



FACULTAD DE CIENCIAS

**MÁSTER en INNOVACIÓN en NUTRICIÓN,
SEGURIDAD y TECNOLOGÍA ALIMENTARIA**

Dña. Lucía Paz López

ESTUDIO DE VIDA ÚTIL DEL QUESO “STRACCHINO”

Trabajo Fin de Máster

Julio 2019

Índice

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	1
ÍNDICE DE GRÁFICOS	3
ÍNDICE DE TABLAS	4
RESUMEN	5
RESUMO	6
ABSTRACT	7
I. INTRODUCCIÓN	8
1. El queso y su clasificación	8
2. Proceso de fabricación del queso	10
3. El queso Stracchino	10
3.1 Elaboración y composición del queso Stracchino	11
3.2 Situación del Stracchino en España	12
4. Vida útil de un alimento.....	12
4.1 Tipos de vida útil	13
4.2 Métodos para la determinación de la vida útil	13
5. Microorganismos del queso	14
6. Métodos de conservación del queso fresco.....	16
II. OBJETIVOS	18
III. MATERIAL Y MÉTODOS.....	19
1. Hipótesis planteadas para la realización de ensayos de optimización del Stracchino	19
2. Materias primas e ingredientes.....	19
3. Elaboración del queso Stracchino	20
4. Seguimiento durante elaboración	24
5. Toma de muestras y frecuencia de los análisis	24
6. Determinaciones analíticas del queso Stracchino.	25

6.1	Determinación de composición.....	25
6.2	Determinación de parámetros físico-químicos.....	26
6.3	Determinación de parámetros microbiológicos.....	27
6.3.1	Mohos y levaduras (MyL).....	27
6.3.2	Coliformes totales.....	28
6.3.3	Pseudomonas.....	28
6.4	Determinación de parámetros sensoriales.....	29
7.	Estudio de vida útil.....	29
8.	Pruebas congelación en túnel.....	29
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31
1.	Optimización del queso Stracchino refrigerado.....	31
1.1	Estandarización de la leche.....	31
1.2	Temperatura de coagulación.....	33
1.3	Tipo de cuajo.....	34
1.4	Trabajo en cuba.....	35
2.	Vida útil del queso Stracchino refrigerado.....	36
2.1	Estudio microbiológico.....	36
2.2	Estudio físico-químico.....	37
2.3	Análisis sensorial.....	40
3.	Optimización del queso Stracchino descongelado.....	42
3.1	Optimización cuajo.....	42
3.2	Optimización del tamaño.....	43
3.3.	Optimización del % EST.....	43
3.4	Día óptimo congelación/descongelación del queso Stracchino.....	44
4.	Vida útil del queso Stracchino descongelado.....	46
4.1	Estudio microbiológico.....	46
4.2	Estudio físico-químico.....	46

4.3	Análisis sensorial.....	49
V.	CONCLUSIONES	51
VI.	BIBLIOGRAFÍA.....	52
VII.	ANEXOS	56
	ANEXO 1. RECUENTO MOHOS Y LEVADURAS	56
	ANEXO 2. RECUENTO COLIFORMES TOTALES	60
	ANEXO 3. RECUENTO PSEUDOMONAS	64

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Stracchino típico de Italia.	11
Ilustración 2. Aplicaciones comerciales de Stracchino. Recuperadas de la página oficial de Buitoni Italia.	12
Ilustración 3. Efecto de los cristales de hielo formados a diferentes velocidades de congelación sobre la membrana celular. (Fuente: Operaciones y procesos biotecnológicos II)	16
Ilustración 4. Línea TECNAL	20
Ilustración 5. Proceso elaboración Stracchino (Fuente: elaboración propia)	21
Ilustración 6. Etapa cortes cuajada, a la izquierda se muestra corte horizontal, a la derecha el corte vertical	23
Ilustración 7. Desuerador extrayendo suero de la cubeta.....	23
Ilustración 8. Volcado de la cuajada por la rampa para su moldeo.	23
Ilustración 9. Lectura butirómetro	26
Ilustración 10. A la izquierda texturómetro Brookfield CT3, a la derecha cono del mismo.....	26
Ilustración 11. Esquema de realización de las distintas diluciones en microbiología, para productos sólidos y líquidos (Flores, 2013)	27
Ilustración 12. Placa para el recuento de mohos y levaduras después de 5 días de incubación.	28
Ilustración 13. Placa para el recuento de colonias de coliformes, después de 48 horas de incubación.	28
Ilustración 14. Placa para el recuento de Pseudomonas después de incubación durante 48 horas.	29
Ilustración 15. Exterior túnel piloto de congelado de Quescrem.	30
Ilustración 16. Stracchino elaborados con leche a diferente temperatura. A la izquierda con leche a media temperatura, a la derecha elaborado con leche alta temperatura.....	33
Ilustración 17. Quesos elaborados con diferentes cuajos. De izquierda a derecha: 80% quimosina/20% pepsina, 95% quimosina/5% pepsina, 100% quimosina.....	35
Ilustración 18. De izquierda a derecha, producto descongelado elaborado con cuajo 100% quimosina, los dos restantes con cuajo 80% quimosina/20% pepsina.....	43
Ilustración 19. Stracchino descongelado, loncha de 100g (izquierda), barra de 1kg (derecha).....	43

Ilustración 20. A la izquierda se muestra un queso con menor %EST y a la derecha un queso con mayor %EST.	44
Ilustración 21. Stracchino congelado a día 1, 4 y 5 (de izquierda a derecha). Analizados a día 3 de descongelación.	45
Ilustración 22. Stracchino congelados a diferentes días de maduración (1,4 y 5). Analizados a día 6 de descongelación.	45

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Evolución de la dureza del queso Stracchino en función de la estandarización de la leche. Las líneas azules representan la leche sin estandarizar, las líneas verdes la leche estandarizada y los números que aparecen entre paréntesis corresponden al número de ensayo (Fuente: elaboración propia)	32
Gráfico 2. Evolución del pH, durante la elaboración de Stracchino, a dos temperaturas iniciales diferentes. (Fuente: elaboración propia).....	34
Gráfico 3. Evolución del pH durante vida útil primaria refrigerada del stracchino. (Fuente: elaboración propia).....	38
Gráfico 4. Evolución de la dureza a lo largo de la vida útil del producto refrigerado. (Fuente: elaboración propia).....	38
Gráfico 5. Evolución dureza durante vida útil secundaria del Stracchino refrigerado. (Fuente: elaboración propia).....	39
Gráfico 6. . Evolución pH durante vida útil secundaria del Stracchino en refrigeración. (Fuente: elaboración propia).....	40
Gráfico 7. Evolución de la valoración sensorial durante la vida útil primaria del producto refrigerado. (Fuente: elaboración propia).....	40
Gráfico 8. Evolución sensorial durante vida útil secundaria del producto refrigerado. (Fuente: elaboración propia).....	41
Gráfico 9. Evolución dureza durante vida útil descongelado. (Fuente: elaboración propia)	47
Gráfico 10. Evolución del pH durante vida útil del producto descongelado. (Fuente: elaboración propia)	47
Gráfico 11. Evolución de la dureza del producto durante vida útil secundaria en descongelación. (Fuente: elaboración propia).....	48
Gráfico 12. Evolución pH del producto durante vida útil secundaria en descongelación. (Fuente: elaboración propia).....	48
Gráfico 13. Evolución sensorial durante vida útil del producto descongelado. (Fuente: elaboración propia)	49
Gráfico 14. Evolución sensorial durante vida útil secundaria del Stracchino descongelado. (Fuente: elaboración propia).....	50

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición nutricional media de queso Stracchino por 100g de producto. (Fuente: elaboración propia).....	11
Tabla 2. Variables estudiadas para la realización de ensayos de optimización del Stracchino. (Fuente: elaboración propia).	19
Tabla 3. Características túnel piloto de congelación.	30
Tabla 4. Diferentes ensayos con distinta temperatura de llenado y su relación de T ^a , EST y Dureza. A: significa temperaturas altas, B temperaturas bajas. (Fuente: elaboración propia)	35
Tabla 5. Valores de referencia (ufc/g) establecidos en Quescrem en cuanto a calidad microbiológica del queso. (Fuente: departamento de Calidad de Quescrem, Castro Ribeiras de Lea)	36
Tabla 6. Recuentos microbianos (ufc/g) durante vida útil primaria refrigerada del Stracchino. MyL: mohos y levaduras. (Fuente: elaboración propia).....	37
Tabla 7. Recuentos microbianos (ufc/g) durante la vida útil secundaria refrigerada del stracchino. (Fuente: elaboración propia).....	37
Tabla 8. Recuentos microbianos (ufc/g) durante vida útil descongelado del queso Stracchino. (Fuente: elaboración propia)	46
Tabla 9. Recuentos microbianos (ufc/g) durante vida útil secundaria descongelado del queso Stracchino. (Fuente: elaboración propia)	46

RESUMEN

Estudio de vida útil del queso Stracchino

Dentro del marco de un proyecto de innovación a nivel nacional, en la empresa Quescrem (Castro Ribeiras de Lea, Lugo) surge la idea de este trabajo de investigación para optimizar la vida útil del queso Stracchino conservado en refrigeración y en congelación. La vida útil (VU) de un alimento comprende el tiempo transcurrido entre la fabricación y el momento en que se presentan alteraciones en él. El objetivo principal de este proyecto es establecer la vida útil primaria y secundaria del queso Stracchino, tanto refrigerado como descongelado, para potenciar así su comercialización en España. Para ello, se llevan a cabo diferentes ensayos de optimización del producto durante su fabricación, así como una serie de análisis periódicos (microbiológicos, físico-químicos y sensoriales) de las muestras obtenidas. Los resultados obtenidos a lo largo del estudio indican que el factor más limitante en la vida útil de este queso es el sensorial. Aquellas muestras que inicialmente no presentan recuentos microbianos altos son capaces de mantenerse más de 70 días en refrigeración con unas características físico-químicas y microbiológicas aceptables. Sin embargo, en torno al día 45 empiezan a desarrollarse aromas y sabores desagradables. En el caso del producto descongelado, se reduce su vida útil aproximadamente a la mitad. En cuanto a la vida útil secundaria, es similar para producto refrigerado y congelado. Por lo tanto, se establecen 45 días de VU primaria para producto refrigerado y 5 días de VU secundaria, y para producto descongelado 25 días de VU primaria y 3 días de VU secundaria. Se concluye que el Stracchino desarrollado en este trabajo puede ser competitivo en el mercado gracias a sus buenas aptitudes frente a la congelación, posibilitando nuevas vías de comercialización.

Palabras clave: queso, Stracchino, vida útil, refrigeración, congelación.

RESUMO

Estudo de vida útil do queixo Stracchino

Dentro do marco dun proxecto de innovación, a nivel nacional, na empresa Quescrem, (Castro Ribeiras de Lea, Lugo) surxe a idea deste traballo para realizar un estudo de vida útil do queixo Stracchino conservado en refrixeración e en conxelación. A vida útil (VU) dun alimento, comprende o tempo transcorrido entre a fabricación e o momento no que se presentan alteracións nel. O obxectivo principal deste proxecto é establecer a vida útil primaria e secundaria do queixo Stracchino, tanto refrixerado como desconxelado para poder potenciar a súa comercialización en España. Para isto, lévanse a cabo diferentes ensaios para a optimización do produto durante a súa fabricación, así como unha serie de análises periódicas (microbiolóxicas, físico-químicas e sensoriais) das mostras obtidas. Os resultados obtidos o longo do estudo, indican que o factor máis limitante é o sensorial. Aquelas mostras que inicialmente non presentan recantos microbianos altos son capaces de manterse máis de 70 días en refrixeración cunhas características físico-químicas e microbiolóxicas aceptables. Sen embargo, chegando a día 45 comezan a aparecer aromas e sabores desagradables. No caso do produto desconxelado, redúcese a súa vida útil aproximadamente a metade. En canto a vida útil secundaria é similar tanto para o produto refrixerado como para desconxelado. Polo tanto establécense 45 días de VU primaria refrixerado e 5 días de VU secundaria e para o produto desconxelado 25 días de VU primaria e 3 días de VU secundaria. Conclúese que o Stracchino desenvolvido neste traballo pode ser competitivo no mercado grazas as súas boas aptitudes fronte a conxelación, posibilitando novas vías de comercialización.

Palabras chave: queixo, Stracchino, vida útil, refrixeración, conxelación.

ABSTRACT

Shelf life study of Stracchino cheese

Within the framework of an innovation project at the national level, in the company Quescrem (Castro Ribeiras de Lea, Lugo) the idea of this research work to optimize the shelf life of Stracchino cheese preserved in refrigeration and freezing arises. The useful life (VU) of a food comprises the time elapsed between manufacturing and the time when alterations occur in it. The main objective of this project is to establish the primary and secondary shelf life of Stracchino cheese, both chilled and thawed, to enhance its commercialization in Spain. To do this, different tests are carried out to optimize the product during its manufacture, as well as a series of periodic analyzes (microbiological, physical-chemical and sensory) of the samples obtained. The results obtained throughout the study indicate that the most limiting factor in the shelf life of this cheese is the sensory one. Those samples that initially do not present high microbial counts are able to stay more than 70 days in refrigeration with acceptable physico-chemical and microbiological characteristics. However, around the day 45 start to develop unpleasant aromas and flavors. In the case of the thawed product, its life is reduced by approximately half. As for the secondary shelf life, it is similar for refrigerated and frozen product. Therefore, 45 days of primary VU for refrigerated product and 5 days of secondary VU are established, and for thawed product 25 days of primary VU and 3 days of secondary VU. It is concluded that the Stracchino developed in this work can be competitive in the market thanks to its good skills against freezing, enabling new ways of commercialization.

Key words: cheese, Stracchino, shelf life, refrigeration, freezing.

I. INTRODUCCIÓN

1. El queso y su clasificación

El queso es un alimento sólido conocido y consumido en todo el mundo y utilizado en múltiples preparaciones culinarias. El Reglamento (CE) nº 853/2004 sobre higiene de los productos de origen animal, define el queso como el producto fresco o maduro, sólido o semisólido, que resulta de la coagulación de la leche natural (entera), de la desnatada total o parcialmente, de la nata, del suero de mantequilla, o de una mezcla de algunos de todos estos productos, por la acción del cuajo u otros coagulantes apropiados, seguida del desuerado del coágulo obtenido. Este coágulo, llamado cuajada, está constituido de un entramado o “esqueleto” de proteína, la caseína, que retiene la materia grasa y una parte más o menos grande de la fase acuosa de la leche, llamada lactosuero. La masa obtenida puede ser consumida como tal, bajo la categoría de queso fresco o sufrir una serie de transformaciones que le hacen adquirir caracteres organolépticos específicos, constituyendo el queso maduro.

Solo con esta definición ya puede intuirse que existen múltiples variedades de queso en todo el mundo, así como diversas formas de clasificación que se basan en un conjunto bien diferenciado de conceptos. Entre ellos están el origen de leche utilizada, el método de coagulación, el contenido de humedad y/o de grasa, la textura, la maduración, el tipo de microorganismos, etc. (Ramírez M.A., 2006). Según el Real Decreto 1113/2006, la denominación del queso deberá completarse, según corresponda, con las siguientes indicaciones o clasificaciones: el origen de la leche y el contenido en grasa. A su vez, según la tecnología empleada para su elaboración se pueden clasificar según método de coagulación, microorganismos empleados o maduración.

Según el origen de la leche con la que hayan sido elaborados se pueden obtener quesos de vaca, quesos de oveja, quesos de cabra o quesos de mezcla que serían el resultado de la mezcla de leche de distintos orígenes. Según el Real Decreto 1181/2018, de 21 de septiembre, relativo a la indicación del origen de la leche utilizada como ingrediente en el etiquetado de la leche y los productos lácteos, es obligatoria la indicación del origen de la leche con la que se ha fabricado el queso. Según el método de coagulación de la leche podemos obtener quesos de coagulación enzimática (en esta el cuajo desestabiliza la caseína formando un gel o coágulo que engloba el suero y los glóbulos grasos en su

interior, en este caso el calcio participa en la coagulación estableciendo los puentes de unión entre las micelas), quesos de coagulación ácida (cuando la leche se acidifica y llega a un pH de 4,6 se produce la floculación de las caseínas en forma de precipitado más o menos granuloso, el cual se separa del lactosuero dando lugar a una cuajada frágil y desmineralizada, en este caso el calcio no juega ningún papel ya que es arrastrado por el suero) o quesos de coagulación mixta (es el resultado de la adicción de cuajo acompañado de acidificación láctica). Según el contenido de humedad del queso el Real Decreto 1113/2006 establece que se puede clasificar el queso como fresco (60-80%), blando (>67%), semiblando (61-69%), semiduro (54-63%), duro (49-56%) y extraduro (<51%). También según el contenido de grasa del queso (calculada sobre extracto seco) podemos clasificarlo en extragrasso (>60%), graso (45-60%), semigraso (25-45%), semidesnatado (10-25%) y desnatado (<10%).

Atendiendo a la maduración de los quesos, el Real Decreto 1113/2006 por el que se aprueba la norma de calidad para quesos y quesos fundidos, indica que se pueden denominar de la siguiente forma:

- Queso fresco: es el que está dispuesto para el consumo al finalizar el proceso de fabricación.
- Queso blanco pasteurizado: es un queso fresco en el que el coágulo obtenido se somete a pasteurización, quedando dispuesto para el consumo al finalizar el proceso de fabricación.
- Queso madurado: en este, tras el proceso de fabricación, es necesario mantenerlo cierto tiempo a una temperatura y en condiciones específicas para que se produzcan los cambios físicos y químicos característicos del mismo. Dentro del mismo madurado puede denominarse de diferentes maneras según el tiempo de maduración y su peso, así tenemos: tierno (7 días), semicurado (20-35 días), curado (45-105 días), viejo (100-180 días) y añejo (270 días).
- Queso madurado con mohos: la maduración se produce como consecuencia del desarrollo característico de mohos en su interior, en superficie o en ambas partes.

El tipo de microorganismos empleados durante la elaboración del queso y su evolución (quesos madurados con mohos) posterior posibilita el uso de denominaciones adicionales, como son: quesos veteados de pasta azul (ej: *Penicillium roqueforti*), quesos de corteza florida o con moho blanco en la corteza (ej: *Penicillium candidum*).

También existen quesos de corteza “morgueada” o con desarrollo bacteriano en corteza (ej: *Brevibacterium linens*) (Nelson, J. 1970).

2. Proceso de fabricación del queso

Para la elaboración de cualquier tipo de queso se siguen unas operaciones comunes que consisten principalmente en la formación de un coágulo y su posterior corte para facilitar el desuerado. Al igual que existen múltiples variedades de queso, existen múltiples variantes en su elaboración. Los pasos básicos son la coagulación, el corte, desuerado y moldeado del queso. A estos pueden añadirse etapas según el queso como son la estandarización, pasteurización de la leche, acidificación, maduración, salado en salmuera, prensado, etc. Las etapas sucesivas de la elaboración del queso se pueden agrupar en 4 fases generales (Ramírez M.A., 2006):

- Coagulación: proceso enzimático en el que ocurren las modificaciones físico-químicas de las proteínas por acción de enzimas proteolíticas con la consiguiente formación de un coágulo o gel.
- Desuerado: fase en la que tiene lugar la separación del lactosuero tras la ruptura mecánica del coágulo.
- Salado: consiste básicamente en la incorporación de sal mediante varios métodos, por vía seca o vía húmeda.
- Afinado o maduración: consiste en el conjunto de transformaciones bioquímicas de los componentes de la cuajada por la acción de enzimas proteolíticas y lipolíticas procedentes de los cultivos iniciadores y de los preparados coagulantes.

3. El queso Stracchino

El Stracchino es un queso fresco originario de Italia. Stracchino deriva del lombardo “stracco” que significa cansado. La creencia popular establece que, en su origen, el queso Stracchino estaba elaborado con la leche producida por vacas cansadas que bajaban de los Alpes en otoño, leche más ácida y rica en grasas. La leche de estas vacas daba al queso sus sabores característicos. Es un queso originariamente muy fresco y con poca vida útil, por lo que se han intentado de diferentes maneras prolongarla (Marcuzzo, E. 2013).



Ilustración 1. Stracchino típico de Italia.

Dentro de la clasificación del queso, expuesta anteriormente, el Stracchino es un queso fresco graso de coagulación mixta. Es cremoso, sin corteza, de superficie húmeda y color blanco. Su sabor es ligeramente ácido e intenso.

3.1 Elaboración y composición del queso Stracchino

El Stracchino italiano original, se caracteriza por una fase de acidificación en molde, un salado en salmuera y luego una etapa de “maduración” de varios días al desnudo hasta que se llega a la textura adecuada. El queso Stracchino se puede considerar un producto graso, ya que la mayoría de los quesos Stracchino fabricados en Italia tienen entre un 45-60% de grasa sobre extracto seco total (21-26% sobre total del producto) según un estudio de competencia de la empresa Quescrem (datos no publicados). No todos los Stracchino comercializados tienen el mismo contenido graso. En la Tabla 1 se muestra la composición nutricional media del Stracchino por 100 g de producto, estos datos se extraen de muestras de Stracchino compradas en varios supermercados de Italia.

Tabla 1. Composición nutricional media de queso Stracchino por 100g de producto. (Fuente: elaboración propia).

Valor energético	252kcal/1045Kj
Grasa	21,6g
Saturada	15g
Proteína	14g
Hidratos de carbono	0,2g
Azúcares	0,1g
Sal	0,6g

3.2 Situación del Stracchino en España

El queso Stracchino es desconocido en España, según refleja un estudio de consumidores realizado por la empresa lucense Quescrem en el año 2018 (datos no publicados). Este desconocimiento parte de la mínima exportación del producto desde su país de origen, Italia. Al ser un queso tipo fresco, es difícil su venta exterior debido a que el Stracchino tradicional tiene una vida útil demasiado corta (18-20 días) como para llegar con suficientes días de consumo a España.

Según el estudio antes mencionado, el Stracchino es un queso que suele consumirse en fresco (ensaladas, untar) aunque actualmente están apareciendo nuevos productos de *mass market* elaborados con este tipo de queso como son foccacias, pizzas, pastas rellenas, etc., comercializados sobre todo en Italia.



Ilustración 2. Aplicaciones comerciales de Stracchino. Recuperadas de la página oficial de Buitoni Italia.

4. Vida útil de un alimento

La vida útil de un alimento comprende el tiempo transcurrido desde su fabricación hasta el momento en que se presentan alteraciones en él. Esta puede variar según el proceso de producción, naturaleza del producto y el tiempo de almacenamiento, pudiendo producirse cambios a nivel microbiológico, sensorial y/o físico-químico (Labuza, 2000). Establecer la vida útil de un alimento es de gran importancia para la industria agroalimentaria, ya que de esta forma puede asegurar al consumidor que va a obtener la mayor calidad del producto durante el tiempo que se especifique en el etiquetado. En este sentido, la legislación obliga a que aparezca en el etiquetado la duración del producto mediante la fecha de caducidad o fecha de consumo preferente (Reglamento (UE) N° 1169/2011 del Parlamento Europeo y del Consejo de 25 de octubre de 2011 sobre la información alimentaria facilitada al consumidor). Esta vida útil viene

establecida por el productor. Actualmente un queso Stracchino, de elaboración tradicional, posee una vida útil de aproximadamente 25 días según un análisis de mercado realizado por la empresa Quescrem (datos no publicados).

4.1 Tipos de vida útil

En los productos alimentarios que se comercializan envasados es necesario hablar de dos tipos de vida útil:

- *Vida útil primaria:* Hace referencia a la durabilidad del producto siempre y cuando no se abra el envase y se mantenga dentro de las condiciones de conservación indicadas (Man, 2015).
- *Vida útil secundaria:* Se define la vida útil secundaria como la durabilidad del producto tras la apertura del envase, siempre que se cumpla con las condiciones de almacenamiento (Daroz, 2016).

Con lo establecido en el Reglamento (UE) N° 1169/2011, sobre la información alimentaria facilitada al consumidor, es obligatorio en el etiquetado de productos alimentarios especificar cómo debe usarse y las condiciones de almacenamiento que deben tenerse en cuenta para mantener el producto en buen estado después de su apertura. Por este motivo se realizan ensayos de vida útil en los alimentos, en los cuales, los análisis a realizar se eligen en función del origen del deterioro que causa el fin de la vida útil del producto. En el caso del queso, las causas de deterioro son diversas, incluyendo factores físico-químicos, sensoriales y microbiológicos. Una vez fijadas estas causas de deterioro se puede trabajar para intentar minimizarlas y así optimizar la vida útil del producto.

4.2 Métodos para la determinación de la vida útil

El Reglamento (CE) 2073/2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios establece que siempre que sea necesario se deben establecer estudios complementarios de vida útil de los alimentos. Dentro de estos estudios se encuentran:

- La microbiología predictiva: combina elementos de microbiología, matemáticas y estadística para el desarrollo de modelos que describen y predicen el crecimiento y declive de los microorganismos bajo condiciones ambientales

preestablecidas y variables. Existen diversos modelos de predicción, entre ellos los de tipo cinético, sigmoidales o los modelos que se basan en el crecimiento fundamental de los microorganismos (Mckellar, 2003).

- Estudios de desafío (*challenge tests*): el alimento es inoculado artificialmente con un microorganismo y se evalúa el potencial crecimiento, es decir, si puede o no crecer en un alimento específico o estimar parámetros como la velocidad máxima de crecimiento (Membré, 2005).
- Estudios de durabilidad: se realizan durante unas condiciones razonablemente previsibles sin que se produzca una inoculación inicial, solamente considerando la contaminación natural del mismo. Son estudios más realistas que los estudios de desafío, ya que se estudia la evolución de la contaminación natural del producto (Ellis, 1994).

Además de estos estudios, también se realizan estimaciones sensoriales para determinar la vida útil de algunos productos (Hough, 2010).

5. Microorganismos del queso

Las características nutricionales que hacen de la leche un alimento completo para la dieta de los seres humanos, también lo hacen un medio de cultivo ideal para el crecimiento de una gran variedad de microorganismos. Existe la posibilidad del crecimiento tanto de bacterias Gram positivas (lactococos, lactobacilos, *Leuconostoc*, enterococos, estafilococos...) como de bacterias Gram negativas (coliformes, *Pseudomona*, *Aeromonas*...) además de muchos hongos y levaduras. Los microorganismos proceden del ambiente, la piel, mucosas de animales, utensilios y del personal que participa en la obtención y procesado del producto. Se debe diferenciar claramente microorganismos patógenos y microorganismos alterantes. Dentro de los patógenos se encuentran *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, etc. Los límites máximos para estos microorganismos se encuentran recogidos en el Reglamento 2073/2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. Los alterantes son aquellos que modifican la sensorialidad del producto dando olores, sabores, o colores desagradables, entre estos se encuentran *Pseudomonas*, coliformes, mohos y levaduras.

Por otra parte, en la leche también existen bacterias beneficiosas para la producción del queso. Esas son las bacterias ácido lácticas (BAL) cuya función principal es convertir la

lactosa de la leche en ácido láctico (Parente y Cogan, 2004). Estas bacterias ya forman parte de la leche en cantidades considerables antes de adicionarlas, aunque los tratamientos térmicos ocasionan pérdidas en su viabilidad. Inicialmente, se acidificaba el queso en condiciones naturales a partir de las BAL, hoy en día, en la quesería moderna se utilizan cepas controladas que optimizan los procesos y homogenizan los resultados. Estas bacterias también se denominan comúnmente *starters*. Existen múltiples fermentos lácticos en función del queso que se quiere fabricar. Una de las propiedades beneficiosas de estas bacterias es que son capaces de acidificar el medio y sobrevivir a la acidez mientras crean un ambiente desfavorable para aquellos microorganismos sensibles a la acidez.

Una vez transformada la leche en queso fermentado, como es el Stracchino, éste sigue siendo vulnerable al crecimiento de microorganismos alterantes debido a que es un producto ligeramente ácido con un pH en torno a 5,3, con una actividad de agua bastante alta y con un bajo porcentaje de sal. Estas condiciones pueden permitir el desarrollo de muchos microorganismos tanto endógenos como exógenos. Entre los microorganismos alterantes que están presentes en la leche se incluyen mohos y levaduras. Estos toleran niveles bajos de pH, son capaces de crecer a bajas temperaturas y en elevadas concentraciones de sal (Pitt y Hocking, 1997). En el caso de las levaduras pueden producir gas, cambios de color, cambios en textura por proteólisis, producción de aromas indeseados (Pitt y Hocking, 1997). Los mohos pueden aparecer en el queso y aportarle beneficios o alteraciones. En el caso del queso Stracchino, los mohos se consideran microorganismos alterantes (Sarais, I. 1996).

Otro microorganismo que puede provocar alteraciones en el queso son las *Pseudomonas*. Más del 50% de la flora Gram negativa de la leche cruda está representada por este género (Camacho, 2006). Juegan un papel importante en la conservación de los productos lácteos, ya que además de ser psicrófilas (crecimiento entre -5 y 20°C), varias especies tienen un gran poder proteolítico y lipolítico. Además, se ha descrito que algunas de sus enzimas resisten temperaturas por encima de los 80 °C, por lo cual pueden causar alteraciones aún en productos elaborados con leches pasteurizadas. Si la pasteurización es incompleta y no se eliminan las *Pseudomonas* pueden multiplicarse mientras el queso está en refrigeración pudiendo provocar sabores, olores y colores desagradables en el producto.

Además de mohos, levaduras y *Pseudomonas*, también se pueden encontrar coliformes. Estos van a ser indicadores de higiene durante el proceso y provocan sabores desagradables característicos en el queso además del hinchamiento del envase debido a su producción de gas (Trmčić, A, 2016).

6. Métodos de conservación del queso fresco

Para una conservación óptima de cualquier queso fresco, es necesario mantenerlo en condiciones de refrigeración (aprox. 4 °C). Además, se ha estudiado la posibilidad de ampliar su conservación a través de la congelación (Pérez, I. 1999). La congelación no es un método de conservación habitual en lácteos. Esta, consiste básicamente en la disminución de la temperatura del producto por debajo de su punto de congelación, lo que provoca la cristalización del agua libre que contiene. La cristalización determina la calidad organoléptica del producto a la hora de descongelarlo. Los cristales grandes provocan daños en la estructura de los alimentos que se traducen en alteraciones de textura y pérdidas de agua elevadas durante la descongelación, por otro lado, los pequeños causan pérdidas menores de calidad de alimentos (Otero, L. 2013). Esta formación de cristales viene determinada por la velocidad de enfriamiento entre otras variables. Si se quiere un producto descongelado de buena calidad es necesario realizar un enfriamiento rápido, de esta manera se formarán muchos cristales diminutos que dañarán menos su estructura (Carranza, R. 2017).



Ilustración 3. Efecto de los cristales de hielo formados a diferentes velocidades de congelación sobre la membrana celular. (Fuente: Operaciones y procesos biotecnológicos II)

La tecnología de congelación juega un papel importante en la velocidad de enfriamiento. Así, los congeladores domésticos no son adecuados debido a que utilizan un frío estático a -18 °C, mientras que otras tecnologías como la congelación industrial mecánica y la congelación criogénica permiten una congelación mucho más rápida y eficaz. La congelación industrial convencional se lleva a cabo mediante túneles de

congelación que trabajan con aire a una velocidad de 4 m/s a temperaturas que oscilan alrededor de los -30 °C. Esto genera un flujo de aire muy frío y continuo que permite eliminar el calor del producto rápidamente. Por otro lado, la congelación criogénica utiliza gases criogénicos a temperaturas muy bajas, por ejemplo, nitrógeno líquido a -196 °C. En este caso, no se generan corrientes de gas ya que la baja temperatura es suficiente para una congelación ultrarrápida.

II. OBJETIVOS

El objetivo global de este trabajo es el desarrollo de un queso Stracchino que cumpla con la funcionalidad necesaria para su uso en la cocina profesional (horneado, manipulación, textura estable) alargando su vida útil. Esto se realiza a partir de una optimización del producto a nivel tecnológico dirigida a conseguir el máximo tiempo de conservación y posteriormente determinar el valor de vida útil final.

Para conseguir este objetivo global se plantean varios objetivos específicos:

- Optimización del queso refrigerado
- Optimización del queso para su congelación/descongelación.
- Estudio de vida útil primaria (producto refrigerado)
- Estudio de vida útil secundaria (producto refrigerado)
- Estudio de vida útil primaria (producto descongelado)
- Estudio de vida útil secundaria (producto descongelado)

III. MATERIAL Y MÉTODOS

Para este estudio de vida útil, en primer lugar, se optimiza el producto. Para ello se realizan ensayos con diferentes hipótesis partiendo del esquema de fabricación general del queso. Una vez el producto está optimizado se determina la vida útil del Stracchino.

1. Hipótesis planteadas para la realización de ensayos de optimización del Stracchino

Antes de determinar la vida útil del queso se plantean diferentes variables que pueden afectar a la elaboración del Stracchino, a sus características organolépticas y a sus aptitudes para conservación en frío. En la Tabla 2 se muestran las variables sobre las que se hacen ensayos de optimización del producto.

Tabla 2. Variables estudiadas para la realización de ensayos de optimización del Stracchino. (Fuente: elaboración propia).

	Variable Analizada	Objetivo	Condiciones
Optimización del producto refrigerado	Tipo de cuajo	Establecer que tipo de cuajo aporta una mejor textura al stracchino final	<ul style="list-style-type: none"> • 100% quimosina • 80% quimosina/20% pepsina • 95% quimosina/5% pepsina
	Estandarización leche	Comparativa de la textura del stracchino elaborado con dos leches de diferente composición	<ul style="list-style-type: none"> • Leche entera • Leche con reducción de grasa
	Temperatura coagulación	Ver como influye la temperatura de llenado de las cubetas en la textura del queso final	<ul style="list-style-type: none"> • Tª Alta • Tª Baja
Optimización del producto descongelado	Formato de producto	Saber como influye la congelación en el producto según el formato	<ul style="list-style-type: none"> • Taco de 100g • Barra 1kg
	Día óptimo de congelación	Determinar el día de congelación para que no exista un ablandamiento excesivo en la textura del queso	<ul style="list-style-type: none"> • Día 1 • Día 4 • Día 5
	Día óptimo de textura tras descongelación	Determinar el día después de la descongelación en el que el producto alcanza la textura óptima	<ul style="list-style-type: none"> • Día 3 • Día 6 • Día 9

2. Materias primas e ingredientes

Para la elaboración del queso se utiliza leche fresca de vaca (tanto entera como desnatada) suministrada por Lácteos Feiraco (Ames, A Coruña) en camión cisterna el día anterior a la fabricación.

En cuanto a ingredientes, se emplearon:

- Cuajos líquidos con diferentes proporciones de quimosina/pepsina de la casa Chr Hansen (Hoersholm, Dinamarca)
- Fermentos termófilos: *starters* (*Streptococcus thermophilus*) en formato liofilizado y congelado, aromáticos (*Lactobacillus helveticus*) en formato congelado y bioprotectores (*Lactobacillus paracasei* y *Lactobacillus rhamnosus*) en formato liofilizado y congelado, todos estos de la casa Chr Hansen (Hoersholm, Dinamarca)
- Sal alimentaria que se suministra en sacos de 25 kg de la casa Esco (Hannover, Alemania).

3. Elaboración del queso Stracchino

Para la realización de los ensayos de elaboración de queso se utiliza la línea de quesería de la marca TECNAL (Niort, Francia) situada en la fábrica de Quescrem ubicada en Aranga (A Coruña).



Ilustración 4. Línea TECNAL

Esta línea consta de 31 cubetas de 300 L de capacidad cada una que se mueven por un circuito cerrado con distintas estaciones fijas donde se realiza el trabajo de cuba (llenado, corte, agitación, desuerado, volcado). Para poder utilizar estas instalaciones es necesario adaptar el proceso productivo, ya que la elaboración tradicional de Stracchino difiere bastante de lo que se puede hacer en esta línea. En este sentido, se hacen pruebas

de salado, maduración y acidificación adaptadas a la línea TECNAL, dando un buen resultado por lo que se decide salar la leche en la cubeta, acidificar durante la elaboración sin que exista postacidificación y madurar en envase. En la ilustración 5, se muestra el diagrama de flujo de la elaboración del Stracchino una vez adaptados los cambios necesarios para utilizar la línea.

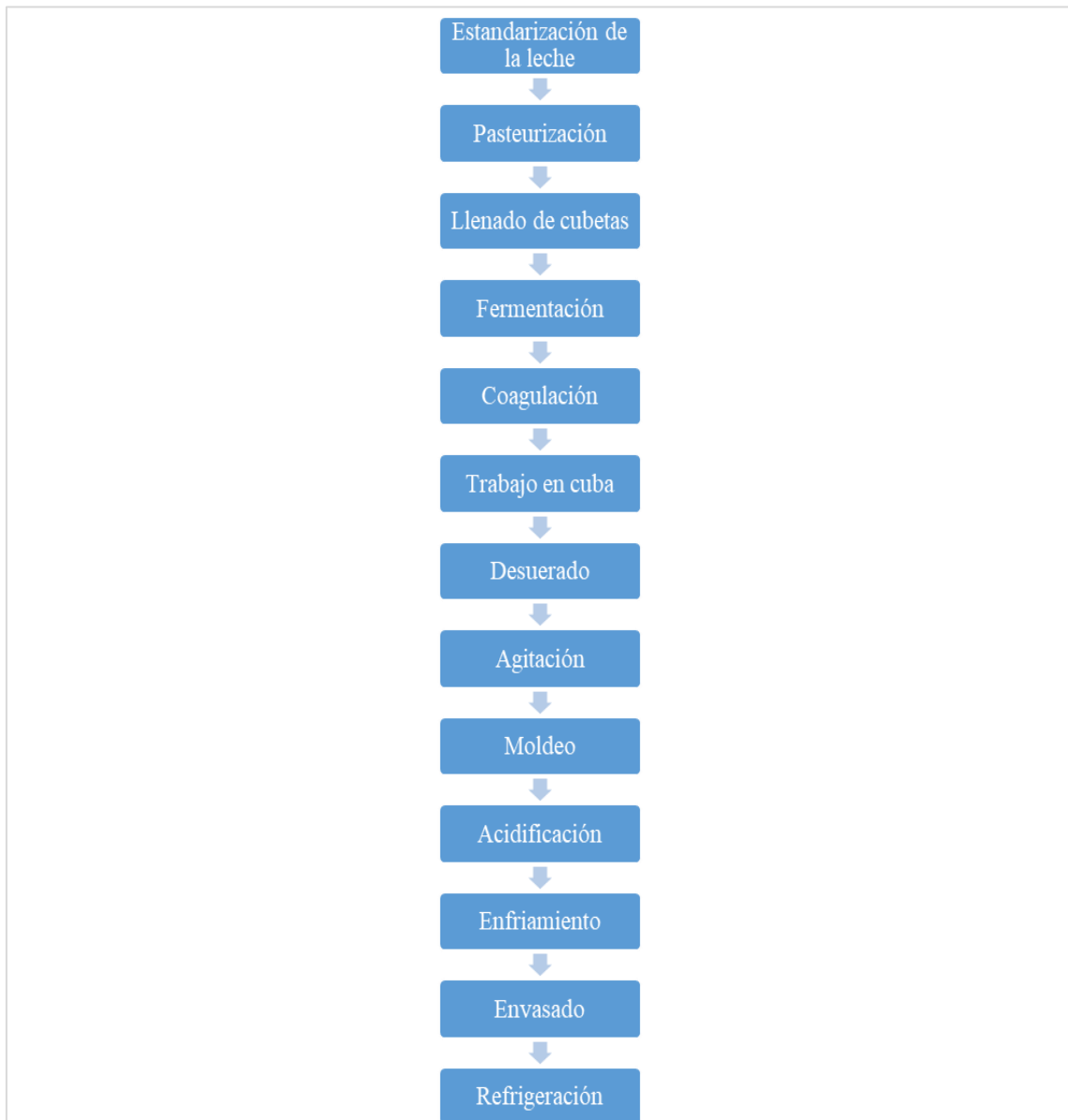


Ilustración 5. Proceso elaboración Stracchino (Fuente: elaboración propia)

De forma detallada, las etapas del proceso de fabricación del Stracchino consisten en lo siguiente:

- **Estandarización leche:** es una etapa opcional, el objetivo principal es ajustar el contenido de grasa y proteína para obtener un queso con la composición objetivo.
- **Pasterización:** consiste en la elevación de la temperatura con el objetivo de eliminar microorganismos patógenos, además de hacer una reducción logarítmica de la población microbiana de la leche. Algunos estudios han observado que la pasteurización de la leche produce una desnaturalización ligera de las proteínas séricas, así como modificaciones leves en el rendimiento de la leche (Grappin y Beuvier, 1997). Por este motivo, se realiza una pasteurización suave para evitar la desnaturalización de las proteínas séricas sobre las caseínas, y que esto provoque un empeoramiento de la coagulación y un exceso de retención de humedad. La pasterización es una de las medidas habituales en quesería para minimizar la carga microbiana y asegurar la inocuidad del queso final.
- **Llenado de cubetas:** la capacidad de cada cubeta es de 300 L, se llenan hasta esta cantidad a una temperatura controlada para que el cuajo y los fermentos puedan actuar de manera óptima.
- **Fermentación:** se añaden los fermentos acidificantes (*starters*), aromáticos y bioprotectores (en caso de que se incluyan). La duración de esta etapa está condicionada por el tiempo de la línea.
- **Coagulación:** al inicio de esta etapa se añade el cuajo, se mira el tiempo de toma, que es momento en el que la leche empieza a coagular, además es interesante para calcular el tiempo necesario de coagulación, debido a que este tiempo debe ser 3 veces el tiempo que tarda en coagular la leche. Existen diferentes cuajos según el queso que se quiera obtener: cuajo 100% quimosina o cuajos con distintas proporciones de pepsina y quimosina.
- **Trabajo en cuba:** en esta etapa el objetivo es generar una superficie de desuerado adecuada para conseguir el extracto seco total (en adelante EST) final deseado. Más concretamente, el trabajo de cuba comprende dos cortes (horizontal y vertical) con los que se generan cubos de cuajada (Ilustración 6) y varias agitaciones, tanto automáticas como manuales (paleos) en diferentes puntos, que ayudan a evitar el apelmazamiento de la cuajada y facilitando así, que siga desuerando.



Ilustración 6. Etapa cortes cuajada, a la izquierda se muestra corte horizontal, a la derecha el corte vertical

- **Desuerado:** Consiste en eliminar la mayor parte de suero libre de la cubeta. Para realizar esta etapa se utiliza un extractor de suero que dispone de una bomba de aspiración (ilustración 7). Esto permite recuperar el suero generado durante la fabricación para ser tratado posteriormente.



Ilustración 7. Desuerador extrayendo suero de la cubeta.

- **Agitación:** se realizan varias agitaciones para obtener un grano con menor humedad y además facilitar la bajada de la cuajada por la rampa.
- **Moldeo:** la cuajada desciende por la rampa y se van llenando los moldes (ilustración 8).



Ilustración 8. Volcado de la cuajada por la rampa para su moldeo.

- **Acidificación:** Etapa en la que la cuajada alcanza el pH deseado, esta etapa se lleva a cabo en los moldes.
- **Enfriamiento:** una vez alcanzado el pH deseado se meten los quesos, que todavía están en los moldes a la cámara de enfriamiento.
- **Envasado:** cuando los quesos están a una temperatura por debajo de 6°C, se desmoldan y envasan en envases rígidos termosellados con atmósfera modificada.
- **Almacenamiento:** los quesos deben estar a temperatura de refrigeración, dentro de un margen de 2 a 6°C, para mantener sus condiciones óptimas.

4. Seguimiento durante elaboración

Durante la elaboración del queso se hace un seguimiento de distintos parámetros para controlar el proceso. Se miden pH, temperatura y acidez de la leche, la cuajada, el suero y el queso, según el punto de la fabricación. Para la determinación de pH se utiliza un pHmetro Metrohm modelo 826 pH mobile (Herisau Suiza) portátil. En cuanto a la acidimetría lo que se pretende es la saturación de las funciones ácidas de la leche o el suero mediante un producto alcalino, que en presencia de un reactivo indicador (fenolftaleína) descubre mediante un cambio de color, la neutralización del ácido de la leche por el álcali al final de la reacción. La solución alcalina empleada es el hidróxido sódico (NaOH). En el caso de la T^a se mide en la propia cubeta con un termómetro Testo (modelo: 0560 1110) que consta de una sonda de 133mm.

5. Toma de muestras y frecuencia de los análisis

Al día siguiente de la producción del queso, se realizan diversos análisis posteriores de: las materias primas (leche de fabricación), los productos intermedios (sueros) y los productos finales (quesos). Estos análisis tienen como objetivo saber si el producto obtenido cumple con los requisitos establecidos por la empresa (datos no mostrados) de composición, físico-químicos, microbiológicos y sensoriales.

Para la leche se miden parámetros de composición (% materia grasa, % proteína, % lactosa y sólidos totales), analizados mediante LactoScope FTIR Advanced de Perten Instruments (Hägersten, Suecia). Además, también se analiza pH y acidez de la misma forma que se hace durante elaboración. En el suero también se determina composición

(% materia grasa, % proteína y % sólidos totales), se analiza mediante Espectrómetro FT-NIR MPA-II para análisis de líquidos por transmisión de Bruker (Billerica, Massachusetts).

Se toman 30 muestras de cada lote producido, a estas se les realiza un análisis inicial (a día 1) que consta de:

- Composición: materia grasa (MG) y % de extracto seco total (EST)
- Parámetros físico-químicos: pH y dureza
- Sensorialidad
- Microbiología: *Pseudomonas*, coliformes totales y mohos y levaduras (MyL).

Una vez obtenidos los resultados y si están dentro de los parámetros objetivo establecidos por la empresa (datos no publicados) se hace el seguimiento semanal de parámetros físicos, químicos y sensoriales. Los días fijados para el análisis son: 1, 4, 8, 15, 22, 30, 35, 45 y 54 días después de su fabricación. Además de fijar estos, se fijan también los días de análisis microbiológico que son: 4, 27, 40, 47 y 54 días después de su fabricación. Para cada día de análisis se abre un queso Stracchino diferente.

6. Determinaciones analíticas del queso Stracchino.

6.1 Determinación de composición.

Una vez fabricado el queso se procede a determinar la composición del mismo. Esto se hace en el laboratorio interno de Quescrem y se determinan % de materia grasa (% MG) y % extracto seco total (% EST). La determinación del %MG se realiza mediante butirimetría. Para ello se utiliza el método Van-Gulik que es una adaptación del método Gerber. Lo primero es la homogenización de la muestra que se machaca en un mortero. De esta muestra se pesan, con la máxima precisión, 3g en la copa de vidrio del butirómetro. Se introduce la copa en el cuello del butirómetro (40% volumen) y se añaden 15mL de ácido sulfúrico al 62%. Se tapa y se deja en el baño termostático a unos 60-65°C, agitando de vez en cuando, hasta que se disuelva totalmente la muestra. Una vez disuelto, se saca del baño y se añade 1mL de alcohol isoamílico, se agita y se enrasa con ácido sulfúrico. Se centrifuga a 1200rpm durante 5 minutos y se lee. El contenido de MG se lee directamente en la escala del butirómetro (ilustración 9) y se expresa en % (materia grasa en 100g de queso).

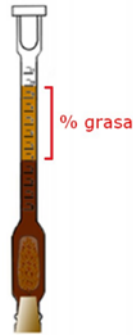


Ilustración 9. Lectura butirómetro

En el caso de la determinación del % EST se hace mediante desecación en estufa. Se pesan 3 g de muestra en una cápsula con 20 g de arena, se deja en estufa a 102 °C y se deseca hasta peso constante para ver la pérdida de peso, que será la humedad de la muestra.

6.2 Determinación de parámetros físico-químicos.

Dentro de los parámetros FQ se miden textura (dureza y adhesividad), % desuerado y pH. La textura es medida con un texturómetro Brookfield CT3 (Middleboro, EEUU), un equipo para realizar tests de compresión y tensión entre otros (ilustración 10). En este caso interesa un test de penetración para lo que se utiliza un accesorio en forma de cono, con el que se miden la dureza y adhesividad.

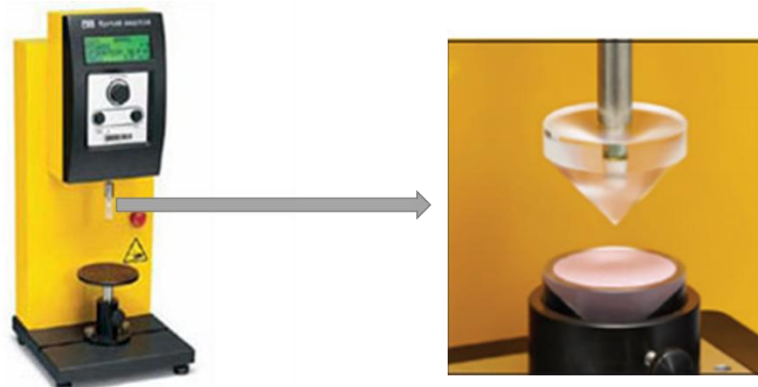


Ilustración 10. A la izquierda texturómetro Brookfield CT3, a la derecha cono del mismo.

La muestra se coloca en el plato y mediante el software del equipo, se programa un test de penetración a distancia controlada. El texturómetro mide la resistencia axial que opone una muestra cuando es deformada por el cono en 15 mm. La adhesividad es el

trabajo o fuerza necesaria para superar la atracción entre la superficie del producto y la superficie del cono.

6.3 Determinación de parámetros microbiológicos

En cuanto a los parámetros microbiológicos, se hacen análisis de patógenos y de alterantes sobre el producto final. El análisis de patógenos se realiza en laboratorio externo donde se hace recuento de *Escherichia coli* (ufc/g), estafilococos coagulasa positivos (ufc/g) y *Listeria Monocytogenes* (ufc/25g) según el Reglamento (CE) 2073/2005 de la Comisión de 15 de noviembre de 2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios.

Los microorganismos alterantes se analizan en laboratorio interno de Quescrem. A la hora de realizar el análisis microbiológico de una muestra sólida el primer paso es prepararla y diluirla para poder inocular una alícuota líquida en la placa Petri. Durante la preparación y siembra de la muestra se trabaja siempre en un ambiente estéril (mechero, cabina de flujo) para evitar la contaminación de la muestra.

Se pesan 10 gramos de muestra y se añaden 90 mL de peptona (dilución 1:10) en una bolsa para Stomacher y se agita durante 60 segundos. De esta muestra se saca la base para las demás diluciones como se muestra en la ilustración 11.

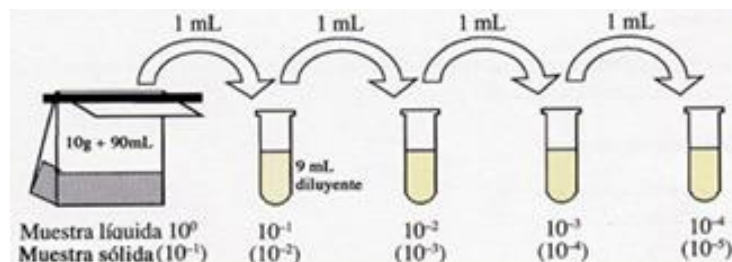


Ilustración 11. Esquema de realización de las distintas diluciones en microbiología, para productos sólidos y líquidos (Flores, 2013)

6.3.1 Mohos y levaduras (MyL)

En la siembra de las placas de mohos y levaduras se añade 1 mL de muestra (de la dilución correspondiente) en cada una de las placas que se vayan a analizar. Luego se añade el medio, en este caso, DRBC (de la casa Scharlab) y se agitan las placas en varios sentidos para mezclar el inóculo. Una vez secado el medio se incuban a 30 °C durante 120 horas. Al finalizar el período de incubación, se procede al recuento de las colonias que hayan crecido en cada placa. Se tendrán en cuenta aquellas con forma

redondeada y de color blanco o rosa intenso (ilustración 12). El protocolo se muestra detallado en el Anexo 1.

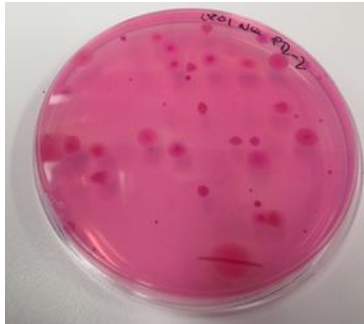


Ilustración 12. Placa para el recuento de mohos y levaduras después de 5 días de incubación.

6.3.2 *Coliformes totales*

En el caso de los coliformes totales la siembra se realiza igual que en mohos y levaduras. El medio que se utiliza es VRBA (Scharlab). Una vez se secada la primera capa del medio se cubre con una fina sobrecapa del mismo para generar un ambiente más anaerobio. Cuando ya está totalmente seca, se incuban las placas a 37 °C durante 48 horas. A la hora del recuento, se tendrán en cuenta, aquellas colonias con forma redondeada y de color violeta oscuro, con un halo de precipitación alrededor, independientemente del tamaño. El protocolo detallado se muestra en el Anexo 2.

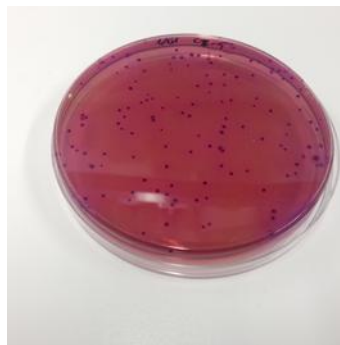


Ilustración 13. Placa para el recuento de colonias de coliformes, después de 48 horas de incubación.

6.3.3 *Pseudomonas*

Lo primero es preparar las placas con el medio Chromagar *Pseudomonas* (Scharlab). Una vez solidificado el medio, la siembra se realiza en superficie extendiendo el inóculo con un asa digralsky estéril hasta que este quede completamente absorbido. Una vez secado el medio se incuban las placas a 30 °C durante 48 horas. Para el recuento se tendrán en cuenta aquellas colonias con forma redondeada independientemente del tamaño y de color verde, aunque esta puede ser de distinta intensidad. En ocasiones se

observa un crecimiento “en racimo”, en este caso se contarán estas cadenas como una única colonia (ilustración 14). El protocolo detallado se muestra en el Anexo 3.

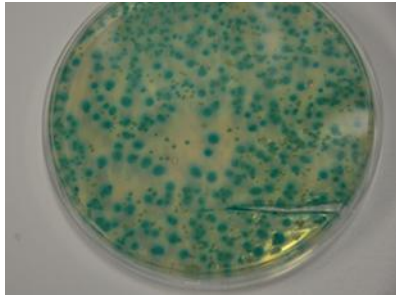


Ilustración 14. Placa para el recuento de Pseudomonas después de incubación durante 48 horas.

6.4 Determinación de parámetros sensoriales

Las muestras son analizadas sensorialmente, en una cata informal, por los componentes del departamento de I+D de la empresa. Se realiza la prueba sensorial coincidiendo con los días de análisis físico-químicos.

7. Estudio de vida útil

Se realiza un estudio de durabilidad, se analizan las muestras en los días marcados tanto a nivel físico-químico, sensorial como microbiológico.

Para la vida útil primaria del producto refrigerado, una vez está optimizado, se analizan muestras diferentes dentro del mismo lote durante el tiempo determinado (desde día 1 hasta día 54). Una vez se considera que el producto está llegando al final de su vida útil, la última muestra abierta es la que se utiliza para determinar la vida útil secundaria. A esta muestra abierta se le hacen los mismos análisis.

Para la vida útil primaria del producto congelado, se descongelan 20 muestras el mismo día, se dejan en refrigeración y se van abriendo según los días marcados para su análisis. Como en el caso del producto en refrigeración, una vez que se prevee la llegada al final de vida útil, se hace el análisis sobre la última muestra abierta para determinar su vida útil secundaria en descongelación.

8. Pruebas congelación en túnel

Una vez obtenidas las muestras, se realizan pruebas de congelación en un túnel piloto del que dispone Quescrem (ilustración 15). Por norma general, el queso fresco tiene mala aptitud frente a la congelación por lo que se busca obtener un queso Stracchino que se pueda congelar y así exportar conservado de esta manera. Se congelan 20 muestras de cada lote para su posterior descongelación y análisis. El túnel utilizado para estas pruebas, tiene una capacidad de congelación de 20 kg en 4 horas (tiempo depende del producto a congelar). Las características se presentan en la tabla 3.

Tabla 3. Características túnel piloto de congelación.

Gas	Aire
Tª impulsión gas	-30°C
Tª objetivo sonda	-18°C
Velocidad aire	4m/s



Ilustración 15. Exterior túnel piloto de congelado de Quescrem.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Optimización del queso Stracchino refrigerado

Debido a las exigencias del mercado de obtener un producto válido para preparaciones calientes y utilizarlo en cocina profesional, se marcan unas características objetivo para el Stracchino. El queso Stracchino original es un queso con mucha humedad, que evoluciona rápidamente durante su vida útil, que por eso es tan corta. En este caso Quescrem hace una adaptación del Stracchino específicamente para el canal Horeca, para ser utilizado como ingrediente en la cocina profesional. Es por esto que se busca una consistencia firme y elástica, lo suficiente para poder cortar el queso a cuchillo sin quedarse pegado ni deformarse en exceso. Por otro lado, debe ser adhesivo y cremoso una vez en la boca para aportar las características propias del Stracchino original. También debe fundirse cuando se le aplica calor, para poder cumplir con su funcionalidad en platos horneados como por ejemplo pizzas.

Para su uso en cocina es necesario obtener un queso con una textura estable durante toda su vida útil para que el cocinero pueda sacar platos homogéneos independientemente del día de maduración en el que se encuentre el queso. Es por esto que se realizan varios ensayos para lograr la estabilización de la textura final del queso. Para llegar al objetivo de un queso con una textura determinada se trabaja con la combinación de variables como la composición de la leche y por tanto del queso final, el tipo de cuajo, la temperatura de coagulación de la leche o la dosis de fermentos.

1.1 Estandarización de la leche

Una de las variables que determina la textura de la muestra es la estandarización de la leche. En anteriores ensayos realizados en Quescrem (datos no publicados) se había visto que puede ser el tipo de cuajo el que determina la textura del queso final, pero consultando bibliografía se empieza a probar la elaboración del queso con leche con una composición determinada. La textura a lo largo de la vida útil puede llegar a modularse a través del ajuste del HFD (humidité dans le fromage dégraissé –humedad del queso desgrasado) que es un parámetro que relaciona la humedad del queso con el extracto

seco no graso compuesto básicamente por caseína. Esta proteína es la que proteoliza y hace que el queso cambie a lo largo de su vida.

De forma general, cuando este HFD está por encima del 74% indica que hay demasiada humedad en el queso y por lo tanto este no puede ser estabilizado. Si el HFD está por debajo del 69% ocurre lo contrario, el queso tiene muy poca humedad, está seco, y por lo tanto no puede evolucionar. Para ajustar este parámetro, se fija la humedad (que se consigue con el trabajo en cuba) y se juega con la proporción de grasa/proteína en la leche de partida. Así, si se estandariza la grasa de la leche, se consigue obtener un queso cuyo HFD está dentro del rango de estabilización.

Se realizan diferentes ensayos para ver las diferencias que puede provocar la estandarización en la textura del queso final concordando con los resultados publicados por Rako y col (2019) en cuanto a la evolución de la textura según la composición de la leche. Como se puede observar en el gráfico 1, aquellas muestras elaboradas con leche estandarizada (línea color verde) tienen una dureza más estable a lo largo de su vida útil. En cuanto a las elaboradas con leche no estandarizada, siguen todas la misma tendencia, aumentando la dureza a medida que avanzan los días de análisis. Por lo tanto, la estandarización puede ayudar a conseguir el tipo de queso estable que se desea elaborar.

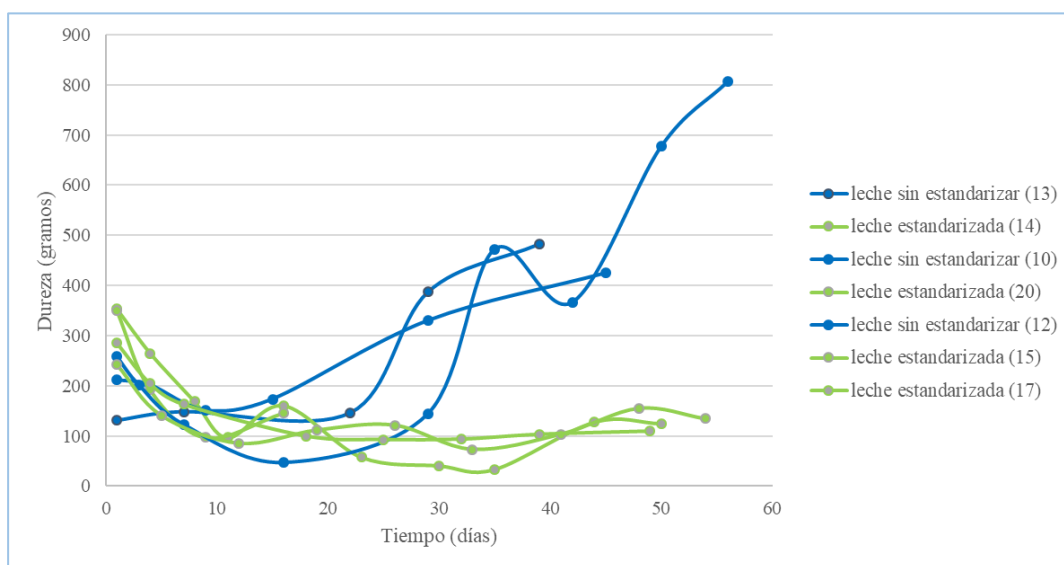


Gráfico 1. Evolución de la dureza del queso Stracchino en función de la estandarización de la leche. Las líneas azules representan la leche sin estandarizar, las líneas verdes la leche estandarizada y los números que aparecen entre paréntesis corresponden al número de ensayo (Fuente: elaboración propia)

1.2 Temperatura de coagulación

En el caso de la temperatura de coagulación de la leche se ha observado que, de forma general, temperaturas más altas dan una textura más dura que temperaturas bajas en concordancia con los resultados obtenidos por Crespo (2017). Esto es debido a que la temperatura condiciona la velocidad de acidificación. Esta velocidad condiciona la humedad del producto final y la cantidad de calcio coloidal (Lucey, 2008). La combinación de ambas variables hace que la textura cambie. Madadlou (2006) probó la coagulación de la leche en la fabricación del queso Iraní a diferentes temperaturas (34, 37 y 41,5 °C) viendo que la temperatura más alta reducía la humedad del producto final dando una textura del queso más compacta. Si el tiempo de acidificación es lento (propio de bajas T^a) el producto final que se obtiene tiene una textura parecida a la de un yogur cremoso, fácilmente untable. Si el tiempo de acidificación es rápido, el queso final tiene una textura más firme y manipulable a la vez que cremosa como se puede observar en la ilustración 16.



Ilustración 16. Stracchino elaborados con leche a diferente temperatura. A la izquierda con leche a media temperatura, a la derecha elaborado con leche alta temperatura.

Se debe de tener en cuenta que los fermentos acidificantes que se utilizan son termófilos y en su ficha técnica la temperatura óptima de crecimiento oscila entre 35 y 45°C. Esto no significa que la velocidad de crecimiento vaya a ser la misma a 35°C que a 45°C. Los resultados de Madadlou (2006) concuerdan con los presentados en este trabajo. En el gráfico 2, podemos ver cómo la T^a de coagulación, que es la primera variable de fabricación, afecta al tiempo de acidificación del queso. Por una parte, se muestran los

resultados a una temperatura inicial alta, en este caso el pH deseado se alcanza rápidamente en apenas 2 horas y media. A esta temperatura los fermentos termófilos funcionan óptimamente, de ahí su descenso rápido. En el caso del llenado a temperatura media el tiempo es 1,5 horas mayor, esta temperatura no es la óptima para el fermento de ahí su menor velocidad de actuación. Hay una clara similitud entre las dos muestras durante la primera hora, es a partir de aquí cuando se ve la mayor diferencia de acidificación.

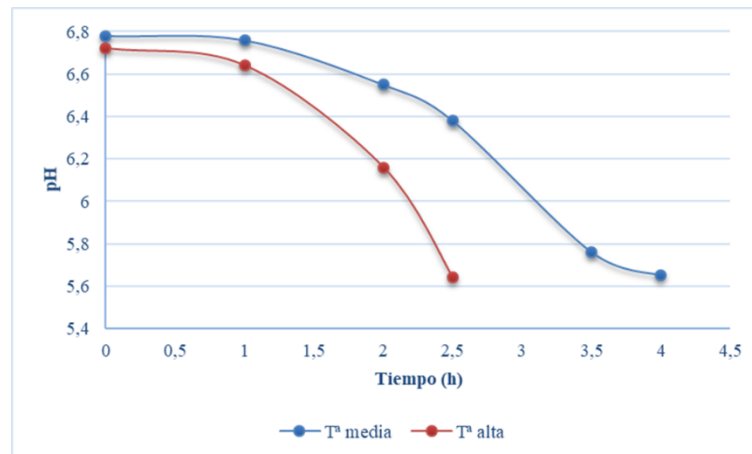


Gráfico 2. Evolución del pH, durante la elaboración de Stracchino, a dos temperaturas iniciales diferentes. (Fuente: elaboración propia)

1.3 Tipo de cuajo

En el caso de los ingredientes, tal y como se hace el Stracchino original, inicialmente se utiliza un cuajo con una composición de 80% quimosina y 20% pepsina. Con este se ve que el queso evoluciona demasiado rápido, alcanzando una textura blanda en pocos días. Para modificar este aspecto se prueba la fabricación con 3 tipos de cuajo:

1. 80% quimosina/20% pepsina (control)
2. 95% quimosina/5% pepsina.
3. 100% quimosina

Con el 2 se observa que el queso evoluciona durante los primeros 10 días, manteniéndose más o menos estable en textura durante el resto de vida útil. Con el 3 se ve que el queso apenas evoluciona manteniéndose durante toda la vida útil con una textura estable. La pepsina aporta al queso la proteólisis durante la maduración, por lo tanto, para un queso más estable es necesario utilizar dosis más bajas de esta. Estos resultados concuerdan con los establecidos por Fox (1989) en los que afirma que la proteólisis del queso proporcionada por la pepsina, es el evento bioquímico más

importante durante la maduración de la mayoría de los quesos, con un gran impacto en sabor y textura.



Ilustración 17. Quesos elaborados con diferentes cuajos. De izquierda a derecha: 80% quimosina/20% pepsina, 95% quimosina/5% pepsina, 100% quimosina.

En la ilustración 17 se puede ver claramente la diferencia entre los 3 cuajos cuando se mantienen todas las variables de fabricación constantes excepto el cuajo. Como el objetivo de este trabajo era un queso cremoso pero firme con poca evolución, se seleccionó el cuajo 2 para seguir realizando pruebas de optimización ya que no solo el cuajo es responsable de la textura.

1.4 Trabajo en cuba

El %EST influye en la dureza final del producto y puede venir determinado por el trabajo en cuba realizado durante la elaboración. En relación a los resultados obtenidos por Panthi y col. (2019), cuanto mayor superficie de grano se genere mayor será el desuerado y mayor el EST final. En el caso concreto del queso Stracchino, después de varios ensayos se vio que el trabajo en cuba (cortes, agitaciones y paleos) no estaba entre los mayores determinantes de la dureza del queso final. En este sentido la temperatura de coagulación influye mucho en el EST final y por lo tanto en la dureza. Como se puede ver en la tabla cuando se llena a mayores temperaturas el EST es más alto que cuando se llena a bajas temperaturas, lo que se traduce en mayor o menor dureza del producto.

Tabla 4. Diferentes ensayos con distinta temperatura de llenado y su relación de T^a, EST y Dureza. A: significa temperaturas altas, B temperaturas bajas. (Fuente: elaboración propia)

Ensayo	T ^a	EST	Dureza
1A	44,1	39,56	611
2A	45	39,19	487
3A	42,4	41,45	593
1B	37,9	36,66	286
2B	36,3	33,17	228
3B	38,8	37,31	341

2. Vida útil del queso Stracchino refrigerado

El final de vida útil del producto puede ser microbiológico, físico-químico o sensorial. Se analizan estos factores tanto para VU primaria como para VU secundaria.

2.1 Estudio microbiológico.

Por falta de límites legalmente establecidos para microorganismos alterantes, internamente se fijan unos límites basados en estudios de sensorialidad realizados en el seno de la empresa Quescrem (datos no publicados), que sirven como valores de referencia de calidad. Estos límites se muestran en la tabla 5.

Tabla 5. Valores de referencia (ufc/g) establecidos en Quescrem en cuanto a calidad microbiológica del queso. (Fuente: departamento de Calidad de Quescrem, Castro Ribeiras de Lea)

	Calidad		
	Buena	Regular	Mala
<i>Pseudomonas</i>	<10E+06	1,00E+06	>10E+06
Coliformes	<10E+04	1,00E+04	>10E+04
MyL	<10E+03	1,00E+03	>10E+03

Durante los primeros ensayos de fabricación de este producto, donde se realizan las adaptaciones a la línea TECNAL, los recuentos microbianos del queso Stracchino refrigerado son casi siempre altos debido a la manipulación de la cuajada. Para contrarrestar este efecto se prueba la eficacia de un fermento bioprotector con el objetivo de reducir la evolución microbiológica del producto. Se ve que este fermento es capaz de reducir los recuentos a día 1 de análisis. Una vez optimizado el flujo de trabajo durante el proceso de elaboración, se obtienen quesos sin contaminación inicial que son capaces de llegar a más de 60 días sin desarrollo microbiológico. En este caso sería innecesario el uso de un fermento bioprotector.

En cuanto a la vida útil primaria se analiza el lote con las características deseadas para el producto a comercializar. Para este ensayo de vida útil la muestra presenta inicialmente bajos recuentos de mohos y levaduras, *Pseudomonas* y coliformes totales, el siguiente análisis realizado se hace a día 27 debido a que en ensayos anteriores (datos no publicados) las muestras presentaban buenos resultados hasta este día. Esto se demuestra en este ensayo, ya que la muestra presenta recuentos microbianos muy bajos a una dilución de -2. En la tabla 6 se muestran los resultados de microbiología a lo largo

de la vida útil del producto. Vemos como a día 54 la muestra presenta recuentos bajos de los microorganismos analizados.

Tabla 6. Recuentos microbianos (ufc/g) durante vida útil primaria refrigerada del Stracchino. MyL: mohos y levaduras. (Fuente: elaboración propia)

	Días de análisis				
	4	27	40	47	54
<i>Pseudomonas</i>	1,45E+03	2,50E+02	1,00E+01	6,25E+03	5,50E+02
Coliformes totales	4,10E+02	1,00E+02	1,00E+01	1,00E+01	1,35E+02
MyL	1,97E+03	5,05E+02	4,55E+02	5,40E+03	1,35E+03

Durante la vida útil del producto se analizan diferentes muestras, existe una aleatoriedad debida al propio proceso de fabricación en el que la etapa de moldeo manual es donde se pueden generar diferencias por la manipulación. De todas formas, ninguna supera los límites internos fijados por la empresa de recuentos microbianos para su comercialización.

Una vez se llega a los 54 días del producto refrigerado se empieza con la vida útil secundaria. Se abre el envase y se deja en refrigeración como se haría en casa de cualquier consumidor. En este caso se plantean 3 días de análisis, dándose los resultados mostrados en la tabla 7.

Tabla 7. Recuentos microbianos (ufc/g) durante la vida útil secundaria refrigerada del stracchino. (Fuente: elaboración propia)

	Días de análisis		
	3	5	7
<i>Pseudomonas</i>	9,00E+02	4,50E+03	6,00E+04
Coliformes totales	2,70E+02	1,00E+01	1,00E+01
MyL	2,00E+03	1,00E+02	8,18E+04

Se observa que microbiológicamente la muestra llega en perfectas condiciones a día 5, observándose un aumento a partir de este momento tanto en *Pseudomonas* como en mohos y levaduras.

Por lo tanto, microbiológicamente tendremos un producto con más de 54 días de vida útil primaria y 5 días de vida útil secundaria.

2.2 Estudio físico-químico

Para determinar la vida útil a nivel físico del queso se mide el desuerado, la textura y el pH de la muestra. En cuanto al desuerados no se muestran resultados porque este tipo de queso no desuera. Los datos obtenidos a lo largo de la vida útil del producto se muestran en el gráfico 3.

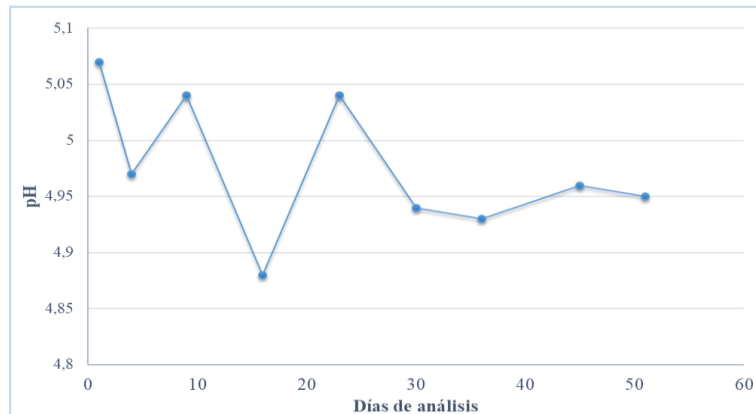


Gráfico 3. Evolución del pH durante vida útil primaria refrigerada del stracchino. (Fuente: elaboración propia)

En este caso como podemos ver en el gráfico 3 el pH se mantiene dentro del rango admitido por la empresa ($\text{pH} \geq 4,80$), a lo largo de los análisis realizados sobre el producto por lo que en este caso no será el factor determinante para el final de vida útil. Además, las oscilaciones observadas pueden ser provocadas por la dispersión del pH. Esta dispersión viene dada por la disposición que ha tenido el queso en el pallet durante la etapa de acidificación. Una vez formados los pallets con los quesos, estos pasan a una cámara de enfriamiento. En esta cámara el lugar que ocupa el queso en el pallet es fundamental debido a que aquellos quesos que están en la parte exterior serán enfriados más rápidamente que aquellos que están justo en el interior.

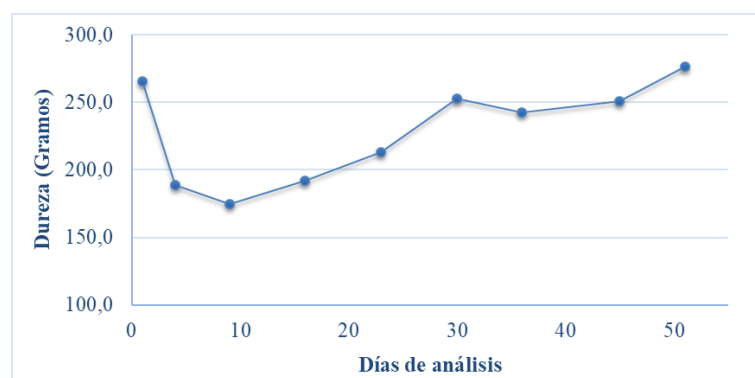


Gráfico 4. Evolución de la dureza a lo largo de la vida útil del producto refrigerado. (Fuente: elaboración propia)

En el gráfico 4 vemos la evolución de dureza del queso Stracchino refrigerado. Se puede observar que a día 1 tiene una textura más dura que va descendiendo ligeramente

a medida que va evolucionando pero que a partir de día 20 vuelve a recuperar manteniéndose más o menos estable el resto de días de análisis. Esta evolución inicial es debida a la proteólisis.

La proteólisis es uno de los principales cambios bioquímicos que se producen durante la maduración del queso y afecta directamente a un desarrollo adecuado de textura, aroma e intensidad del sabor de la mayoría de los quesos madurados (McSweeney y Fox, 1997). La diferencia de actividad de las enzimas responsables de la ruptura de las proteínas viene determinada por la diferencia de concentración de sal y humedad a lo largo de la maduración (Zorrilla y Rubiolo, 1997). Por este motivo la muestra sufre mayores cambios de textura al inicio de vida útil y se ralentiza la evolución a mediados de esta.

Para valorar la vida útil secundaria en lo referente a las variables físico-químicas se sigue el mismo protocolo de medición de textura y pH. Los resultados obtenidos en cuanto a dureza siguen siendo estables durante vida útil secundaria por lo que no se consideran un factor limitante de la vida útil (gráfico 5).

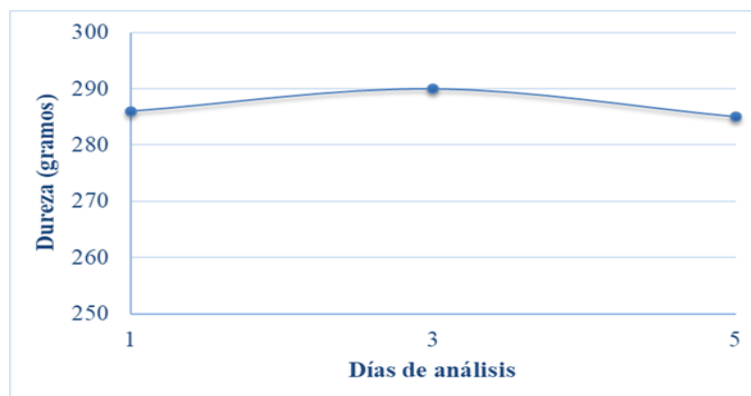


Gráfico 5. Evolución dureza durante vida útil secundaria del Stracchino refrigerado.
(Fuente: elaboración propia)

Lo mismo ocurre con el pH, como se muestra en el gráfico 6, no evoluciona lo suficiente para ser limitante de vida útil.

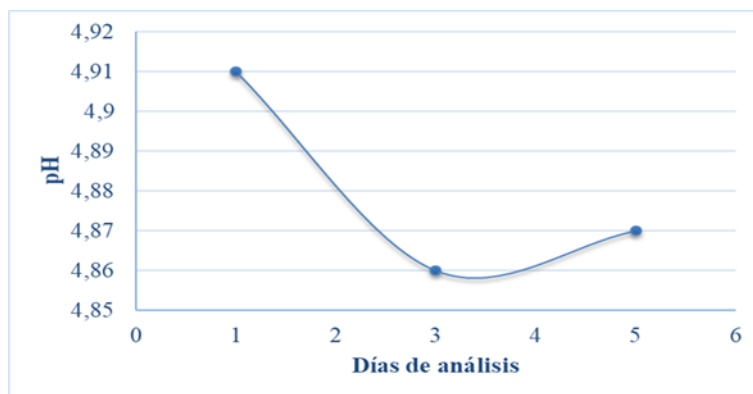


Gráfico 6. . Evolución pH durante vida útil secundaria del Stracchino en refrigeración. (Fuente: elaboración propia)

2.3 Análisis sensorial

Una vez realizados tanto los análisis microbiológicos como físico-químicos, se hace el análisis sensorial por parte de los miembros del departamento de I+D de Quescrem. En este caso se fija el final de vida útil cuando empiezan a aparecer sabores desagradables, amargores o simplemente textura en boca indeseable. Inicialmente aparecen problemas de amargores que se intentan solucionar con fermentos aromáticos. Se realizan varios ensayos con estos fermentos, dando una mejora en el sabor, aunque no total, sin cambiar otros parámetros.

En el caso de las pruebas sensoriales que se realizan a lo largo de toda la vida útil, se muestran los resultados con índices de valoración sensorial global marcados internamente del 1 al 3 donde cada uno tiene un significado. 1=estado óptimo, 2=estado aceptable, se detecta evolución, pero no defecto y 3=no aceptable, aparecen defectos. Los resultados de los distintos seguimientos se muestran en el gráfico 7.

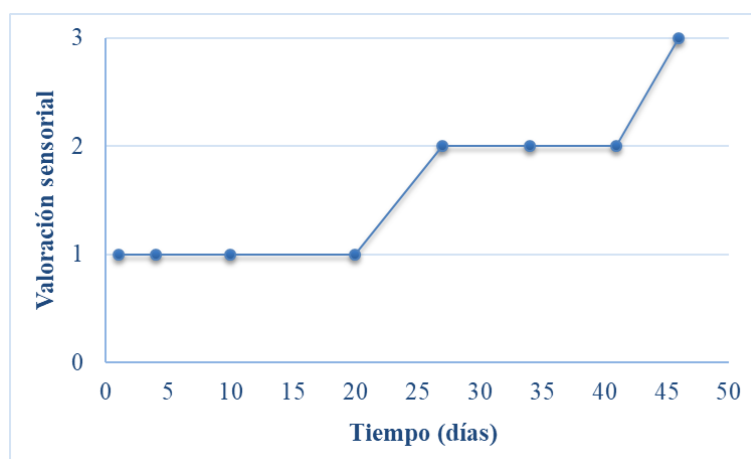


Gráfico 7. Evolución de la valoración sensorial durante la vida útil primaria del producto refrigerado. (Fuente: elaboración propia)

Como podemos observar, hasta día 23 el queso mantiene una valoración de 1 donde se describe como cremoso, con acidez ligera y sabor intenso. A partir de aquí, a día 30 el queso se empieza a desarrollar mayor acidez, aunque no desagradable y van apareciendo retrogustos ligeramente amargos hasta día 51 que se considera que el producto está muy amargo y desagradable. Se establece entonces el final de vida útil sensorial en 45 días que es el último análisis en el que la muestra está aceptable.

Para valorar la vida útil secundaria se parte de una muestra que abrimos el día 45 que obtiene una valoración sensorial de 2 porque está llegando a final de vida útil. Al inicio de vida útil secundaria, por lo tanto, se parte de esta valoración 2. Debemos de tener en cuenta que una vez abierto el envase, aunque este en el último día de caducidad, debe de consumirse según las indicaciones de vida útil secundaria. Es decir, si abrimos el envase el día de caducidad, pero las indicaciones nos dicen que se puede consumir durante los 7 días siguientes, el producto debe permanecer en buenas condiciones durante este

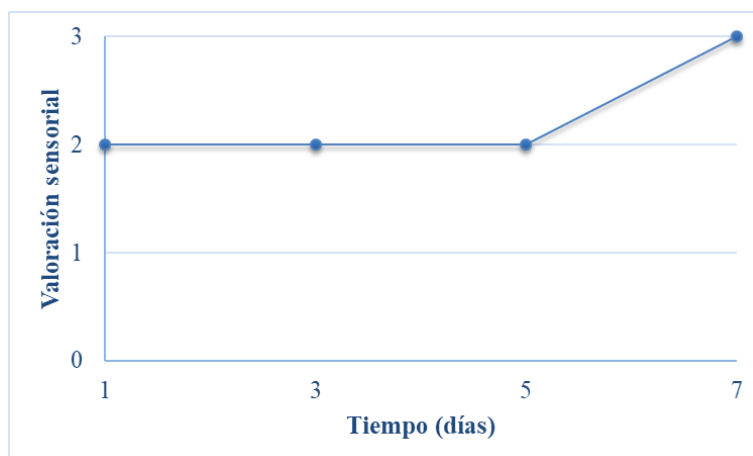


Gráfico 8. Evolución sensorial durante vida útil secundaria del producto refrigerado.
(Fuente: elaboración propia)

tiempo. Se debe de poner el estudio en el peor de los casos para asegurar que se cumplen los requisitos.

Por lo tanto, una vez analizados todos los parámetros que influyen en la vida útil, se establecen los límites según las limitaciones sensoriales porque microbiológicamente el producto mantiene buenas características. De esta forma quedaría una vida útil en refrigeración de 45 días y VU secundaria en refrigeración de 5 días.

3. Optimización del queso Stracchino descongelado

Para la comercialización internacional de un producto fresco de vida útil limitada, es necesario buscar alternativas de conservación. Por este motivo para el queso Stracchino desarrollado se intenta obtener un producto que tenga buenas aptitudes hacia la congelación. Una de las características del queso que más se ve afectada por la congelación, es la textura. Existen diferentes factores que afectan a la textura del producto descongelado como son: el cuajo, tamaño, %EST y el día de congelación (Pérez-Munuera y col, 1999)

3.1 Optimización cuajo

El punto de proteólisis del queso, dependiente en gran medida del cuajo, es un factor que influye en el des/congelado. Se prueban varios tipos de cuajo para comprobar estas diferencias. Aquellos cuajos que tienen 100% quimosina proporcionan un producto con poca evolución en el que no existe proteólisis por lo que es un producto con textura muy elástica, poco cremosa y estable, similar a la de un queso fresco tipo burgos tradicional, durante toda la vida útil. Cuando se prueban cuajos con un pequeño porcentaje (del 5 al 20%) de pepsina, estos proporcionan una textura cremosa que evoluciona a lo largo de la vida útil y proporciona mayor intensidad aromática. Con cuajo 100% quimosina y con cuajo 80%quimosina/20% pepsina, al mismo día de congelación se ve que el 80/20 da una textura aceptable mientras que 100% quimosina da una textura granulosa e indeseable (ilustración 18). Cuanto mayor es la proporción de pepsina en el cuajo, mayor es la proteólisis y menos estructurado está el queso. Por lo tanto, los quesos más proteolizados son menos sensibles a los daños provocados por los cristales de hielo durante la congelación. En definitiva, la proteólisis y la congelación generan un efecto de degradación sobre la estructura, ablandando el queso. Congelar el producto en el punto óptimo de proteólisis, resulta en una textura excesivamente blanda por la suma de efectos.



Ilustración 18. De izquierda a derecha, producto descongelado elaborado con cuajo 100% quimosina, los dos restantes con cuajo 80% quimosina/20% pepsina.

3.2 Optimización del tamaño

Es conocido que el tamaño es un parámetro fundamental en la congelación de cualquier tipo de producto (Gómez Sánchez, 2007). En el caso del queso Stracchino un pequeño tamaño favorece la congelación por la mayor proporción superficie/volumen. Además, un tamaño pequeño resulta en una proteólisis ligeramente más rápida. Por lo tanto, para diferentes tamaños el resultado siempre es mejor para los formatos más pequeños. Tal y como se puede observar en la ilustración 19. Independientemente del tamaño el queso Stracchino presenta buena aptitud frente a la congelación.



Ilustración 19. Stracchino descongelado, loncha de 100g (izquierda), barra de 1kg (derecha)

3.3. Optimización del % EST

En el caso del % EST, los quesos con menor humedad tienen una textura más estable y menos deteriorada al descongelarlos, mientras que los quesos con alta humedad presentan una estructura rota tanto visual como en boca. Esto se debe a que al congelarse el agua libre genera cristales de hielo que rompen la estructura del producto, lo que pasa de forma general cuando se utiliza esta tecnología en quesos frescos. Un

bajo % EST se traduce, por lo tanto, en características sensoriales desagradables (granulosidad, acidez, etc) como se muestra en la imagen 20.



Ilustración 20. A la izquierda se muestra un queso con menor %EST y a la derecha un queso con mayor %EST.

3.4 Día óptimo congelación/descongelación del queso Stracchino

Los primeros ensayos realizados sobre congelación se llevan a cabo congelando el producto en el punto óptimo de textura. Una vez descongelado se ve que la descongelación ablanda la textura del queso por los cristales de hielo generados, quedando un queso demasiado blando para el objetivo fijado (textura manipulable, lo suficientemente duro para ser cortado sin deformarse demasiado). Para solucionar esto, se realiza un ensayo probando diferentes días de congelación y así conseguir la textura óptima una vez descongelado el producto. En este ensayo se congela Stracchino a día 1, 4 y 5 de vida útil y se mantienen congelados durante una semana. Una vez descongelados, se analiza cómo evolucionan. En la ilustración 21 podemos observar los quesos congelados a los diferentes días y posteriormente descongelados. Se ve que presentan mejor textura interior los congelados a días 4 y 5, sin embargo, el de día 5 ya está demasiado blando. Se puede concluir de este ensayo que la congelación de los Stracchino debe realizarse antes de llegar al punto óptimo de textura ya que la congelación deteriora la estructura interna del queso perdiendo dureza.



Ilustración 21. Stracchino congelado a día 1, 4 y 5 (de izquierda a derecha). Analizados a día 3 de descongelación.

Además, se aprovecha el mismo ensayo para estudiar la evolución de los quesos una vez descongelados. Se analizan a día 3 (ilustración 21), 6 (ilustración 22) y 9 desde el día de descongelación. Se puede observar comparando las dos ilustraciones, que entre unos y otros presentan mejor aspecto y textura interior los que llevan 6 días desde su descongelación. Esto indica que a medida que avanza la descongelación los quesos siguen evolucionando y proteolizando por lo que se recomponen parte de los daños causados por los cristales de hielo formados durante la congelación. Por este motivo su consumo es preferible a partir del segundo o tercer día desde su completa descongelación. En este momento el producto ya alcanza una textura cremosa, aunque sigue siendo manipulable, por lo que la descongelación es imperceptible.



Ilustración 22. Stracchino congelados a diferentes días de maduración (1,4 y 5). Analizados a día 6 de descongelación.

Se debe de tener en cuenta que tan necesario como establecer las condiciones óptimas de congelación, es establecer las condiciones óptimas de descongelación. La descongelación al contrario que la congelación debe de ser lenta para que la modificación de la estructura del hielo no provoque rotura de fibras ni la pérdida de agua (Otero, 2013). Por este motivo es necesario que la descongelación del producto se

haga en refrigeración. El Stracchino tarda 48 horas, en refrigeración a 4-6 °C, hasta que descongela totalmente y a partir de aquí se empiezan los ensayos de vida útil.

4. Vida útil del queso Stracchino descongelado

4.1 Estudio microbiológico

En cuanto a la vida útil descongelado, se observa que los recuentos microbianos son los mismos o más bajos que en fresco. Los resultados del análisis microbiológico del Stracchino descongelado se presentan en la tabla 8.

Tabla 8. Recuentos microbianos (ufc/g) durante vida útil descongelado del queso Stracchino. (Fuente: elaboración propia)

	Días de análisis				
	4	12	19	25	32
MyL	5,00E+01	1,00E+02	4,50E+02	1,00E+02	1,00E+02
Coliformes totales	1,00E+01	1,00E+02	1,00E+02	1,00E+02	1,00E+02
Pseudomonas	1,00E+01	1,00E+01	8,00E+02	1,00E+02	1,00E+02

Una vez abierta la última muestra, se guarda en refrigeración y se deja para empezar el análisis microbiológico de vida útil secundaria en descongelado. Para este aspecto se fijan 3 días de análisis (d1, d3, d5), ya que se supone por ensayos realizados anteriormente que la muestra es más sensible que cuando es refrigerada. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 9.

Tabla 9. Recuentos microbianos (ufc/g) durante vida útil secundaria descongelado del queso Stracchino. (Fuente: elaboración propia)

	Días de análisis			
	1	3	5	7
Coliformes Totales	1,00E+02	1,50E+03	2,50E+04	4,60E+05
Pseudomonas	3,50E+02	9,50E+03	2,50E+04	1,70E+05
MyL	5,00E+02	7,56E+03	1,57E+04	2,60E+06

Se ve que existe un crecimiento microbiano a medida que pasan los días, así se puede considerar que a día 7 alcanza el final de vida útil microbiológica.

4.2 Estudio físico-químico

Los parámetros físico-químicos son también determinantes de la vida útil del producto por lo que se han realizado múltiples ensayos para su optimización. Los resultados obtenidos en cuanto a dureza del producto descongelado se muestran en el gráfico 9. Como se puede observar, el patrón de dureza es similar al que tiene la muestra durante refrigeración. Al principio se ve que la muestra está más blanda seguramente debido a que está más rota por la congelación. Una vez va evolucionando se ve que alcanza mayor dureza dando una textura más consistente y manipulable.

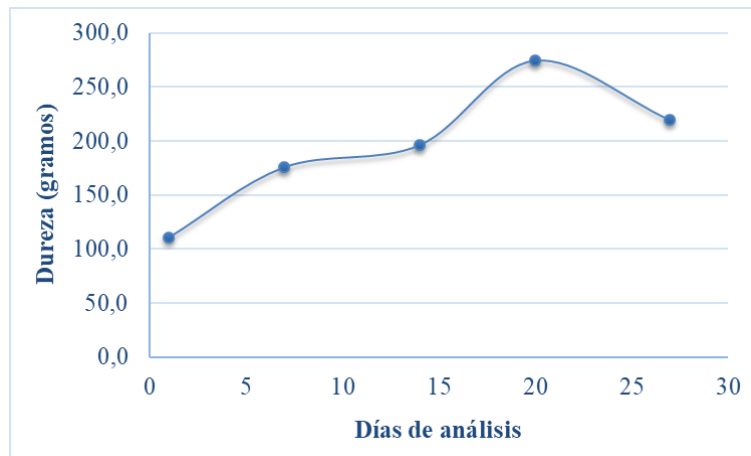


Gráfico 9. Evolución dureza durante vida útil descongelado. (Fuente: elaboración propia)

En cuanto al pH, se ve un descenso continuo a lo largo de los análisis del producto descongelado, los resultados se muestran en el siguiente gráfico, dónde la muestra alcanza un pH al límite de lo establecido por la empresa (pH=4,80).

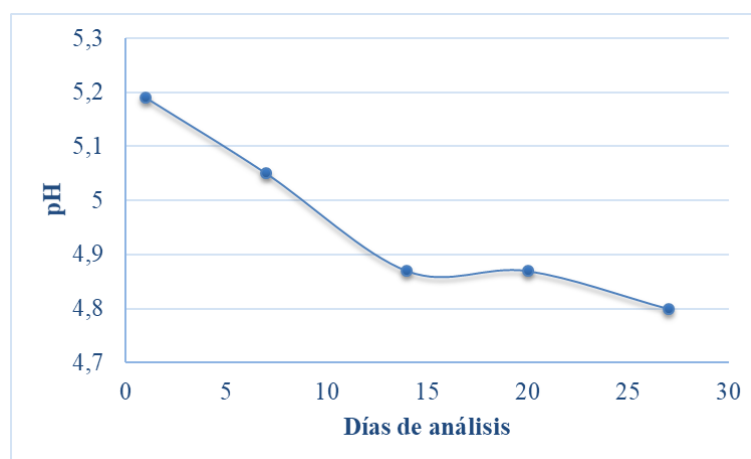


Gráfico 10. Evolución del pH durante vida útil del producto descongelado. (Fuente: elaboración propia)

Por lo tanto, se establece una vida útil físico-química de 25 días en descongelación limitada por el pH.

En cuanto a la vida útil secundaria en descongelado, se analiza la textura (dureza) y el pH de la muestra al mismo tiempo que se hace microbiología. Los resultados se muestran en el gráfico 11.

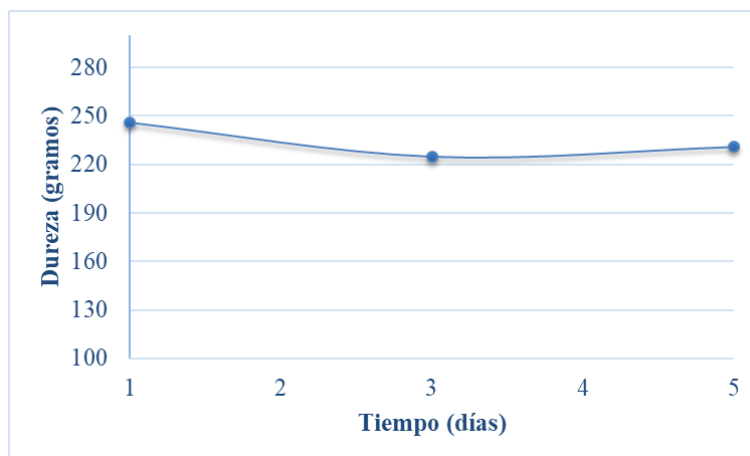


Gráfico 11. Evolución de la dureza del producto durante vida útil secundaria en descongelación. (Fuente: elaboración propia)

En cuanto al pH se observa un descenso una vez abierto, que empieza a estar por debajo del límite, fijado anteriormente, a día 5. Por lo tanto, dentro del factor físico-químico la dureza no es limitante de la vida útil del producto, pero sin embargo el pH si lo es, ya que a día 3 se encuentra en 4,80.

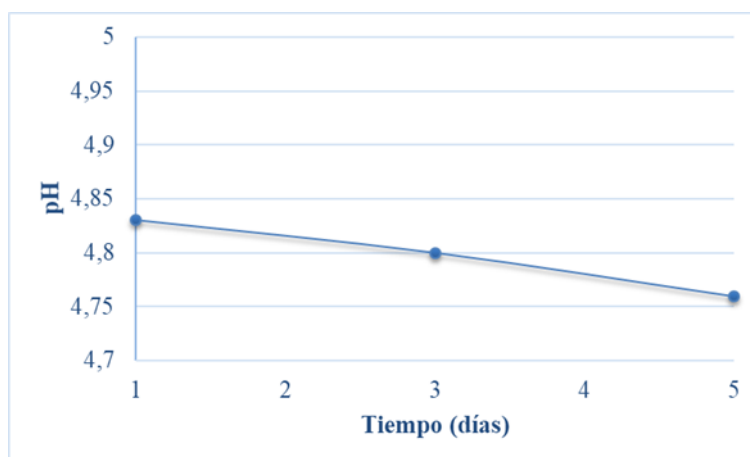


Gráfico 12. Evolución pH del producto durante vida útil secundaria en descongelación. (Fuente: elaboración propia)

4.3 Análisis sensorial

La vida útil sensorial del queso descongelado también viene determinada principalmente por aparición de sabores desagradables como puede ser el sabor amargo. Como ya se ha mencionado anteriormente, para optimizar la vida útil sensorial del Stracchino se prueban fermentos aromáticos para intentar retardar ese sabor amargo que suele aparecer a media vida útil microbiológica. El producto descongelado es más sensible y evoluciona antes sensorialmente que el producto refrigerado. Por este motivo su vida en descongelación se reduce casi a la mitad en comparación con el producto refrigerado.

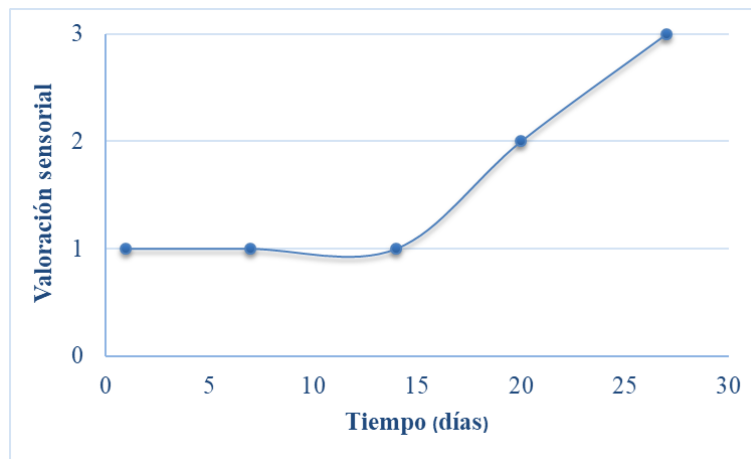


Gráfico 13. Evolución sensorial durante vida útil del producto descongelado. (Fuente: elaboración propia)

Al principio se nota la descongelación del producto, es más granuloso y se ve la estructura degradada debido al congelado. A medida que van pasando los días se va notando menos la descongelación, esto es debido a que el producto sigue evolucionando y se vuelve a formar una textura cremosa, aunque con un sabor más potente y una mayor acidez. A partir de día 20 empiezan a aparecer un ligero enranciamiento, aunque aún no se considera que sea factor determinante para que sea el final de vida útil. En el siguiente día de análisis se nota un sabor amargo más desagradable que hace que determinemos el final de vida útil del producto descongelado sensorialmente hablando. Por lo tanto, se obtendría una vida útil descongelado de 25 días.

Sensorialmente se analiza el queso una vez abierto los mismos días que se realiza microbiología (1, 3 y 5). En este aspecto se detecta que a día 3 el queso empieza a presentar amargores, no desagradables; pero en el siguiente día de análisis el amargor ya está intensificado.

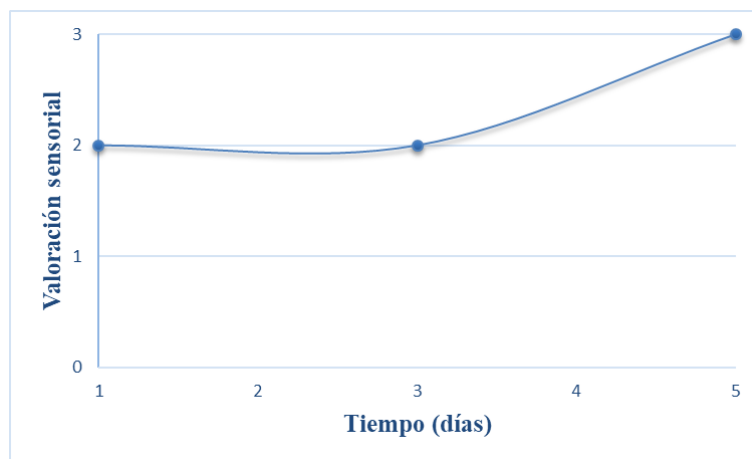


Gráfico 14. Evolución sensorial durante vida útil secundaria del Stracchino descongelado. (Fuente: elaboración propia)

Por lo tanto, se puede concluir una vida útil secundaria descongelado de 3 días.

V. CONCLUSIONES

En este trabajo de investigación, se ha conseguido una mayor vida útil para el Stracchino desarrollado en comparación con el Stracchino italiano tradicional, gracias a las optimizaciones realizadas sobre el mismo, tanto para el producto refrigerado como congelado. En el caso del producto refrigerado, se ha conseguido estabilizar su textura gracias a los ensayos realizados en cuanto a estandarización de la leche, temperatura de coagulación, diferentes cuajos y el trabajo en cuba. De esta manera se cumple con las expectativas de un producto apto para su uso en la cocina profesional. Además, se ha conseguido un queso con buenas aptitudes frente a la congelación con una buena calidad organoléptica una vez descongelado gracias a la optimización del tipo de cuajo, el tamaño del producto y el %EST además de pruebas realizadas a diferentes días de congelación y descongelación. Con estos resultados, se obtiene un producto con grandes ventajas a la hora de la internacionalización, frente a los comercializados actualmente.

En cuanto a los objetivos específicos, se concluye que el producto tiene una vida útil primaria de 45 días y una secundaria de 5 días para el Stracchino refrigerado, ambas limitadas por la sensorialidad. Para el producto descongelado se establece una vida útil primaria de 25 días y una vida útil secundaria de 3 días, ambas limitadas por sensorialidad y pH. En cuanto a la vida útil del producto congelado, sigue en proceso de estudio debido al límite de tiempo para realizar el trabajo. Por otros productos similares y por la estabilidad que presenta el producto se estima que sean de 12 meses. En definitiva, el factor determinante en este tipo de queso para establecer la vida útil es el análisis sensorial como se muestra para cada uno de los resultados analizados.

VI. BIBLIOGRAFÍA

- Carranza, R. (2017). Congelación de alimentos. *Ciencia y Desarrollo*, 3.
- Camacho, I. Z. B., Ortiz, N. C. L., Sánchez, L. P. R., & Castro, C. F. N. (2006). Influencia de la bacteria *Pseudomonas fluorescens* sobre las características fisicoquímicas y sensoriales del yogurt. *Tecnura*, 10(19), 57-64.
- Crespo Pérez, S. I. (2017). Efecto de la temperatura de cuajado de la leche sobre el rendimiento quesero, la composición química y la valoración sensorial de quesos frescos de cabra.
- Daroz Díaz, M. J. (2016). Evaluación de la vida útil primaria y secundaria de paté de salmón y algas (Doctoral dissertation).
- Ellis, M. (1994). *The methodology of shelf life determination. Shelf life evaluation of foods*, 27-39. Springer. Londres, Reino Unido.
- Flores Benalcázar, C. J. (2013). Dimensionamiento de un sistema anaerobio para el tratamiento de aguas residuales domésticas rurales (Bachelor's thesis, Quito, 2013), 54.
- García, F. E. V., Cardona, Leonidas de Jesús Millán, & Garcés, Y. J. (2008). Estimación de la vida útil fisicoquímica, sensorial e instrumental de queso crema bajo en calorías. *Revista Lasallista De Investigación*, 5(1), 28-33.
- Garnier, L., Valence, F., & Mounier, J. (2017). Diversity and control of spoilage fungi in dairy products: An update. *Microorganisms*, 5(3), 42.
- Gómez-Sánchez, A. I., Cerón-Carrillo, T. G., Rodríguez-Martínez, V., & Vázquez-Aguilar, M. M. (2007). Aspectos tecnológicos de la congelación en alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 1, 80-96.
- Grappin, R., Rank, T., & Olson, N. (1985). Primary proteolysis of cheese proteins during ripening. A review. *Journal of Dairy Science*, 68(3), 531-540.
- Grappin, R., y Beuvier, E. (1997). Posibles implicaciones de la pasteurización de la leche en la fabricación y la calidad sensorial del queso madurado. *International Dairy Journal*, 7(12), 751-761.
- Hough, G. (2010). Sensory shelf life estimation of food products Crc Press, 84-97

- Labuza, T. P. (2000). Shelf Life Testing: Procedures and Prediction Methods for Frozen Foods. *Food Testing and Analysis*, 6, 26-36. Recuperado de: www.researchgate.net/publication/2402471
- Losito, F., Arienzo, A., Bottini, G., Priolisi, F. R., Mari, A., & Antonini, G. (2014). Microbiological safety and quality of mozzarella cheese assessed by the microbiological survey method. *Journal of Dairy Science*, 97(1), 46-55.
- Lucey, J. A. (2008). Some perspectives on the use of cheese as a food ingredient. *Dairy Science and Technology*, 88(4-5), 573-594.
- Madadlou, A., Khosroshahi, A., Mousavi, S., & Djome, Z. (2006). Microstructure and rheological properties of iranian white cheese coagulated at various temperatures. *Journal of Dairy Science*, 89(7), 2359-2364.
- Man, D. (2015). *Shelf life*. John Wiley & Sons, 3-5.
- Marcuzzo, E., Peressini, D., y Sensidoni, A. (2013). Período de validez del queso blando de maduración corta almacenado en diversas condiciones de embalaje. *Diario de procesamiento y conservación de alimentos*, 37(6), 1094-1102.
- Martínez, Pilar & Salamanca Grosso, Guillermo. (2007). Desarrollo de un programa en microbiología predictiva para el crecimiento de agentes de significación en productos agroalimentarios. Recuperado de: www.researchgate.net/publication/311424781
- McKellar, R. C., & Lu, X. (2004). Primary models. *Modeling microbial responses in food*, 21-62.
- McSweeney, PL (2004). Bioquímica de la maduración del queso. *Revista internacional de tecnología láctea*, 57 (2-3), 127-144.
- Membré, J., Leporq, B., Vialette, M., Mettler, E., Perrier, L., Thuault, D., & Zwietering, M. (2005). Temperature effect on bacterial growth rate: Quantitative microbiology approach including cardinal values and variability estimates to perform growth simulations on/in food. *International Journal of Food Microbiology*, 100(1-3), 179-186.
- Nelson, J. H. (1970). Production of blue cheese flavor via submerged fermentation by penicillium roqueforti. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 18(4), 567-569.

Otero, L., Guignon, B., & Sanz Martínez, P. D. (2013). Últimos avances en tecnologías de congelación de alimentos. *Tecnología e higiene de los alimentos*, 2, 82-90. Recuperado de: hdl.handle.net/10261/89713

Panthi, R. R., Kelly, A. L., McMahon, D. J., Dai, X., Vollmer, A. H., & Sheehan, J. J. (2019). Response surface methodology modeling of protein concentration, coagulum cut size, and set temperature on curd moisture loss kinetics during curd stirring. *Journal of Dairy Science*.

Parente, E., & Cogan, T. M. (2004). Starter cultures: general aspects. *Cheese: chemistry, physics and microbiology*, 1, 123-148.

Pérez-Munuera, I., Estévez, M., & Lluch, M. (1999). Nota. estudio de algunos quesos típicos españoles por microscopía electrónica de barrido. principales modificaciones microestructurales causadas por la congelación *Food Science and Technology International*, 5(6), 515-521.

Pérez-Munuera, I., Estévez, M., y Lluch, MA (1999). Estudio de algunos quesos típicos españoles por microscopía electrónica de barrido. Principales modificaciones microestructurales causadas por la congelación. *Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos*, 5 (6), 515–521.

Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (2009). *The ecology of fungal food spoilage*. In *Fungi and food spoilage* 3-9. Springer, Boston, MA.

Rako, A., Tudor Kalit, M., Rako, Z., Petrović, D., & Kalit, S. (2019). Effect of composition and proteolysis on textural characteristics of croatian cheese ripen in a lamb skin sack (sir iz mišine). *Mljekarstvo: Časopis Za Unaprjeđenje Proizvodnje i Prerade Mlijeka*, 69(1), 21-29.

Ramírez, M. Á. (2006). *Manual práctico de quesería*. Madrid, España. Ayala, con la colaboración de la revista ILE.

Real Decreto 1113/2006, de 29 de septiembre, por el que se aprueban las normas de calidad para quesos y quesos fundidos.

Reglamento (CE) n° 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, por el que se describen las normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal

Reglamento (UE) n° 1169/2011 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 25 de octubre de 2011, sobre la información alimentaria facilitada al consumidor

Sarais, I., Piussi, D., Aquili, V., & Stecchini, M. L. (1996). The behavior of yeast populations in Stracchino cheese packaged under various conditions. *Journal of Food Protection*, 59(5), 541-544.

Trmčić, A., Chauhan, K., Kent, D. J., Ralyea, R. D., Martin, N. H., Boor, K. J., & Wiedmann, M. (2016). Coliform detection in cheese is associated with specific cheese characteristics, but no association was found with pathogen detection. *Journal of dairy science*, 99(8), 6105-6120.

Zorrilla, SE, y Rubiolo, AC (1997). Cinética de la degradación de la caseína durante la maduración del queso. Fynbo salado con salmuera de NaCl / KCl. *Journal of food science*, 62(2), 386-389.

VII. ANEXOS

ANEXO 1. RECUENTO MOHOS Y LEVADURAS

1º Medio de cultivo (DRBC)

Material:

- Botella Pyrex.
- Medio DRBC (Scharlab)
- Agitador
- Imán

Preparación:

- Pesar en una botella pyrex la cantidad de agua destilada necesaria.
- Pesar sobre un trozo de papel de aluminio, la cantidad de medio deshidratado necesario: DRBC (Scharlab): 31,6 g / L
- Añadir imán y calentar hasta ebullición en agitador.
- Retirar el imán.
- Autoclavar: 121°C/15 min (programa 1).
- Dejar atemperar dentro del agitador de medios antes de usar (50°C aproximadamente).

2º Siembra:

Material:

- Medio DRBC (Scharlab)
- Placas Petri
- Vórtex
- Micropipeta (100 ml)
- Puntas

- Gradilla con tubos de agua de peptona
- Papel
- Etanol
- Rotulador

Preparación:

(Trabajar siempre dentro de la cabina de flujo laminar, con guantes y manteniendo la cabina en todo momento lo más limpia posible)

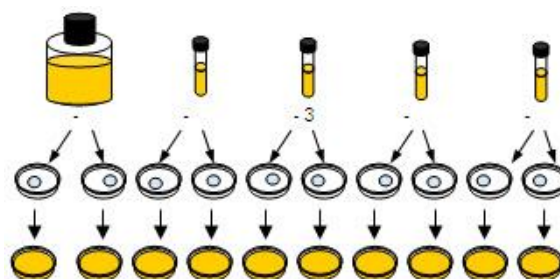
- Rotular dos placas Petri por cada dilución que se vaya a hacer de la muestra en la parte superior de la base de la placa con:

Fecha (día/mes)

Nombre de la muestra

Dilución

- Pipetear 1 ml de la dilución inicial (dilución 0 para muestra líquidas, dilución -1 para muestras sólidas) en un tubo con 9 ml de agua de peptona y agitar en el vórtex durante unos segundos para homogeneizar.
- Pipetear, por duplicado, 1 ml de la primera dilución que se vaya a sembrar y depositar en el fondo de la placa Petri correspondiente.
- Preparar a partir de esta primera dilución la dilución siguiente, limpiando la micropipeta con papel y alcohol y cambiando de punta para cada dilución. Agitar siempre en el vórtex una vez añadido el ml de la dilución anterior



- Sembrar por lo menos dos diluciones consecutivas por duplicado

- Una vez inoculadas todas las placas de la muestra, servir 15-20 ml de medio en cada placa (hasta cubrir la base de la placa).
- El bote de DRBC ha de abrirse y cerrarse siempre dentro de la cabina para evitar su contaminación y cuando no se use conservarlo en el agitador a 45-48°C para que no solidifique.
- Mover suavemente las placas en círculos y en ambos sentidos para que el medio y el inóculo se mezclen bien y dejar solidificar las placas dentro de la cabina.
- Una vez secado el medio, incubar las placas en posición invertida a 30°C durante 120 horas.

Lectura de las placas:

Una vez finalizado el período de incubación se procederá al recuento de las colonias que hayan crecido en cada placa.

Se tendrán en cuenta aquellas con forma redondeada y de color blanco o rosa intenso.

Expresión del resultado:

El resultado se expresará siempre en UFC/g o UFC/L

Una vez obtenido el recuento en cada una de las diluciones se aplicará la siguiente fórmula.

$$N = \frac{\Sigma C}{[(1 \times n1) + (0.1 \times n2)] \times d}$$

Dónde:

N = número de colonias por ml o g de producto.

ΣC = suma de todas las colonias contadas en todas las placas.

n1 = número de placas contadas de la menor dilución.

n2 = número de placas contadas de la dilución consecutiva.

d = dilución de la cuál fue obtenido el primer recuento.

Conservación de los medios:

Guardar a una T^a entorno a los 47 grados y preferiblemente con agitación (estufa o Shaker) evitando la incidencia de la luz.

Tiempo máximo de conservación en el autoshaker tras ser autoclavado: 2-3 días

ANEXO 2. RECUENTO COLIFORMES TOTALES

1º Medio de cultivo (VRB)

Material:

- Botella Pyrex.
- Medio VRB Agar (Scharlab)
- Agitador
- Imán

Preparación:

- Pesar en una botella pyrex la cantidad de agua destilada necesaria.
- Pesar sobre un trozo de papel de aluminio, la cantidad de medio deshidratado necesario: VRB Agar (Scharlab): 39,5 g / L
- Añadir imán y calentar hasta ebullición en agitador.
- NO autoclavar.
- Dejar atemperar dentro del agitador de medios antes de usar (50°C aproximadamente).

2º Siembra:

Material:

- Medio VRB Agar (Scharlab)
- Placas Petri
- Vórtex
- Micropipeta (1 ml)
- Puntas
- Gradilla con tubos de agua de peptona

- Papel
- Etanol
- Rotulador

Preparación:

(Trabajar siempre dentro de la cabina de flujo laminar, con guantes y manteniendo la cabina en todo momento lo más limpia posible)

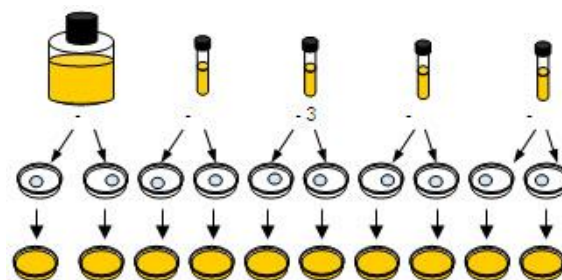
- Rotular dos placas Petri por cada dilución que se vaya a hacer de la muestra en la parte superior de la base de la placa con:

Fecha (día/mes)

Nombre de la muestra

Dilución

- Pipetear 1 ml de la dilución inicial (dilución 0 para muestra sólidas, dilución -1 para muestras sólidas) en un tubo con 9 ml de agua de peptona y agitar en el vórtex durante unos segundos para homogeneizar.
- Preparar a partir de esta primera dilución la dilución siguiente limpiando la micropipeta con papel y alcohol y cambiando de punta para cada dilución, sembrando la dilución que se vaya a inocular una vez esté preparada la siguiente.
- Pipetear 1 mililitro de la primera dilución que se vaya a sembrar y depositar el inóculo sobre la superficie del medio. Como siempre, cada dilución que se vaya a sembrar se hará por duplicado.



- Sembrar por lo menos dos diluciones consecutivas por duplicado

- Una vez inoculadas todas las placas de la muestra, se sirven 15 de medio en cada placa (hasta cubrir la base de la placa).
- El bote de VRB ha de abrirse y cerrarse siempre dentro de la cabina para evitar su contaminación y cuando no se use conservarlo en el agitador a 45-48°C para que no solidifique.
- Mover suavemente las placas en círculos y en ambos sentidos para que el medio y el inóculo se mezclen bien y dejar solidificar.
- Una vez secada la primera capa de medio que se haya servido en cada placa, cubrir ésta con una fina sobrecapa de VRB.
- Una vez secadas las dos capas del medio, incubar las placas en posición invertida a 37°C durante 48 horas.

Lectura de las placas:

Una vez finalizado el período de incubación se procederá al recuento de las colonias que hayan crecido en cada placa.

Se tendrán en cuenta aquellas con forma redondeada y de color violeta oscuro, con un halo de precipitación alrededor, independientemente del tamaño.

Expresión de resultados:

$$N = \frac{\Sigma C}{[(1 \times n1) + (0.1 \times n2)] \times d}$$

Donde:

N = número de colonias por ml o g de producto.

ΣC = suma de todas las colonias contadas en todas las placas.

n1 = número de placas contadas de la menor dilución.

n2 = número de placas contadas de la dilución consecutiva.

d = dilución de la cuál fue obtenido el primer recuento.

Conservación del medio:

Guardar a una T^a entorno a los 47 grados, preferiblemente con agitación (estufa o Shaker) y usar en el mismo día de su preparación.

ANEXO 3. RECUENTO PSEUDOMONAS

1º) Medio de cultivo (Chromagar Pseudomonas)

Material:

- Botella Pyrex.
- Medio Chromagar Pseudomonas (Scharlab)
- Agitador
- Imán

Preparación:

- Pesar en una botella pyrex la cantidad de agua destilada necesaria.
- Pesar sobre un trozo de papel de aluminio, la cantidad de medio deshidratado necesario: Chromagar Pseudomonas: 45,5 g / L
- Añadir imán y calentar hasta ebullición en agitador.
- Retirar el imán.
- NO necesita Autoclavar.
- Dejar atemperar dentro del agitador de medios antes de usar (50°C aproximadamente).
- Plaquear (20 ml por placa aproximadamente.)
- Dejar solidificar
- Guardar en estufa a 30°C si se va a usar al día siguiente o en frío (cerradas con film y guardadas en una bolsa plástica) si se va a tardar más

2º) Siembra:

Material:

- Placas previamente preparadas con medio chromagar pseudomonas
- Vórtex
- Micropipeta (200 microlitros)
- Micropipeta (1 ml)

- Puntas amarillas estériles
- Puntas azules estériles
- Asas Digralsky
- Gradilla con tubos de agua de peptona
- Papel
- Etanol
- Rotulador

Preparación:

(Trabajar siempre dentro de la cabina de flujo laminar, con guantes y manteniendo la cabina en todo momento lo más limpia posible)

- En caso de que las placas de Chromagar pseudomonas se encuentren en la cámara, secar en la estufa a 30°C durante 15-20 minutos antes de usarlas.
- Rotular dos placas con medio Chromagar Pseudomonas por cada dilución que se vaya a hacer de la muestra en la parte superior de la base de la placa con:

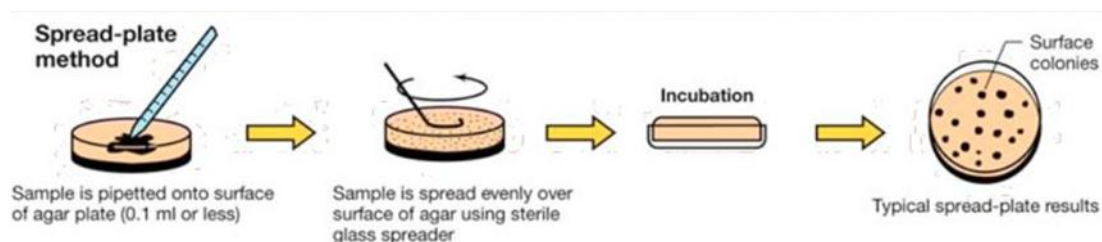
Fecha (día/mes)

Nombre de la muestra

Dilución

- Pipetear 1 ml de la dilución inicial (dilución 0 para muestra líquidas, dilución -1 para muestras sólidas) en un tubo con 9 ml de agua de peptona.
- Preparar a partir de esta primera dilución la dilución siguiente limpiando la micropipeta con papel y alcohol y cambiando de punta para cada dilución, sembrando la dilución que se vaya a inocular una vez esté preparada la siguiente.
- Pipetear 100 microlitros de la primera dilución que se vaya a sembrar y depositar el inóculo sobre la superficie del medio. Como siempre, cada dilución que se vaya a sembrar se hará por duplicado.

- Rápidamente, con un asa digralsky estéril (abrir el envoltorio dentro de la cabina) expandir el inóculo por toda la superficie del medio hasta que este quede completamente absorbido.
- Sembrar por lo menos dos diluciones consecutivas por duplicado.
- Una vez secado el medio, incubar las placas en posición invertida a 30°C durante 48 horas.



Lectura de las placas:

Una vez finalizado el período de incubación se procederá al recuento de las colonias que hayan crecido en cada placa.

Se tendrán en cuenta aquellas con forma redondeada independientemente del tamaño y de color verde, la coloración verde puede ser de distinta intensidad.

En ocasiones se observa un crecimiento “en racimo”, en estos casos se contarán estas cadenas como una única colonia.

Expresión de resultados:

$$N = \frac{\Sigma C}{[(1 \times n1) + (0.1 \times n2)] \times d}$$

Donde:

N = número de colonias por ml o g de producto.

ΣC = suma de todas las colonias contadas en todas las placas.

n1 = número de placas contadas de la menor dilución.

n2 = número de placas contadas de la dilución consecutiva.

d = dilución de la cuál fue obtenido el primer recuento.

Conservación del medio:

Plaques en cuanto esté atemperado, ya que se forman grumos muy rápidamente incluso estando dentro del agitador.

Cerrar con film, guardar en una bolsa y almacenar en la cámara.