



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
METROPOLITANA**

**UNIDAD IZTAPALAPA**

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD  
DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGÍA**

**Estudio de las modificaciones producidos por *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCFB 2772 en la viabilidad y las características sensoriales de un queso funcional tipo panela adicionado con *L. rhamnosus* GG**

**T E S I S**

PARA OBTENER EL GRADO DE  
**MAESTRO EN BIOTECNOLOGÍA**

PRESENTA

**I.A. Luis Fernando Jiménez Santiago**

**Directora de Tesis**

Dra. Gabriela Mariana Rodríguez Serrano

**Asesores**

Dr. Héctor Bernardo Escalona Buendía

Dra. Patricia Severiano Pérez

México D.F. a 27 de Julio de 2015.



Casa abierta al tiempo

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**  
Unidad Iztapalapa

Fecha : 24/07/2015

Página : 1/1

**CONSTANCIA DE PRESENTACION DE EXAMEN DE GRADO**

La Universidad Autónoma Metropolitana extiende la presente CONSTANCIA DE PRESENTACION DE EXAMEN DE GRADO de MAESTRO EN BIOTECNOLOGIA del alumno LUIS FERNANDO JIMENEZ SANTIAGO, matrícula 2133801897, quien cumplió con los 140 créditos correspondientes a las unidades de enseñanza aprendizaje del plan de estudio. Con fecha veintisiete de julio del 2015 presentó la DEFENSA de su EXAMEN DE GRADO cuya denominación es:

**ESTUDIO DE LAS  
MODIFICACIONES  
PRODUCIDOS POR *L.  
delbrueckii* subsp. *bulgaricus*  
NCFB 2772 EN LA VIABILIDAD Y  
LAS CARACTERISTICAS  
SENSORIALES DE UN QUESO  
FUNCIONAL TIPO PANELA  
ADICIONADO CON *L.  
rhamnosus* GG**

Cabe mencionar que la aprobación del Examen de Grado tiene un valor de 40 créditos y el programa consta de 180 créditos.

El jurado del examen ha tenido a bien otorgarle la calificación de:

*Aprobar.*

Presidenta

DRA. ALMA ELIZABETH CRUZ GUERRERO

JURADO

Secretario

DR. HECTOR BERNARDO ESCALONA BUENDIA

Vocal

DRA. PATRICIA SEVERIANO PEREZ

Vocal

DR. LUIS GUILLERMO GONZALEZ OLIVARES

México D.F. a 27 de Julio de 2015.

El jurado designado por la  
División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Unidad Iztapalapa aprobó la tesis  
**“Estudio de las modificaciones producidas por *L. delbrueckii* subsp.  
*bulgaricus* NCFB 2772 en la viabilidad y las características sensoriales de un  
queso funcional tipo panela adicionado con *L. rhamnosus* GG”**

Que presentó

I.A. Luis Fernando Jiménez Santiago

Comité Tutorial:

Director: DRA. GABRIELA MARIANA RODRÍGUEZ SERRANO

Asesor: DR. HÉCTOR BERNARDO ESCALONA BUENDÍA

Asesor: DRA. PATRICIA SEVERIANO PÉREZ

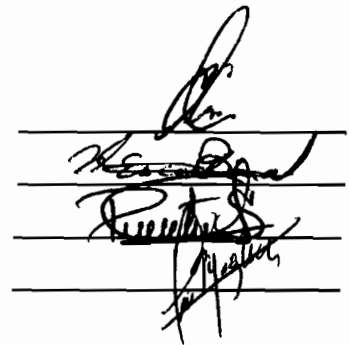
Jurado:

Presidente: Dra. Alma Elizabeth Cruz Guerrero

Secretario: Dr. Héctor Bernardo Escalona Buendía

Vocal: Dra. Patricia Severiano Pérez

Vocal: Dr. Luis Guillermo González Olivares

The image shows four horizontal lines representing the signature lines for the jury members. On these lines, there are handwritten signatures in black ink. The signatures are written in a cursive style and are somewhat overlapping. The first signature is the largest and most prominent, followed by three smaller signatures below it.

“La Maestría en Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana está incluida en el Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACyT, con la referencia 001465 con nivel de Competencia Internacional”

## *Agradezco...*

*A la Dra. Gabriela Rodríguez por todo su apoyo, conocimiento, tiempo y dedicación que me ha brindado, además de permitirme ingresar y acogerme al maravilloso y perturbador mundo de la investigación, siendo el mejor camino que he podido elegir.*

*Al Dr. Héctor Escalona y a la Dra. Patricia Severiano por compartirme sus extensos conocimientos y asesorías en el complicado y fascinante campo de la Estadística y de la Evaluación Sensorial.*

*A la Dra. Alma Cruz Guerrero y al Dr. Luis Guillermo Gonzales por su apoyo en la evaluación y mejora de este trabajo.*

*Al Dr. José Sepúlveda y a su hermano Jorge Sepúlveda, así como a la Dra. Cristina Acosta por su ayuda en la parte fundamental de la Microscopía Electrónica.*

*Nuevamente a la Dra. Gabby Rodríguez, a la Dra. Alma Cruz, a la M. Lorena Ruíz, al Dr. Mariano Garibay y al Dr. Sergio Alatorre y a todo el equipo de trabajo del laboratorio de Biotecnología Alimentaria de la PP2, por hacerme sentir en el laboratorio como en mi hogar.*

*A mis amigos Darío Gómez, Rosalinda Tafolla, Adriana Arvizu, Jesús Rojas, Mariana Quintana e Isabel Hernández por su gran apoyo en lo académico y en los momentos de flaqueza, haciendo más ameno y divertido este camino.*

*A mi extraordinaria familia... Sin ustedes no habría podido lograr esto, ya que a su apoyo, sacrificios y gran amor he podido llegar hasta este hermoso momento, gracias a mis hermanos Vane, Beto y a mis padres Cristina y Martín. Los amo demasiado.*

*Soñar... Es la mejor forma de ser libre,  
el problema es... Cuando dejas de serlo.*

## Índice

Resumen .....	i
Abstract .....	iii
1. Introducción .....	1
2. Antecedentes.....	4
2.1. Los quesos frescos .....	4
2.2. El queso como vehículo de probióticos.....	5
2.3. Los exopolisacáridos de las BAL y su función .....	7
2.3.1. El uso de EPS en quesos .....	13
2.4. Antecedentes directos .....	14
2.5. Análisis para la evaluación de un queso elaborado con EPS.....	14
2.5.1. Textura .....	14
2.5.2. Análisis instrumental de color para alimentos .....	15
2.5.3. Humedad y actividad de agua ( $a_w$ ).....	18
2.5.4. Microscopia electrónica de barrido .....	18
2.5.5. Análisis descriptivo cuantitativo .....	19
2.5.6. Análisis de componentes principales .....	20
2.5.7. Prueba de nivel de agrado.....	20
2.5.8. Justo como lo esperaba.....	21
3. Justificación .....	22
4. Hipótesis.....	24
5. Objetivos.....	25
a) Objetivos Particulares .....	25
6. Materiales y Métodos.....	26
6.2. Acondicionamiento de cepas .....	26
6.2.1. Almacenamiento de los microorganismos.....	26
6.2.2. Curva de crecimiento.....	26
6.3. Preparación del inóculo .....	26
6.4. Condiciones de los sustratos para fermentación.....	27
6.5. Cuantificación del exopolisacárido.....	27

6.6.	Análisis estadístico .....	29
6.7.	Elaboración del queso funcional tipo panela .....	29
6.8.	Viabilidad de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG en el queso funcional .....	30
6.9.	Pruebas fisicoquímicas en queso .....	30
a)	Determinación del pH .....	30
b)	Determinación de acidez titulable .....	31
c)	Determinación de actividad de agua .....	31
d)	Determinación de humedad .....	31
6.10.	Análisis por microscopía electrónica .....	31
6.11.	Evaluación sensorial .....	33
6.11.1.	Análisis descriptivo cuantitativo .....	33
a)	Generación de descriptores .....	33
b)	Determinación de la terminología .....	33
c)	Anclaje de escala .....	34
d)	Revisión de escala por medio de la evaluación de atributos .....	34
6.11.2.	Pruebas afectivas .....	34
6.12.	Análisis instrumental del queso tipo panela .....	35
6.12.1.	Análisis de perfil de textura .....	35
6.12.2.	Análisis instrumental de color .....	35
7.	Resultados y discusión .....	37
7.1	Evaluación del efecto de la concentración de sólidos totales y de la temperatura en la producción de EPS .....	37
7.2.	Observaciones a microscopio óptico .....	41
7.3.	Rendimiento de los quesos elaborados .....	42
7.4.	Viabilidad de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG en el queso funcional .....	45
7.5.	Características fisicoquímicas del queso .....	46
a)	pH .....	46
b)	Acidez titulable .....	46
c)	Actividad de agua y humedad .....	47
7.6.	Observaciones a microscopio electrónico .....	48
7.7.	Evaluación sensorial del queso tipo panela .....	52
7.7.1.	Análisis descriptivo cuantitativo .....	52



a) Panel de jueces sensoriales .....	52
b) Generación de descriptores .....	52
c) Anclaje de escala .....	55
d) Revisión de escala por medio de la evaluación de atributos .....	56
e) Evaluación de los quesos elaborados.....	57
7.7.2. Pruebas afectivas .....	62
a) Nivel de agrado .....	67
b) Justo como lo esperaba.....	69
7.8. Análisis de perfil de textura.....	71
7.9. Análisis instrumental de color de los quesos.....	73
7.10. Análisis de factores múltiples (MFA) .....	75
8. Conclusiones .....	78
9. Perspectivas y recomendaciones .....	79
10. Referencias.....	80
11. Anexos .....	85

## Índice de tablas

Tabla 2.3.1. Requerimientos nutricionales de <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> NCFB 2772 en medio definido .....	d
Tabla 2.3.2. Características de la fermentación de <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> NCFB 2772 .....	iii
Tabla 6.4. Combinaciones probadas de temperatura y porcentaje de sólidos totales .....	1
Tabla 6.12.2.1. Condiciones del análisis instrumental de color .....	4
Tabla 7.1.1. Resultados promedio de las pruebas de producción de EPS .....	4
Tabla 7.1.2. ANOVA para la cuantificación de la producción de EPS .....	5
Tabla 7.1.3. Prueba de Comparación Múltiple de Tukey-Kramer para la interacción de los factores Temperatura-Sólidos Totales .....	7
Tabla 7.1.4. Prueba de Comparación Múltiple de Tukey-Kramer para la interacción de los factores Temperatura-Tiempo.....	13
Tabla 7.1.5. Prueba de Comparación Múltiple de Tukey-Kramer para la interacción de los factores Sólidos Totales-Tiempo.....	14
Tabla 7.1.6. Registro de la viscosidad en los sustratos probados .....	14
Tabla 7.3.1.a. Rendimientos de los quesos elaborados .....	14
Tabla 7.3.1. b. Porcentaje de la pérdida de peso de los quesos elaborados .....	15
Tabla 7.4.1. Comparación del requisito de ufc de acuerdo a la FAO y las estimadas en los quesos funcionales tipo panela.....	18
Tabla 7.5.b. Porcentaje de ácido láctico para los quesos elaborados .....	18
Tabla 7.5.c. Valores promedios obtenidos de humedad y actividad de agua ( $a_w$ ) .....	19
Tabla 7.7.1.a. Lista de nombres del panel de jueces sensoriales .....	20
Tabla7.7.1.bl. Principales descriptores para los atributos del queso tipo panela.....	20
Tabla 7.7.1.bII. Definiciones y formas de evaluar cada descriptor .....	521
Tabla 7.7.1.c. Estándares utilizados para el anclaje de escala .....	22
Tabla 7.7.1.e. Resultados de los análisis de varianza de los descriptores de la evaluación de los quesos comerciales y los elaborados .....	24
Tabla 7.7.2. Lista de precios de quesos comerciales tipo panela con distintas presentaciones.....	25
Tabla 7.7.7.2.a. Resultados de los ANOVAs de la evaluación del Nivel de Agrado .....	25
Tabla 7.7.7.2.b. Medias obtenidas de los quesos evaluados respecto al salado.....	26
Tabla 7.8.1. Resultados de diferencia significativa para las muestras de queso tipo panela .	26

Tabla 7.9. Resultados promedio de los quesos en los parámetros L\*C\*h de colorimetría con SCE..... 726

Tabla 7.10. Coeficientes RV de las pruebas sensoriales e instrumentales realizadas..... 26

## Índice de figuras

Figura 2.5.2.a. i) Diagrama de cromaticidad de $a^*$ y $b^*$ ii) Representación del sólido de colores para el espacio $L^*a^*b^*$ .....	d
Figura 2.5.2.b. Espacio de color $L^*C^*h$ .....	iii
Figura 2.5.2.c. Luz especular y luz difusa .....	1
Figura 6.5.1. Cuantificación de la producción del exopolisacárido (EPS) producido .....	48
Figura 6.7 Proceso general de la elaboración del queso funcional tipo panela .....	4
Figura 6.10.f. Microscopio electrónico de barrido JEOL JSM 5900 LV .....	5
Figura 6.11.1.c. Escala numérica empleada para la evaluación sensorial de la intensidad de cada descriptor. ....	7
Figura 7.1. Relación entre el incremento de la viscosidad y la producción de EPS a 47°C y 20% ST a las 2 y 4 horas de fermentación.....	13
Figura 7.2.1. LR con dos aumentos a) 40x y b) 100x.....	414
Figura 7.2.2. LD con dos aumentos a) 40x y b) 100x .....	414
Figura 7.3. Quesos funcionales elaborados para las evaluaciones sensoriales .....	14
Figura 7.6.1. Cultivo de <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> NCFB 2772.....	15
Figura 7.6.2. Cultivo de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG.....	18
Figura 7.6.3. Micrografías de la interacción del EPS (E) producido por LD con la estructura proteica (P) del queso funcional tipo panela y con los microorganismos inoculados (B) .....	18
Figura 7.7.1.d. Representación gráfica de los coeficientes de variación de los descriptores utilizados para el análisis descriptivo cuantitativo .....	19
Figura 7.7.1.dI. Perfil sensorial de las muestras de quesos tipo panela que se encuentran en el mercado 20	
Figura 7.7.1.dII. Perfil sensorial de los quesos elaborados .....	20
Figura 7.7.1.dIII. Perfil sensorial de los quesos elaborados contra el queso artesanal y el de la marca Alpura®.....	21
Figura 7.7.1.dIII. Análisis de Componentes Principales para las 6 muestras de queso tipo panela con los promedios obtenidos por QDA .....	22
Figura 7.7.2.I. Composición de la población de consumidores respecto a edad (A) y género (B).....	24
Figura 7.7.2.II. Preguntas realizadas sobre frecuencia de consumo de queso tipo panela (A), marca preferida (B) y forma de consumo (C) .....	25
Figura 7.7.2.III. Preguntas realizadas sobre disposición de consumo de queso funcional tipo panela (A), presentación preferida (B) y costo por kilogramo (C).....	65

Figura 7.7.2.a.I. Promedios de cada queso de los atributos evaluados en el Nivel de Agrado.....	26
Figura 7.7.2.a.II. Análisis de Componentes Principales para las 6 muestras de queso tipo panela con los promedios de los atributos evaluados en el Nivel de Agrado.....	26
Figura 7.7.7.2.b. Distribución de la elección de los jueces en la percepción del salado en los quesos evaluados.....	26
Figura 7.8.1. Análisis de Componentes Principales para los resultados promedio de TPA de las muestras de queso tipo panela .....	26
Figura 7.8.1. Análisis de Componentes Principales para los resultados promedio de Colorimetría de las muestras de queso tipo panela .....	26
Figura 7.10.a. Correlaciones de los atributos de cada una de las pruebas realizadas (QDA, Nivel de Agrado, Análisis de Perfil de Textura y Análisis Instrumental de Color).....	26
Figura 7.10.b. Posicionamiento de los quesos sometidos al Análisis Factorial Múltiple.....	26

## Resumen

El objeto de este trabajo fue el de evaluar el comportamiento en las características fisicoquímicas y sensoriales en un queso tipo panela, con la adición de dos bacterias ácido lácticas (BAL). Siendo una de ellas considerada una cepa filante por su capacidad de producir un exopolisacárido (EPS) y la otra reconocida como un microorganismo probiótico.

La cepa filante, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCFB 2772 (LD), fue sometida a tres temperaturas y dos tiempos de incubación en tres concentraciones de sólidos totales (ST) de leche como medio de crecimiento. Donde, con la combinación de 47°C en un medio de leche con 20% de ST incubando durante 4 h, se obtuvo la mayor producción de EPS con un valor de 94 mg eq dextrana/L de leche y se reflejó en el mayor incremento en la viscosidad.

Las condiciones en donde se presentó la mayor producción de EPS, fueron adaptas en la elaboración del queso tipo panela con la adición de *Lactobacillus rhamnosus* GG (LR), probando dos concentraciones de NaCl (13 y 18%) para la salazón de los quesos. Además, se elaboró un queso sólo con LR y dos quesos sin microorganismos, como controles. Los quesos elaborados con ambos microorganismos (quesos funcionales), presentaron los valores más bajos de humedad y de pH, por consiguiente, los valores más altos en acidez. También, fueron los quesos con un mayor rendimiento y una menor pérdida de peso durante el almacenamiento en refrigeración, por lo que la presencia del EPS mejoró la retención de agua y grasa en la matriz proteica de caseína. La cuenta del probiótico en presencia de la cepa filante durante el almacenamiento de los quesos elaborados, fue siempre superior a lo indicado por la FAO ( $1 \times 10^6$  a  $10^7$  ufc/g), por lo que el producto se consideró como un alimento funcional.

Se utilizó microscopía electrónica de barrido, con la que se confirmó la presencia del EPS en los quesos elaborados con la cepa filante y su interacción con la matriz proteica del queso y con las bacterias presentes.

Así mismo, se realizó un análisis de perfil de textura (TPA) y un análisis instrumental de color (AIC) a los quesos funcionales y sus controles, junto con 5 quesos comerciales y un queso denominado artesanal. Mediante el TPA, se encontró que los quesos elaborados resultaron ser menos duros, cohesivos, elásticos y por consiguiente con valores más bajos en masticabilidad, pero sin diferencias en la adherencia. Mientras que los valores más altos en el AIC, fueron obtenidos por los quesos elaborados.

Además de los análisis instrumentales, los quesos fueron evaluados sensorialmente por un panel de 10 jueces entrenados en las características del queso tipo panela, aplicando un análisis descriptivo cuantitativo (QDA) y por 120 consumidores en una prueba de nivel de agrado. En donde los resultados coinciden con el TPA, indicando una diferencia marcada en la falta de firmeza en los quesos elaborados, pero con valores similares en el resto de los atributos evaluados.

De acuerdo a todo lo anterior, se concluyó que la mayor producción de EPS por LD se presentó cuando se sometió a un mayor tiempo de incubación con la temperatura y concentración de ST más altos. Al mismo tiempo se determinó que la presencia del EPS favorece el rendimiento de los quesos por la interacción con la matriz proteica, y su presencia no afectó en la cuenta viable de LR, pero sí en la firmeza, dando como resultado un queso más suave.

## Abstract

The purpose of this study was to evaluate the behavior in physicochemical and sensory characteristics in panela type cheese, with the addition of two lactic acid bacteria (LAB). One being considered a filante strain by its ability to produce an exopolysaccharide (EPS) and the other recognized as a probiotic microorganism.

The filante strain, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* NCFB 2772 (LD), was subjected to three temperatures and two incubation times at three concentrations of total solids (TS) of milk as a growth medium. Where, with the combination of 47°C in a milk medium with 20% of TS incubating for 4 h, the increased production of EPS were obtained with a value of 94 mg eq dextran / L of milk and reflected in the largest increase in viscosity.

The conditions where increased production of EPS presented were adapt in drafting the type panela cheese with the addition of *Lactobacillus rhamnosus* GG (LR), testing two concentrations of NaCl (13 and 18%) for salting cheese. In addition, a cheese only LR and two cheeses without microorganisms, such controls are developed. Cheeses made with both microorganisms (functional cheese), had the lowest values of moisture and pH, therefore, higher acidity values. Also, they were the cheeses with higher performance and lower weight loss during storage under refrigeration, so the presence of the EPS improved water retention and fat casein protein matrix. Account in the presence of the probiotic strain filante during storage of the processed cheese was always higher than indicated by FAO ( $1 \times 10^6$  and  $10^7$  cfu / g), so that the product is considered as a functional food.

Scanning electron microscopy was used, with the presence of EPS in cheeses made with stringy strain and its interaction with the protein matrix cheese and microorganisms confirmed.

Likewise, a texture profile analysis (TPA) and instrumental color analysis (ICA) to the cheeses and functional controls are performed, along with five commercial cheese and



artisanal cheese called. By TPA it was found that cheeses prepared were less tough, cohesive, and resilient and therefore with lower in chewiness values while differences in adhesion. While the highest values in the ICA, were obtained by the cheeses.

In addition to the instrumental analysis, the cheeses were sensory evaluated by a panel of 10 trained on the characteristics of panela cheese type, using a quantitative descriptive analysis (QDA) and 120 consumers in a test of pleasantness judges. Where the results are consistent with the TPA, indicating a marked difference in the lack of firmness in processed cheese, but with similar values in the rest of the attributes evaluated.

According to the above, it was concluded that the increased production of EPS by LD appeared when subjected to a longer incubation time and temperature with the higher concentration of TS. At the same time it was determined that the presence of EPS promotes performance cheeses by interaction with the protein matrix and their presence did not affect the viable count of LR, but in firmness, resulting in a softer cheese.

## 1. Introducción

Las tendencias mundiales de la alimentación indican un interés acentuado de los consumidores hacia ciertos alimentos, que además del valor nutritivo aporten beneficios a las funciones fisiológicas del organismo humano. Estas variaciones en los patrones de alimentación generaron una nueva área de desarrollo en las ciencias de los alimentos y de la nutrición que corresponde a la de los alimentos funcionales (Alvírez-Morales *et al.*, 2002).

El término Alimento Funcional fue propuesto por primera vez en Japón en la década de los 80's con la publicación de la reglamentación para los "Alimentos para uso específico en la salud" ("Foods for specified health use" o FOSHU) y que se refiere a aquellos alimentos procesados que contienen ingredientes que desempeñan una función específica en las funciones fisiológicas del organismo humano, más allá de su contenido nutrimental (Alvírez-Morales *et al.*, 2002).

Hoy en día los cultivos probióticos poseen gran relevancia a nivel mundial, debido a que mediante numerosos estudios se ha logrado demostrar diversos efectos benéficos para el ser humano, tales como el favorecimiento del equilibrio de la microbiota intestinal, la estimulación del sistema inmune y la competencia contra patógenos, entre otros (Saavedra, 2001).

Por esta razón, un alimento adicionado con microorganismos probióticos, lo convierte en alimento funcional. Generalmente los microorganismos de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* son generalmente los más utilizados como cepas probióticas.

Las cepas de *Lactobacillus rhamnosus*, son unas de las cepas más estudiadas, se ha demostrado que es una de las bacterias de gran utilidad para prevenir enfermedades infecciosas (Bouzaine *et al.*, 2005).

La ingesta de *Lactobacillus rhamnosus* GG en infantes demostró una reducción en la incidencia de dermatitis atópica. En pacientes con diarrea persistente, les fue

suministrado una cuenta de  $60 \times 10^6$  ufc de *L. rhamnosus* GG en una solución rehidratante, el resultado fue una disminución en los días de duración de la enfermedad, de 9.2 a 5.3 días. *L. rhamnosus* GG ha sido usado para la eliminación del contenido de aflatoxina B<sub>1</sub> en diversos productos lácteos. También se demostró una disminución en la incidencia de la formación de caries, por la generación de una sustancia con potencial inhibitorio sobre la actividad de las bacterias cariogénicas (Kneifel y Salminen, 2011).

*L. rhamnosus* GG es un componente principal de la población que habitan naturalmente el tracto gastrointestinal de humanos y animales. Se ha demostrado que puede estar presente en infantes de 1.6 a 12 meses de edad, debido a que puede ser transmitido por la madre durante el embarazo. *L. rhamnosus* es una bacteria Gram positiva, anaerobia facultativa, la cual produce ácido láctico bajo condiciones de anaerobiosis (Narayanan et al., 2004).

Se ha demostrado que la viabilidad, estabilidad y supervivencia de los microorganismos probióticos decrece rápidamente en el alimento, y puede alcanzar valores de concentración por debajo de los necesarios para ejercer sus efectos benéficos en el sitio de acción (Kailasapathy, 2006). Sin embargo, algunas bacterias ácido lácticas (BAL) producen de manera natural exopolisacáridos (EPS) cuya función principal es conferir protección a la célula. Estos compuestos se utilizan para mejorar la textura del alimento, influyendo en la presentación final del producto, algunos de ellos se emplean para mejorar el sabor, ya que se ha reportado que existe una relación específica entre el polisacárido y el sabor de un alimento (París-Ripoll, 2009).

Por lo anterior, el objeto del presente estudio es la determinación de la interacción entre *Lactobacillus rhamnosus* GG como microorganismo probiótico y la adición de un EPS generado por *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCFB 2772 sobre las propiedades fisicoquímicas y organolépticas en la elaboración de un queso funcional tipo panela. Además de, determinar si la presencia de EPS influye en la retención de

agua, y demostrar si actúa como un agente que favorezca la viabilidad del microorganismo probiótico durante la vida de anaquel del producto.

## 2. Antecedentes

### 2.1. Los quesos frescos

Los quesos son una forma de conservación de los dos componentes insolubles de la leche: la caseína y la materia grasa, Los quesos se obtienen por la coagulación de la leche seguida del desuerado, en el curso del cual el lactosuero se separa de la cuajada. El lactosuero contiene la mayor parte del agua y de los componentes solubles de la leche, quedando un pequeña parte aprisionada en la cuajada (Alais, 1991).

De acuerdo al *Codex Alimentarius* de la FAO/OMS (2008) se entiende por queso al producto blando, semiduro, duro y extra duro, madurado o no madurado, y que puede estar recubierto, en el que la proporción entre las proteínas de suero y la caseína no sea superior a la de la leche, obtenido mediante coagulación total o parcial de la leche, por acción del cuajo o de otros coagulantes idóneos y por escurrimiento parcial del suero.

Los quesos según la NOM-243-SSA1-2010 se definen como productos elaborados de la cuajada de la leche estandarizada y pasteurizada de vaca o de otras especies animales, con o sin adición de crema, obtenida de la coagulación de la caseína con cuajo, gérmenes lácticos, enzimas apropiadas, ácidos orgánicos comestibles y con o sin tratamiento ulterior, por calentamiento, drenada, prensada o no, con o sin adición de fermentos de maduración, mohos especiales, sales fundentes e ingredientes comestibles opcionales, dando lugar a las diferentes variedades de quesos pudiendo por su proceso ser: fresco, madurado o procesado.

Existe una gran variedad de quesos, pero es difícil establecer una división rígida de ellos, por cuanto las características que se pueden usar para agruparlos son múltiples y no siempre son comunes a todas las variedades de algunos de estos para ser colocados racionalmente en los grupos de algunos sistemas de clasificación (Keating y Gaona-Rodríguez, 2005).

Las categorías en la que el queso tipo panela se clasificaría de forma adecuada son en base a su consistencia, como queso blando y por su maduración, como queso fresco.

La Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación (SAGARPA) establece que el queso tipo panela, es un queso fresco elaborado con leche natural de vaca, pasteurizada, no acidificada y que puede ser entera o parcialmente descremada. Como todos los quesos frescos mexicanos, su composición incluye un porcentaje elevado de agua (hasta 58 %) y por ello es altamente perecedero, de ahí que tiene que conservarse bajo refrigeración desde el momento de su elaboración. La tecnología básica del queso panela se basa en la buena calidad de la leche, porque ella aporta el sabor, el aroma, la textura y las características nutritivas del producto.

En México, la mayoría de los quesos son frescos, éstos representan aproximadamente el 80 % del queso consumido. Estos quesos son generalmente suaves, húmedos y con un sabor ligeramente salado y lechoso. Debido a su alto contenido en agua tiene una gran tendencia a la sinéresis. Uno de los representantes más importantes de este grupo es el queso panela (Jiménez-Guzmán *et al.*, 2009).

El proceso de elaboración del queso es bastante simple, no obstante involucra fenómenos físicos y químicos muy complejos. Se trata esencialmente de un proceso de concentración, a partir de la coagulación de la proteína mayoritaria de la leche (caseína) por la acción enzimática (cuajo) u otro coagulante de tipo ácido, comúnmente ácido láctico (Ramírez-López y Velez-Ruiz, 2012).

## **2.2. El queso como vehículo de probióticos**

Según la FAO, un producto probiótico por norma debe contener un mínimo de  $1 \times 10^6$  a  $10^7$  ufc/g y el probiótico debe estar activo en el momento del consumo. Uno de los principales campos de investigación es la introducción de productos capaces de proporcionar un medio más adecuado para la supervivencia y mantenimiento de microorganismos probióticos. Las características físico-químicas de productos

alimenticios tales como el nivel de grasa, el tipo y concentración de proteínas, los azúcares, la capacidad tampón así como el pH, están entre los principales factores que influyen en la supervivencia y la funcionalidad de los probióticos (Mahmoudi *et al.*, 2013).

Una de las principales condiciones previas para que una cepa bacteriana pueda ser llamada probiótico, es su capacidad para sobrevivir en el entorno gastrointestinal, aunque la importancia de la viabilidad y los efectos beneficiosos de los probióticos no está bien definida ya que las células inactivadas y muertas también tienen efectos sobre el sistema inmune (Saxelin *et al.*, 2010).

El queso es un producto lácteo fermentado que contiene alta concentración de proteínas y aminoácidos esenciales. Como consecuencia de sus propiedades, como pH casi neutro, elevado contenido de grasa, textura densa y compacta, el queso es uno de los alimentos adecuados para albergar a los probióticos, viables, y preservando su actividad biológica durante su paso a través del sistema digestivo en comparación con otros productos lácteos fermentados tales como leche fermentada y yogurt (Mahmoudi *et al.*, 2013).

Los factores que influyen en la viabilidad de las bacterias probióticas en el queso hasta el momento del consumo se pueden dividir en factores intrínsecos y extrínsecos tales como el pH, los ácidos orgánicos, el peróxido de hidrógeno, el oxígeno disuelto, la maduración y las temperaturas de almacenamiento así como los aditivos tales como el cloruro de sodio, el azúcar, los conservadores anti-microbianos y los compuestos volátiles (Karimi *et al.*, 2011).

Rodríguez-Cervantes *et al.* (2012) determinaron la supervivencia de las bacterias probióticas *Bifidobacterium bifidum* y *Lactobacillus acidophilus* en quesos deslactosados tipo Panela y Oaxaca; ambos microorganismos mantuvieron una cuenta superior a la indicada por la FAO después de 30 días de almacenamiento.

Sepúlveda et al. (2010), fabricaron quesos frescos (queso crema y antioqueño) con la adición de *Lactobacillus casei* como cultivo probiótico, y determinaron que no hubo diferencias significativas en cuanto a su composición química, ni en la aceptabilidad del producto entre los quesos con respecto al control, aunque el queso antioqueño solo fue aceptado hasta los 7 días de almacenamiento. Además en ambos quesos la viabilidad de *L. casei* se mantuvo durante los 21 días en que realizaron los análisis con cuentas superiores a  $10^6$  ufc/g.

Existen trabajos donde la composición típica de un queso fresco se ve modificada con el uso de más de un componente, como es el caso de un queso crema saborizado, adicionado con inulina para la reducción del contenido de grasa, con *L. casei* (Ramos et al., 2005), donde a pesar de las modificaciones, el probiótico mantuvo su viabilidad después de 15 días de almacenamiento con cuentas cercanas a  $1.2 \times 10^7$  ufc/g.

Se ha probado también el uso de más de un probiótico en queso tipo crema, formulado como alimento simbiótico por la adición de inulina, como prebiótico. Se encontraron diferencias significativas en la viabilidad de los microorganismos, ya que se vio favorecido el crecimiento de *Bifidobacterium animalis* Bb-12 a 45 días de almacenamiento, con cuentas de  $10^6$  ufc/g, pero no así el de *L. acidophilus* La-5, quien solo alcanzó de  $10^3$  a  $10^5$  ufc /g (Alves et al., 2013).

También se ha reportado la adición de probióticos en quesos madurados, como el queso Cheddar adicionado con *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* LC-01 (Boza et al., 2010). En este caso la viabilidad se mantuvo con cuentas estables de  $10^7$  ufc/g durante 49 días de almacenamiento.

### 2.3. Los exopolisacáridos de las BAL y su función

Los EPS se definen como polisacáridos de cadena larga secretados por las células microbianas a su alrededor durante el crecimiento. Las bacterias ácido lácticas (BAL) son generalmente reconocidas como seguras (GRAS), y son capaces de producir varios tipos de EPS que son muy útiles en la industria alimentaria (Zhang et al., 2014).



La existencia de bacterias provistas de cápsula o rodeadas de mucílago, puede explicar la mucosidad o viscosidad de un determinado alimento. Además, las cápsulas sirven para aumentar la resistencia de las bacterias a temperaturas elevadas y contra agentes químicos. Para el propio microorganismo pueden ser útiles como fuente de nutrientes de reserva. La mayoría de las cápsulas bacterianas están constituidas por polisacáridos de dextrina, dextrano, o levano (Frazier, 1993).

Los polisacáridos que se localizan fuera de la pared celular se presentan en dos formas: como cápsulas adheridas a la superficie de las células por medio de enlaces covalentes o como material viscoso desprendido de la superficie de las bacterias que es excretado hacia el medio, en ambos casos, el fin es brindar protección a la célula (Zisu, 2005, citado en Lluís-Arroyo, 2012). El término "filamentoso" es utilizado para describir a las cepas productoras de EPS (Hassan, 2008).

Los EPS producidos por bacterias lácticas pueden ser divididas en dos grupos: homopolisacáridos y heteropolisacáridos. El EPS producido por *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCFB 2772 es considerado heteropolisacárido, que es excretado de la célula en forma de limo (De Vuyst y Degeest, 1999) y está constituido por unidades repetidas de distintos monosacáridos como D-glucosa, D-galactosa, L-ramnosa y en algunos caso N-acetilglucosamina, N-acetilgalactosamina, entre otros sustituyentes (De Vuyst et al., 2001, citado en Lluís-Arroyo, 2012).

La capacidad de producir polisacáridos por algunas BAL es una propiedad tecnológica importante ya que se ha comprobado que su producción garantiza una mayor viscosidad y una mejor palatabilidad en la elaboración de yogurt, además de acondicionar la estructura y regula su rendimiento en peso (Perry et al., 1997, citado en Lluís-Arroyo, 2012).

Debido a la capacidad de los EPS de aumentar la viscosidad, o de actuar como agentes ligadores de agua en varios alimentos, estos polímeros pueden ser alternativas naturales a los estabilizadores comerciales. Algunos estudios demuestran que el uso de BAL productoras de EPS en la fabricación del yogurt mejora la viscosidad

y la textura del mismo por la disminución de la sinéresis (Cerning, 1990 citado en Luis-Arroyo, 2012).

*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCFB 2772, son bacilos largos, aislados, productores de EPS y con capacidad proteolítica, por lo que tiene un rol muy importante para la maduración de los quesos. Esta bacteria se utiliza principalmente en yogurt, pero también en la elaboración de algunos quesos como el Mozzarella (Botazzi, 1999, citado en Lluis-Arroyo, 2012).

El papel del EPS en las bacterias no está claramente definido. Se cree que los EPS pueden proteger a la célula contra condiciones desfavorables del ambiente tal como la desecación, la presencia de compuestos tóxicos, bajas temperaturas o altas presiones osmóticas. Por otra parte, la presencia de EPS favorece la interacción entre la bacteria y soportes físicos, dando como resultado la aparición de biopelículas (Gamar-Nourani et al., 1998). Pero no es probable que sirvan como reservorio de nutrientes, ya que la mayoría de las bacterias causantes de la formación no son capaces de catabolizar los EPS que producen (De Vuyst y Degeest, 1999).

El crecimiento de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCFB 2772 y la producción de EPS puede verse afectado por la modificación de distintos factores, físicos, químicos o biológicos.

La producción de EPS está ligada a la fase de desarrollo en que se encuentre el microorganismo, ya que la producción comienza en la fase exponencial y puede alcanzar su máximo durante la fase estacionaria para el caso de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CNRZ 1187 y 416 (Petry et al., 2000).

Cuando se llevó a cabo la fermentación a un pH alrededor de 5.8 a 6, se incrementó la concentración de EPS producido por *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* en relación a valores de pH superiores (Petry et al., 2000).

La composición del medio de crecimiento afectó directamente la producción de EPS, ya que se ha reportado que el crecimiento de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* en medios con lactosa produce una concentración baja de EPS, mientras que en medios de lactosa enriquecidos con glucosa la producción de EPS aumenta (Petry et al., 2000).

De igual manera, la concentración de proteína contenida en el medio influye en la producción de EPS; se ha reportado que si existe un exceso de proteína (en particular bacto-caseína) que rebase los niveles óptimos de crecimiento puede reducir el rendimiento de la producción de EPS por *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* RR (Kimmel y Roberts, 1998) mientras que la utilización de ciertas proteínas en particular, como aquellas que se encuentran en el suero de leche, promueven su producción. Domínguez-Soberanes (1997), obtuvo como resultado que *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCFB 2772, produjo una mayor cantidad de exopolisacárido en medios con una mayor concentración de proteína de suero de leche y caseínas.

Por otra parte, al incrementar otros componentes del medio se puede favorecer la producción del polímero, tal es el caso de la adición de calcio y manganeso, que estimularon la producción del exopolisacárido de *L. casei* (Mozzi et al., 1995). Chervaux et al., (2000) demostraron que la niacina, el pantotenato de calcio, la riboflavina y la vitamina B12 son esenciales para el crecimiento de *L. bulgaricus*, al igual que el ácido fólico, el piridoxal y el cloruro de calcio. Algunos nutrientes como la adenina y la xantina favorecieron la producción del EPS producido por *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, pero al adicionar tiamina tuvo un efecto negativo sobre el crecimiento y rendimiento de EPS, el cloruro de calcio solo favoreció el crecimiento, mientras que el ácido orótico aumento la producción de EPS casi tres veces (Petry et al., 2000).

Específicamente para el caso de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCFB 2772, se ha encontrado que el EPS producido en medios definidos con glucosa como fuente de carbono está compuesto por galactosa, glucosa y ramnosa en proporciones de

6.8:1:0.7. Esta composición y relación es comparable con el EPS producido en medios donde la fuente de carbono es lactosa. También reportaron que la lactosa fue degradada a galactosa y glucosa, y solamente la glucosa fue metabolizada, mientras que la galactosa se acumuló en el medio (Grobben *et al.*, 1997). Además se comprobó que la producción de EPS fue mayor cuando la fuente de carbono fue glucosa o lactosa que cuando se creció en fructosa (Grobben *et al.*, 1998). Cabe señalar que *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCFB 2772 es capaz de metabolizar solo cuatro carbohidratos: lactosa, glucosa, fructosa y manosa.

Al utilizar glucosa o fructosa como fuente de carbono en un medio de cultivo, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCFB 2772, produce dos fracciones de EPS, uno de alto peso molecular y otro de bajo peso molecular. Donde la fracción de EPS con menor peso molecular presentó una mayor proporción de galactosa en su composición (Grobben *et al.*, 1997).

La fuente de carbono no es el único componente del medio que influye en la producción de EPS. Grobben *et al.*, (1998) probaron el efecto de la omisión de componentes del medio de crecimiento para *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCFB 2772. Estos autores encontraron que el crecimiento fue menor cuando la composición gaseosa fue de 100% oxígeno pero este factor no afectó la producción de EPS. También reportaron que la omisión de ácido aspártico, ácido glutámico y glicina afectó ligeramente el crecimiento, mientras que con la omisión de la asparagina, glutamina y treonina, el crecimiento tuvo una reducción mayor. Al omitir uracilo impidió totalmente el crecimiento, por otra parte la omisión de adenina redujo el crecimiento y la producción de EPS hasta en un 50%. La adición de cloruro de calcio al medio de crecimiento no tuvo ningún efecto. Al omitir vitaminas del medio solo algunas parecen ser esenciales para el crecimiento, como la riboflavina, el pantotenato de calcio y el ácido nicotínico. Pero al omitir otras vitaminas (ej. biotina, piridoxamina, piridoxina, tiamina y p-ácido amino benzoico), el crecimiento se vio favorecido.

Una vez obtenidos los componentes esenciales para el crecimiento de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCFB 2772, se formuló un medio simplificado y se observó que a diferencia del medio completo, el crecimiento aumentó en aproximadamente un 60%, mientras que la producción de EPS fue aproximadamente del doble. En ambos casos se observó que la producción de EPS continuó después de que el crecimiento había cesado (Grobben *et al.*, 1998).

La tabla 2.3.1 muestra una lista de los componentes que fueron probados, donde se observa claramente cuales al ser omitidos afectaron o favorecieron directamente el crecimiento.

**Tabla 2.3.1. Requerimientos nutricionales de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCFB 2772 en medio definido.**

Componente omitido del medio	*DO <sub>600</sub>	Componente omitido del medio	*DO <sub>600</sub>
Ninguno	2.0 ± 0.18	L-Isoleucina	0.3 ± 0.10
Fosfato	0.0 ± 0.02	L-Leucina	0.0 ± 0.01
Ácido cítrico	1.3 ± 0.21	L-Lisina	0.0 ± 0.02
Acetato sódico	0.1 ± 0.03	L-Metionina	0.3 ± 0.07
NH <sub>4</sub> Cl	1.8 ± 0.18	L-Fenilalanina	0.3 ± 0.08
MgSO <sub>4</sub>	0.0 ± 0.01	L-Prolina	0.0 ± 0.00
MnCl <sub>2</sub>	0.2 ± 0.04	L-Serina	0.0 ± 0.01
Tween 80	0.7 ± 0.02	L-Treonina	0.8 ± 0.06
Elementos traza	1.9 ± 0.26	L-Triptófano	0.2 ± 0.03
		L-Tirosina	0.3 ± 0.05
Adenina	0.9 ± 0.09	L-Valina	0.0 ± 0.00
Guanina	2.1 ± 0.21		
Uracilo	0.0 ± 0.02	Ácido p-amino benzoico	2.1 ± 0.22
Xantina	2.1 ± 0.17	Biotina	2.2 ± 0.12
		Ácido fólico	1.9 ± 0.15
L-Alanina	0.0 ± 0.00	Ácido lipoico	1.9 ± 0.22
L-Arginina	0.0 ± 0.02	Ácido nicótico	0.0 ± 0.00
L-Asparagina	0.9 ± 0.04	Pantotenato de calcio	0.4 ± 0.10
L-Ácido Aspártico	1.5 ± 0.17	Piridoxamina	2.2 ± 0.06
L-Cisteína	0.4 ± 0.08	Piridoxina	2.3 ± 0.15
L-Ácido Glutámico	1.6 ± 0.17	Riboflavina	0.6 ± 0.10
L-Glutamina	1.3 ± 0.11	Tiamina	2.3 ± 0.24
Glicina	1.6 ± 0.10	Vitamina B <sub>12</sub>	1.6 ± 0.12
L-Histidina	0.1 ± 0.02		

\*Las mediciones se realizaron después de 48 h de incubación. Los valores son promedios de tres mediciones ± sus desviaciones estándar.

Grobben *et al.*, 1998

A continuación se muestra una tabla donde se presentan algunas características de la fermentación de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCFB 2772.

**Tabla 2.3.2. Características de la fermentación de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCFB 2772.**

Producción de ácido láctico a partir de:	Lactosa, glucosa y fructosa
Tipo de ácido láctico producido	D (-)
Cantidad de ácido láctico producido en leche	> 1.5 %
Temperatura óptima de crecimiento	42 – 45 °C
Temperatura máxima de crecimiento	48 – 52 °C
Metabolismo	Homofermentativo
NH <sub>3</sub> de arginina	Negativo
NH <sub>3</sub> y CO <sub>2</sub> de urea	Negativo
Hidrólisis de lactosas por la intervención de	$\beta$ -galactosidasa
Transporte de lactosa vía	permeasa
Producción de vitaminas	Ácido fólico, niacina, B <sub>6</sub> , B <sub>12</sub>

### 2.3.1. El uso de EPS en quesos

Debido a las características que los EPS confieren al alimento en el que se encuentren, se ha evaluado el efecto de incluir a las bacterias productoras de EPS en la formulación de distintos quesos, como el queso tipo panela elaborado con *Streptococcus thermophilus* SY-102 productor de EPS (Jiménez-Guzmán *et al.*, 2009), donde se demostró que el EPS influyó para obtener una mayor retención de agua, aumentos significativos de humedad y grasa, que trajo como consecuencia un mayor rendimiento, influyendo directamente en una textura más suave.

Lluís-Arroyo (2012), observó que el EPS producido por *Streptococcus thermophilus* SY-102, en un queso tipo manchego, se unió a la matriz proteica del queso, a los microorganismos y a los glóbulos de grasa.

La incorporación de bacterias productoras de EPS en la fabricación de queso Chihuahua provocó un aumento en la actividad de agua, contenido de proteínas y el contenido de humedad. Disminuyó significativamente la pérdida de grasa en el suero, lo que se reflejó como un aumento de la retención de grasa en el queso. Además, se probó la adición de fosfolipasa A1 en los quesos fabricados. Todos los quesos

evaluados mostraron un aumento en su peso final, pero el análisis de perfil de textura mostró que el queso control era significativamente más duro que los quesos fabricados con fosfolipasa A 1 o con bacterias productoras de EPS, o ambos (Trancoso-Reyes *et al.*, 2013).

#### **2.4. Antecedentes directos**

En el trabajo previo realizado por Malagón-García (2013), se utilizaron dos cepas de *Lactobacillus*, siendo una de ellas un probiótico (*L. rhamnosus* GG) y el otro un productor de EPS (*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCFB 2772), con el fin de determinar si existía un efecto protector del EPS hacia el probiótico.

Al final del estudio se observó un aumento significativo en la cuenta de *L. rhamnosus* GG, lo que hizo suponer que las modificaciones de las características del medio favorecieron su crecimiento, concluyendo que la presencia del EPS pudo haber tenido un efecto protector hacia el probiótico para favorecer su crecimiento durante el almacenamiento.

Cuando se evaluó la textura del queso se encontró que la presencia del EPS, al igual que en otros trabajos, generó cambios estructurales en la matriz proteica del queso tipo panela, que produjeron cambios principalmente en la firmeza, cohesividad y elasticidad, que en conjunto fueron valores típicos de un queso más suave, en comparación con los parámetros de quesos comerciales.

#### **2.5. Análisis para la evaluación de un queso elaborado con EPS**

##### **2.5.1. Textura**

La resistencia o firmeza de la red de caseína dependen de diferentes factores como el contenido de agua, de grasa y de minerales durante la cuajada. Un alto contenido de agua o de grasa reduce la firmeza de la estructura del queso, debido a que la distancia que separa a las moléculas de proteína es más grande que cuando se encuentran en niveles bajos (Solís-Méndez *et al.*, 2013).

La textura del queso se ve afectada por su composición y el estado de la matriz proteica. El análisis instrumental de perfil de textura (TPA, por sus siglas en inglés) es una prueba de imitación de textura que se ha utilizado ampliamente en alimentos. Por lo general, se lleva a cabo por compresión uniaxial de una muestra entre dos placas a la velocidad elegida de la cruceta para un nivel deseado de deformación. La fuerza, la deformación y el trabajo (área bajo la curva) son mediciones de fuerza-deformación que se utilizan para calcular los siguientes parámetros (Solís-Méndez *et al.*, 2013):

- a) Dureza (HAR) es la fuerza requerida para comprimir una muestra.
- b) Cohesividad (COH) es una medida de la fuerza de los enlaces internos de la muestra.
- c) Adhesividad (ADH) es la fuerza requerida para retirar la muestra de queso que se adhiere a la superficie de la boca.
- d) Elasticidad (SPR) es la recuperación de la muestra a su estado original después de una compresión y aumenta si el contenido de grasa se baja o si el contenido de caseína se eleva.
- e) Masticabilidad (CHW) mide el trabajo necesario para masticar una muestra sólida de un alimento.

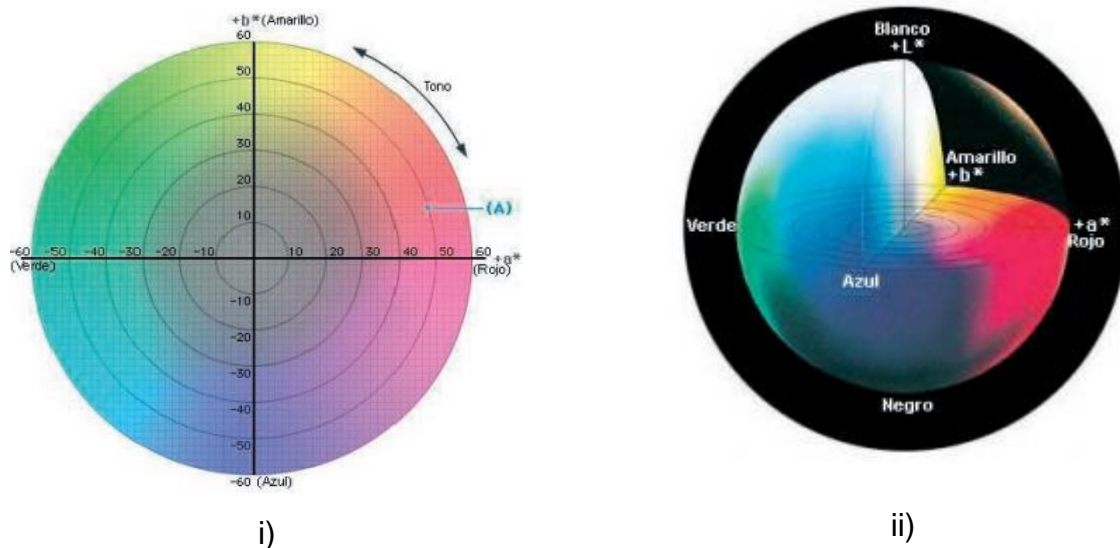
### **2.5.2. Análisis instrumental de color para alimentos**

La Comisión Internacional de la Iluminación (CIE) es una organización internacional preocupada por la medición de la luz y el color. Esta comisión ha desarrollado sistemas para expresar numéricamente el color. Los dos sistemas más conocidos son el sistema Yxy, creado en 1931 basándose en los valores triestímulos XYZ definido por la CIE y el sistema  $L^*a^*b^*$ , creado en 1976 para proporcionar diferencias de color más uniformes en relación con las diferencias visuales.

El espacio de color  $L^*a^*b^*$  (también llamado CIELAB) es uno de los espacios de color uniformes definidos por la CIE en 1976 para reducir uno de los principales problemas del espacio Yxy original: que iguales distancias de cromaticidad x, y no eran correspondientes con iguales diferencias de color percibidas. En este espacio,  $L^*$

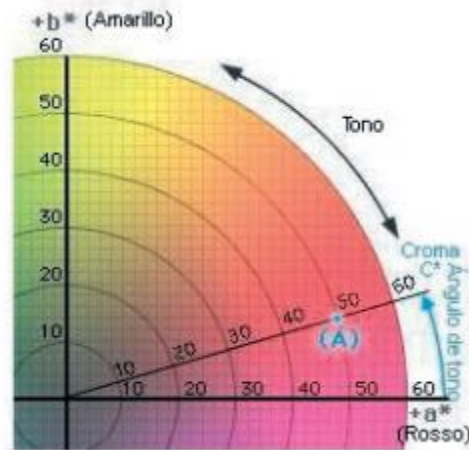


indica luminosidad (figura 2.5.2.a) y  $a^*$  y  $b^*$  son las coordenadas de cromaticidad. En la figura 2.5.2.a,  $a^*$  y  $b^*$  indican direcciones de colores:  $+a^*$  es la dirección del rojo,  $-a^*$  es la dirección del verde,  $+b^*$  es la dirección del amarillo y  $-b^*$  es la dirección del azul. El centro es acromático; a medida que los valores de  $a^*$  y  $b^*$  aumentan y el punto se separa del centro, la saturación del color se incrementa (Konica Minolta, 2003).



**Figura 2.5.2.a. i) Diagrama de cromaticidad de  $a^*$  y  $b^*$  ii) Representación del sólido de colores para el espacio  $L^*a^*b^*$ .**

El espacio de color  $L^*C^*h^*$  utiliza el mismo diagrama que el espacio de color  $L^*a^*b^*$ , pero utiliza coordenadas cilíndricas en lugar de coordenadas rectangulares. En este espacio de color,  $L^*$  indica la luminosidad,  $C^*$  es la croma y  $h$  es el ángulo del tono (figura 2.5.2.b). El valor de la croma  $C^*$  es cero en el centro y aumenta de acuerdo con la distancia respecto al centro. El ángulo del tono  $h$  se define como comenzando en el eje  $+a^*$  y se expresa en grados:  $0^\circ$   $+a^*$  (rojo),  $90^\circ$  sería  $+b^*$  (amarillo),  $180^\circ$  sería  $-a^*$  (verde) y  $270^\circ$  sería  $-b^*$  (azul) (Konica Minolta, 2003).



**Figura 2.5.2.b. Espacio de color L\*C\*h.**

Para objetos compuestos de los mismos materiales, pueden verse variantes en los colores debido a diferencias en el brillo de las superficies.



**Figura 2.5.2.c. Luz especular y luz difusa.**

La luz que se refleja en el mismo ángulo, pero opuesto, que la fuente de luz se denomina luz reflejada especularmente. Este componente especular se refleja como si se tratara de un espejo. La luz que no es reflejada especularmente sino dispersada en muchas direcciones se denomina reflectancia difusa. La suma de la reflectancia especular más la reflectancia difusa (figura 2.5.2.c) se llama reflectancia total (Konica Minolta, 2003).

### **2.5.3. Humedad y actividad de agua ( $a_w$ )**

Las proteínas, los carbohidratos y los lípidos contribuyen a la formación de complejos hidratados de alto peso molecular y cuya caracterización y cuantificación en un alimento es difícil de efectuar.

En general, el contenido de humedad de un alimento es el agua total que contiene, sin considerar que en la mayoría de los alimentos existen zonas o regiones microscópicas que, debido a su composición química, no permiten la presencia de agua, lo cual provoca una distribución heterogénea a través del producto.

El agua no solo contribuye a las propiedades reológicas y de textura de un alimento, sino que a través de sus interacciones con los diferentes componentes determina el tipo de reacciones químicas que se pueden suscitar en el alimento.

El término “actividad de agua” establece el grado de interacción del agua con los demás constituyentes de los alimentos, y es una medida indirecta del agua disponible para llevar a cabo las diferentes reacciones a las que están sujetas estas sustancias químicas o para el desarrollo microbiano (Badui-Dergal, 2006).

### **2.5.4. Microscopia electrónica de barrido**

La microscopía electrónica de barrido está basada en principios físicos semejantes a los de la microscopia electrónica de transmisión. Consta de un filamento generador de un haz de electrones primarios, dos sistemas de lentes electromagnéticas, condensador y objetivo, la muestra se coloca al final de la columna. Dicha muestra es barrida por un haz focalizado de electrones que provoca, en su superficie, la emisión de un haz de electrones secundarios que son recogidos por un colector cercano. Tras un proceso multiplicador, la imagen es proyectada en un monitor la cual puede ser capturada y almacenada.

El microscopio electrónico de barrido posee un poder de resolución más alto que el de transmisión y los aumentos son menores pudiéndose, sin embargo, obtener información complementaria detectando otros tipos de emisiones electrónicas.

Las muestras para su estudio, requieren la deshidratación y su secado absoluto que se consigue mediante un procedimiento físico denominado punto crítico, por el cual un líquido a una determinada temperatura y presión pasa de estado líquido a gaseoso. Este proceso se lleva a cabo mediante el uso de un equipo denominado, igualmente, punto crítico.

Siguiendo el procedimiento, las muestras se pegan a un porta muestra con pintura conductora y se recubre con una fina capa de metal pesado, generalmente oro paladio, mediante un evaporizador, que hace a la muestra conductora evitando problemas de calentamiento.

Al igual que la microscopía electrónica de transmisión, pueden adaptarse detectores que permiten una microscopía electrónica analítica, que una la información morfológica con el análisis cualitativo y cuantitativo de la composición de la muestra (López *et al.*, 2006).

Estudios han probado que la microscopía electrónica de barrido (SEM) es una de las técnicas más adecuadas para la observación del estado de la microestructura de productos alimenticios y constituye una herramienta útil para la observación de las interacciones de los EPS producidos por bacterias en quesos (Luis-Arroyo, 2012).

#### **2.5.5. Análisis descriptivo cuantitativo**

El análisis descriptivo cuantitativo (QDA, por sus siglas en inglés) identifica y cuantifica las propiedades sensoriales de un producto. La información generada sirve para construir un modelo multidimensional cuantitativo que perfila los parámetros que definen o describen a uno o varios productos (Pedrero *et al.*, 1989).

Esta prueba tiene como particularidades que el grupo de jueces seleccionados genera en las primeras sesiones la terminología descriptiva del producto y acuerda en sesión abierta una serie de términos que definen al producto en estudio; en sesiones siguientes el asesor del grupo diseña la hoja de respuestas con los términos acordados, de tal manera que los jueces utilicen una escala no

estructurada para que se cuantifiquen; esta prueba se apoya en análisis estadísticos, por ejemplo en los análisis de varianza, de regresión y de componentes principales, para cuantificar variaciones, determinar significancia entre diferencias, estructurar arreglos dimensionales, o simplemente coordenadas polares, para representar de manera gráfica a cada descriptor (Pedrero *et al.*, 1989).

Los materiales que se utilicen como referencia deberán estar al alcance de los jueces en todo momento, para que fácilmente puedan valerse de ellos.

### **2.5.6. Análisis de componentes principales**

El análisis de componentes principales (PCA, por sus siglas en inglés) es utilizado para analizar interrelaciones de un grupo de variables y los materiales de investigación, que en el caso de estudios sensoriales son los tratamientos o productos alimenticios por evaluar, para los cuales han sido medidas las variables (atributos o características sensoriales). Dentro de la información que se obtiene por el PCA se tienen las tendencias generales sobre; las variables más importantes en la diferenciación de los materiales de estudio, la relación que existe entre las variables (inversa, directa o no relación), las variables que caracterizan a cada producto o tratamiento de estudio por presentar valores superiores sobre los demás materiales de estudio, diferencias y similitudes entre los materiales de estudio (Escalona-Buendía, 1994).

### **2.5.7. Prueba de nivel de agrado**

Se aplica una evaluación hedónica cuando se comparan 7 o más muestras (de dos en dos o de tres en tres), pero en ningún caso debe exceder de 20 muestras, para evitar la fatiga de los catadores, que pueden ser seleccionados ( $n > 36$ ) o totalmente neófitos ( $n$  entre 60 y 100) en el análisis sensorial.

En estas pruebas las muestras se presentan individualizadas, en diferente orden para cada individuo y se pide al catador que las califique sobre una escala de intervalo no estructurado o de acuerdo a una graduación de este tipo:

1. Extremadamente agradable
2. Muy agradable
3. Agradable
4. Ligeramente agradable
5. Ni agradable ni desagradable
6. Ligeramente desagradable
7. Desagradable
8. Muy desagradable
9. Extremadamente desagradable

Es recomendable que entre la presentación de una y otra muestra se deje un intervalo de 1-3 minutos para minimizar la adaptación, enjuagándose la boca, bebiendo agua o comiendo un trozo de pan o de manzana, si es necesario y que para cada muestra se disponga de una ficha nueva que evite los prejuicios respecto a las muestras anteriores (Sancho *et al.*, 1999).

#### **2.5.8. Justo como lo esperaba**

La escala just-aboutright (jar) es una de las más usadas para pruebas con consumidores. Es una escala bipolar, tiene tres o cinco categorías (es preferido el modo de tres categorías), usualmente anclado con enunciados de demasiado, muy poco y justo como lo esperaba. Esta escala combina atributos de intensidad y preferencia en una respuesta simple, y son altamente susceptibles a la interpretación y/o a los errores semánticos debido a que los atributos del producto son medidos dando un nombre (Stone y Sidel, 2004).

### **3. Justificación**

El consumo cada vez más racional por parte de la población provoca la elección de alimentos alternativos que les brinden beneficios más allá de ser una fuente de nutrientes, por lo que en los últimos años la presencia de alimentos funcionales en el mercado ha incrementado.

Los alimentos con probióticos son los más explotados como presentaciones de alimentos funcionales, ya que han sido ampliamente estudiados y se ha demostrado que la ingesta de microorganismos denominados probióticos trae múltiples beneficios al organismo humano. Asimismo, el mecanismo de acción de los microorganismos probióticos es relativamente sencillo, ya que solo es necesaria una ingesta adecuada y constante que asegure la viabilidad durante el almacenamiento y ante las condiciones gastrointestinales para que logren llegar a su destino final, siendo este el intestino. La adición de otros compuestos o microorganismos en los alimentos que son vehículos de probióticos pueden ayudar a la viabilidad de los mismos.

Esta tendencia, trae como consecuencia la producción de diversas presentaciones de alimentos basados en las características de la población a la que va dirigida, por lo tanto el uso de un queso fresco tipo panela como medio para la ingesta de probióticos resulta ser atractiva para una población donde la costumbre del consumo de productos lácteos se basa generalmente en aquellos denominados frescos, además de la ausencia en el mercado de un producto similar.

La modificación de factores físicos, químicos y biológicos para favorecer la producción de EPS y ser adaptados en la elaboración del queso tipo panela, ayuda en el mejoramiento de las características sensoriales del producto, tales como el aumento en la firmeza y la disminución de sinéresis.

Por estas razones se considera interesante la fabricación de un queso funcional tipo panela con un microorganismo probiótico donde un exopolisacárido pueda servir indirectamente como protección, para asegurar la viabilidad durante el

almacenamiento y en el consumo, y al mismo tiempo mejorar las características fisicoquímicas y organolépticas comparadas con los quesos tradicionales.



#### **4. Hipótesis**

El aumento de la concentración de sólidos totales y la modificación de la temperatura de fermentación, contribuyen al aumento de la producción del exopolisacárido, donde su presencia en un queso fresco tipo panela con *L. rhamnosus* GG, contribuirá a mejorar sus características sensoriales por la modificación de algunas propiedades fisicoquímicas que al mismo tiempo favorecerá la viabilidad del probiótico durante el almacenamiento.

## 5. Objetivos

Elaborar un queso tipo panela con *L. rhamnosus* GG y *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCFB 2772 productor de EPS.

### a) Objetivos Particulares

- ❖ Evaluar el efecto de la concentración sólidos totales y temperatura en la producción del EPS por *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCFB 2772.
- ❖ Estandarizar del proceso de elaboración del queso funcional tipo panela.
- ❖ Determinar la viabilidad de *L. rhamnosus* GG en condiciones de almacenamiento.
- ❖ Determinar los atributos de textura y color del queso funcional tipo panela.
- ❖ Determinar del perfil descriptivo del queso funcional tipo panela.
- ❖ Determinar la aceptación del queso funcional tipo panela, mediante una prueba de nivel de agrado con consumidores frente a otros quesos tipo panela.

## 6. Materiales y Métodos

Para la elaboración de los quesos se utilizó leche Alpura Clásica® entera en polvo y los microorganismos *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCFB 2772 (LD) y *Lactobacillus rhamnosus* GG (LR) (Culturelle®).

### 6.2. Acondicionamiento de cepas

#### 6.2.1. Almacenamiento de los microorganismos

Se esterilizaron 10 mL del medio litmus milk (DIFCO™) en tubos con tapón de rosca a 121°C por 15 min. Cada microorganismo se sembró en un tubo por asada y se incubaron a 42°C por 24 h. Fueron almacenados a 4°C, realizando resiembras cada 15 días (Malagón-García, 2013).

#### 6.2.2. Curva de crecimiento

A partir de los tubos con litmus milk, se realizó la siembra de *L. rhamnosus* GG en caldo Man Ragosa y Sharp (DIFCO™) estéril, inoculado al 3%. Posteriormente, un matraz que contenía leche con una concentración de 13% de sólidos totales, fue inoculada al 3% con LR del cultivo en MRS y se incubó a 42°C por 30 h. Una vez inoculada la leche, se realizó la cuenta viable en placa por la técnica de dilución, colocando 0.1 mL de la dilución correspondiente a  $10^{-6}$  en placas con agar MRS, incubando a 42°C durante 72 h. Los resultados fueron expresados en unidades formadoras de colonias por mililitro (ufc/mL) (Ver anexo 11.1). Se realizaron frotis para la observación de su morfología.

### 6.3. Preparación del inóculo

Los microorganismos fueron resembrados al 3% v/v en matraces Erlenmeyer con caldo MRS (Difco™) al a 42°C durante 48 horas. Para el uso en las correspondientes pruebas, los microorganismos fueron resembrados al 3% en matraces Erlenmeyer con 300 mL de leche al 13% de sólidos totales y fueron incubados a 42°C durante 24 horas.

#### 6.4. Condiciones de los sustratos para fermentación

Se prepararon los sustratos a partir de leche Alpura Clásica® entera en polvo con tres porcentajes de sólidos totales (ST) (10, 15 y 20%), incubados (Riossa serie E-51) a tres temperaturas (37, 42 y 47°C), durante 2 y 4 horas. Los tratamientos se muestran en la tabla 6.4.

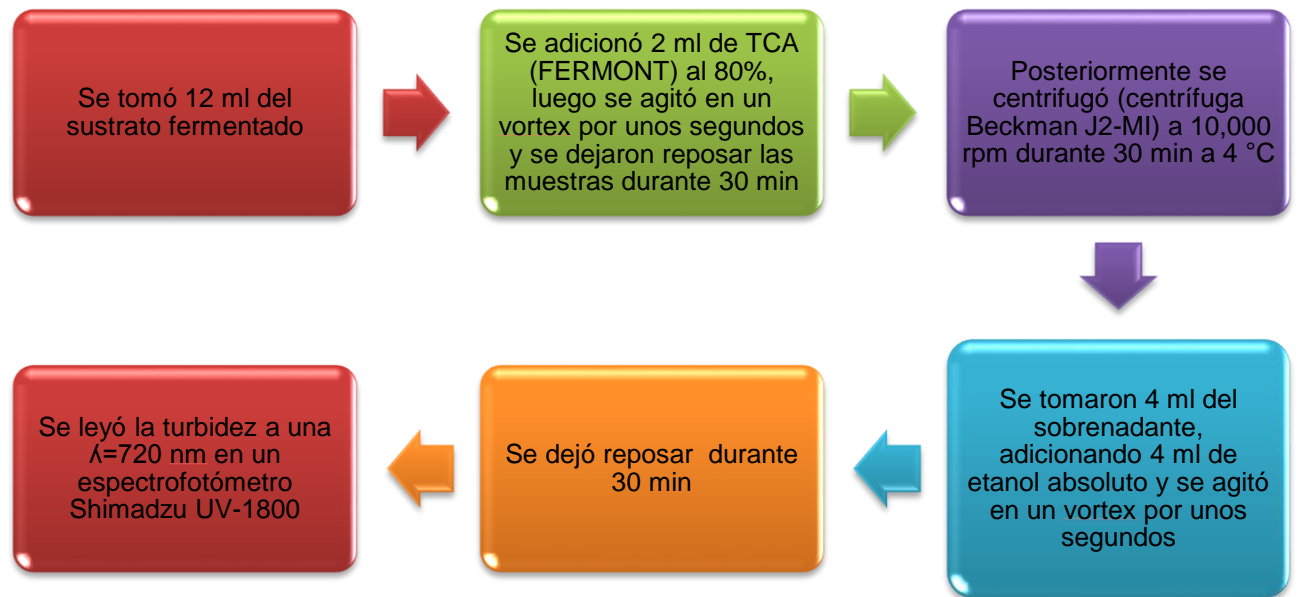
**Tabla 6.4. Combinaciones probadas de temperatura y porcentaje de sólidos totales.**

Temperatura	37 °C			42 °C			47 °C		
Sólidos totales	10%	15%	20%	10%	15%	20%	10%	15%	20%
Tiempo	2 h			2 h			2 h		
	4 h			4 h			4 h		

Las leches con diferentes porcentajes de sólidos (sustratos) fueron pasteurizadas hasta llegar a punto de ebullición, manteniendo el mayor tiempo posible sin que la leche se derramara, seguido de una inmersión en un baño de agua helada durante 5 minutos. Esta operación se repitió dos veces. Los sustratos fueron inoculados con LD al 10% v/v.

#### 6.5. Cuantificación del exopolisacárido

La cuantificación del EPS producido bajo las condiciones señaladas en la tabla 6.4, se llevó acabo de acuerdo a Domínguez-Soberanes (2003), como lo muestra la figura 6.5.1.



**Figura 6.5.1. Cuantificación de la producción del exopolisacárido (EPS) producido.**

Para cuantificar la cantidad de EPS producido en cada caso, fue necesario realizar una curva patrón de dextrana (SIGMA D-9260, promedio 9,400 mol en peso) con una concentración que va de 0 a 0.12 mg de dextrana/mL (ver anexo 11.2).

Además de la cuantificación del EPS en los sustratos, fue monitoreado el pH (Conductronic pH120).

Para la determinación de la viscosidad se utilizó un viscosímetro Brookfield modelo DV-II + y el vástago 1 del Set RV de la misma marca.

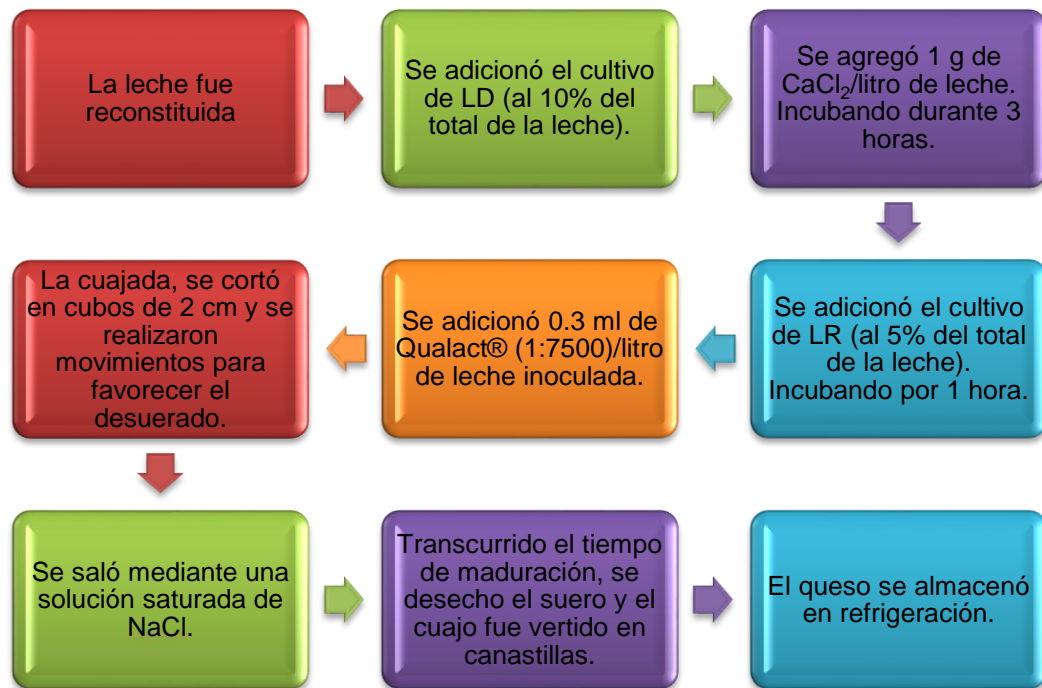
La medición de la viscosidad se realizó introduciendo el vástago en un vaso de precipitados con 500 mL del sustrato a medir (tabla 6.4). Las lecturas del incremento de la viscosidad en los sustratos fueron tomadas cada hora, desde el momento en que la leche previó a ser inoculada alcanzó la temperatura requerida y una vez que se adicionó el cultivo de LD, y hasta 4 horas después de iniciada la fermentación.

## 6.6. Análisis estadístico

Los resultados fueron analizados por medio del paquete estadístico NCSS 2007, para obtener el Análisis de Varianza (ANOVA) de 2 vías con interacción de un diseño factorial, donde se probaron temperatura, porcentaje de sólidos totales y tiempo para la producción de EPS.

## 6.7. Elaboración del queso funcional tipo panela

La elaboración del queso se llevó acabo de manera general como se muestra en la siguiente figura.



**Figura 6.7 Proceso general de la elaboración del queso funcional tipo panela.**

Se elaboraron dos formulaciones de quesos funcionales, en los que se diferenciaron por la cantidad de la solución saturada de cloruro de sodio utilizada para la salazón.

Para el queso funcional y control 1, se decidió realizar una salazón al 18%, por lo tanto se utilizaron 69.3 ml de solución saturada de NaCl/L de leche utilizada inicialmente. Mientras que para el queso funcional y control 2, se realizó una salazón

al 13%, utilizando 50 ml de solución saturada de NaCl/L de leche utilizada inicialmente.

Para el caso de los quesos control, se siguió el procedimiento a partir de que se agregó el cuajo, dejándolo actuar por 1 hora, también se agregó cloruro de calcio a la concentración previamente indicada.

Se elaboró la cantidad necesaria de cada queso para realizar todas las pruebas que se describen a continuación. Además de la elaboración de un queso que contuviera solamente al microorganismo probiótico. Pero este no fue sometido a las pruebas sensoriales.

#### **6.8. Viabilidad de *Lactobacillus rhamnosus* GG en el queso funcional**

Para determinar la viabilidad del microorganismo probiótico, se realizaron tomas de muestras del cuajo y una vez elaborados los quesos funcionales, a los 15 y 30 días. Se tomaron 10 gramos de cada queso y se licuaron en 90 ml de agua destilada, una vez homogenizada perfectamente la mezcla se realizaron diluciones hasta llegar a  $10^{-7}$ . Posteriormente en cajas con agar MRS se inocularon con 0.1 ml de la última dilución y fue extendida con ayuda de perlas de ebullición estériles, (concentración final de  $10^{-8}$ ). Se realizaron 4 réplicas.

#### **6.9. Pruebas fisicoquímicas en queso**

Transcurrido 8 días de la elaboración de los quesos control y funcional, se realizaron las siguientes pruebas fisicoquímicas.

##### **a) Determinación del pH**

Se tomaron 10 g de queso y se licuaron en 100 ml de agua destilada. Una vez homogenizada la mezcla perfectamente, se midió el pH a temperatura ambiente ( $22^{\circ}\text{C}$ ) con el equipo Conductronic pH120 calibrado con dos puntos. Se realizaron triplicados para cada muestra de queso.

### **b) Determinación de acidez titulable**

Se tomaron 10 g de queso y se licuaron en 100 ml de agua destilada. Una vez homogenizada la mezcla perfectamente, se tomaron alícuotas de 25 ml a las que les adicionó 4 gotas de fenolftaleína como indicador, fueron tituladas con una solución 0.1 N de NaOH, hasta la aparición de una tonalidad rosada por 15 segundos aproximadamente. Se realizaron triplicados para cada muestra de queso.

### **c) Determinación de actividad de agua**

Se tomaron 5 g de queso que fueron colocados en los portamuestras para el equipo Aqua Lab CX-2, el cual fue calibrado utilizando agua destilada a temperatura ambiente (22°C). Se realizaron triplicados para cada muestra de queso.

### **d) Determinación de humedad**

Se tomaron muestras de 0.5 a 1 g de cada queso y se colocaron en la Termobalanza MB45 OHAUS con una temperatura de análisis de 130°C.

## **6.10. Análisis por microscopía electrónica**

### **a) Preparación de muestras**

Dos matraces con caldo MRS al 5.5% fueron inoculados al 3% con *L. rhamnosus* GG y *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCFB 2772 respectivamente, y fueron incubados a 42°C durante 48 horas. Los cultivos se agitaron por unos segundos para homogenizar, se tomó 1 ml de cada cultivo y fueron vertidos en tubos eppendorf de 1.5 ml. Las muestras se centrifugaron (Multi-Speed XC-LED12K Bio Lion) a 3,000 rpm por 3 min. Se les retiró el sobrenadante previo a la fijación.

Los quesos elaborados para microscopía fueron preparados según el apartado 6.7. Una vez que reposaron en refrigeración, fueron cortados por la mitad para tomar las muestras del centro y de los extremos. Las muestras tenían una medida aproximada de 4x4x2 mm (a x l x h) y se colocaron en tubos eppendorf de 2 ml. Se prepararon un total de 6 muestras de quesos de los cuales 4 eran del queso funcional, uno como control y el último fue un queso tipo panela de la marca Alpura®.



### **b) Fijación**

A cada una de las muestras se les agregó 1.5 ml de glutaraldehído al 3.5% durante 24 horas a 4°C. Transcurrido el tiempo, se les realizaron 4 lavados con amortiguador de fosfatos 0.1 M. Posteriormente, se le agregó 1 ml de tetraóxido de osmio al 1%, el cual se dejó actuar durante 2 horas a 4°C.

### **c) Deshidratación**

Las muestras fueron sometidas a una deshidratación con alcohol etílico absoluto a distintas concentraciones (30%, 40%, 50%, 70%, 80%, 90% y 99.95%) durante 10 minutos, 2 veces por cada concentración. Donde las primeras cuatro concentraciones se realizaron en baño de hielo y el resto a temperatura ambiente.

### **d) Secado a punto crítico**

Se transfirieron las muestras, sin ser expuestas al aire, a cápsulas porosas previamente sumergidas en alcohol etílico absoluto para ser sometidas a punto crítico, utilizando dióxido de carbono (1070 psi a 31°C).

### **e) Montaje**

Las muestras ya secas se colocaron en portamuestras con cinta de carbono de doble vista y se les colocó grafito coloidal sobre la base de las muestras para aquellas que lo requirieran. Posteriormente fueron cubiertas con oro.

### **f) Observación**

Las muestras fueron observadas en un Microscopio de Barrido JEOL JSM 5900 LV a 15 kv.



**Figura 6.10.f. Microscopio electrónico de barrido JEOL JSM 5900 LV.**

## **6.11. Evaluación sensorial**

### **6.11.1. Análisis descriptivo cuantitativo**

#### **a) Generación de descriptores**

A un panel inicial compuesto por 20 jueces, se les presentaron una serie de muestras de quesos tipo panela comerciales de las marcas Alpura®, Los Volcanes® y Esmeralda®, además de un queso denominado Artesanal, para que fueran probados y con ayuda de estos generaran todos los descriptores posibles.

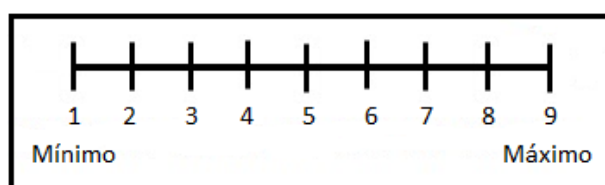
#### **b) Determinación de la terminología**

Obtenida una lista de descriptores, estos fueron comentados en una sesión donde estuviesen presentes el panel de jueces y los analistas de la prueba, para establecer el lenguaje que sería utilizado y el significado de cada uno de los descriptores generados en la prueba.

Se eliminaron sinónimos, antónimos, terminología ambigua y terminología que no aplicaba a las muestras a evaluar (Escobedo-García, 2010). También se recolectaron descriptores propuestos por los jueces durante la sesión consensu, que fueron aprobados por ellos mismos y por los encargados de la prueba, por ejemplo el descriptor viscosidad.

### c) Anclaje de escala

Establecida la lista de descriptores, se utilizaron la mayoría de los estándares para el anclaje de escala propuestos por Escobedo-García (2010) para queso tipo panela. Se utilizó una escala numérica de nueve puntos (Figura 6.11.1.c) para representar la intensidad percibida por el juez en cada uno de los descriptores. Siendo el número 1 el valor correspondiente a la sensación más baja posible percibida del descriptor por el juez, por lo que el número 9 corresponde a la percepción máxima.



**Figura 6.11.1.c. Escala numérica empleada para la evaluación sensorial de la intensidad de cada descriptor.**

### d) Revisión de escala por medio de la evaluación de atributos

Las muestras utilizadas para esta parte del análisis fueron las mismas utilizadas para la generación de descriptores y adicionalmente se utilizó un queso panela marca Lala®. Esto se hizo con la finalidad de probar la terminología de los descriptores y el anclaje de la escala con los estándares utilizados. Algunos estándares fueron modificados o añadidos, cuando se presentaron coeficientes de variación superiores a 35% en las respuestas de los jueces al evaluar los descriptores. Las muestras problema fueron evaluadas una vez que los CV de los descriptores fueron inferiores a 35% o ligeramente mayores.

#### 6.11.2. Pruebas afectivas

Para evaluar los quesos elaborados, el queso comercial de la marca Esmeralda® y el queso artesanal, se diseñó un cuestionario en el cual se evaluó el nivel de agrado de cada uno en los atributos de color, sabor, textura, apariencia y agrado en general, utilizando una escala de 9 puntos. Al mismo tiempo se evaluó lo salado en cada

muestra por medio de una escala de 5 puntos (justo como lo esperaba). Además se realizaron preguntas acerca del consumo de queso tipo panela, como frecuencia, forma y marca de consumo (Ver Anexo 11.4).

La aleatorización y asignación de los códigos para las muestras se realizó por medio del software estadístico FIZZ 3.2.

Se requirieron de un total de 120 consumidores, de los cuales la mitad fueron entrevistados en la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, Laboratorio 010, Edificio R y la otra mitad en la Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Anexo del Laboratorio 4D, Edificio A.

## **6.12. Análisis instrumental del queso tipo panela**

### **6.12.1. Análisis de perfil de textura**

Se evaluó el perfil de textura (TPA) en los quesos comerciales, así como el control y funcional de los quesos elaborados, utilizando el texturómetro TA.XT2 plus de la marca Stable Micro System. Para realizar el análisis, las muestras fueron cortadas en cubos de 2 cm a temperatura ambiente (aprox. 20°C). Se realizaron 3 evaluaciones a cada queso.

Las condiciones de evaluación del TPA, fueron; porcentaje de compresión de 35% y una velocidad de ensayo de 1mm/s, con una sonda cilíndrica de aluminio P/50 de 50 mm de diámetro (Escobedo-García, 2010).

Los resultados de dureza, adhesividad, elasticidad, cohesividad y masticabilidad de las evaluaciones fueron analizados con un ANOVA a una vía con una significancia de 0.05 y a un PCA.

### **6.12.2. Análisis instrumental de color**

Se realizó el análisis instrumental de color a todas las muestras en estudio (quesos comerciales, control y funcional) con un espectrofotómetro Konica Minolta CM-3600d. Para realizar el análisis, las muestras fueron cortadas en cubos de 2 cm a

temperatura ambiente (aprox. 20°C). Se realizaron 3 evaluaciones a cada queso tipo panela.

Las condiciones del análisis instrumental del color se muestran en la tabla 6.11.2.1. Para imitar las condiciones de la luz del día en que los jueces realizan la evaluación sensorial se debe incluir la luz UV.

**Tabla 6.12.2.1. Condiciones del análisis instrumental de color.**

<b>Parámetro</b>	<b>Condición</b>
<i>No. De Disparos o de flashes</i>	1
<i>Estándar</i>	Nulo
<i>UV</i>	Incluido
<i>Componente especular</i>	Excluido
<i>Área de visión</i>	Mediana
<i>Iluminante</i>	D65 (luz de día, natural 6.504 K)
<i>Detector</i>	10°
<i>Sistema de reporte de color</i>	CIEL*a*b*
<i>Número de mediciones por muestra</i>	3

(Escobedo-García, 2010)

## 7. Resultados y discusión

### 7.1 Evaluación del efecto de la concentración de sólidos totales y de la temperatura en la producción de EPS

A continuación se muestra una tabla con los promedios obtenidos de mg eq de dextrana/L de leche y de los valores finales de pH a las 2 y 4 horas de tratamiento a las distintas temperaturas y porcentaje de sólidos totales.

**Tabla 7.1.1. Resultados promedio de las pruebas de producción de EPS.**

	% ST	pH inicial	2 horas		4 horas	
			mg eq dextrana/L de Leche	pH	mg eq dextrana/L de Leche	pH
37°C	10	6.86	32	6.31	41	5.99
	15	6.76	32	6.11	38	5.96
	20	6.66	49	6.23	53	6.14
42°C	10	6.86	38	5.99	48	5.67
	15	6.76	30	6.03	40	5.8
	20	6.66	35	6.14	68	5.9
47°C	10	6.86	22	5.96	57	5.34
	15	6.76	29	5.95	58	5.33
	20	6.66	35	5.92	94	5.65

De acuerdo a los valores obtenidos de la producción de EPS (tabla 7.1.1), se observa que casi en todas las combinaciones siempre hubo una mayor producción cuando el sustrato tuvo una concentración de 20% de ST, este comportamiento solo vario a las 2 horas con 42°C, donde se produjo mayor EPS con el sustrato de 10% de ST. Cuando se compara las concentraciones de EPS en los sustratos de 10 y 15 % de ST, se observa una producción similar, lo que sugiere que las concentraciones de ST tienen un efecto semejante sobre LD en la producción de EPS.

Los valores de pH más bajos se registraron en los sustratos que fueron incubados durante 4 horas a 47°C. Mientras que los más altos fueron de los sustratos incubados 2 horas a 37°C.

De manera general, la producción de EPS en las muestras resulta estar dentro de los valores reportados a pesar del corto tiempo de incubación, ya que para *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* la producción de EPS varía de 60 a 420 mg/L, mientras que para *Streptococcus thermophilus*, la producción se encuentra entre los 50 a los 350 mg/L. Cabe resaltar que estas cepas en conjunto pueden llegar a una producción de hasta 800 mg/l (Botazzi, 1999, citado en Luis-Arroyo, 2012).

Para la determinación de la producción de EPS, se realizaron 5 repeticiones por cada interacción de los factores temperatura, concentración de sólidos totales y tiempo. En la tabla 7.1.2 se muestra el ANOVA obtenido de un modelo completo.

**Tabla 7.1.2. ANOVA para la cuantificación de la producción de EPS.**

Factor	DF	Suma de Cuadrados	Media de Cuadrados	F-Ratio	Valor P	Alfa=0.05
A: Temperatura	2	1.033356E-03	5.166778E-04	2.77	0.069393	0.529682
B: Sólidos Totales	2	5.794756E-03	2.897378E-03	15.53	0.000002*	0.999165
AB	4	7.224444E-04	1.806111E-04	0.97	0.430425	0.291703
C: Tiempo	1	0.0104329	0.0104329	55.92	0.000000*	1.000000
AC	2	4.780067E-03	2.390033E-03	12.81	0.000017*	0.995983
BC	2	1.249067E-03	6.245333E-04	3.35	0.040730*	0.615217
ABC	4	8.962667E-04	2.240667E-04	1.20	0.317900	0.358356
S	72	0.0134332	1.865722E-04			
Total (Ajustado)	89	3.834205E-02				
Total	90					

\* Valor significativo de  $\alpha = 0.05$

En la tabla 7.1.2 se observa que no existe diferencia significativa en la interacción triple de los factores (ABC). Esto sucedió debido a que el comportamiento de la producción de EPS no fue constante, es decir, no siempre se obtuvo la mayor producción de EPS cuando se aumentó la temperatura de incubación o la concentración de sólidos totales. Pero siempre fue mayor la producción de EPS cuando el tiempo de incubación fue mayor. Este comportamiento provoca que no se vea reflejada una diferencia al probar la interacción de los tres factores.

Sin embargo, cuando se observan las interacciones dobles, se aprecia que existe diferencia significativa con Temperatura-Tiempo y Sólidos Totales-Tiempo, para la interacción Temperatura-Sólidos Totales no se observa diferencia significativa (tabla 7.1.2). Por lo tanto, se recurrió a la prueba de comparación múltiple de Tukey-

Kramer, para determinar que combinaciones de los factores estudiados resultaron ser distintas al resto de las combinaciones por una mayor producción de EPS.

**Tabla 7.1.3. Prueba de Comparación Múltiple de Tukey-Kramer para la interacción de los factores Temperatura-Sólidos Totales.**

Respuesta: EPS

Factores AB: Temperatura, Sólidos Totales

Grupo	Repeticiones	Media	Diferencia entre Grupos
42,15	10	0.0349	(47,20)
37,15	10	0.0349	(47,20)
37,10	10	0.0369	(47,20)
47,10	10	0.0394	(47,20)
42,10	10	0.0426	(47,20)
47,15	10	0.0431	(47,20)
37,20	10	0.0511	
42,20	10	0.0513	
47,20	10	0.0643	(42,15), (37,15), (37,10), (47,10), (42,10), (47,15)

**Tabla 7.1.4. Prueba de Comparación Múltiple de Tukey-Kramer para la interacción de los factores Temperatura-Tiempo.**

Respuesta: EPS

Factores AC: Temperatura, Tiempo

Grupo	Repeticiones	Media	Diferencia entre Grupos
47,2	15	2.846667E-02	(37,4), (42,4), (47,4)
42,2	15	0.034	(42,4), (47,4)
37,2	15	3.806667E-02	(47,4)
37,4	15	4.386667E-02	(47,2), (47,4)
42,4	15	5.186667E-02	(47,2), (42,2), (47,4)
47,4	15	0.0694	(47,2), (42,2), (37,2), (37,4), (42,4)

**Tabla 7.1.5. Prueba de Comparación Múltiple de Tukey-Kramer para la interacción de los factores Sólidos Totales-Tiempo.**

Respuesta: EPS

Factores BC: Sólidos Totales, Tiempo

Grupo	Repeticiones	Media	Diferencia entre Grupos
15,2	15	0.0302	(15,4), (10,4), (20,4)
10,2	15	3.073333E-02	(10,4), (20,4)
20,2	15	0.0396	(20,4)
15,4	15	4.506667E-02	(15,2), (20,4)
10,4	15	4.853333E-02	(15,2), (10,2), (20,4)
20,4	15	7.153333E-02	(15,2), (10,2), (20,2), (15,4), (10,4)



Las interacciones enmarcadas en color rojo en las tablas anteriores (7.1.3-5) fueron seleccionadas como las mejores para la producción de EPS. Donde las condiciones de 47°C como temperatura de incubación para una leche con 20% de sólidos totales presentes incubada durante 4 horas para la elaboración del queso, presentó la mayor producción de EPS.

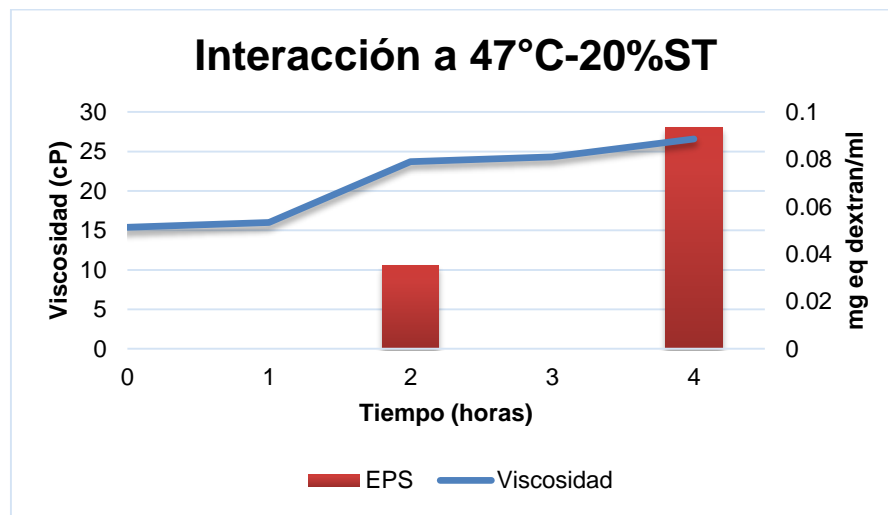
Estos resultados de mayor producción de EPS a una concentración de 20% ST, es contrario a lo reportado por Kimmel y Roberts (1998) quienes encontraron que un exceso de proteína que rebase los niveles óptimos de crecimiento puede reducir el rendimiento de la producción de EPS. Caso contrario, Petry *et al.* (2000) reportaron que en medios con menor concentración de lactosa la producción de EPS disminuye. Los resultados obtenidos siempre mostraron una tendencia de mayor producción con 20% ST a cualquier temperatura y sin importar cuantas horas de incubación tuviera. Por otra parte, Domínguez-Soberanes (1997), obtuvo como resultado que una cepa filante produjo una mayor cantidad de exopolisacárido en medios con una mayor concentración de proteína de suero de leche y caseínas.

La producción del EPS, provoco al mismo tiempo un incremento de la viscosidad a través del tiempo, tal como se observa en la tabla 7.1.6.

**Tabla 7.1.6. Registro de la viscosidad en los sustratos probados.**

	<i>Tiempo</i>	<i>0 h</i>	<i>2 h</i>	<i>4 h</i>
	<b>% ST</b>	<b>Viscosidad Inicial (cP)</b>	<b>Viscosidad final (cP)</b>	<b>Viscosidad final (cP)</b>
<b>37°C</b>	<b>10</b>	14	16	17.1
	<b>15</b>	16	19.4	20
	<b>20</b>	18.6	21.1	22.4
<b>42°C</b>	<b>10</b>	13	13.5	14.3
	<b>15</b>	14.3	17.8	24
	<b>20</b>	16.4	18.7	26.1
<b>47°C</b>	<b>10</b>	12.5	12.8	13
	<b>15</b>	13.2	20.2	22.4
	<b>20</b>	15.4	23.7	26.6

Donde el mayor incremento de la viscosidad se presentó de igual forma en la leche que fue sometida a las condiciones de temperatura, concentración de ST y tiempo antes elegidos (20 %, 47 °C, 4h). La viscosidad inicial fue de 15.4 cP y se registró un aumento de 11.2 cP. Dicho incremento se presenta en el gráfico 7.1.1 y su comportamiento en relación con la producción de EPS.



**Figura 7.1. Relación entre el incremento de la viscosidad y la producción de EPS a 47°C y 20% ST a las 2 y 4 horas de fermentación.**

En el gráfico se observa que de las 0 a las 2 horas de fermentación se presentó el mayor incremento en la viscosidad (8.3 cp) durante la fermentación, y aunque en menor medida, de las 2 a las 4 horas aún existe un incremento de 2.9 cP.

## 7.2. Observaciones a microscopio óptico

Para asegurar que los microorganismos se encontraban en óptimas condiciones, se realizaron observaciones en el microscopio óptico de los inóculos en leche previo a su utilización para el queso y las pruebas de producción de EPS.



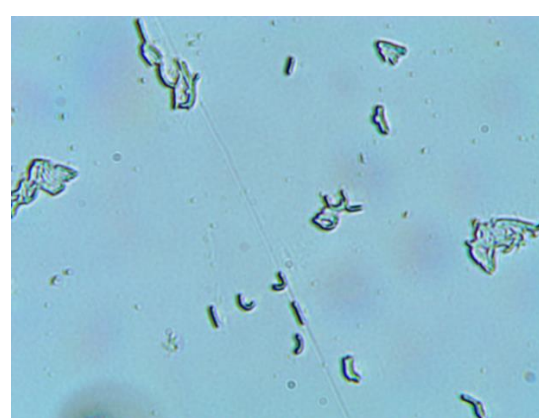
a)



a)



b)



b)

**Figura 7.2.1. LR con dos aumentos  
a) 40x y b) 100x.**

**Figura 7.2.2. LD con dos aumentos  
a) 40x y b) 100x.**

Al observar los cultivos es fácil de distinguir que LD es en general un bacilo más largo que LR, siendo este último quien tiende a formar agregados en mayor medida.

### **7.3. Rendimiento de los quesos elaborados**

Los quesos funcionales (figura 7.3) elaborados para las evaluaciones sensoriales partieron de un peso inicial de 5.947 kg (compuesto por 947 g de Leche en polvo y el resto de agua). Para el caso de los quesos control se partió de 6 kg, donde 1 kg corresponde a la leche en polvo. **Se elaboraron dos formulaciones de quesos (apartado 6.6).**

También se elaboró un queso solo inoculado con *L. rhamnosus* GG (QLR), para determinar el rendimiento cuando estaba ausente el EPS. Para este caso, inicialmente se obtuvo un peso de 1.193 kg, del cual 193 gramos fueron de leche en polvo. Este último queso solo fue elaborado para pruebas fisicoquímicas y de viabilidad del probiótico y no para las pruebas sensoriales. Por esta razón el peso inicial fue menor a los quesos controles y funcionales.



**Figura 7.3. Quesos funcionales elaborados para las evaluaciones sensoriales.**

La tabla 7.3.1.a muestra los pesos finales y rendimientos de los quesos a los 10 días de su preparación.

**Tabla 7.3.1.a. Rendimientos de los quesos elaborados.**

<b>Queso</b>	<b>Peso inicial (g)</b>	<b>Queso (g)</b>	<b>Rendimiento (%)</b>	<b>Razón de incremento (%)</b>
<b>Funcional 1</b>	5,947	2,444	41.09	118
<b>Control 1</b>	6,000	2,056	34.26	
<b>Funcional 2</b>	5,947	2,344	39.41	111
<b>Control 2</b>	6,000	2,108	33.63	
<b>QLR</b>	1,197	325	27.15	

Se observa que el rendimiento de los quesos funcionales siempre fue mayor respecto a los quesos control. Que de acuerdo al valor obtenido por el cociente del rendimiento del queso funcional entre el rendimiento del queso control multiplicado por 100%, muestra los porcentajes que se denominaron como razón de incremento.

Este porcentaje muestra un incremento del 18% del rendimiento del queso funcional 1 y un incremento del 11% para el queso funcional 2. Lo que indica que hubo una mayor retención de agua y grasa durante el proceso de elaboración. Villegas (2003) menciona que el queso tipo panela es de alto rendimiento, entre 13 y 14 kg/100 litros de leche, debido a que el trabajo del grano y el prensado no son pronunciados. Para conocer realmente las cantidades retenidas de grasa y agua en los quesos, es necesario realizar la determinación de grasa y de humedad en cada uno de los quesos elaborados. Esto confirma que la presencia de EPS influye directamente en la estructura del queso. Este mismo comportamiento fue observado por Jiménez-Guzmán *et al.* (2009) donde el microorganismo productor de EPS fue *Streptococcus thermophilus* en queso tipo panela, logrando una mayor retención de agua por la interacción del EPS.

El queso elaborado solo con *L. rhamnosus* GG (QLR) obtuvo menor rendimiento. Esto indica que hubo un mayor desuerado, debido a que presentó un valor de pH menor (apartado 7.5.a), en comparación a los quesos control, lo que provoca una red de caseína más compacta, aumentando la sinéresis. Aunque en el queso funcional el pH fue aún menor, la presencia de EPS influye directamente en el rendimiento.

Se guardaron los quesos funcionales y el queso que solo contenía a *L. rhamnosus* GG, en refrigeración (4°C) durante 33 días, para determinar la pérdida de peso de cada uno por el desuerado durante su vida de anaquel.

**Tabla 7.3.1. b. Porcentaje de la pérdida de peso de los quesos elaborados.**

Queso	Vida de anaquel		% de pérdida
	7 días	33 días	
<b>Funcional 1</b>	332 g	270 g	18.6
<b>Funcional 2</b>	320 g	264 g	17.5
<b><i>L. rhamnosus</i></b>	325 g	206 g	36.6

La tabla 7.3.1.b muestra que los quesos funcionales tuvieron un comportamiento similar en la pérdida de peso por el desuerado. El queso que solo contenía al

probiótico, registró el doble de pérdida de suero con respecto a los quesos funcionales. Esto muestra como los EPS pueden actuar como agentes ligadores de agua en varios alimentos, reflejándose en una disminución del efecto de sinéresis (Cerning, 1990 citado en Lluís-Arroyo, 2012).

#### 7.4. Viabilidad de *Lactobacillus rhamnosus* GG en el queso funcional

Para comprobar que el queso cumpliera con la especificación de la FAO acerca del número de UFC del microorganismo probiótico que debe contener para ser llamado alimento funcional, se llevaron a cabo diluciones a partir de la cuajada y de la pasta del queso, a los 0, 15 y 30 días de almacenamiento en refrigeración (4°C) posteriores a la elaboración de los quesos funcionales. A continuación, en la tabla 7.4.1 se presenta un comparativo del requisito según la FAO y de la cuenta obtenida de *Lactobacillus rhamnosus* en la cuajada y el queso.

**Tabla 7.4.1. Comparación del requisito de ufc de acuerdo a la FAO y las estimadas en los quesos funcionales tipo panela.**

Requisito de acuerdo a la FAO	Cuajada	15 días de almacenamiento	30 días de almacenamiento
$1 \times 10^7$ ufc/g de alimento	$70 \times 10^8$ ufc/g	$8 \times 10^8$ ufc/g	$3 \times 10^8$ ufc/g

Las siembras se realizaron en agar MRS, incubando por 48 horas a 42°C. La diferenciación de las colonias presentes en el queso funcional, se realizó de acuerdo a su morfología. Siendo colonias más grandes, convexas, circulares y de color blanco brillante las colonias de LR. Mientras que para LD, fueron pequeñas, circulares y de un ligero color crema (ver anexo 11.3). De acuerdo a la cuenta de colonias obtenidas por las diluciones, se puede asegurar el cumplimiento del requisito de la FAO durante el proceso de elaboración del queso y hasta al menos 30 días posteriores a su elaboración manteniéndose en refrigeración, logrando así su denominación como alimento funcional.



## 7.5. Características fisicoquímicas del queso

### a) pH

El queso funcional 1 presentó un pH de  $6.15^{\pm 0.04}$ , el funcional 2 obtuvo un pH de  $6.16^{\pm 0.04}$ . Como se ha reportado, era esperado que los valores de pH en los quesos funcionales deben ser menores con respecto al control, debido a la presencia de microorganismos y al tiempo de fermentación al cual fueron sometido en la elaboración.

El queso control y el queso elaborado con LR presentaron los valores más altos de pH,  $6.8^{\pm 0.05}$  y  $6.56^{\pm 0.05}$  respectivamente, esta característica provoca una cuajada más firme por la neutralización de las cargas de los fosfatos de las caseínas por el calcio coloidal, favoreciendo la sinéresis. Cabe resaltar que el tiempo de maduración de leche fue menor con solo una hora de incubación para el queso con LR.

Los valores de pH pueden compararse con lo reportado en el trabajo de Escobar *et al.* (2012) en el que elaboraron un queso tipo panela con la adición de probióticos y almidón de habas. Las cepas utilizadas fueron *L. Rhamnosus* GG y *B. breve*. Cuando probaron la presencia de ambas cepas en el queso obtuvieron un valor del pH de  $5.66^{\pm 0.05}$ . Mientras que solo con *L. Rhamnosus* GG el valor del pH fue de  $6.15^{\pm 0.07}$ . En ambos trabajos los quesos se elaboraron con un porcentaje mayor de sólidos totales con respecto a los contenidos normalmente en la leche y el comportamiento del pH fue similar, obteniendo valores de pH más bajos en presencia de dos microorganismos.

El pH reportado por Villegas (2003) para queso tipo panela comercial con un contenido de sólidos de 42 a 51 %, es de 5.5. Este valor pudo haberse alcanzado con la adición de ácido acético, cítrico o láctico, ya que de acuerdo a la NOM-121-SSA1-1994, se permiten estos compuestos como acidificantes para quesos frescos.

### b) Acidez titulable

Los resultados de acidez de los quesos funcionales, control y de *L. rhamnosus* se muestran en la tabla 7.5.b, en la que la acidez fue expresado en grados Dornic (°D).

De igual forma se esperaba un mayor porcentaje de acidez en el queso funcional debido a la presencia de ambos microorganismos.

**Tabla 7.5.b. Porcentaje de ácido láctico para los quesos elaborados.**

Quesos	°D
Controles	10.8
Funcionales	28.8
<i>L. rhamnosus</i>	14.4

Los valores de los grados Dornic de los quesos elaborados fueron similares a los valores obtenidos en el trabajo de Piña-Suarez (2012), donde probó la presencia de *Lactococcus lactis* en queso tipo panela con modificación del contenido de grasa inicial, obteniendo valores de acidez expresados en °D de 20.71 para un queso inoculado al 1% y de 11.58 para un queso control, ambos con un contenido de grasa al 3.5%.

### c) Actividad de agua y humedad

Durante el almacenamiento, a los quesos elaborados se les colocó un peso de 180 g, para favorecer el desuerado. Este prensado, así como el tamaño del corte de la cuajada, son fundamentales para la humedad final de los quesos. Los valores más altos de humedad y de actividad de agua (tabla 7.5.c) se presentaron en el queso control, volviéndolo un producto más perecedero con respecto a los quesos que fueron elaborados con microorganismos. La tabla (7.5.c) muestra la comparación del queso funcional 1 y de su control contra el queso que contenía solo *L. rhamnosus* GG. Esta comparación se realizó debido a que son los quesos que fueron salados con la misma concentración de sal (18% NaCl).



**Tabla 7.5.c. Valores promedios obtenidos de humedad y actividad de agua ( $a_w$ ).**

<b>Quesos</b>	<b>Humedad (%)</b>	<b><math>a_w</math></b>
<i>Control 1</i>	72.56	0.981
<i>Funcional 1</i>	62.44	0.975
<i>L. rhamnosus</i>	66.41	0.977

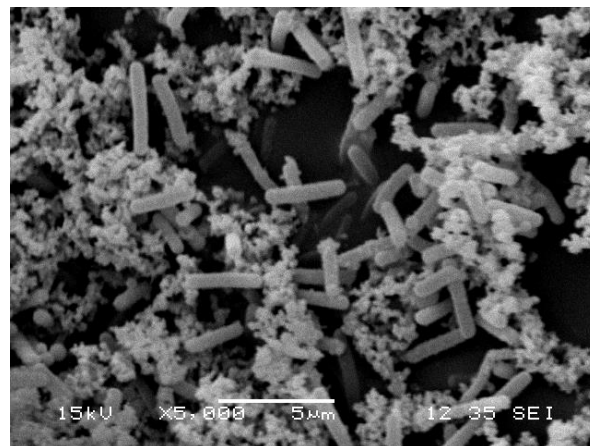
De acuerdo a la SAGARPA y a Villegas (2003), el queso tipo panela comercial tiene una humedad próxima a 58%, se debe resaltar que se hace referencia a quesos elaborados tradicionalmente, sin el aumento en la fuente de sólidos y sin probar la presencia de dos microorganismos. De igual forma que ocurrió con los valores de pH, el comportamiento de los porcentajes de humedad resultan similares al trabajo de Escobar *et al.* (2012), en el que reportan humedades de 68.67% para el queso panela elaborado con los dos microorganismos probióticos. Cuando solo se utilizó *L. rhamnosus* GG, obtuvieron una humedad de 71.83%. Mientras que el queso control fue el que presentó una mayor humedad con un valor de 73.33%. En ambos trabajos los valores de humedad disminuyen cuando se encuentran presentes mayor número de microorganismos.

### **7.6. Observaciones a microscopio electrónico**

Previo a observar los quesos elaborados, se realizó la observación de los cultivos de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCFB 2772 y *Lactobacillus rhamnosus* GG.



**Figura 7.6.1. Cultivo de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCFB 2772.**



**Figura 7.6.2. Cultivo de *Lactobacillus rhamnosus* GG.**

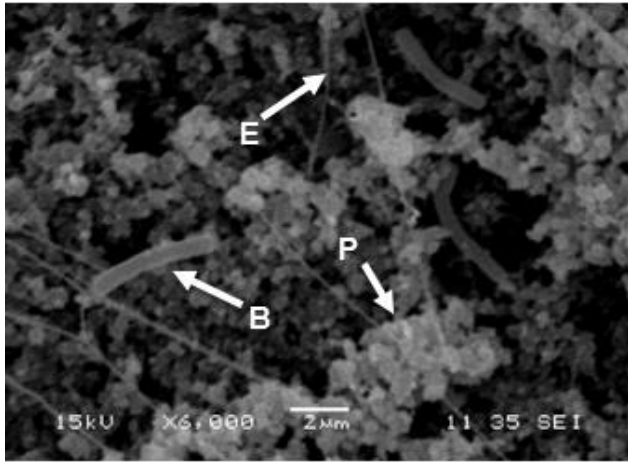
En las micrografías de los cultivos, se puede observar que la longitud de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCFB 2772 oscila de los 2  $\mu\text{m}$  hasta 6  $\mu\text{m}$ . Mientras que para *Lactobacillus rhamnosus* GG va de 1  $\mu\text{m}$  hasta 3  $\mu\text{m}$ .

Las observaciones realizadas en los quesos (Figura 7.6.3) que fueron inoculados, mostraron que existe la presencia del EPS interactuando con la estructura proteica del queso y con las bacterias. Además que su presencia es muy abundante en toda la estructura.

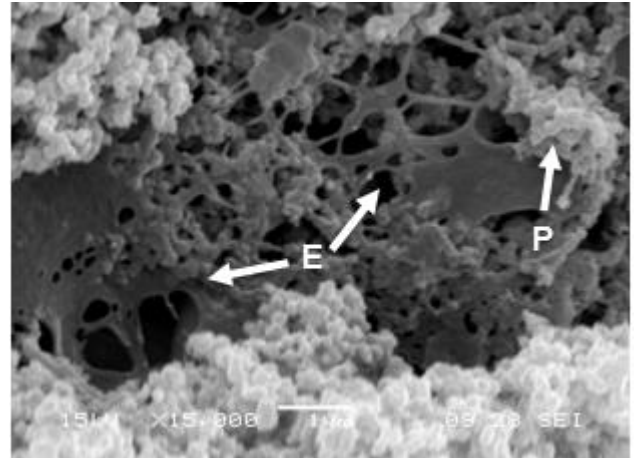
En los casos de las micrografías a, b y c, se observa la presencia de EPS y su interacción con la estructura del queso y las bacterias. Las micrografías h, f y j, muestran la presencia de los microorganismos y como se sitúan dentro de la red proteica.

Las micrografías a, b y c, muestran un EPS en forma de filamentos, el cual pudo haber sufrido deshidratación por el proceso de preparación de las muestras. Mientras que en las micrografías d, e, g, i, el EPS presenta una estructura lisa, semejante a un lienzo, donde algunas partes han sufrido deshidratación tomando forma de filamentos.

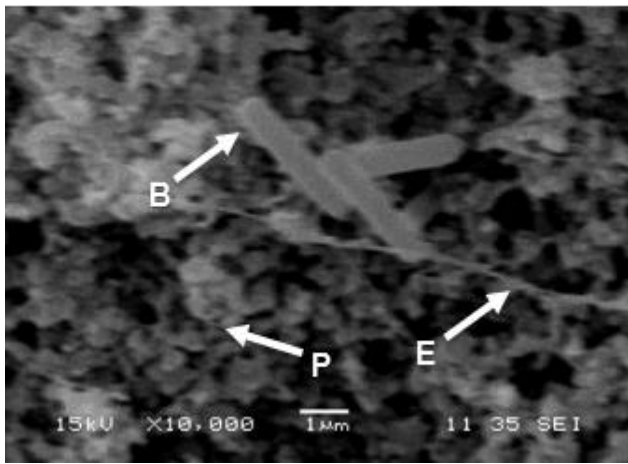
La micrografía e, permite observar que el EPS se encuentra ligado a la red proteica del queso, el cual se encuentra recubriendo algunas zonas de la proteína y forma una red que sostenido de la proteína en los espacios libres.



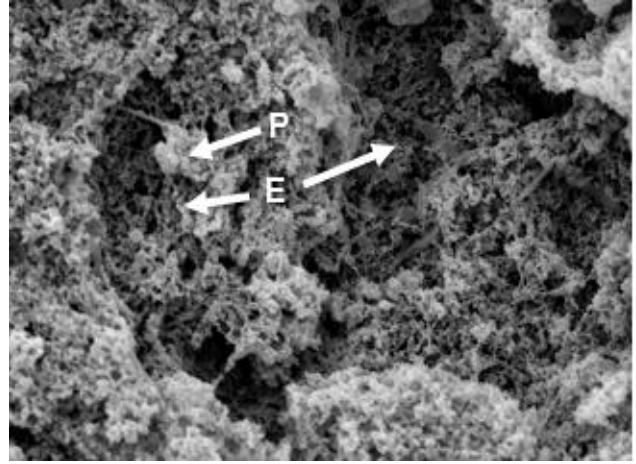
a)



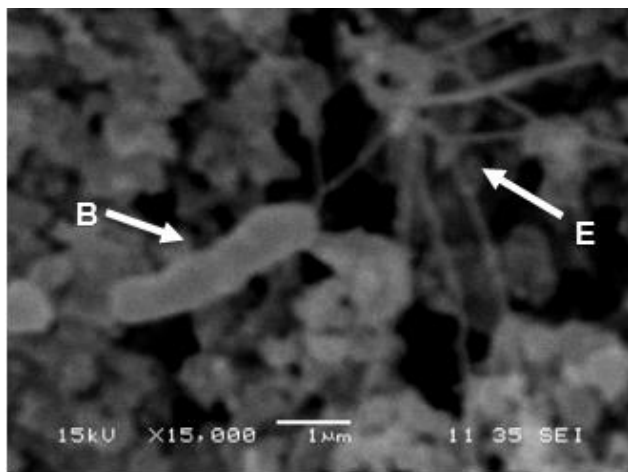
d)



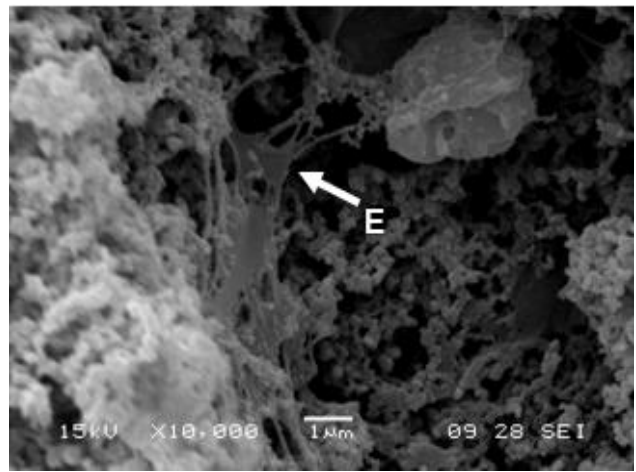
c)



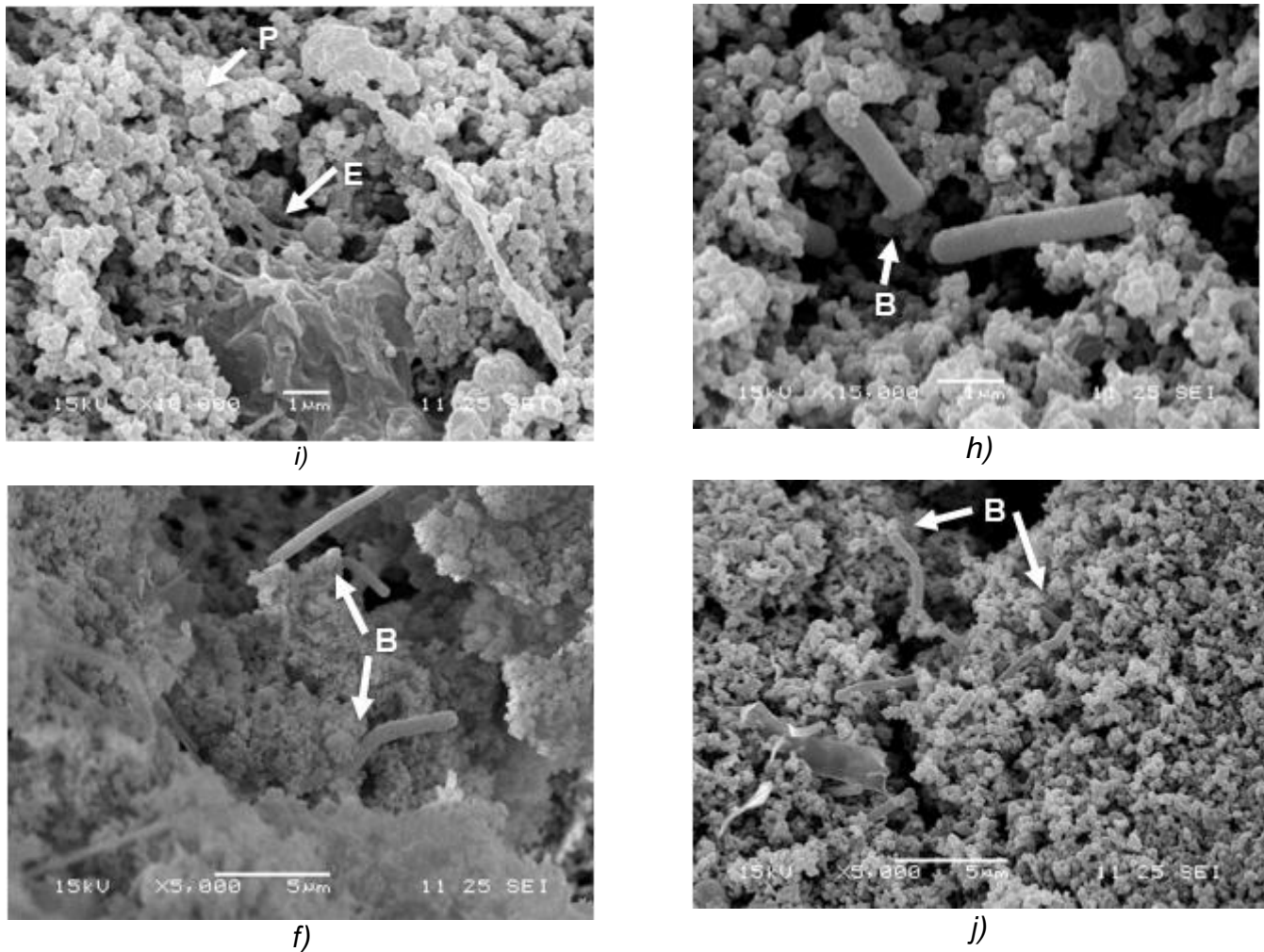
e)



b)



g)



**Figura 7.6.3. Micrografías de la interacción del EPS (E) producido por LD con la estructura proteica (P) del queso funcional tipo panela y con los microorganismos inoculados (B).**

Las micrografías anteriores pueden ser comparadas con las obtenidas por **Domínguez-Soberanes** (1997), quien también utilizó *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCFB 2772 como productor de EPS y con los de **Lluís-Arroyo** (2012) y **Jiménez-Guzmán** (2009) donde el microorganismo productor de EPS fue *Streptococcus thermophilus* en queso manchego y queso panela respectivamente. En ninguno de estos trabajos se evaluó la interacción del EPS en presencia de un microorganismo probiótico.



## 7.7. Evaluación sensorial del queso tipo panela

### 7.7.1. Análisis descriptivo cuantitativo

#### a) Panel de jueces sensoriales

En la tabla 7.7.1.a se muestra el nombre de los participantes del panel de jueces inicial con los que fueron generados la mayor cantidad de descriptores posibles. Los nombres que aparecen resaltados en color amarillo fueron los jueces que se seleccionaron para las sesiones de la evaluación de los descriptores. El resto fue descartado debido a las variaciones que presentaron durante el anclaje de los descriptores.

**Tabla 7.7.1.a. Lista de nombres del panel de jueces sensoriales.**

Xóchitl Talavera	Víctor Martínez	Daniela Rojas	Claudia Urquiza
Rosalba Guzmán	Alberto Reyes	Alejandra González	Héctor Richards
Elizabeth Lara	Rosario Ruiz	Ana Silva	Marco Ginez
Jessica García	Berenice Nava	Norma Lozano	Norma Hernández
Laila Coello	Andrea García	Oscar Santelis	Jimena Martínez

Dos jueces fueron eliminados del estudio por baja asistencia (nombres remarcados en rojo).

#### b) Generación de descriptores

A partir de las muestras de los quesos (apartado 6.10.1.a) proporcionados a los jueces, se generaron varias listas de descriptores (ver anexo 11.5). Se tomó en cuenta la frecuencia en que apareció cada descriptor, de modo que en sesiones grupales se discutió cuáles eran aquellos que describían mejor al queso tipo panela. Descartando sinónimos, antónimos, terminología ambigua y la que no aplicara al producto. La tabla 7.7.1.bl muestra los descriptores que fueron seleccionados para la evaluación del queso tipo panela.

**Tabla 7.7.1.bl. Principales descriptores para los atributos del queso tipo panela.**

<b>Atributo</b>	<b>Apariencia</b>	<b>Textura en boca</b>	<b>Olor</b>	<b>Sabor</b>
<b>Descriptor</b>	Homogéneo	Dureza	Leche	Salado
	Color	Masticabilidad	Salado	Lácteo
	Limpieza al corte	Sensación plástica	Almidón	Dulce
		Jugosidad	Agrio	Suero
		Cohesividad		
		Arenosidad		
		Elasticidad		
		Adhesividad		
		Viscosidad		

Una vez seleccionada la lista de descriptores, de manera grupal se presentaron las definiciones de cada uno, así como las forma de evaluar (Tabla 7.7.1.bll) para así lograr que los jueces evaluaran de la misma forma.

**Tabla 7.7.1.bll. Definiciones y formas de evaluar cada descriptor.**

<b>Descriptor</b>	<b>Escala</b>	<b>Definición</b>	<b>Evaluación</b>
Homogéneo	Heterogéneo a homogéneo	Variaciones en la apariencia del queso panela: superficie, color parejo. <b>Heterogéneo:</b> queso rugoso y de un color parejo. <b>Homogéneo:</b> queso liso y de un mismo color.	Mirando la muestra a una distancia aproximada de 30cm.
Color	Blanco a amarillo	Color de la muestra percibido a simple vista.	
Limpieza al corte	Poco a mucho	Variaciones en la apariencia del queso panela: principalmente orificio e imperfecciones. <b>Poco:</b> queso con muchos orificios e imperfecciones. <b>Mucho:</b> queso sin orificios y sin imperfecciones.	
Leche	Suave a intenso	Olor característico.	Se evalúa acercando el queso panela a la nariz a 2cm por un período de 5 segundos
Salado		Cuantificación del olor característico.	
Almidón			
Agrio		Intensidad del olor a leche acidificada.	

Dureza	Suave a firme	Resistencia que pone un objeto a ser deformado o penetrado.	Se evalúa en la primera mordida con los dientes incisivos.
Jugosidad	Seco a jugoso	Cantidad de agua del queso panela que se percibe al masticarla.	Masticando la muestra en la masticación 5 y 6.
Elasticidad (manual)	Poco a mucho	Tiempo que tarda la muestra en retomar su forma original después de ser deformado.	Se evalúa presionando la muestra más de la mitad de su volumen y contando el tiempo que le toma retomar su forma original.
Masticabilidad		Número de masticaciones necesarias para preparar un alimento para ser deglutido	Masticando el queso entre los molares derechos (masticación 5 y 6).
Cohesividad		Capacidad de un alimento para fragmentarse en la boca y percibirse como partícula. Es decir, el grado de unión de las partículas.	Se evalúa en las dos primeras mordidas.
Sensación plástica		Sensación que se percibe con las muelas al plástico suave.	Masticando el queso con las muelas y percibiendo la sensación y el sonido producido
Viscosidad		Se evalúa junto con jugosidad.	Evaluar la viscosidad del suero liberado por la muestra
Arenosidad		Partículas presentes en el alimento.	Se evalúa midiendo la cantidad de gránulos o partículas en el alimento.
Adhesividad		Adhesividad del alimento a los molares y al paladar.	Se evalúa midiendo la cantidad de alimento adherido a los molares y al paladar.
Salado		Poco a mucho	Gusto básico dado por las sales.
Lácteo	Nota proporcionada por la leche con la que se elabora el queso.		
Dulce	Gusto básico dado por las sacarosa.		
Suero			

Atributo: **Apariencia**, **Olor**, **Textura**, **Sabor**

**c) Anclaje de escala**

Se les presentó a los jueces los estándares que serían utilizados para anclar cada uno de los descriptores, así como el valor al que correspondían cada uno de ellos.

**Tabla 7.7.1.c. Estándares utilizados para el anclaje de escala.**

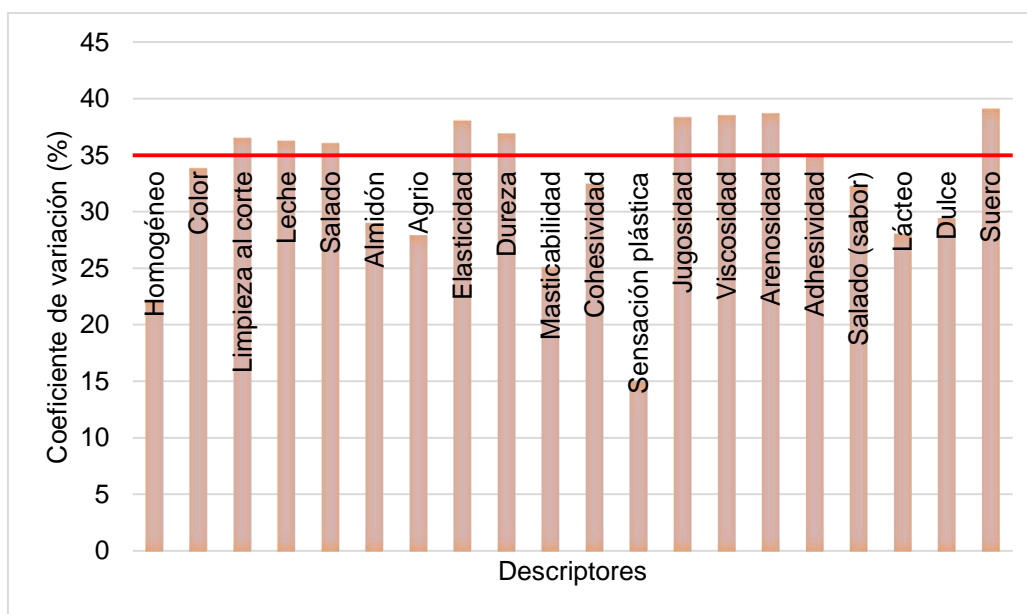
<i>Descriptor</i>	<b>Estándares</b>		
<i>Homogéneo</i>	1.Queso panela Alpura®		9.Queso cotija Esmeralda®
<i>Color</i>	1.Papel bond 96% blanco	5.Queso cotija Esmeralda®	9.Papel manila amarillo (a granel)
<i>Limpieza al corte</i>	1.Queso panela Alpura®		9.Queso Cotija Esmeralda®
<i>Leche</i>		5.Queso panela Esmeralda®	9.Lече pasteurizada Alpura Clásica entera®
<i>Salado</i>		4.Queso panela Esmeralda®	9.Queso panela Esmeralda®
<i>Almidón</i>			9.Solución de almidón (3 cucharadas en 250 ml agua)
<i>Agrio</i>			9.Lech Clásica Alpura® “cortada”
<i>Salado</i>		5.Queso panela Alpura®	
<i>Lácteo</i>	4.Lече light parcialmente descremada Alpura®		9.Lече pasteurizada Alpura Clásica® entera a temperatura ambiente
<i>Dulce</i>	1.Agua simple		9.Solución de sacarosa 8%
<i>Suero</i>	1.Agua simple		9.Suero de leche
<i>Dureza</i>	1.Pate de hígado	5.Salchicha de pavo	9.Salami/Pepperoni
<i>Masticabilidad</i>	1.Pate de hígado	4.Salchicha de pavo	7.Salami/Pepperoni
<i>Sensación plástica</i>		6.Queso panela Alpura	9.Chongos zamoranos



Jugosidad	1.Pan tostado		9.Sandía
Cohesividad		5.Manzana	9.Chiclosos
Arenoso	1.Natilla		9.Chile en polvo "Miguelito®"
Elástico	1.Queso Cotija Esmeralda®	7.Goma de dulce "Pandita"	9.Goma de dulce "Gomilocas®"
Adhesividad			9.Cajeta
Viscosidad	1.Agua		9.Miel

**d) Revisión de escala por medio de la evaluación de atributos**

Se les presentó a los jueces muestras de los quesos comerciales de las marcas: Alpura®, Esmeralda®, Los Volcanes® y Lala®, así como del queso Artesanal, con la finalidad de observar los coeficientes de variación (CV) de las respuestas obtenidas sobre los descriptores (ver anexo 11.7).



**Figura 7.7.1.d. Representación gráfica de los coeficientes de variación de los descriptores utilizados para el análisis descriptivo cuantitativo.**

En la figura 7.7.1.d, se observa que los CV se encontraron por debajo de 35% o ligeramente por encima. Una vez logrado este comportamiento, se procedió a evaluar los quesos elaborados.

### e) Evaluación de los quesos elaborados

Lista la escala para la evaluación de atributos, se procedió a evaluar los quesos control y funcionales elaborados, que diferían en la concentración de sal utilizada durante la salazón del queso. La siguiente tabla muestra los descriptores que presentaron diferencia significativa en los ANOVAs realizadas para las muestras comerciales y las muestras problema.

**Tabla 7.7.1.e. Resultados de los análisis de varianza de los descriptores de la evaluación de los quesos comerciales y los elaborados.**

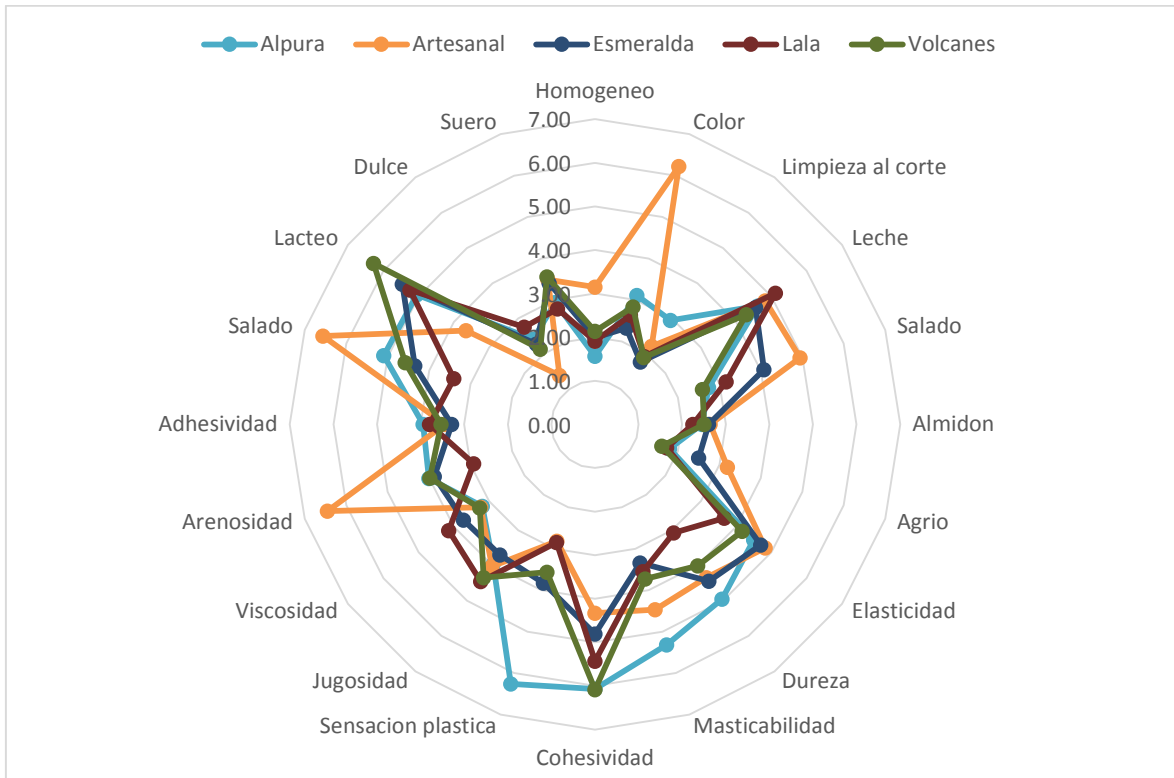
Descriptor	Quesos	Descriptor	Quesos
Homogéneo	B	Cohesividad	b
Color	B	Jugosidad	a
Limpieza al corte	A	Viscosidad	b
Leche	B	Sensación plástica	b
Salado	B	Arenosidad	b
Almidón	B	Adhesividad	b
Agrio	B	Salado (sabor)	b
Elasticidad	B	Lácteo	b
Dureza	B	Dulce	b
Masticabilidad	B	Suero	b

\*a descriptores que obtuvieron un valor  $p > 0.05$

\*b descriptores que obtuvieron un valor  $p < 0.05$

Los descriptores del atributo de textura (jugosidad) y el de apariencia (limpieza al corte) son los descriptores que estadísticamente no presentan diferencia significativa entre las muestras evaluadas.

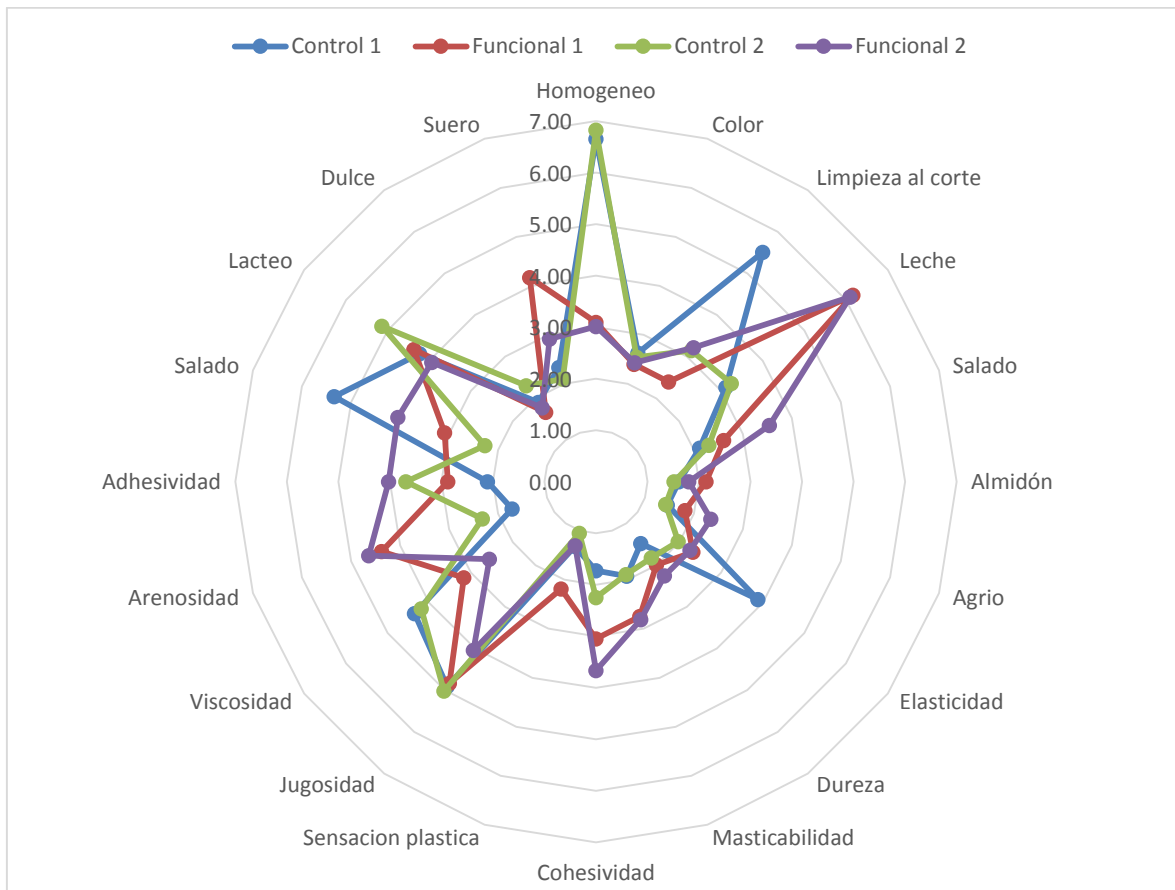
A continuación se muestra un gráfico radial (Figura 7.7.1.dl) con las muestras comerciales y la muestra artesanal, con la finalidad de conocer los perfiles sensoriales de los quesos que se encuentran en el mercado.



**Figura 7.7.1.dl. Perfil sensorial de las muestras de quesos tipo panela que se encuentran en el mercado.**

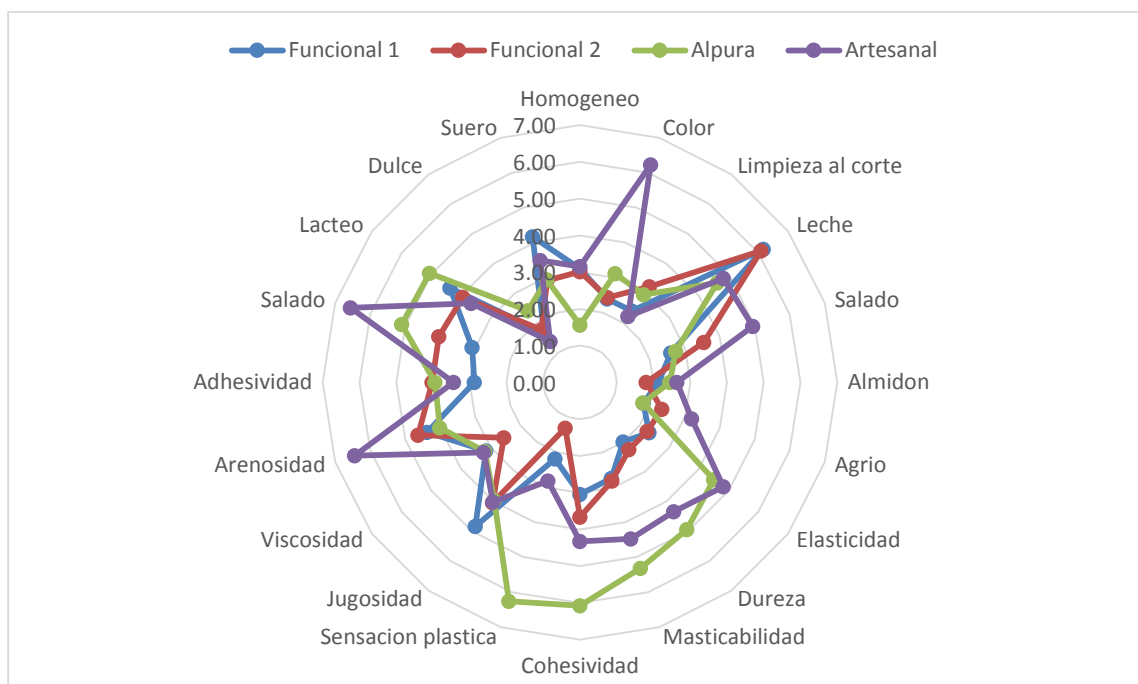
Se aprecia que de manera general los quesos presentan intensidades similares en los descriptores. Donde el queso artesanal resulta presentar mayores intensidades de los descriptores color, arenosidad y salado (sabor), siendo muy diferente del resto. Mientras que el queso de la marca Alpura®, presenta valores más altos de dureza, masticabilidad y de sensación plástica.

El gráfico 7.7.1.dII muestra el Perfil Sensorial para los quesos elaborados, los cuales muestran algunas características similares entre las formulaciones. El salado (sabor), elasticidad y limpieza al corte fueron los descriptores en el que se diferencian más el queso. Los quesos control resultaron ser más homogéneos que los funcionales, con una clara diferencia. Mientras que los quesos funcionales presentan calificaciones más altas para los descriptores de leche, cohesividad y arenosidad.



**Figura 7.7.1.dII. Perfil sensorial de los quesos elaborados.**

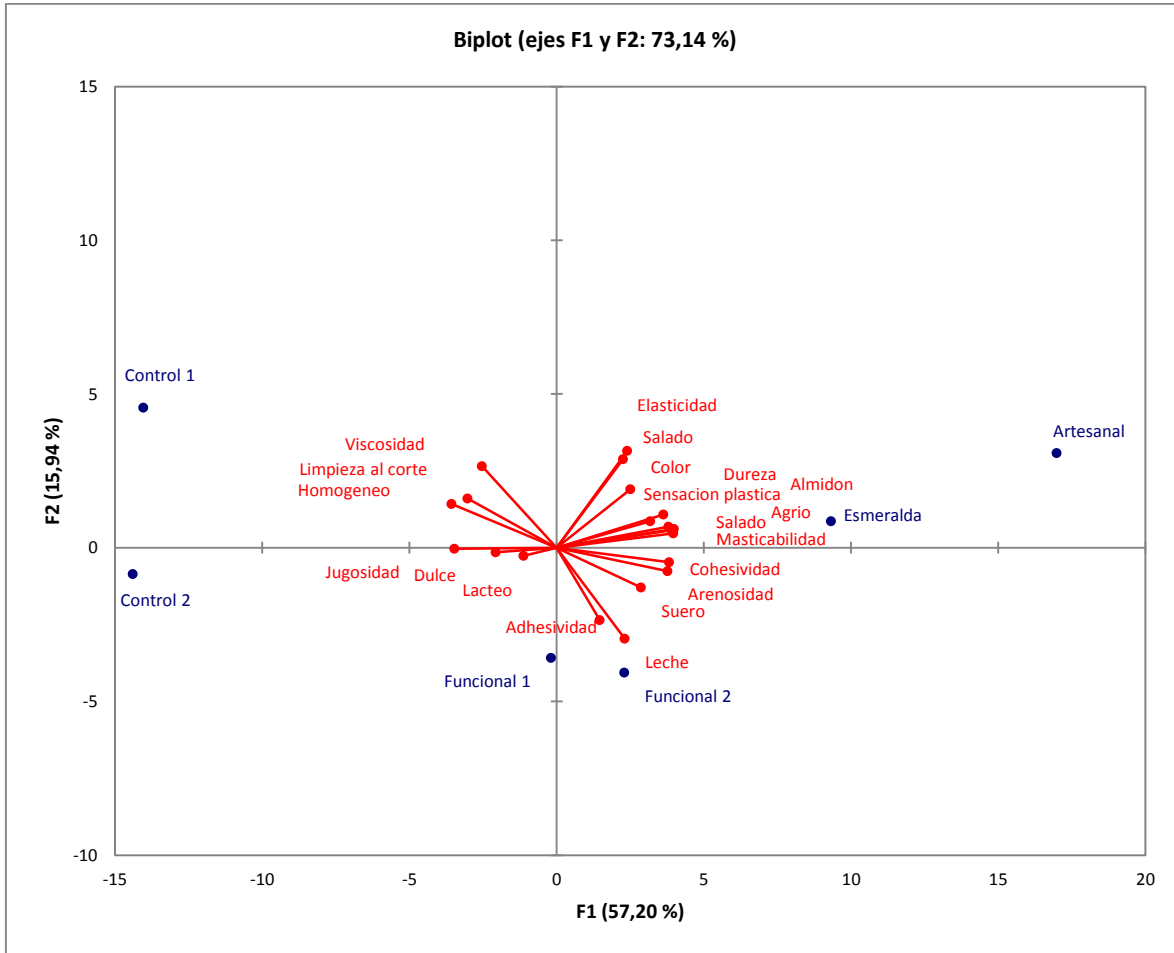
En la Figura 7.7.1.dIII se comparan directamente los quesos funcionales elaborados contra el queso de la marca Alpura®, debido a que la fuente de sólidos para el queso proviene de leche entera Alpura en polvo®. También, se compara contra el queso artesanal, debido a que este queso es el único que no presenta un proceso de elaboración industrializado al igual que las muestras evaluadas.



**Figura 7.7.1.dIII. Perfil sensorial de los quesos elaborados contra el queso artesanal y el de la marca Alpura®.**

Se aprecia que el queso artesanal y el comercial siguen presentando las intensidades más altas para los descriptores ya mencionados. Para el caso de los quesos funcionales, se observa que presentan los valores de intensidad más bajos en masticabilidad, dureza, elasticidad, cohesividad y arenosidad. Esto quiere decir que en las evaluaciones sensoriales los jueces detectan una falta de firmeza en los quesos. De manera general los quesos funcionales obtuvieron las evaluaciones más bajas.

Se realizó un Análisis de Componentes Principales de las muestras de queso esmeralda, de queso artesanal y de los quesos funcionales y sus controles, para conocer cuáles son los descriptores que caracterizan a cada muestra (Figura 7.7.1.dIII).



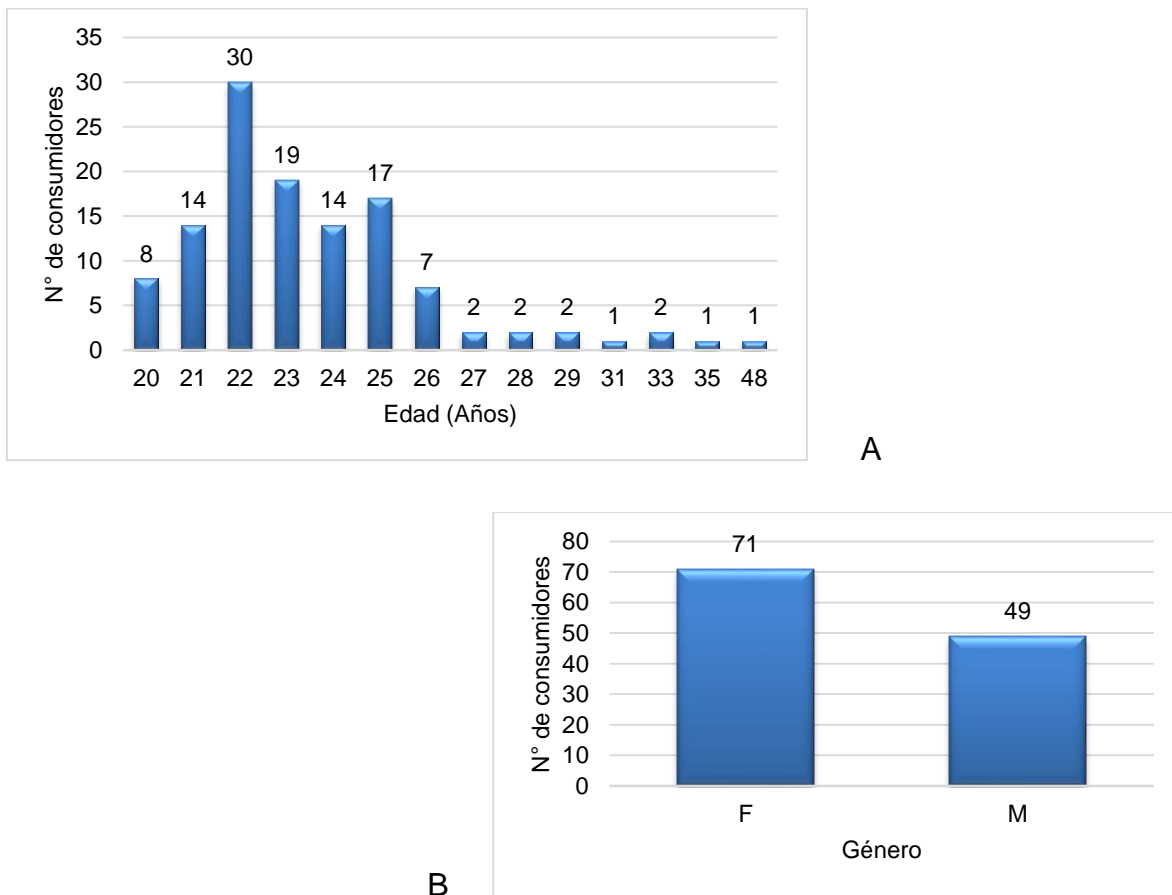
**Figura 7.7.1.dIII. Análisis de Componentes Principales para las 6 muestras de queso tipo panela con los promedios obtenidos por QDA.**

En la figura 7.7.1, se observa que los componentes principales generados (F1 y F2) en conjunto explican un 73.14% de la variabilidad, mostrando que los descriptores de limpieza al corte, homogéneo, jugosidad, viscosidad, dulce y lácteo caracterizan a los quesos control. Los dos primeros descriptores corresponden al atributo de apariencia y no presentan correlación con el tercer descriptor perteneciente a este atributo, el cual es el descriptor de color, que caracteriza a los quesos esmeralda y artesanal. Para los quesos funcionales, se observa que la adhesividad y el olor a leche son los descriptores más representativos de estas muestras. El queso comercial y el artesanal se caracterizan en la mayoría de los descriptores de textura, como por ejemplo la dureza, la masticabilidad y la sensación plástica, en menor medida cohesividad y arenosidad que también son compartidas con el queso

funcional 2. Los descriptores del sabor se repartieron entre las muestras, donde los atributos dulce y lácteo caracterizan a los quesos control, salado a los comerciales y suero es compartido con el queso funcional 2.

### 7.7.2. Pruebas afectivas

Se realizaron gráficos (Figura 7.7.2.I) con las frecuencias de edad y género de los consumidores que fueron entrevistados (120 personas), con la finalidad de conocer la composición de la población.

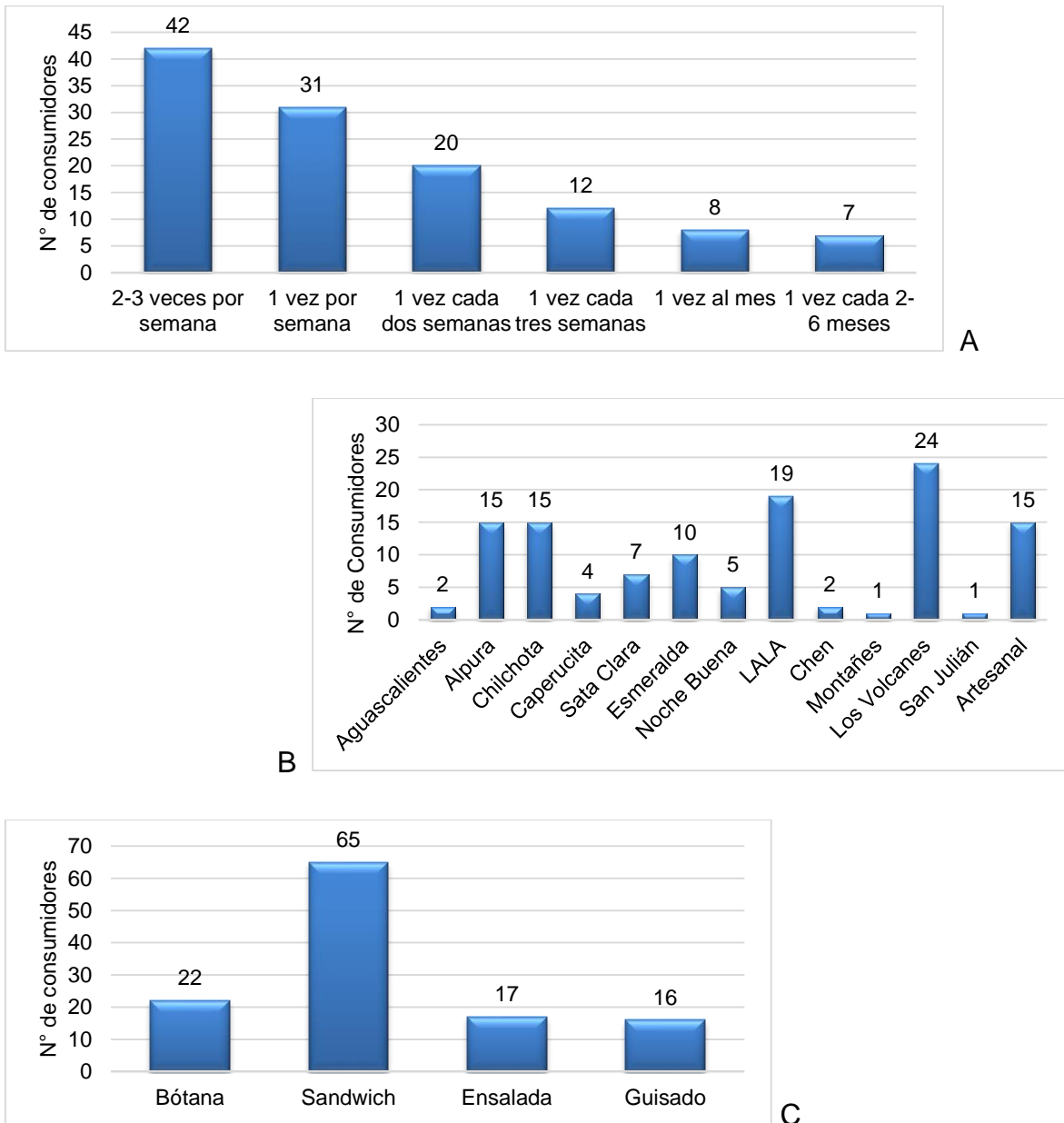


**Figura 7.7.2.I. Composición de la población de consumidores respecto a edad (A) y género (B).**

La figura 7.7.2.I A muestra el rango de edad de la población de consumidores, observándose que los consumidores de 22 años representan un 25%. Mientras que menos del 5% fueron consumidores con una edad mayor a 30 años. Por otro lado,

la figura 7.7.2.I B muestra una mayor participación de consumidores del género femenino (71 personas), representando cerca del 60%.

La figura 7.7.2.II corresponde a las primeras preguntas realizadas a los consumidores (ver anexo 11.5) sobre la frecuencia de consumo de queso tipo panela, la forma en que lo consumen y cuál es la marca que más frecuentan.



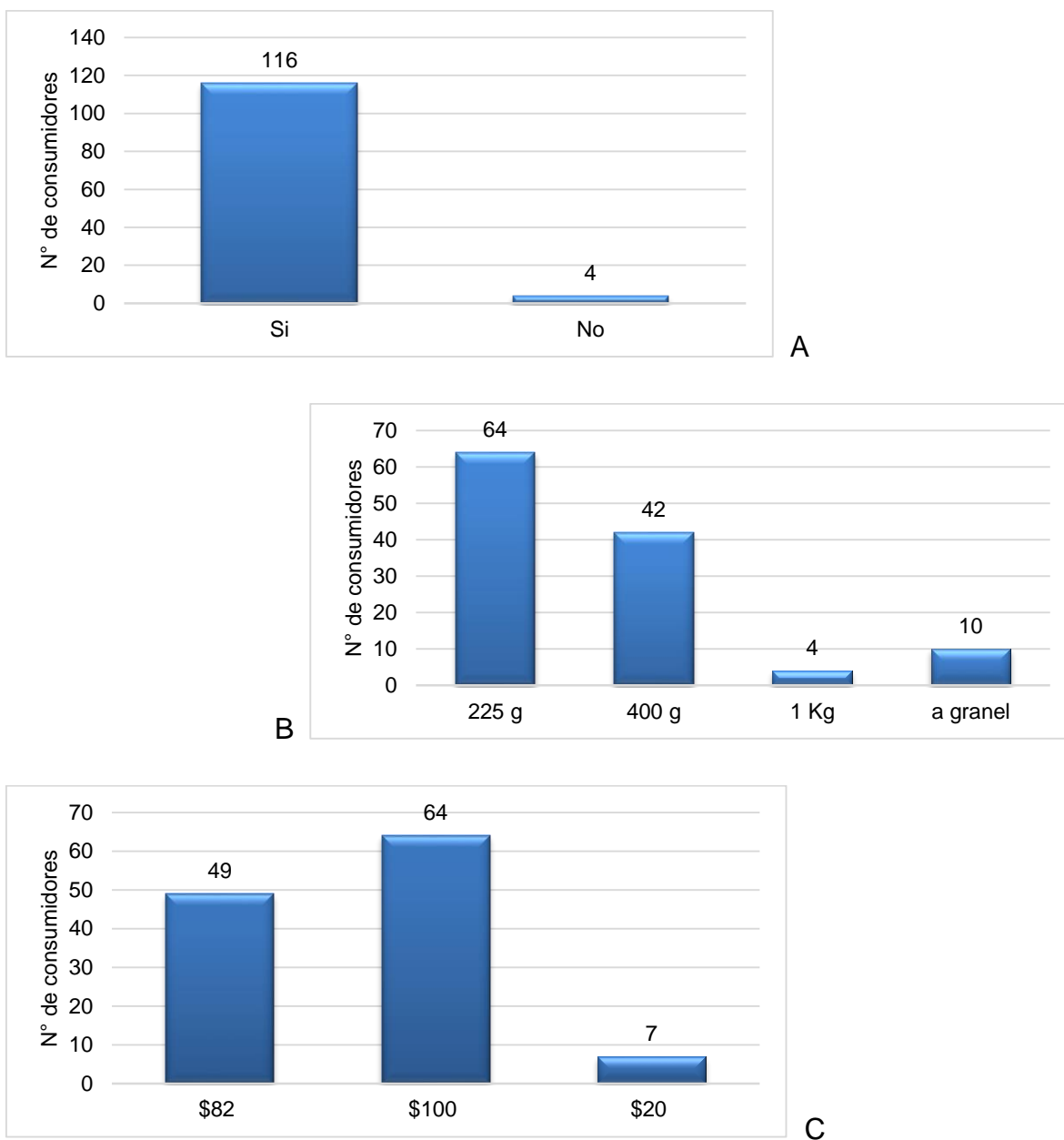
**Figura 7.7.2.II. Preguntas realizadas sobre frecuencia de consumo de queso tipo panela (A), marca preferida (B) y forma de consumo (C).**



De acuerdo con la figura 7.7.2.II A y C, un 35% de la población entrevistada consumen queso tipo panela de 2-3 veces por semana y el 65% de esa población acostumbran el consumo acompañado de otros ingredientes en forma de sandwich. Cabe resaltar que el consumo per cápita de queso en México en 2012 fue de 2.83 Kg, frente a los 8.02 Kg per cápita al año que se registraron en España, o los más de 20 Kg per cápita anuales de Grecia y Francia (Hervás-Serra, 2012).

Las marcas de queso tipo panela con una mayor mención por la población de consumidores fue en primer lugar Los Volcanes® con un 20%, seguido de LALA® con un 16%, y las marcas Alpura® y Chilchota® con un 12.5%, al igual que para el queso Artesanal. Estos cinco quesos mencionados representan cerca del 75% de las marcas más consumidas por las personas entrevistadas. En 2012 la producción de queso en general en México se concentró en las empresas de Grupo Chilchota® y Sigma Alimentos® Lácteos (Noche Buena®, Fud®, La Villita®) con una participación del 50% en conjunto. Marcas como Grupo LALA® (Los Volcanes®, Siluette®), Alpura® y La Esmeralda®, sumaron un 18% de la cuota del mercado (Hervás-Serra, 2012). Las marcas que se mencionaron más por los consumidores, coinciden con las empresas de mayor presencia en el sector quesero de México, ya que con menor porcentaje de mención también se encuentran quesos de las marcas Noche Buena® y La Esmeralda®.

Las siguientes preguntas que se realizaron a los consumidores, se enfocaron a la intención de compra de un queso con probióticos, así como la presentación deseada y la disposición de pago por 1 Kg del producto.



**Figura 7.7.2.III. Preguntas realizadas sobre disposición de consumo de queso funcional tipo panela (A), presentación preferida (B) y costo por kilogramo (C).**

Cerca del 97% de los consumidores estaría dispuesto a adquirir un queso con contenido probiótico, y aproximadamente el 63% prefiere la presentación de 225 g, pagando \$ 22.5 MXN por el producto. El precio seleccionado por los consumidores,

resulta ser cercano al costo de algunos quesos presentes en tiendas de autoservicio como se observa en la siguiente tabla.

**Tabla 7.7.2. Lista de precios de quesos comerciales tipo panela con distintas presentaciones.**

Queso	Presentación		
	200 g	400 g	1 Kg
<b>LALA®</b>	\$ 21.00	\$ 39.90	\$ 104.00
<b>Los Volcanes®</b>	\$ 27.00	-	\$ 115.00
<b>Alpura®</b>	-	\$ 38.90	-
<b>Esmeralda®</b>	\$ 19.50	\$ 37.50	\$ 96.00
<b>Noche Buena®</b>		\$ 45.00	\$ 124.00
<b>La Villita®</b>	\$ 20.50	\$ 38.50	\$ 105.00
<b>Caperucita®</b>	-	\$ 50.00	\$ 112.00
<b>Fud®</b>	\$ 21.50	\$ 39.90	\$ 120.00
<b>Noche Buena® panela queso cremoso</b>	-	\$ 49.00	-

\*Precio en moneda nacional a Junio del 2015.

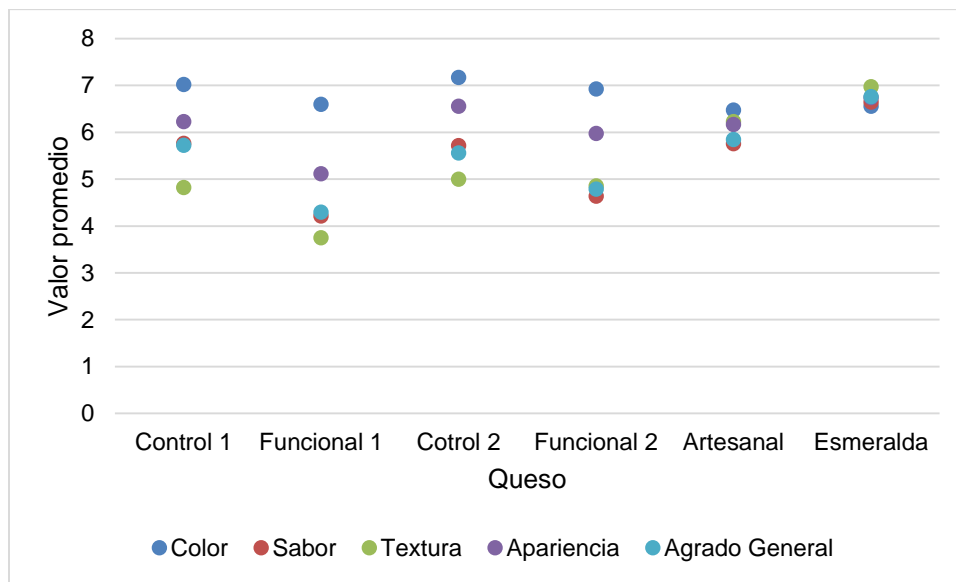
Se observa que el costo de \$100 por kilogramo de queso funcional, solo se encuentra por encima del queso de la marca Esmeralda®. Ninguno de los quesos de la lista contiene alguna variante en su proceso, como por ejemplo reducción de grasa, o en su composición. Por esta razón, se puede considerar un precio mayor en la adquisición final por el consumidor, debido al valor agregado por el probiótico. Cabe resaltar que el único queso de la lista con características distintas al resto, es el de la marca Noche Buena® denominado Panela Queso Cremoso. Donde una estimación del costo por kilogramo, con respecto al queso de la misma marca que no es cremoso, es de \$ 135.00 MXN exhibido para el consumidor.

La Revista del Consumidor No. 278 de Abril, publicado por la PROFECO (2000), en su apartado de Calidad de Quesos Panela, analizaron las marcas Noche Buena® y La Villita®, las cuales presentaron grasa vegetal en su composición. Los quesos deben estar elaborados con grasa propia de la leche, por lo tanto, la presencia de grasa vegetal, independientemente de su porcentaje, significa que el producto no es queso sino imitación, de acuerdo con lo que señala el Reglamento de Control

Sanitario de Productos y Servicios, de la Ley General de Salud (1999): «las imitaciones son los productos elaborados con ingredientes o procedimientos diversos a los usados en la producción de aquel que pretende imitar y cuyo aspecto sea semejante a este mismo».

**a) Nivel de agrado**

Con la finalidad de observar el comportamiento en que se distribuían las calificaciones de los consumidores en cada atributo, se graficaron los promedios obtenidos de las evaluaciones. En la figura 7.7.2.a.I se observa que el comportamiento de las calificaciones de los atributos de color y apariencia se encuentran cargados del centro hacia la parte alta de la escala. Mientras que para los atributos de sabor y textura, su distribución resulta ser más centralizada en la escala para los quesos elaborados.



**Figura 7.7.2.a.I. Promedios de cada queso de los atributos evaluados en el Nivel de Agrado.**

La figura 7.7.7.2.a.I muestra que los quesos elaborados en el atributo de color fueron evaluados mejor que el artesanal y el comercial, principalmente el queso control 2. El queso comercial recibió una mayor calificación para el atributo de apariencia, mientras que el queso funcional 1, fue la muestra con calificaciones más

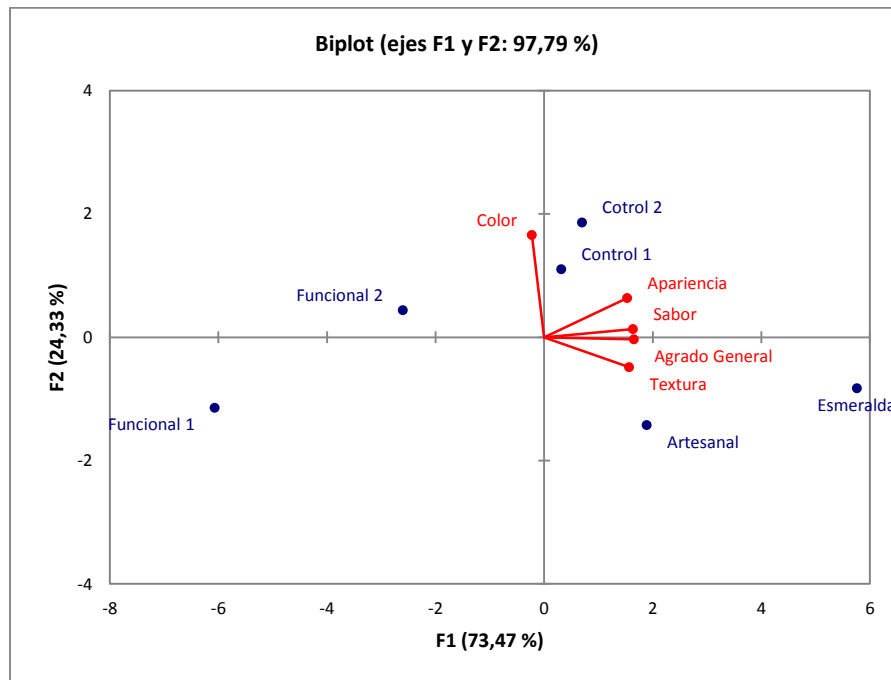
bajas. Se observa un comportamiento similar entre la evaluación del sabor y el agrado en general, esto podría deberse a que los consumidores se basaron en este atributo para evaluar su agrado generalizado. Los consumidores le asignaron las calificaciones más bajas al atributo de textura para los quesos elaborados, principalmente para el funcional 1.

Los resultados de las evaluaciones, del Nivel de Agrado por los 120 consumidores, se les realizaron ANOVAs para determinar si el comportamiento antes descrito presento diferencias significativas. A continuación se presenta la tabla 7.7.7.2.a, que resume los resultados entre las muestras evaluadas, en la cual se observa que todos los atributos presentaron diferencia significativa.

**Tabla 7.7.7.2.a. Resultados de los ANOVAs de la evaluación del Nivel de Agrado.**

<b>Atributo</b>	<b>Color</b>	<b>Sabor</b>	<b>Textura</b>	<b>Apariencia</b>	<b>Agrado en General</b>
<i>Muestras de Quesos</i>	P<0.05	P<0.05	P<0.05	P<0.05	P<0.05

Los datos promedios fueron analizados por PCA, para así determinar los atributos que, de acuerdo a la respuesta de los consumidores en el nivel de agrado, caracterizan a cada queso.

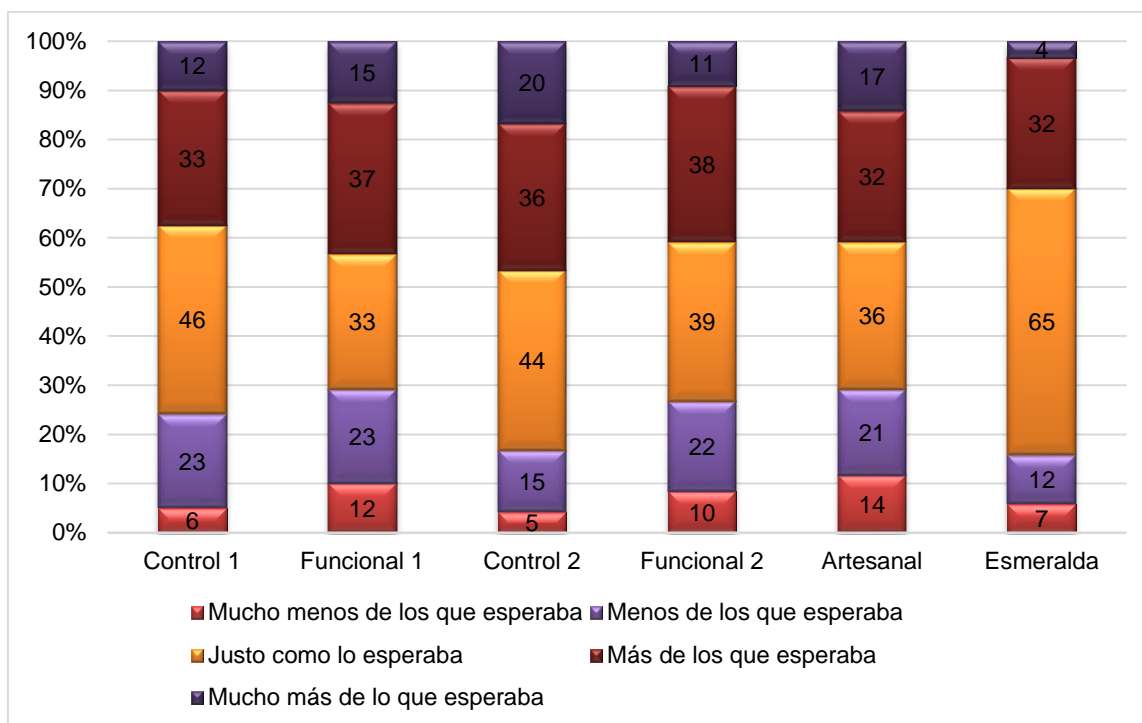


**Figura 7.7.2.a.II. Análisis de Componentes Principales para las 6 muestras de queso tipo panela con los promedios de los atributos evaluados en el Nivel de Agrado.**

Para el queso artesanal y el comercial, se observó que se caracterizan más por los atributos de textura y agrado en general, reforzando los resultados obtenidos por los jueces sensoriales. Mientras que para los quesos control, mostraron un mejor color y apariencia. Además, los atributos de textura y color no se encuentran correlacionados, como tal es el caso, entre el sabor y el agrado en general. Los quesos funcionales se encontraron por debajo de los promedios de los atributos, por lo que es recomendable trabajar en la textura para el funcional 2 y en la apariencia y sabor para el funcional 1.

#### **b) Justo como lo esperaba**

Para determinar la percepción de los consumidores acerca del salado de los quesos, se utilizó la prueba de “Justo Como lo Esperaba” con una escala de 5 puntos. Las respuestas fueron plasmadas en la siguiente gráfica, donde se muestra la frecuencia con que eligieron los consumidores los puntos de la escala.



**Figura 7.7.7.2.b. Distribución de la elección de los jueces en la percepción del salado en los quesos evaluados.**

De manera general las elecciones de los consumidores se distribuyeron en los puntos “Justo como lo esperaba” y “Más de lo que esperaba” en todos los quesos, representando en cada punto del 30% al 40% de las respuestas en cada queso (120 consumidores entrevistados). El queso comercial obtuvo más del 50% en el punto “Justo como lo esperaba”, siendo de manera gráfica el queso más cercano al salado ideal para los consumidores entrevistados.

Las calificaciones de los consumidores fueron sometidas a un ANOVA. En el cual se determinó que no existieron diferencias significativas entre las muestras.

**Tabla 7.7.7.2.b. Medias obtenidas de los quesos evaluados respecto al salado.**

Queso	Media	Queso	Media
Control 1	0.183	Funcional 2	0.15
Funcional 1	0.166	Artesanal	0.141
Control 2	0.425	Esmeralda	0.116

La tabla 7.7.2.b muestra las medias de las calificaciones de cada queso. Cabe recordar que se eligieron valores bipolares (de -2 a +2) para los puntos de la escala, por lo tanto, los puntos en donde se concentró la mayor elección tenían asignado un valor de 0 y +1 respectivamente. Se observa que resultaron ser muy similares, con promedios menores a 0.5, esto se debió a que la elección de la percepción del salado siempre se concentró en los valores centrales. Por lo tanto, se puede elegir cualquiera de las concentraciones de sal utilizadas (18% o 13%).

### 7.8. Análisis de perfil de textura

Se analizaron las repeticiones de TPA de cada muestra mediante ANOVA de una vía, para determinar cuáles muestras eran diferentes en los atributos de dureza, adhesividad, elasticidad, cohesividad y masticabilidad. La tabla 7.8.1 muestra los promedios de cada muestra e indica cuales presentan diferencia significativa.

**Tabla 7.8.1. Resultados de diferencia significativa para las muestras de queso tipo panela.**

Queso	Dureza (kgms <sup>-2</sup> )	Adhesividad (kgm <sup>2</sup> s <sup>-2</sup> )	Elasticidad	Cohesividad	Masticabilidad (kg)
<b>Control 1</b>	65.25 <sup>a</sup>	-13.10 <sup>a</sup>	0.53 <sup>a</sup>	0.45 <sup>a</sup>	16.12 <sup>a</sup>
<b>Funcional 1</b>	37.86 <sup>a</sup>	-3.77 <sup>a</sup>	0.45 <sup>a</sup>	0.56 <sup>a</sup>	10.51 <sup>a</sup>
<b>Control 2</b>	74.18 <sup>a</sup>	-2.27 <sup>a</sup>	0.53 <sup>a</sup>	0.57 <sup>a</sup>	22.39 <sup>a</sup>
<b>Funcional 2</b>	93.68 <sup>a</sup>	-3.87 <sup>a</sup>	0.64 <sup>ab</sup>	0.54 <sup>a</sup>	33.23 <sup>a</sup>
<b>Artisanal</b>	2,144.80	-8.69 <sup>a</sup>	0.82 <sup>bc</sup>	0.77 <sup>b</sup>	1,360.56
<b>Alpura</b>	3,789.67 <sup>b</sup>	-43.46 <sup>a</sup>	0.84 <sup>bc</sup>	0.76 <sup>b</sup>	2,428.09 <sup>b</sup>
<b>Esmeralda</b>	1,315.06 <sup>c</sup>	-19.91 <sup>a</sup>	0.85 <sup>c</sup>	0.78 <sup>b</sup>	878.41 <sup>c</sup>
<b>Caperucita</b>	4,283.60 <sup>b</sup>	-24.80 <sup>a</sup>	0.84 <sup>c</sup>	0.76 <sup>b</sup>	2,765.04 <sup>b</sup>
<b>Los Volcanes</b>	3,083.16	-67.21 <sup>a</sup>	0.84 <sup>c</sup>	0.75 <sup>b</sup>	1,985.64
<b>LALA</b>	1,456.32 <sup>c</sup>	-14.33 <sup>a</sup>	0.82 <sup>bc</sup>	0.76 <sup>b</sup>	925.59 <sup>c</sup>

\*Las letras iguales en superíndice indican que las muestras no presentan diferencia significativa

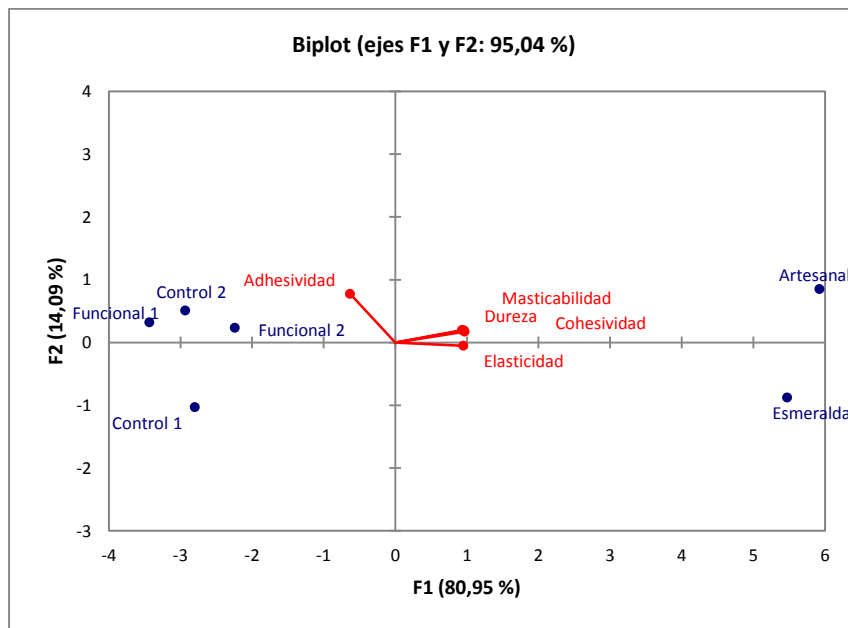
\*Ausencia de letras en superíndice indican que las muestras son distintas al resto

La tabla muestra que el atributo de adhesividad fue el único en donde no existió diferencia entre todas las muestras. El queso funcional 2 en el atributo de elasticidad fue diferente solo de los quesos comerciales Esmeralda, Caperucita y Los Volcanes. Los atributos de masticabilidad y dureza fueron en los que más diferencias



significativas mostraron las muestras, pero con una clara diferencia entre los quesos elaborados y los quesos comerciales. El queso artesanal así como Los Volcanes fueron los únicos distintos al resto de las 9 muestras en los atributos de dureza y masticabilidad.

Los resultados promedio de las repeticiones de los análisis de textura de los quesos elaborados, del artesanal y el de la marca Esmeralda®, se sometieron a un PCA (Figura 7.8.1) para determinar cuáles eran los atributos que caracterizan a cada muestra de acuerdo a los resultados del TPA.



**Figura 7.8.1. Análisis de Componentes Principales para los resultados promedio de TPA de las muestras de queso tipo panela.**

En el PCA (figura 7.8.1), se observa que los componentes generados (F1 y F2) explican un alto porcentaje de la variabilidad, con un valor de 95.04%. La adhesividad sigue siendo característica para los quesos elaborados, como sucedió en el QDA. Esta característica, debe ser aportada por el contenido de humedad y para el caso de los funcionales, el contenido de EPS. La dureza y cohesividad presentaron una completa relación, es por ello que provocó que la masticabilidad se comportara de la misma forma, ya que este último es el resultado del producto de los dos primeros. Estos atributos junto con la elasticidad, resultaron ser más

característicos del queso artesanal y en seguida del queso Esmeralda®. De acuerdo a la orientación de los vectores, el atributo de adhesividad no mostró una correlación con el resto de los atributos, debido a que presenta un ángulo cercano a 90°.

### 7.9. Análisis instrumental de color de los quesos

Para los objetos con superficies brillantes, la luz reflejada especularmente es relativamente fuerte y la luz difusa es más débil. En superficies rugosas con bajo brillo, el componente especular es débil y la luz difusa es más fuerte. Cuando una persona ve un objeto de plástico con una superficie brillante en el ángulo especular, el objeto no parece ser tan azul. Esto se debe a que la reflectancia tipo espejo de la fuente de luz se añade al color de la muestra. Normalmente, una persona observa el color del objeto e ignora la reflexión especular de la fuente de luz. Para medir el color de un espécimen del mismo modo que se ve, la reflectancia especular deberá excluirse y sólo deberá medirse la reflectancia difusa (Konica Minolta).

La siguiente tabla muestra los valores promedios de cada queso en el espacio de color L\*C\*h para el componente especular excluido (SCE), indicando cuales muestras no presentan diferencia significativa.

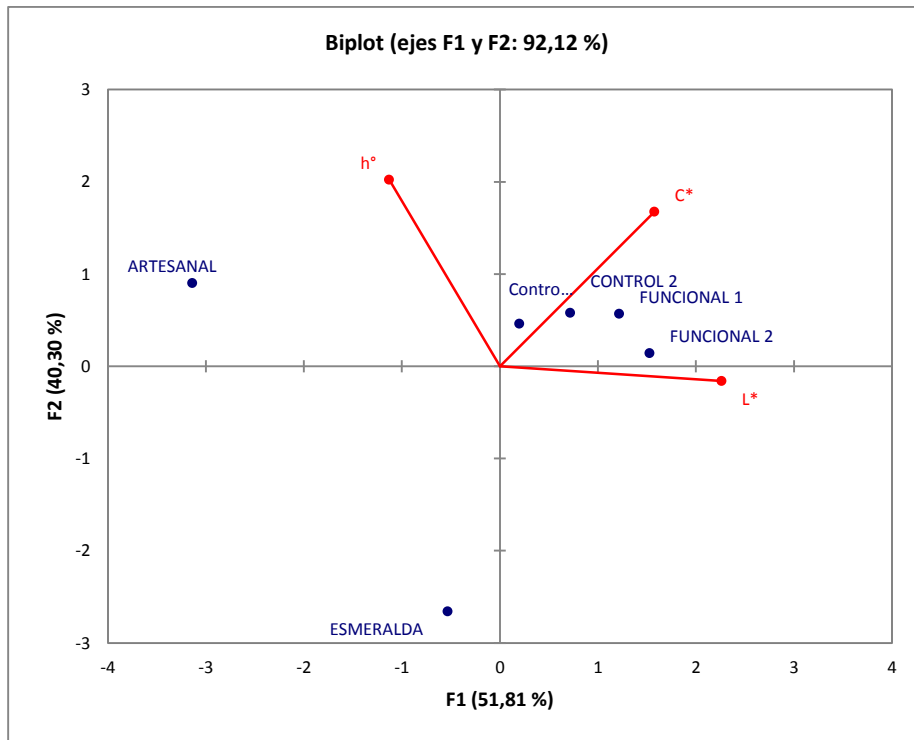
**Tabla 7.9. Resultados promedio de los quesos en los parámetros L\*C\*h de colorimetría con SCE.**

Queso		L*	C*	h
<b>Control 1</b>	A	93.71 <sup>bcdgj</sup>	13.87 <sup>bcdefghij</sup>	92.17 <sup>bce</sup>
<b>Funcional 1</b>	B	93.45 <sup>acdgi</sup>	14.54 <sup>acdehj</sup>	91.19 <sup>acdj</sup>
<b>Control 2</b>	C	93.97 <sup>abd</sup>	14.06 <sup>abdefghij</sup>	92.03 <sup>ace</sup>
<b>Funcional 2</b>	D	93.85 <sup>ab</sup>	14.40 <sup>abcehj</sup>	90.91 <sup>bj</sup>
<b>Artisanal</b>	E	90.82 <sup>fh</sup>	13.52 <sup>abcdfgij</sup>	93.06 <sup>ac</sup>
<b>Alpura</b>	F	90.71 <sup>eh</sup>	13.00 <sup>acegij</sup>	89.72 <sup>gj</sup>
<b>Esmeralda</b>	G	92.94 <sup>abcdgij</sup>	12.92 <sup>acefij</sup>	89.70 <sup>fi</sup>
<b>Caperucita</b>	H	90.51 <sup>ef</sup>	15.09 <sup>abcd</sup>	88.25
<b>Los Volcanes</b>	I	92.33 <sup>bgj</sup>	13.03 <sup>acefgj</sup>	86.59
<b>LALA</b>	J	92.58 <sup>abgi</sup>	13.56 <sup>abcdefgi</sup>	90.26 <sup>fg</sup>

\*Las letras en superíndice indican con que muestras no presentan diferencia significativa

\*Ausencia de letras en superíndice indican que las muestras son distintas al resto

Las muestras de queso tipo panela, de manera general mostraron una tonalidad dirigida al color amarillo, con una baja saturación (valores bajos de croma) y una luminosidad alta. Siendo el control 2 y el funcional 2, las muestras que presentaron los valores más altos de luminosidad, mientras que el queso Caperucita®, fue el del promedio más alto para la saturación de color. Enseguida se muestra el PCA de los promedios de los quesos elaborados, del queso artesanal y el de la marca Esmeralda®.



**Figura 7.8.1. Análisis de Componentes Principales para los resultados promedio de Colorimetría de las muestras de queso tipo panela.**

Los quesos elaborados tuvieron un comportamiento similar con una mayor luminosidad, pero los quesos controles presentaron una mayor saturación hacia el amarillo. En este caso, el queso comercial se encontró alejado de los tres atributos de color, con una relación negativa hacia la saturación. La luminosidad, parece no relacionarse demasiado con la saturación, como pasa entre la saturación y la tonalidad. Mientras que la luminosidad parece correlacionarse de manera negativa con la tonalidad de las muestras.

### 7.10. Análisis factorial múltiple (MFA)

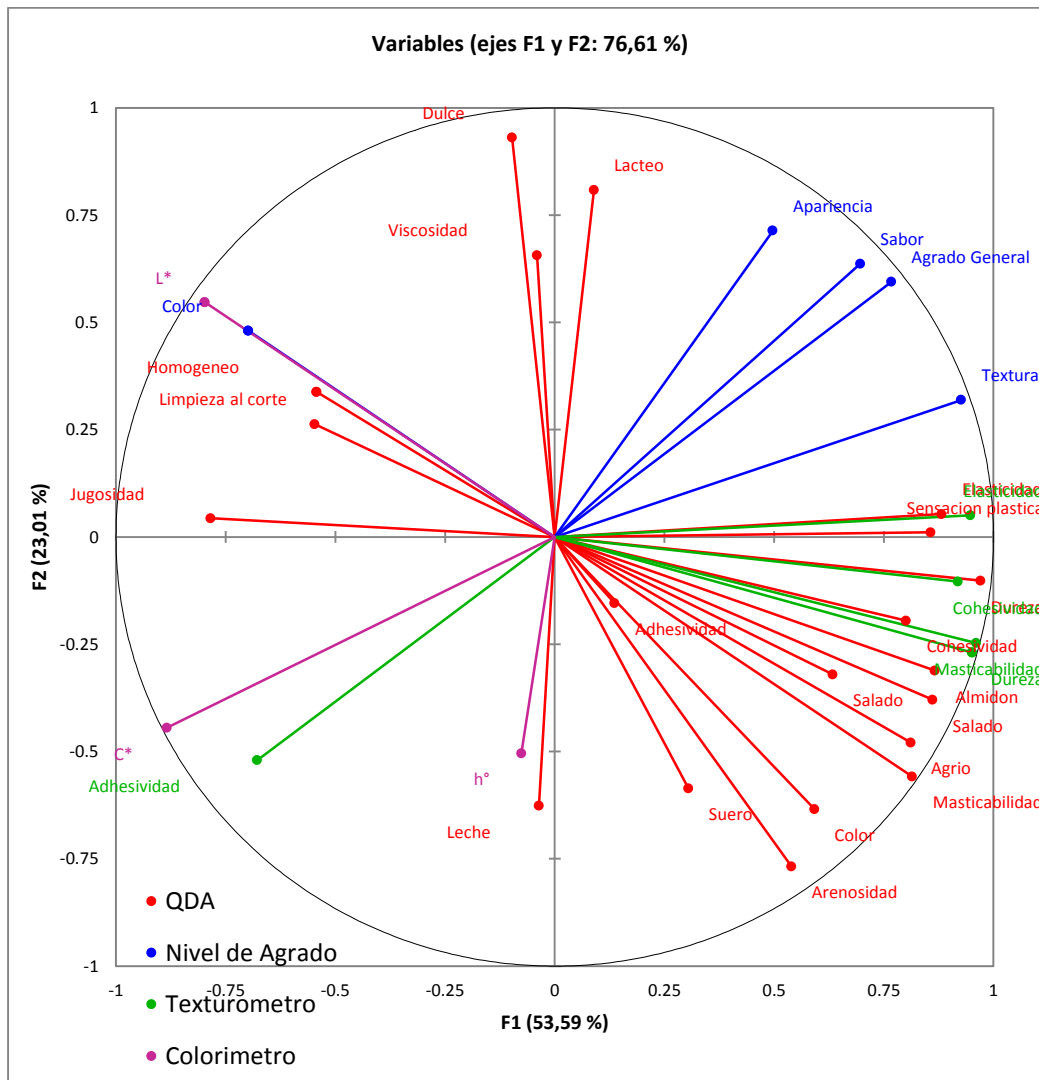
Se realizó el MFA para las 4 pruebas antes descritas (QDA, nivel de agrado, análisis de perfil de textura y análisis instrumental de color), para conocer la relación de cada una de acuerdo al queso en estudio.

**Tabla 7.10. Coeficientes RV de las pruebas sensoriales e instrumentales realizadas.**

	QDA	Nivel de Agrado	Texturómetro	Colorímetro	AFM
QDA	1.000	0.505	0.741	0.632	0.834
Nivel de Agrado	0.505	1.000	0.671	0.600	0.801
Texturómetro	0.741	0.671	1.000	0.758	0.918
Colorímetro	0.632	0.600	0.758	1.000	0.883
AFM	0.834	0.801	0.918	0.883	1.000

De acuerdo a los coeficientes RV (tabla 7.10), se observó que el QDA guardo una mayor relación con las pruebas instrumentales de textura y color. Mientras que para la prueba del nivel de agrado la mayor correlación lo tiene con el análisis de textura.

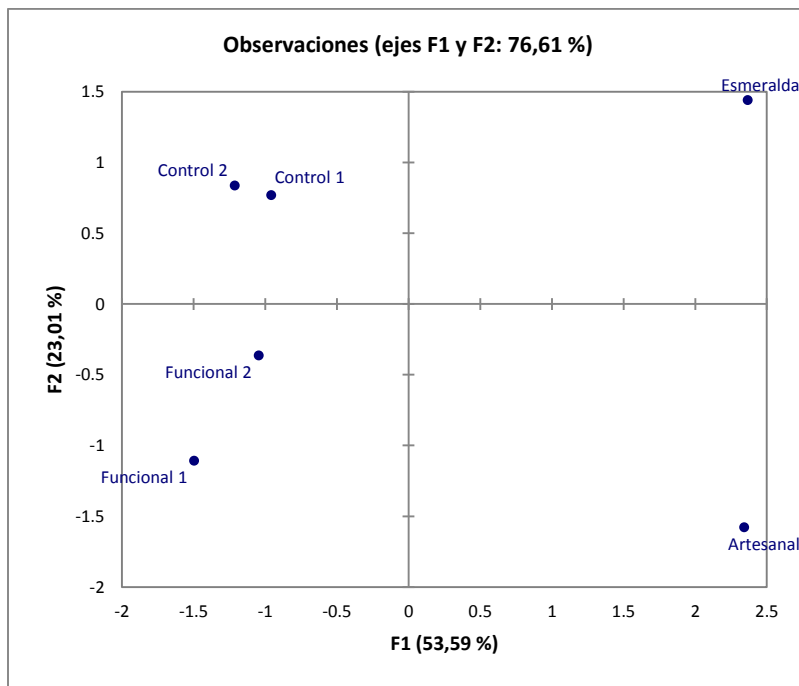
La prueba del nivel de agrado es la menos relacionada con el resto de las pruebas realizadas, de acuerdo a los valores de los coeficientes de RV arrojados por el MFA. Para obtener una mayor relación entre el nivel de agrado y el QDA, es necesario descomponer este último en un QDA para cada uno de los atributos evaluados (textura, sabor, apariencia y olor), y así observar con cuales se presenta mayor relación.



**Figura 7.10.a. Correlaciones de los atributos de cada una de las pruebas realizadas (QDA, Nivel de Agrado, Análisis de Perfil de Textura y Análisis Instrumental de Color).**

La figura 7.10.a, muestra que efectivamente existe una correlación cercana entre la evaluación del atributo de textura por el panel de jueces entrenados (QDA), por el nivel de agrado con consumidores y con el análisis realizado por el texturómetro. Al comparar la ubicación de los vectores referentes a la textura con la posición de los quesos (Figura 7.10.b), se observa que se encuentran dirigidos hacia el queso comercial y al artesanal. Los vectores correspondientes a las evaluaciones de textura, presentan una relación inversa a la luminosidad y sin correlación con el

ángulo del tono y con la croma. También, existe una relación negativa de la textura con la evaluación del color en el Nivel de Agrado. De acuerdo a la posición de los quesos elaborados (Figura 7.10.b), los descriptores limpieza al corte, homogéneo, color y luminosidad, se orientan a los quesos controles. Los descriptores que caracterizan plenamente a los quesos funcionales son la adhesividad y el descriptor croma. El queso funcional 2 tiene gran cercanía hacia el descriptor de jugosidad. Además, los quesos funcionales se correlacionan negativamente con casi toda la prueba de nivel de agrado.



**Figura 7.10.b. Posicionamiento de los quesos sometidos al Análisis Factorial Múltiple.**

## 8. Conclusiones

El incremento en la concentración de sólidos totales (20%) favoreció la producción de EPS con una temperatura cinco grados mayor a la ideal de crecimiento de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCFB 2772 (42°C) al dejarse incubar durante 4 horas, lo que se vio reflejado de manera directa en un aumento importante de la viscosidad.

Mediante la observación del queso con el microscopio electrónico de barrido, se comprobó la presencia y la interacción del EPS con la estructura del queso y con las bacterias presentes.

El proceso de elaboración seleccionado del queso funcional tipo panela asegura un mayor rendimiento en su producción (18% de aumento) y cumple con el requisito establecido por la FAO del contenido de probióticos ( $1 \times 10^6$  a  $10^7$  ufc/g) para alimentos funcionales.

Mediante el análisis de componentes principales de los resultados del análisis descriptivo cuantitativo, se determinó que los descriptores que caracterizan al queso control y al queso funcional tipo panela son limpieza al corte, homogéneo, viscosidad, sabor lácteo, dulce, jugosidad y aroma a leche. Además de ser característicos por los parámetros medidos por el análisis instrumental de color.

La composición del queso funcional influyó directamente en la evaluación de la textura en el QDA, en el TPA y en la prueba de Nivel de Agrado.

El PCA del análisis factorial múltiple mostró una estrecha relación y un comportamiento similar en las pruebas durante la evaluación de la textura.

## 9. Perspectivas y recomendaciones

- ❖ Aunque la dureza del queso funcional tipo panela mejoró, aún presenta diferencias con respecto de la mayoría de los quesos comerciales evaluados y del queso artesanal, por lo que es necesario favorecer aún más el desuerado.
- ❖ A pesar de que la suavidad en los quesos funcionales es muy característico, esta puede ser disminuida ejerciendo un prensado más severo, sacrificando el rendimiento de éstos.
- ❖ Si lo que se desea es mantener el rendimiento, que se vio favorecido bajo las condiciones evaluadas, se pueden probar los espesantes autorizados bajo la NOM-121-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Quesos: Frescos, Madurados y Procesados. Especificaciones Sanitarias.
- ❖ Si se prefiere mantener la formulación de los quesos funcionales lo más naturales posibles, se recomienda favorecer la característica de la suavidad hacia una mayor cremosidad o untabilidad, y compararlo contra quesos similares en las evaluaciones sensoriales, como por ejemplo, con el queso Noche Buena® Panela Queso Cremoso, para obtener mejores notas por los jueces y consumidores. Por consiguiente, promocionarlo con un Queso Funcional Tipo Panela Cremoso.
- ❖ Se puede direccionar el producto hacia un mercado de personas que no tengan muy arraigadas las características del queso tipo panela y que estén acostumbradas a consumir productos madurados por bacterias lácticas. Debido a las modificaciones en textura y sabor que provocan la presencia de estas.
- ❖ De acuerdo a las respuestas de los consumidores, el precio con el cual se sienten más cómodos ronda los \$100 por kilogramo de producto. Este precio se puede incrementar en los quesos elaborados, debido a que por tratarse de un alimento funcional, esto le proporciona un valor agregado al producto. Además de que el precio de los quesos normales, es de manera general mayor a lo elegido por los consumidores.
- ❖ Si se desea continuar con el mejoramiento del queso funcional tipo panela, se recomienda realizar pruebas *in vivo* con personas que consuman el producto y de las cuales la mitad tengan una dieta controlada, realizando monitoreos con pruebas clínicas, con la finalidad de comprobar la viabilidad del probiótico *L. rhamnosus* GG.



## 10. Referencias

- Alais**, C. 1991. Ciencia de la Leche. Principios de Técnica Lechera. Editorial Continental. Pág. 478.
- Alvídrez**-Morales, A., González–Martínez, B., Jiménez–Salas, Z., 2002. Tendencias en la producción de alimentos: alimentos funcionales. Revista de la Facultad de Salud Pública y Nutrición. Universidad Autónoma de Nuevo León (México). 3 (3). Disponible en: [http://www.respyn.uanl.mx/iii/3/ensayos/alimentos\\_funcionales.html](http://www.respyn.uanl.mx/iii/3/ensayos/alimentos_funcionales.html).
- Alves**, L., Richards, N., Mattana, P., Andrade, D. Rezer, A., Milani, L., Cruz, A. Faria, J. 2013. Cream cheese as a symbiotic food carrier using *Bifidoobacterium animalis* Bb-12 and *Lactobacillus acidophilus* La-5 and inulin. *Int. J. Dairy Technol.* 66 (1).
- Badui**-Dergal, S. 2006. Química de los Alimentos. Editorial Pearson Educación. México. Págs. 15-16.
- Bouzaine** T., Dauphin R. D., Thonart P., Urdaci, M., Hamdi M. 2005. La adherencia y las propiedades de colonización de *Lactobacillus rhamnosus* TB1, un aislado de pollos de engorde. *Las letras en Microbiología Aplicada.* 40 (5): 391-396. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1472-765X.2005.01684.x/full>.
- Boza**, E., Morales, I., Henderson, M. 2010. Desarrollo de un queso maduro con adición del cultivo probiótico *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* LC-01. *Rev. Chil. Nutr.* 37 (2).
- Chervaux**, C., Ehrlich, S. y Maguin, E. 2000. Physiological study of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* strains in a novel chemically defined medium. *Appl. Environ. Microbiol.* 66 (12):5306-5311.
- De Vuyst**, L., Degeest, B. 1999. Heteropolysaccharides from lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Res.* 23:153-177.
- Domínguez**-Soberanes, J. 1997. Caracterización reológica y de textura de un producto fermentado por *L. delbrueckii* ss. *bulgaricus* BCFB 2772. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa. División de Ciencias Biológicas y de la Salud.
- Escalona**-Buendía, H. 1995. Evaluación estadística de metodologías para pruebas sensoriales a través de estudios de caso. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa. División de Ciencias Biológicas y de la Salud.
- Escobar**, M., Van Tassell, M., Martínez-Bustos, F. Singh, M., Castaño-Tostado, E., Amaya-Llano, S., Miller, M. 2012. Characterization of a Panela cheese with added probiotics and fava vean starch. *J. Dairy Sci.* 95:2779-2787.

- Escobedo**-García, I. 2010. Percepción gustativa salina provocada por NaCl otras sales en bebidas no alcohólicas y queso panela. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Química.
- FAO/OMS**. 2008. Leche y productos lácteos. 2da Edición. Norma general del Codex para el queso. *Codex Stan 283-1978*. Revisión 1999. Enmienda 2006.
- Frazier**, W. 1993. Microbiología de los Alimentos. Editorial Acribia. Pág. 51.
- Gamar**-Nourani, L., Blondeau, K., Simonet, J. 1998. Influence of culture conditions on exopolysaccharide production by *Lactobacillus rhamnosus* strain C83. *J. Appl. Microbiol.* 85:664-672.
- Grobben**, G., Van Casteren, W., Schols, H., Oosterveld, A., Sala, G., Smith, M., Sikkema, J., De Bont, J. 1997. Analysis of the exopolysaccharides produced by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCFB 2772 grown in continuous culture on glucose and fructose. *Appl. Environ. Microbiol.* 48:516-521.
- Grobben**, G., Joe, I., Kitzen, V., Boels, I., Boer, F., Sikkema, J., Smith, M., Jam de Bont. 1998. Enhancement of Exopolysaccharide Production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* NCFB 2772 with a Simplified Defined Medium. *Appl. Environ. Microbiol.* 64 (4) 1333-1337.
- Hassan**, N. 2008. Possibilities and challenges of exopolysaccharide-producing lactic cultures in dairy foods. *Jt Meet Abstr Am Dairy Sci Assoc.* 91: 1282-1298.
- Hervás**-Serra, Ana. 2012. El Mercado del queso en México. Oficina Económica y Comercial de la Embajada de España en México. Pág. 9.
- Jiménez**-Guzmán, J., Flores-Nájera, A., Cruz-Guerrero, A., García-Garibay, M. 2009. Use of an exopolysaccharide-producing strain of *Streptococcus thermophilus* in the manufacture of Mexican Panela cheese. *Food Sci. Technol.* 42: 1508-1512.
- Kailasapathy**, K. 2006. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yogurt. *LWT-Food Sci. Technol.* 39: 1221-1227.
- Karimi**, R., Mohammad-Mortazavian, A., Gomes-Da Cruz, A. 2011. Viability of probiotic microorganisms in cheese during production and storage: a review. *Dairy Sci. Technol.* 91: 283-308
- Keating**, P., Gaona-Rodríguez H. 2005. Introducción a la Lactología. Editorial Limusa. 2da Edición. Pág. 167.
- Kimmel**, S. A. y Roberts, R. F. 1998. Development of a growth medium suitable for exopolysaccharide production by *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* RR. *Int. J. Food Microb.* 40 (1-2):87-92.

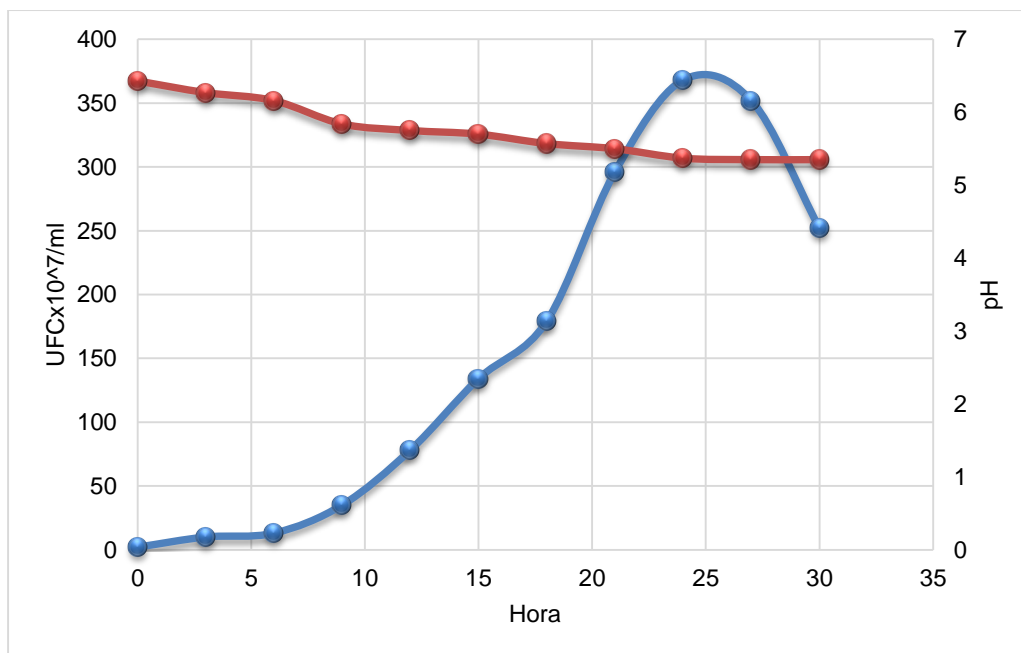
- Kneifel**, W., Salminen, S. 2011. Probiotics and Health Claims. Editorial Wiley-Blackwell. UK. Págs. 143, 173, 179, 185, 187, 193.
- Konica** Minolta. 2003. Comunicación precisa de los colores. Disponible en: <http://www2.konicaminolta.eu/eu/Measuring/pcc/es/>
- Lluis**-Arroyo, D. 2012. Efecto de los exopolisacáridos producidos por *Streptococcus thermophilus* en la elaboración de queso tipo manchego. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa. División de Ciencias Biológicas y de la Salud.
- López**, A., de Palacio, M., Muñoz, C., Larrán, J., García, N., García, F., Martín, A. 2006. Histología especial humana. Manual de Prácticas. Editorial Servicio de publicaciones de la Universidad de Cádiz. Págs. 146-147.
- Mahmoudi**, R., Tajik, H., Ehsani, A., Farshid, A., Zare, P., Hadian, M. 2013. Effects of *Mentha longifolia* essential oil on viability and cellular ultrastructure of *Lactobacillus casei* during ripening of probiotic Feta cheese. *Int. J. Dairy Technol.* 66 (1).
- Malagón**-García, O. 2013. Estudio del efecto protector del exopolisacárido de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCFB 2772 sobre *L. rhamnosus* GG, en la fabricación de queso funcional tipo panela, evaluando sus atributos estructurales, mecánicos y sensoriales. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa. División de Ciencias Biológicas y de la Salud.
- Mozzi**, F., Savoy, G., Oliver, G. Font de Valdez, G. 1995. Exopolysaccharide production by *Lactobacillus casei*. II. Influence of carbon source. *Milchwissenschaft-Milk Sci. Int.* 50 (6) 307-309.
- Narayanan**, N., Roychoudhury, P., Srivastava A. 2004. Isolation of *Lactobacillus rhamnosus* ADH mutant for the production of L (+) lactic acid. *Electron. J. Biotechnol.* 7(1): 72- 84.
- NOM-121-SSA1-1994**. Bienes y servicios. Quesos: frescos, madurados y procesados. Especificaciones sanitarias.
- París**-Ripoll, X, 2009. Obtención de exopolisacáridos de interés industrial a partir del lactosuero y permeatos. Universidad de Granada, Facultad de Farmacia, Departamento de Microbiología. Pág. 18.
- Pedrero**, D., Pangborn, R. 1989. Evaluación sensorial de los alimentos: métodos analíticos. Editorial Alhambra. Págs. 103-105.
- Petry**, S., Furlan, S., Crepeau, J., Cerning, J. y Desmazeaud, M. 2000. Factors affecting exopolysaccharide production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* grown in a chemically defined medium. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:3427-3431.

- Piña-Suarez**, M. 2012. Producción de compuestos volátiles y evaluación sensorial de queso tipo panela incorporado con *Lactococcus lactis* UQ2 rif L+ como cultivo protector. Universidad Autónoma de Querétaro. Facultad de Química.
- PROFECO**. Abril del 2000. Revista del Consumidor No. 278. Calidad de Queso Panela. Disponible en: [http://www.profeco.gob.mx/revista/pdf/est\\_00/quesos.pdf](http://www.profeco.gob.mx/revista/pdf/est_00/quesos.pdf)
- Ramírez-López**, C., Velez-Ruiz, J. 2012. Quesos Frescos: propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos 6-2: 131-148.
- Ramos**, L., Gallardo, Y., Ortega, O., Del Real, E., Paz, T. (2005). Elaboración de queso crema probiótico (*L. casei*), bajo en grasa, adicionado con inulina y saborizado. In VII Congreso Nacional de Ciencia de los Alimentos y III Foro de Ciencia y Tecnología de Alimentos. 55-62.
- Reglamento** de Control Sanitario de Productos y Servicios, de la Ley General de Salud
- Rodríguez-Cervantes**, I., Saldaña-Valerio, E., García-Almendárez, B., Regalado-González, C. 2012. Sobrevivencia de dos bacterias probióticas en dos quesos frescos mexicanos deslactosados: Panela y Oaxaca. Mundo lácteo y cárnico. Universidad Autónoma de Querétaro. Nov-Dic.
- Saavedra**, M. 2001. Clinical applications or probiotics agents. *Am. J. Clin. Nutr.* 73:1147-1151.
- SAGARPA**. Elaboración de quesos tipo panela y Oaxaca. Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/desarrolloRural/Documents/fichasaapt/Elaboraci%C3%B3n%20de%20quesos.pdf>
- Sancho**, J., Bota, E., de Castro, J. 1999. Introducción al análisis sensorial de los alimentos. Editorial Universitat de Barcelona. Págs. 145-146.
- Saxelin**, M., Lassig, A., Karjalainen, H., Tynkkynen, S., Surakka, A., Vapaatalo, H., Järvenpää, S., Korpela, R., Mutanen, M., Hatakka, K. 2010. Persistence of probiotic strains in the gastrointestinal tract when administered as capsules, yoghurt, or cheese. *Int. J. Food Microb.* 144: 293-300.
- Sepúlveda**, J., Londoño, M., Hernández, A. 2010. Desarrollo de quesos frescos con la adición del cultivo probiótico *Lactobacillus casei*. Ciencia y Tecnología de los Alimentos. 20 (3).
- Solís-Méndez**, A., Estrada-Flores, J., Castelán-Ortega, O. 2013. A study on the texture diversity of the Artisan Ranchero Cheese from Central México. *Int. J. Dairy Technol.* 66 (1).
- Stone**, H., Sidel, J. 2004. Sensory Evaluation Practices. Editorial Elsevier. 3ra edición. Pág.92.

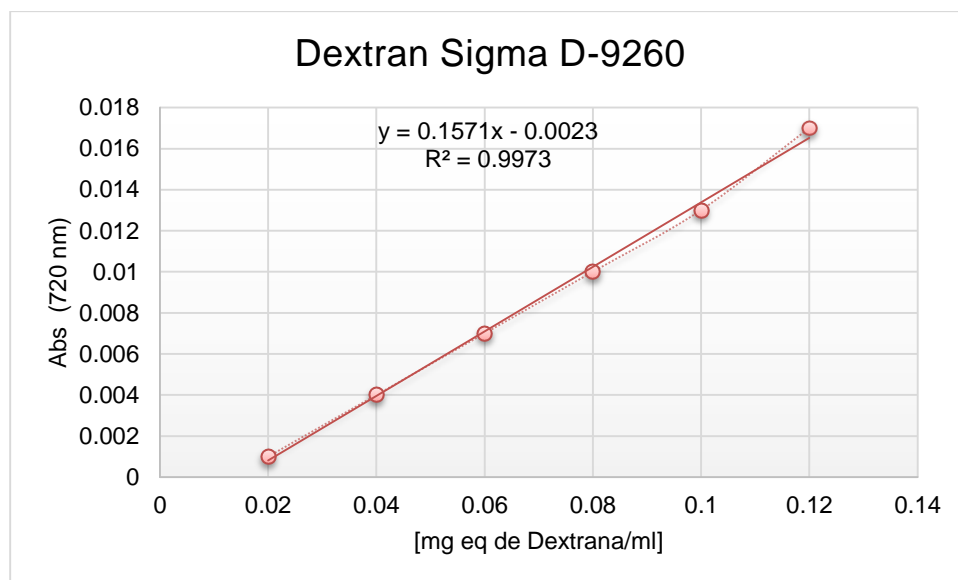
- Trancoso**-Reyes, N., Gutiérrez-Méndez, N., Sepúlveda, D., Hernández-Ochoa, L. 2013. Assessing the yield, microstructure, and texture properties of miniature Chihuahua-type cheese manufactured with a phospholipase A1 and exopolysaccharide-producing bacteria. *J. Dairy Sci.* 97(2):598-608.
- Villegas** de Gante, A. 2003. Los quesos mexicanos. Universidad Autónoma Chapingo. 2da edición. Págs 115-119.
- Zhang**, Q., Yang, B., Brashears, M., Yu, Z., Zhao, M., Liu, N., Li, Y. 2014. Influence of casein hydrolysates on exopolysaccharide synthesis by *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. *J. Sci. Food Agric.* 94:1366-1372.

## 11. Anexos

### 11.2. Curva de crecimiento de *L. rhamnosus* GG



### 11.3. Curva patrón de dextrana





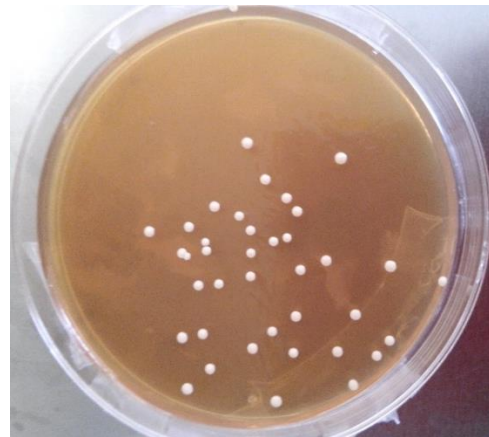
**11.4. Crecimiento en placa de agar MRS de las colonias de Lactobacilos.**

***L. delbrueckii* sbsp. *bulgaricus***

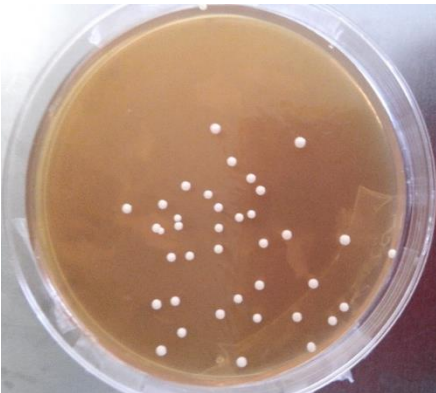
**NCFB 2772**



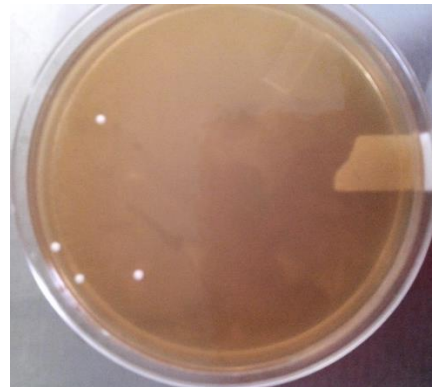
***L. rhamnosus* GG**



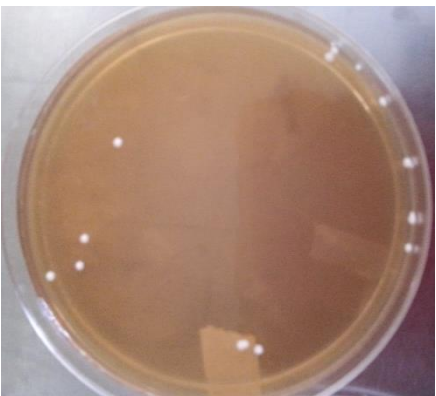
**Crecimiento de LR en el Queso Funcional**



Cuajo



30 días



15 días



## 11.5. Cuestionario de pruebas afectivas

### CUESTIONARIO DE NIVEL DE AGRADO DE QUESO TIPO PANELA

#### INVITACIÓN

El día de hoy estamos realizando un estudio sobre queso tipo panela y nos gustaría contar con su opinión, ¿sería usted tan amable de apoyarme contestando unas breves preguntas? Le recuerdo que su opinión es muy importante para el estudio que estamos realizando.

Nombre (opcional):

Edad:

Género: M F

Dedicación:

Marque (X) la o las opciones que

1. ¿Con que frecuencia acostumbra consumir queso tipo panela?

- De 2 a 3 veces por semana ..... ( )
- Una vez por semana ..... ( )
- Una vez cada dos semanas ..... ( )
- Una vez cada tres semanas ..... ( )
- Una vez al mes ..... ( )
- Una vez cada 2 o 6 meses ..... ( )

2. ¿Cuál es la marca que regularmente acostumbra consumir queso tipo panela?

- Aguascalientes ..... ( )
- Alpura ..... ( )
- Chilchota ..... ( )
- Ixtacalco ..... ( )
- Caperucita ..... ( )
- Chalet ..... ( )
- Santa Clara ..... ( )
- Esmeralda ..... ( )
- Noche Buena ..... ( )
- Nor-Mex ..... ( )
- LALA ..... ( )
- Chen ..... ( )
- Montañas ..... ( )
- Bugambilia ..... ( )
- Los Volcanes ..... ( )
- San Agustín ..... ( )
- San Julián ..... ( )
- Artesanal ..... ( )
- Otro (ESPECIFICAR) \_\_\_\_\_
- Otro (ESPECIFICAR) \_\_\_\_\_

3. ¿Cómo acostumbra consumir el queso tipo panela?

- Botana ..... ( )
- Sándwich y/o torta ..... ( )
- Ensaladas ..... ( )
- Guisado ..... ( )
- Otro (ESPECIFICAR) \_\_\_\_\_

4. ¿Usted estaría dispuesto a consumir queso tipo panela con probióticos?

Sí No

4a. ¿Cuál marca de queso tipo panela con probióticos ha visto?

5. ¿Qué tipo de presentación estaría usted dispuesto a comprar del queso tipo panela con probióticos?

225 g 400 g 1 Kg a granel

6. ¿Cuánto estaría dispuesto a pagar por un kg de queso tipo panela con probióticos?

\$ 82 \$ 100 \$ 120

### EVALUACIÓN DE LOS PRODUCTOS

Frente a usted se presentan seis muestras de queso tipo panela. Inicie probando la muestra de la izquierda e indique cuanto le gusta la muestra con base en los atributos de color, sabor, textura, apariencia y agrado en general. ENJUAGUESE con agua al terminar de evaluar la muestra o si lo prefiere coma un trozo de galleta.

Por favor indique ¿Qué tanto le gustó cada atributo del producto que acaba de probar? En una escala del 1 al 9, donde el 9 significa que le gustó muchísimo y 1 que le disgustó muchísimo (Ver tabla 1); coloque el número que corresponda a su agrado en la Tabla 2.

Una vez evaluada la primera muestra, siga el mismo procedimiento para evaluar el resto de las muestras de izquierda a derecha.

Tabla 1.

Me gustó muchísimo	Me gustó mucho	Me gustó	Me gustó un poco	Ni me gustó ni me disgustó	Me disgustó un poco	Me disgustó	Me disgustó mucho	Me disgustó muchísimo
9	8	7	6	5	4	3	2	1

Tabla 2.

Muestra	Color	Sabor	Textura	Apariencia	Agrado en general
654					
002					
458					
540					
777					
094					

Con base en la tabla 3, indique en la tabla 4 el número que usted considere más adecuado a su percepción con respecto al salado de cada una de las muestras.

Tabla 3.

¿Qué tan salado le parece el producto?

<b>2</b>	Mucho más de los que esperaba
<b>1</b>	Más de los que esperaba
<b>0</b>	Justo como lo esperaba
<b>-1</b>	Menos de lo que esperaba
<b>-2</b>	Mucho Menos de lo que esperaba

Tabla 4.

<b>Muestra</b>	<b>El salado es</b>
<b>654</b>	
<b>002</b>	
<b>458</b>	
<b>540</b>	
<b>777</b>	
<b>094</b>	

**GRACIAS POR PARTICIPAR!!!**

**11.6. Listas de descriptores generados y frecuencias de menciones generados por el panel de jueces.**

ALPURA							
APARIENCIA		OLOR		SABOR		TEXTURA	
ATRIBUTOS	F	ATRIBUTOS	F	ATRIBUTOS	F	ATRIBUTOS	F
Brilloso	11	Leche	6	Salado	11	Elástico	6
Liso	6	Lácteo	5	Leche	4	Suave	5
Firme	5	Suero	4	Suero	3	Firmeza	4
Amarillo	4	Acido	2	Dulce	3	Firme	4
Homogéneo	4	Fresco	2	Acido	3	Cohesivo	4
Húmedo	4	Crema	2	Fresco	2	Dureza	4
Suave	4	Fresco	1	Lácteo	2	Húmedo	3
Jugoso	3	Suave	1	Acido	2	Adhesivo	3
Fresco	3	Queso	1	Salado	1	Duro al tocar	3
Color blanco	3	Suero de leche	1	Resabio a leche	1	Gomoso	3
Color beige	2	Inodoro	1	Sal	1	Rechina en los dientes	2
Duro	2	Característico de queso	1	Crema	1	Liso	2
Blanco	2	Manteca	1	Resabio ácido	1	Lisa	2
Color amarillo	2	Lácteo	1	Poco a leche	1	Duro	2
Rugoso	2	<b>Total General</b>	<b>29</b>	Salado	1	Masticable	2
Con grietas	2			Cremoso	1	Arenoso	2
Uniforme	2			Amargo	1	Tamaño de partícula	2
Presencia de suero	1			Queso panela	1	Flexible	2
Color crema	1			Poco salado	1	Masticabilidad	2
Semisólido	1			Poca intensidad	1	Se desmorona fácilmente en la boca	1
Brillo	1			<b>Total General</b>	<b>42</b>	Gomosa	1
Brillante	1					Suave al masticar	1
Blanco	1					Gomosidad	1
Con suero	1					Rígido	1
Uniforme (sin grietas)	1					Absorbente	1
Sólido-lechoso	1					Sólido	1
Filamentoso	1					Grumoso	1
Con estrías	1					Un poco suave a la hora de morder	1
Artificial	1					Adhesivo	1
Opaco	1					Rechinante	1
Flexible	1					Adhesivo	1
Quebradizo	1					Rugoso	1
Blanco/amarillo	1					Blanda	1
Seco	1					Seco	1
Grasoso	1					Desmoronable	1
Sólido	1					Cremoso	1
Heterogéneo	1					Chiclosos	1
Dureza	1					Duro	1
Blanco con amarillo	1					Plástica	1
Elástico	1					Viscoso	1
Amarillento (beige)	1					Poco adhesivo	1
Estriado	1					Cohesividad	1
<b>Total General</b>	<b>86</b>					<b>Total General</b>	<b>80</b>

LOS VOLCANES							
APARIENCIA		OLOR		SABOR		TEXTURA	
ATRIBUTOS	F	ATRIBUTOS	F	ATRIBUTOS	F	ATRIBUTOS	F
Brilloso	9	Leche	7	Salado	13	Suave	9
Firme	8	Suero	6	Acido	6	Adhesivo	8
Húmedo	6	Lácteo	4	Leche	6	Cremoso	6
Liso	4	Crema	3	Cremoso	5	Firme	5
Amarillo	4	Acido	3	Lácteo	4	Cohesivo	4
Color blanco	4	Queso	2	Amargo	3	Húmeda	4
Jugoso	3	Fresco	2	Dulce	2	Lisa	3
Color amarillo	3	Humedad	1	Suero	2	Blando	3
Solido	3	Sin olor	1	Resabio astringente	1	Gomosa	2
Homogéneo	3	Intenso	1	Resabio A Leche	1	Viscoso	2
Suave	3	Suero de leche	1	Requesón	1	Flexible	2
Fresco	3	Dulce	1	Crema	1	Elástico	2
Blanco	3	Indoloro	1	Resabio ácido	1	Seco	2
Color beige	2	Manteca	1	Fresco	1	Elástico	2
Brillante	2	Lactosuero	1	Intensidad media	1	Tamaño de partícula	2
Color crema	1	<b>Total General</b>	<b>35</b>	Queso fresco	1	No Tan Duro	1
Elástico	1			Mantequilla	1	Liso	1
Burbujas	1			Queso canasto	1	Chicloso en las muelas	1
Agrietado	1			<b>Total General</b>	<b>51</b>	Arenosa	1
Seco	1					Masticable	1
Uniforme	1					Cremosa	1
Húmeda	1					Pegajoso	1
Flexible	1					Arenoso	1
Blanco/amarillento	1					Solido	1
Opaco	1					Dureza	1
Estriado	1					Masticabilidad	1
Pegajoso	1					Gomosa	1
Poroso	1					Muy adhesivo	1
Grasoso	1					Grumosidad	1
Blando	1					Pastosa	1
Grumosa	1					Duro	1
Con suero	1					Se Deshace fácilmente	1
Blanco con amarillo	1					Humedad	1
Firme-blانquecino	1					Sensación de grasa	1
<b>Total General</b>	<b>79</b>					Húmedo	1
						Chicloso	1
						Adhesividad	1
						Gomoso	1
						Absorbente	1
						Granulosa	1
						<b>Total General</b>	<b>81</b>

ESMERALDA							
APARIENCIA		OLOR		SABOR		TEXTURA	
ATRIBUTOS	F	ATRIBUTOS	F	ATRIBUTOS	F	ATRIBUTOS	F
Brilloso	9	Suero	7	Salado	11	Suave	12
Húmedo	6	Leche	6	Leche	7	Adhesivo	6
Blanco	6	Lácteo	4	Dulce	6	Húmedo	5
Suave	4	Crema	3	Lácteo	4	Firme	4
Rugoso	3	Acido	3	Suero	3	Elástico	4
Liso	3	Fresco	2	Acido	3	Arenoso	4
Jugoso	3	Dulce	2	Amargo	3	Masticabilidad	4
Color blanco	3	Sin Olor	1	Crema	2	Lisa	4
Poroso	3	Queso	1	Fresco	1	Blando	3
Agrietado	3	Manteca	1	Resabio ácido	1	Cohesivo	3
Fresco	3	Intensidad de olor baja	1	Queso fresco	1	Cremoso	3
Firme	3	Sal	1	Resabio salado	1	Chicloso	2
Frágil	2	Inodoro	1	Resabio amargo	1	Grasosa	2
Con suero	2	Yogurt	1	Húmedo	1	Jugoso	2
Color beige	2	Amargo	1	Queso	1	Flexible	2
Con poros	2	Lactosuero	1	Astringente	1	Adhesividad	1
Brillante	2	Lácteo	1	Cremoso	1	Palpable	1
Brilloso	1	<b>Total General</b>	<b>37</b>	Poco salado	1	Masticable	1
Blanca	1			<b>Total General</b>	<b>49</b>	Tamaño de partícula	1
Elástico	1					Retención de suero	1
Sólido	1					Duro	1
Apariencia plástica	1					Solido	1
Blanco/amarillento	1					Grumosa-húmeda	1
Duro	1					Muy suave	1
Blanco	1					Grumoso	1
Homogéneo	1					Pegajoso	1
Forma irregular	1					Adhesiva	1
Húmedo-blanquecino	1					Sensación grasosa	1
Cremoso	1					Fácil de masticar	1
Laminas	1					Cremosa	1
Semisólido	1					Suave al masticar	1
Color amarillo	1					Fracturable	1
Amarillo crema	1					Adhesivo	1
Seco	1					Gomosa	1
Grasoso	1					<b>Total General</b>	<b>79</b>
Gomosa	1						
Gelatinoso	1						
Estriado	1						
Estrías	1						
<b>Total General</b>	<b>81</b>						

ARTESANAL		OLOR		SABOR		TEXTURA	
APARIENCIA		OLOR		SABOR		TEXTURA	
ATRIBUTOS	F	ATRIBUTOS	F	ATRIBUTOS	F	ATRIBUTOS	F
Blanco	9	Leche	7	Salado	13	Suave	8
Firme	8	Lácteo	5	Acido	7	Firme	6
Brilloso	6	Suero	5	Leche	5	Adhesivo	5
Fresco	4	Fresco	3	Dulce	4	Elástico	4
Húmedo	4	Crema	3	Lácteo	4	Masticabilidad	4
Color blanco	4	Acido	3	Amargo	3	Duro	4
Liso	3	Dulce	2	Cremoso	3	Chicloso	3
Opaco	3	Queso	2	Crema	2	Húmedo	3
Uniforme	3	Salado	2	Resabio salado	2	Cohesivo	3
Suave	2	Agrio	1	Suero	2	Cremoso	2
Estriado	2	Manteca	1	Resabio ácido	2	Lisa	2
Seco	2	Inodoro	1	Queso	2	Arenoso	2
Dura	2	Intensidad de olor baja	1	Suave	1	Seca	2
Homogéneo	2	<b>Total General</b>	<b>36</b>	Astringente	1	Blanda	1
Laminado	1			Amargo	1	Retención de suero	1
Semisólido	1			Sal	1	Plástico	1
Blanquecino	1			Intenso	1	Viscoso	1
Brillante	1			<b>Total General</b>	<b>54</b>	Liso	1
Sólido	1					Flexible	1
Grasoso	1					Palpable	1
Color beige	1					Jugoso	1
Grumoso-húmedo	1					Rechina	1
Con hoyos	1					Laminado	1
Con grietas	1					Tamaño de partícula	1
Sólido	1					Flexible	1
Amarillo	1					Goma	1
Blanco	1					Uniforme	1
Jugoso	1					Gomosa	1
Agrietado	1					Adhesiva	1
Forma irregular	1					Húmeda	1
<b>Total General</b>	<b>70</b>					<b>Total General</b>	<b>65</b>

**11.7. Tablas de promedios, desviaciones estándar y coeficientes de variación de los quesos proporcionados a los jueces.**

Muestra		Apariencia			Olor			
		Homogéneo	Color	Limpieza al corte	Leche	Salado	Almidón	Agrío
Alpura	Promedio	1.56	3.11	2.95	4.62	2.74	2.45	1.80
	Desvest	0.71	0.85	1.45	2.12	1.85	1.30	0.99
	CV	45.55	27.26	49.23	45.82	67.57	53.06	55.27
Artesanal	Promedio	3.15	6.22	2.22	4.82	4.94	2.64	3.19
	Desvest	1.79	1.27	2.15	1.27	2.23	1.95	1.91
	CV	56.71	20.37	96.85	26.32	45.11	73.89	59.91
Esmeralda	Promedio	1.99	2.32	1.77	4.55	4.07	2.61	2.50
	Desvest	0.69	0.55	0.73	1.72	0.80	1.67	1.78
	CV	34.51	23.63	41.04	37.77	19.76	64.16	70.99
Lala	Promedio	1.91	2.63	1.93	5.12	3.17	2.25	1.73
	Desvest	0.47	0.70	0.78	1.20	1.19	0.91	1.07
	CV	24.49	26.70	40.71	23.41	37.56	40.55	61.94
Volcanes	Promedio	2.14	2.83	1.90	4.29	2.59	2.50	1.62
	Desvest	0.50	0.64	0.97	1.32	1.31	1.43	0.82
	CV	23.21	22.50	50.98	30.79	50.52	57.15	50.76

Muestra		Sabor			
		Salado	Lácteo	Dulce	Suero
Alpura	Promedio	5.10	5.06	2.42	2.94
	Desvest	1.19	2.14	1.00	1.79
	CV	23.38	42.34	41.45	60.66
Artesanal	Promedio	6.56	3.66	1.38	3.49
	Desvest	1.49	2.02	0.43	2.04
	CV	22.74	55.14	30.92	58.41
Esmeralda	Promedio	4.34	5.46	2.28	3.40
	Desvest	1.61	1.49	0.87	2.18
	CV	37.06	27.35	38.22	64.07
Lala	Promedio	3.40	5.24	2.76	2.78
	Desvest	1.77	1.71	1.86	1.57
	CV	52.11	32.59	67.38	56.29
Volcanes	Promedio	4.58	6.28	2.14	3.56
	Desvest	1.52	1.08	0.79	2.23
	CV	33.31	17.21	37.11	62.64



		Textura				
Muestra		Elasticidad	Dureza	Masticabilidad	Cohesividad	Sensación plástica
Alpura	Promedio	4.50	4.95	5.32	6.07	6.26
	Desvest	2.17	1.96	1.24	1.25	1.47
	CV	48.23	39.57	23.37	20.61	23.57
Artesanal	Promedio	4.82	4.34	4.47	4.33	2.82
	Desvest	2.41	1.14	1.14	2.03	1.53
	CV	50.04	26.32	25.47	47.01	54.50
Esmeralda	Promedio	4.70	4.45	3.34	4.81	3.82
	Desvest	1.84	1.06	0.78	2.16	1.61
	CV	39.15	23.84	23.31	44.97	41.98
Lala	Promedio	3.66	3.07	3.55	5.43	2.85
	Desvest	1.95	1.27	1.34	2.03	2.34
	CV	53.12	41.37	37.66	37.43	82.26
Volcanes	Promedio	4.18	4.01	3.73	6.09	3.57
	Desvest	1.99	1.53	1.46	1.66	1.76
	CV	47.66	38.06	39.29	27.25	49.32

		Textura			
Muestra		Jugosidad	Viscosidad	Arenosidad	Adhesividad
Alpura	Promedio	3.97	3.19	4.01	3.94
	Desvest	1.46	1.61	1.80	1.84
	CV	36.83	50.59	44.80	46.63
Artesanal	Promedio	4.02	3.24	6.45	3.44
	Desvest	1.39	1.98	1.99	1.89
	CV	34.48	61.01	30.87	54.86
Esmeralda	Promedio	3.70	3.73	3.87	3.29
	Desvest	1.30	1.74	1.90	1.56
	CV	35.19	46.76	49.09	47.38
Lala	Promedio	4.46	4.14	2.93	3.79
	Desvest	1.46	2.03	1.30	2.31
	CV	32.71	49.06	44.50	60.97
Volcanes	Promedio	4.34	3.26	3.98	3.53
	Desvest	1.66	2.08	1.15	1.68
	CV	38.14	63.73	28.82	47.58