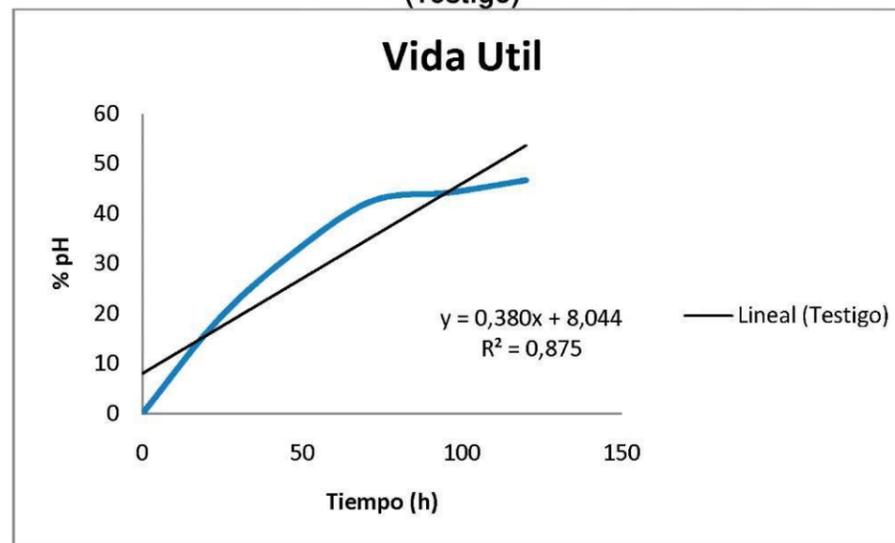
$$t = 3.9 \text{ días}$$

Ecuación de Tiempo de Vida Útil para Suero Ácido de Quesería a Temperatura Ambiente (21°C) Muestra Testigo

$$y = 0.380x + 8.044$$

$$\% \text{ pH} = 0.380t + 8.044$$

Gráfico C.6. Vida Útil de Suero Ácido de Quesería a Temperatura Ambiente (Testigo)



Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Se toma que el %pH óptimo del suero es 28, este % es hasta que el pH del suero sea 4 que es el óptimo.

$$\% \text{ pH} = 0.380t + 8.044$$

$$t = \frac{\% \text{ pH} - 8.044}{0.380}$$

$$t = \frac{28 - 8.044}{0.380}$$

$$t = 52.5 \text{ horas}$$

$$t = 2.1 \text{ días}$$

Tabla C.3. Datos Experimentales de pH de las Muestras de Suero Ácido de Quesería ^ con diferentes concentraciones de Nisina y Almacenado a 4°C

Tiempo (h)	pH					
	T1	T2	T3	T4	T5	Testigo
0	5,66	5,67	5,66	5,66	5,665	5,690
24	5,62	5,65	5,64	5,655	5,675	5,305
48	5,56	5,61	5,64	5,64	5,635	5,010
72	5,11	5,17	5,3	5,35	5,335	4,465
96	4,855	4,93	5,04	5,08	5,18	3,750
120	4,06	4,16	4,19	4,2	4,2	3,405
144	3,88	3,94	4,04	4,07	4,08	3,080

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Calculo del % de cambio de pH en suero ácido de quesería a cada uno de los tratamientos a través de los días.

$$\%Cambio\ pH = \frac{pH_0 - pH}{pH_0} \times 100$$

Donde:

% Cambio de pH = Porcentaje que disminuye el pH a lo largo de la experimentación

pH₀ = pH inicial de la muestra de leche pH = pH leído a lo largo del tiempo.

$$\%Cambio\ pH = \frac{5,66 - 5,62}{5,66} \times 100$$

$$\%Cambio\ pH = 0,706$$

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Tabla C.3. Datos Experimentales de pH de las Muestras de Suero Ácido de Quesería ^ con diferentes concentraciones de Nisina y Almacenado a 4°C

Tabla C.4. Valores de porcentaje de cambio de pH de las Muestras de Suero Ácido de Quesería con Nisina Almacenado a 4°C

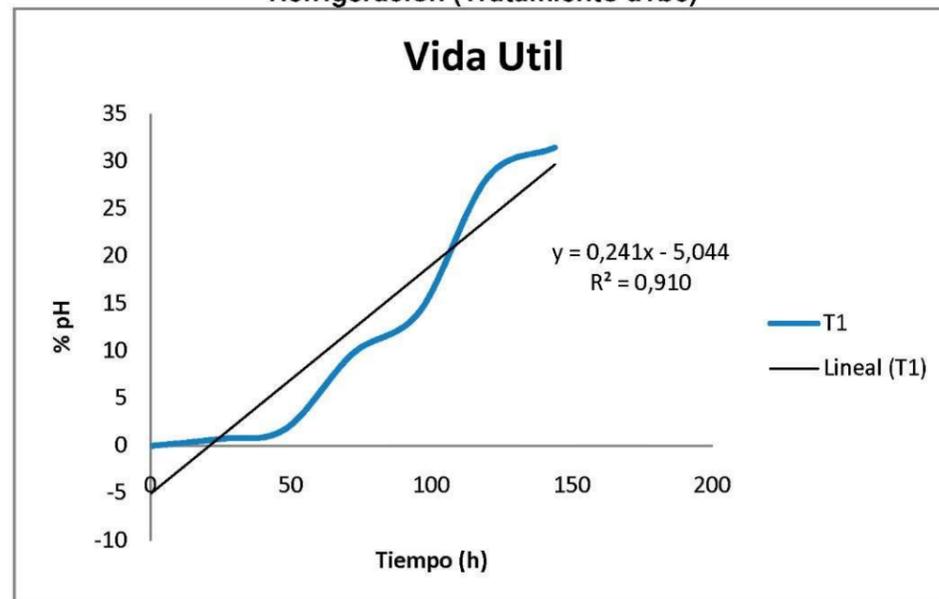
Tiempo (h)	%pH					
	T1	T2	T3	T4	T5	Testigo
0	0	0	0	0	0	0
24	0,7067137 8	0,3527336 9	0,3533568 9	0,0883392 2	-0,1765225	6,7662565 9
48	1,7667844 5	1,0582010 6	0,3533568 9	0,3533568 9	0,5295675 2	11,950790 9
72	9,7173144 9	8,8183421 5	6,3604240 3	5,4770318	5,8252427 2	21,528998 2
96	14,222614 8	13,051146 4	10,954063 6	10,247349 8	8,5613415 7	34,094903 3
120	28,268551 2	26,631393 3	25,971731 4	25,795053	25,860547 2	40,158172 2
144	31,448763 3	30,511463 8	28,621908 1	28,091872 8	27,978817 3	45,869947 3

Ecuación de Tiempo de Vida Útil para Suero Ácido de Quesería a Temperatura de Refrigeración (4°C) con 50 ppm de Nisina

$$y = 0.241x - 5.044$$

$$\% \text{ pH} = 0.241t - 5.044$$

Gráfico C.7. Vida Útil de Suero Ácido de Quesería a Temperatura de Refrigeración (Tratamiento a1b0)



Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Se toma que el %pH óptimo del suero es 28, este % es hasta que el pH del suero sea 4 que es el óptimo.

$$\% \text{ pH} = 0.241t - 5.044$$

$$t = \frac{\% \text{ pH} + 5.044}{0.241}$$

$$t = \frac{28 + 5.044}{0.241}$$

$$t = 137.1 \text{ horas}$$

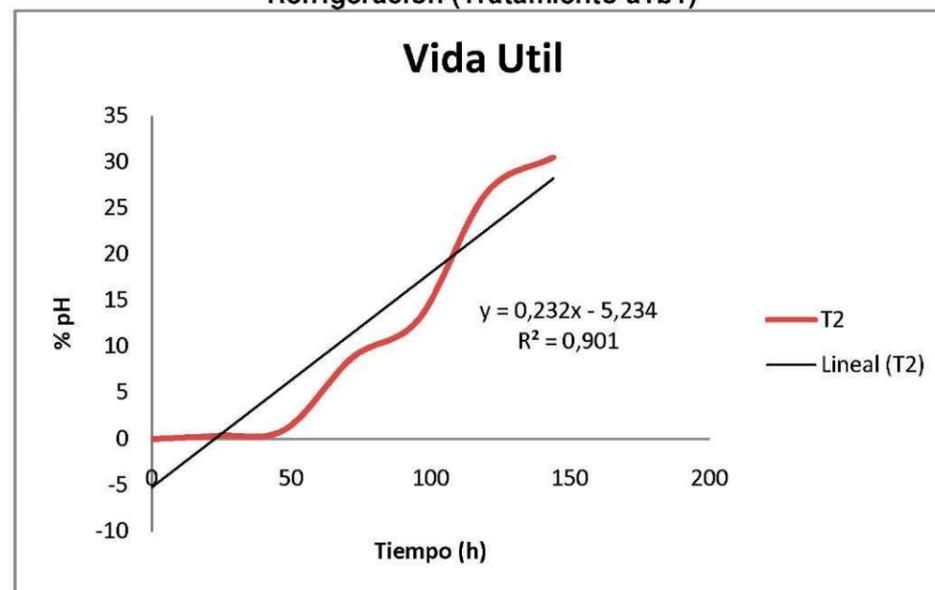
$$t = 5.7 \text{ días}$$

Ecuación de Tiempo de Vida Útil para Suero Ácido de Quesería a Temperatura de Refrigeración (4°C) con 100 ppm de Nisina

$$y = 0.232x - 5.234$$

$$\% \text{ pH} = 0.232t - 5.234$$

Gráfico C.8. Vida Útil de Suero Ácido de Quesería a Temperatura de Refrigeración (Tratamiento a1b1)



Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Se toma que el %pH óptimo del suero es 28, este % es hasta que el pH del suero sea 4 que es el óptimo.

$$\% \text{ pH} = 0.232t - 5.234$$

$$t = \frac{\% \text{ pH} + 5.234}{0.232}$$

$$t = \frac{28 + 5.234}{0.232}$$

$$t = 143.25 \text{ horas}$$

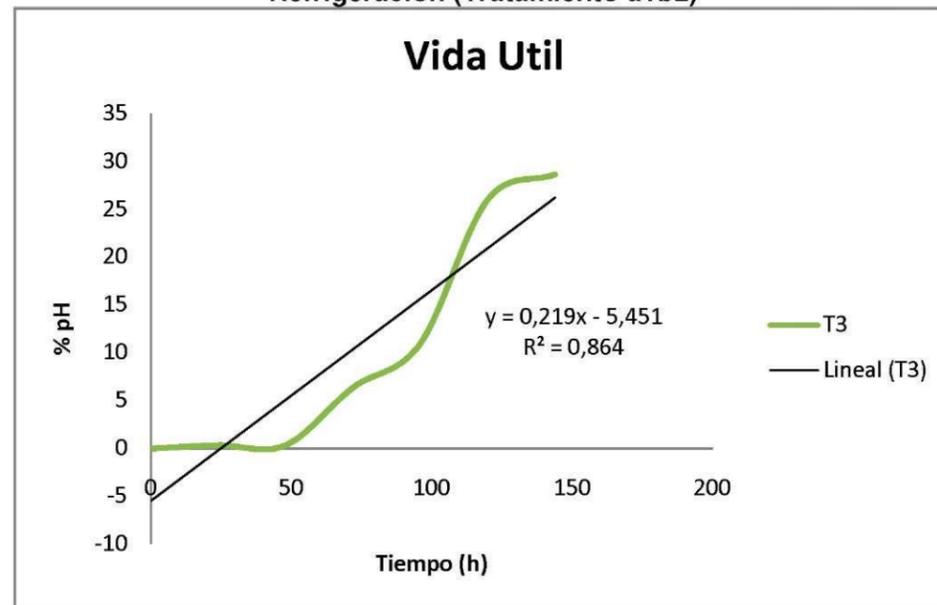
$$t = 6 \text{ días}$$

Ecuación de Tiempo de Vida Útil para Suero Ácido de Quesería a Temperatura de Refrigeración con 150 ppm de Nisina

$$y = 0.219x - 5.451$$

$$\% \text{ pH} = 0.219t - 5.451$$

Gráfico C.9. Vida Útil de Suero Ácido de Quesería a Temperatura de Refrigeración (Tratamiento a1b2)



Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Se toma que el %pH óptimo del suero es 28, este % es hasta que el pH del suero sea 4 que es el óptimo.

$$\% \text{ pH} = 0.219t - 5.451$$

$$t = \frac{\% \text{ pH} + 5.451}{0.219}$$

$$t = \frac{28 + 5.451}{0.219}$$

$$t = 152.5 \text{ horas}$$

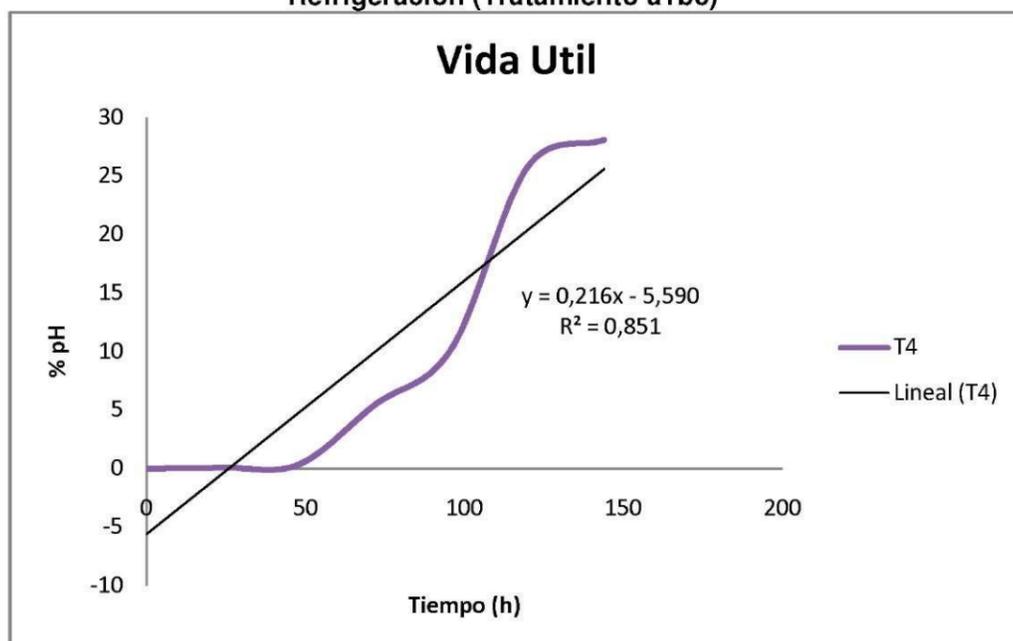
$$t = 6.4 \text{ días}$$

Ecuación de Tiempo de Vida Útil para Suero Ácido de Quesería a Temperatura de Refrigeración con 200 ppm de Nisina

$$y = 0.216x - 5.590$$

$$\% \text{ pH} = 0.216t - 5.590$$

Gráfico C.10. Vida Útil de Suero Ácido de Quesería a Temperatura de Refrigeración (Tratamiento a1b3)



Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Se toma que el %pH óptimo del suero es 28, este % es hasta que el pH del suero sea 4 que es el óptimo.

$$\% \text{ pH} = 0.216t - 5.590$$

$$t = \frac{\% \text{ pH} + 5.590}{0.216}$$

$$t = \frac{28 + 5.590}{0.216}$$

$$t = 155.5 \text{ horas}$$

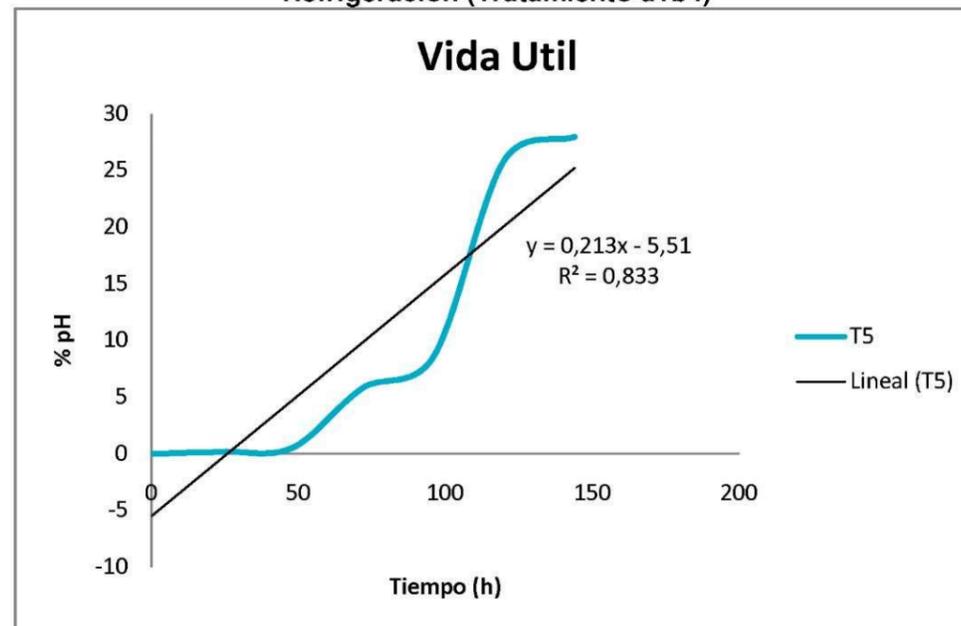
$$t = 6.5 \text{ días}$$

Ecuación de Tiempo de Vida Útil para Suero Ácido de Quesería a Temperatura de Refrigeración con 250 ppm de Nisina

$$y = 0.213x - 5.51$$

$$\% \text{ pH} = 0.213t - 5.51$$

Gráfico C.11. Vida Útil de Suero Ácido de Quesería a Temperatura de Refrigeración (Tratamiento a1b4)



Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Se toma que el %pH óptimo del suero es 28, este % es hasta que el pH del suero sea 4 que es el óptimo.

$$\% \text{ pH} = 0.213t - 5.51$$

$$t = \frac{\% \text{ pH} + 5.51}{0.213}$$

$$t = \frac{28 + 5.51}{0.213}$$

$$t = 157.3 \text{ horas}$$

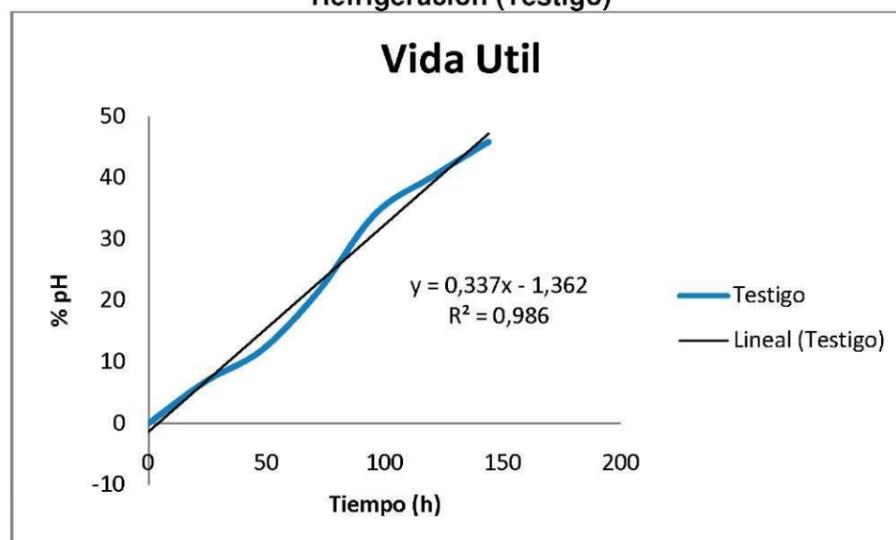
$$t = 6.6 \text{ días}$$

Ecuación de Tiempo de Vida Útil para Suero Ácido de Quesería a Temperatura de Refrigeración Muestra Testigo

$$y = 0.270x - 1.854$$

$$\% \text{ pH} = 0.270t - 1.854$$

Gráfico C.11. Vida Útil de Suero Ácido de Quesería a Temperatura de Refrigeración (Testigo)



Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

Se toma que el %pH óptimo del suero es 28, este % es hasta que el pH del suero sea 4 que es el óptimo.

$$\% \text{ pH} = 0.337t - 1.362$$

$$t = \frac{\% \text{ pH} + 1.362}{0.337}$$

$$t = \frac{28 + 1.362}{0.377}$$

$$t = 87.1 \text{ horas}$$

$$t = 3.6 \text{ días}$$

Tabla C.5. Datos experimentales de tiempos de Vida Útil para Suero Acido de Quesería, tratado a Temperatura Ambiente (21°C) y a Temperatura de Refrigeración (4°C) con diferentes concentraciones de Nisina.

TRATAMIENTOS		Vida Útil Suero Acido (Días)
		Respuesta Experimental (pH)
T1	a0b0	3.4
T2	a0b1	3.5
T3	a0b2	3.6
T4	a0b3	3.66
T5	a0b4	3.9
T6	a1b0	5.7
T7	a1b1	6.0
T8	a1b2	6.4
T9	a1b3	6.5
T10	a1b4	6.6
Testigo (T. Ambiente) 21°C		2.1
Testigo (T. Refrigeración) 4°C		3.6

Elaborado por: Vinicio Romero, 2010

ANEXO D
FICHA TÉCNICA NISINA

