



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA INGENIERÍA EN INDUSTRIAS PECUARIAS

“UTILIZACIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO (*Origanum vulgare*) COMO ANTIMICROBIANO EN QUESO MOZZARELLA”.

Trabajo de Titulación

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERO EN INDUSTRIAS PECUARIAS

AUTOR: JEFFERSON MANUEL GUAGRILLA TIPANTUÑA

DIRECTOR: Ing. BYRON LEONCIO DÍAZ MONROY PhD.

Riobamba – Ecuador

2022

© 2022, Jefferson Manuel Guagrilla Tipantuña

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, JEFFERSON MANUEL GUAGRILLA TIPANTUÑA, declaro que el presente Trabajo de Titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autor asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Titulación; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

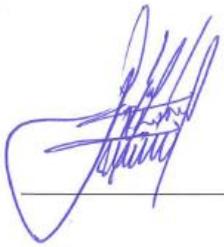
Riobamba, 22 de diciembre de 2022

A handwritten signature in black ink, consisting of several loops and a horizontal line at the bottom. The initials 'J.M.G.T.' are visible within the loops.

Jefferson Manuel Guagrilla Tipantuña
175085005-7

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA INGENIERÍA EN INDUSTRIAS PECUARIAS

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El Trabajo de Titulación; Tipo: Trabajo Experimental “**UTILIZACIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO (*Origanum vulgare*) COMO ANTIMICROBIANO EN QUESO MOZZARELLA**”, realizado por el señor: **JEFFERSON MANUEL GUAGRILLA TIPANTUÑA**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Ing. Jesús Ramón López Salazar PRESIDENTE DEL TRIBUNAL		2022-12-22
Ing. Byron Leoncio Díaz Monroy PhD. DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN		2022-12-22
Ing. Cesar Iván Flores Mancheno PhD. MIEMBRO DEL TRIBUNAL		2022-12-22

DEDICATORIA

Dedico el presente trabajo de investigación a mis Padres, por apoyarme y confiar en mí, por brindarme consejos y enseñarme valores los cuales me han ayudado a ser mejor cada día. A Dios, por la vida y salud, por ser quien guía mis pasos y quien me brinda fortaleza para seguir cumpliendo mis sueños ante cualquier adversidad, A mis hermanos por cuidarme e impulsarme a dar lo mejor de mí, quienes por sus consejos han inspirado a no rendirme.

Jefferson

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por brindarme salud, vida y fortaleza para permitirme alcanzar este objetivo en mi vida, a mi familia por creer y confiar en mí, a pesar de no haber sido fácil el transcurso, les agradezco ya que por su apoyo lo he logrado.

A mi director de tesis Dr. Byron Díaz y mi asesor Dr. Iván Flores por la paciencia y brindarme de sus conocimientos y tiempo en el transcurso de mi trabajo de investigación.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo especialmente a la carrera de Ingeniería en Industrias Pecuarias, por brindarme la oportunidad de formarme profesionalmente, de igual forma a todos los docentes que han compartido sus conocimientos durante mi formación académica.

Jefferson

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiii
RESUMEN.....	xiv
ABSTRACT.....	xiv
INTRODUCCIÓN.....	1

CAPTÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL.....	3
1.1. Leche.....	3
1.1.1. <i>Composición físico químico de la leche.</i>.....	3
1.2. Derivados lácteos.....	4
1.3. Queso.....	4
1.3.1. <i>Clasificación de quesos</i>.....	4
1.4. Queso Mozzarella.....	5
1.4.1. <i>Usos y aplicaciones</i>.....	5
1.4.2. <i>Elaboración del queso mozzarella</i>.....	5
1.4.2.1. <i>Pasteurización</i>.....	6
1.4.2.2. <i>Coagulación</i>.....	6
1.4.2.3. <i>Corte de la cuajada</i>.....	6
1.4.2.4. <i>Desuerado</i>.....	6
1.4.2.5. <i>Hilado</i>.....	6
1.4.2.6. <i>Moldeado</i>.....	6
1.4.2.7. <i>Salado</i>.....	6
1.4.2.8. <i>Almacenado</i>.....	7
1.5. Enfermedades transmitidas por alimentos.....	7
1.6. Contaminación de quesos.....	7
1.6.1. <i>Principales microorganismos patógenos encontrados en quesos</i>.....	7
1.6.1.1. <i>Staphylococcus aureus</i>.....	7
1.6.1.2. <i>Listeria monocytogenes</i>.....	8
1.6.1.3. <i>E. coli</i>.....	9
1.6.1.4. <i>Salmonella</i>.....	9

1.6.1.5.	<i>Enterobacterias</i>	10
1.7.	Orégano	11
1.7.1.	<i>Clasificación científica del orégano (Origanum vulgare)</i>	11
1.7.2.	<i>Usos del orégano</i>	12
1.8.	Aceites esenciales	12
1.8.1.	<i>Métodos de extracción de aceites esenciales</i>	13
1.8.2.	<i>Propiedades de los aceites esenciales</i>	14
1.9.	Aceite esencial de Orégano	14
1.9.1.	<i>Características físicas del aceite esencial de orégano</i>	15
1.9.2.	<i>Composición química del aceite esencial de orégano</i>	15
1.9.3.	<i>Capacidad antimicrobiana del aceite esencial de orégano</i>	16

CAPÍTULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO	18
2.1.	Localización y duración del experimento	18
2.2.	Unidades experimentales	18
2.3.	Equipos, materiales, insumos y reactivos	18
2.3.1.	<i>Equipos de campo</i>	18
2.3.2.	<i>Equipos para pruebas bromatológicas</i>	19
2.3.3.	<i>Equipos para pruebas microbiológicas</i>	19
2.3.4.	<i>Materiales de campo</i>	19
2.3.5.	<i>Materiales para para pruebas bromatológicas</i>	20
2.3.6.	<i>Materiales para pruebas microbiológicas</i>	20
2.3.7.	<i>Materiales para pruebas sensoriales</i>	20
2.3.8.	<i>Insumos de campo</i>	21
2.3.9.	<i>Insumos y reactivos para pruebas microbiológicas</i>	21
2.3.10.	<i>Reactivos para para pruebas bromatológicas</i>	21
2.4.	Tratamiento y diseño experimental	22
2.5.	Esquema del experimento	22
2.6.	Mediciones experimentales	22
2.6.1.	<i>Pruebas físico – químicas</i>	22
2.6.2.	<i>Análisis bromatológicos</i>	23
2.6.3.	<i>Pruebas Microbiológicas</i>	23
2.6.4.	<i>Pruebas sensoriales</i>	23
2.7.	Análisis estadísticos y pruebas de significancia	23
2.8.	Procedimiento experimental	24

2.8.1.	<i>Formulación para la elaboración del queso mozzarella</i>	24
2.8.2.	<i>Proceso para la elaboración del queso mozzarella</i>	24
2.8.2.1.	<i>Recepción de la leche</i>	26
2.8.2.2.	<i>Pasteurización</i>	26
2.8.2.3.	<i>Enfriado</i>	26
2.8.2.4.	<i>Coagulación</i>	26
2.8.2.5.	<i>Corte de cuajada</i>	26
2.8.2.6.	<i>Reposo</i>	26
2.8.2.7.	<i>Hilado</i>	26
2.8.2.8.	<i>Moldeado y prensado</i>	26
2.8.2.9.	<i>Salmuera</i>	27
2.8.2.10.	<i>Envasado</i>	27
2.8.2.11.	<i>Almacenamiento</i>	27
2.9.	Metodología de evaluación	27
2.9.1.	Análisis Físico – químicos	27
2.9.1.1.	<i>Determinación de pH</i>	27
2.9.1.2.	<i>Determinación de acidez</i>	27
2.9.2.	Análisis bromatológicos	28
2.9.2.1.	<i>Determinación de Humedad</i>	28
2.9.2.2.	<i>Determinación del contenido de proteína</i>	28
2.9.2.3.	<i>Determinación de grasa</i>	29
2.9.3.	Análisis Microbiológico	30
2.9.3.1.	<i>Enterobacterias</i>	30
2.9.3.2.	<i>Staphylococcus aureus</i>	31
2.9.3.3.	<i>Listeria monocytogenes</i>	32
2.9.3.4.	<i>E. coli</i>	32
2.9.3.5.	<i>Salmonella UFC/g</i>	32
2.9.4.	Análisis organoléptico	33

CAPÍTULO III

3.	MARCO DE DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	34
3.1.	Análisis físico – químico	34
3.1.1.	<i>pH</i>	34
3.1.2.	<i>Acidez</i>	34
3.2.	Análisis proximal	35
3.2.1.	<i>Contenido de sólidos totales</i>	35

3.2.2.	<i>Contenido de proteína</i>	35
3.2.3.	<i>Grasa</i>	35
3.3.	Microbiológicos	36
3.3.1.	<i>Enterobacterias</i>	36
3.3.2.	<i>E . coli</i>	38
3.3.3.	<i>Staphylococcus aureus</i>	38
3.3.4.	<i>Listeria monocytogenes</i>	40
3.3.5.	<i>Salmonella</i>	40
3.4.	Sensorial	41
3.4.1.	<i>Color</i>	41
3.4.2.	<i>Olor</i>	42
3.4.3.	<i>Sabor</i>	43
3.4.4.	<i>Textura</i>	44
CONCLUSIONES		45
RECOMENDACIONES		46
BIBLIOGRAFÍA		
ANEXOS		

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1:	Caracterización de la leche cruda en la planta de lácteos - Tunshi.....	3
Tabla 2-1:	Clasificación científica del orégano.	11
Tabla 3-1:	Usos y funciones del orégano.....	12
Tabla 4-1:	Métodos de extracción de Aceites Esenciales.	13
Tabla 5-1:	Métodos de extracción de Aceites Esenciales.	15
Tabla 1-2:	Condiciones meteorológicas de Riobamba.....	18
Tabla 2-2:	Esquema del experimento.....	22
Tabla 3-2:	Esquema del ANOVA.	23
Tabla 4-2:	Formulación para la elaboración del queso mozzarella con diferentes niveles de aceite esencial de orégano.....	24
Tabla 5-2:	Escala de 5 puntos para la prueba hedónica.	33
Tabla 1-3:	Composición físico – química y proximal del queso mozzarella con diferentes niveles de aceite esencial de orégano (0,2%; 0,4%; 0,6%).....	34
Tabla 2-3:	Efecto del aceite esencial de orégano como antimicrobiano en el queso mozzarella durante 21 días.	36
Tabla 3-3:	Efecto del aceite esencial de orégano como antimicrobiano en el queso mozzarella durante 21 días.	38
Tabla 4-3:	Efecto del aceite esencial de orégano como antimicrobiano en el queso mozzarella durante 21 días.	38
Tabla 5-3:	Efecto del aceite esencial de orégano como antimicrobiano en el queso mozzarella durante 21 días.	40
Tabla 6-3:	Efecto del aceite esencial de orégano como antimicrobiano en el queso mozzarella durante 21 días.	40
Tabla 7-3:	Análisis sensorial del queso mozzarella elaborado con diferentes niveles de aceite esencial de orégano.....	41

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1: <i>Staphylococcus aureus</i>	8
Figura 2-1: <i>L. monocytogenes</i>	8
Figura 3-1: <i>E.coli</i>	9
Figura 4-1: Colonias típicas de Salmonella.....	10
Figura 5.1: <i>Enterobacteriaceae</i> en Petrifilm.	10
Figura 6-1: Hojas de orégano.....	11

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-2:	Diagrama de elaboración del queso mozzarella con diferentes niveles de aceite esencial de orégano.	25
Gráfico 1-3:	Evolución de las Enterobacterias evaluadas en el queso mozzarella en refrigeración a través de los días de almacenamiento.	37
Gráfico 2-3:	Evolución del <i>Staphylococcus aureus</i> evaluadas en el queso mozzarella en refrigeración a través de los días de almacenamiento.	39
Gráfico 3-3:	Regresión en función del color en los diferentes niveles de aceite esencial de orégano en queso mozzarella.....	42
Gráfico 4-3:	Regresión en función del olor en los diferentes niveles de aceite esencial de orégano en queso mozzarella.....	42
Gráfico 5-3:	Regresión en función del sabor en los diferentes niveles de aceite esencial de orégano en queso mozzarella.....	43

ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS PARA EL QUESO MOZZARELLA.
- ANEXO B:** BOLETA DE EVALUACIÓN SENSORIAL DEL QUESO MOZZARELLA.
- ANEXO C:** FICHA TÉCNICA DEL ACEITE ESENCIAL (AROMALAB).
- ANEXO D:** ESTADÍSTICA DEL PH DEL QUESO MOZZARELLA.
- ANEXO E:** ESTADÍSTICA DE LA ACIDEZ DEL QUESO MOZZARELLA.
- ANEXO F:** ESTADÍSTICA DE LOS SÓLIDOS TOTALES DEL QUESO MOZZARELLA.
- ANEXO G:** ESTADÍSTICA DE PROTEÍNA DEL QUESO MOZZARELLA.
- ANEXO H:** ESTADÍSTICA DE GRASA DEL QUESO MOZZARELLA.
- ANEXO I:** ESTADÍSTICA DEL COLOR DEL QUESO MOZZARELLA.
- ANEXO J:** ESTADÍSTICA DEL SABOR DEL QUESO MOZZARELLA.
- ANEXO K:** ESTADÍSTICA DEL OLOR DEL QUESO MOZZARELLA.
- ANEXO L:** ESTADÍSTICA DE LA TEXTURA DEL QUESO MOZZARELLA.
- ANEXO M:** RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DE S. AUREUS DEL QUESO MOZZARELLA.
- ANEXO N:** RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DE ENTEROBACTERIAS DEL QUESO MOZZARELLA.
- ANEXO O:** RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DE E. COLI EN EL QUESO MOZZARELLA.
- ANEXO P:** RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DE L. MONOCYTOGENES EN EL QUESO MOZZARELLA.
- ANEXO Q:** RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DE SALMONELLA EN EL QUESO MOZZARELLA.
- ANEXO R:** ELABORACIÓN DEL QUESO MOZZARELLA.
- ANEXO S:** ANÁLISIS FÍSICO - QUÍMICO DEL QUESO MOZZARELLA.
- ANEXO T:** ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL QUESO MOZZARELLA.
- ANEXO U:** TINCIÓN DE GRAM.
- ANEXO V:** PRUEBA SENSORIAL EN EL QUESO MOZZARELLA.

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el uso del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) como antimicrobiano en el queso mozzarella. Durante el proceso de elaboración del queso mozzarella se adicionó tres diferentes porcentajes de este aceite esencial de orégano (0,2; 0,4 y 0,6%), se estudió la eficacia frente a *Enterobacterias*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli* y *Salmonella sp* frente a un tratamiento control. Se aplicó un diseño completamente al azar, con cinco repeticiones por tratamiento, el tamaño de la unidad experimental fue de 250 g, cuyos resultados se evaluaron mediante análisis microbiológicos en distintos periodos (0, 7, 14, y 21 días post elaboración del queso mozzarella) donde se observó que a concentraciones inferiores de 0,6% existe crecimiento bacteriano, mientras que a concentraciones de 0,6% se observa ausencia de *Enterobacterias* hasta el día 14, sin embargo, presentó ausencia de crecimiento de *Staphylococcus aureus* durante todo el periodo de evaluación; también se realizó análisis bromatológicos (pH, acidez, sólidos totales, grasa y proteína) donde no presentaron diferencias significativas y una evaluación sensorial (color, olor, textura, sabor) a los quesos mozzarella donde el tratamiento tres obtuvo una calificación de muy buena. Se concluye que la concentración más efectiva fue de 0,6% ya que mostró efectividad para *Enterobacterias* y *Staphylococcus aureus*. Se recomienda utilizar concentraciones de 0,6% del aceite de orégano para controlar el crecimiento bacteriano no deseado.

Palabras clave: <ACEITE ESENCIAL>, <ORÉGANO (*Origanum vulgare*)>, <EFECTO ANTIMICROBIANO>, <CRECIMIENTO MICROBIANO>, <QUESO MOZZARELLA>.


DB.R.A.I.
Ing. Cristóbal Castillo



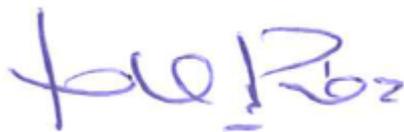
0126-DBRA-UPT-2023

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the use of oregano essential oil (*Origanum vulgare*) as an antimicrobial in mozzarella cheese. Three different percentages of oregano essential oil (0.2, 0.4 and 0.6%) were added during the mozzarella cheese production process, and the efficacy against *Enterobacteriaceae*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli* and *Salmonella sp* was studied against a control treatment. A completely randomized design was applied, with five replicates per treatment. The size of the experimental unit was 250 g, which results were evaluated by microbiological analysis in different periods (0, 7, 14, and 21 days post production of mozzarella cheese) where it was observed that at concentrations lower than 0.6% there is bacterial growth, while at concentrations of 0.6% the absence of Enterobacteria was observed until day 14, however, there was an absence of growth of *Staphylococcus aureus* during the entire evaluation period; Bromatological analyses were also carried out (pH, acidity, total solids, fat and protein), which showed no significant differences, and a sensory evaluation (color, odor, texture, flavor) of the mozzarella cheeses where treatment three was rated as very good. It was concluded that the most effective concentration was 0.6%, since it was effective against *Enterobacteriaceae* and *Staphylococcus aureus*. It is recommended to use concentrations of 0.6% of oregano oil to control unwanted bacterial growth.

Keywords: <ESSENTIAL OIL>, <OREGANUM (*Origanum vulgare*)>, <ANTIMICROBIAL EFFECT>, <MICROBIAL GROWTH>, <MOZZARELLA CHEESE>.

0126-DBRA-UPT-2023



Dra. Gloria Isabel Escudero Orozco MsC.

0602698904

INTRODUCCIÓN

Los productos lácteos son alimentos nutritivos ricos en proteínas, nutriente esencial para la vida, contiene calcio, vitaminas y grasa, tales como los quesos que son principales fuentes tanto de proteínas, grasas, vitaminas y minerales, sin embargo, los quesos pueden ser vehículos de microorganismos patógenos, la principal fuente de contaminación puede originarse desde la leche, que juntando con las deficientes condiciones higiénicas en el proceso de elaboración del queso pueden producir un producto riesgoso para el consumidor (Aguirre, 2011, pp. 1-2).

En la clasificación de los quesos, se encuentra el queso mozzarella de consistencia semidura a semiblanda, dependiendo del contenido de humedad, de textura fibrosa, elasticidad y cerrada, color blanco amarillento, homogéneo, que puede ser obtenido de leche pasteurizada o cruda, mediante la adición de fermentos lácticos (Guaila, 2018, p. 10).

Sin embargo, en la industria quesera es latente la preocupación por el control de los microorganismos patógenos y encontrar el mecanismo más idóneo para garantizar inocuidad y prolongar la vida en anaquel; entre los métodos de control más comunes se hallan los tratamientos térmicos (pasteurización o esterilización), una conservación a temperaturas bajas, uso de conservantes químicos, y actualmente el uso de conservantes naturales (Morales, 2015, p. 13).

Por ello, surgió la necesidad de utilizar alternativas para la conservación de los alimentos, como el uso de productos naturales, en este caso los Aceites Esenciales (AEs) que son derivados de las plantas, que son conservantes antimicrobianos que le confieren características organolépticas y pueden mejorar el proceso de elaboración y conservación, además cubren un amplio espectro de actividades denominadas nutraceuticas y biocida contra organismos como bacterias y hongos (Morales, 2015, p. 13).

Las propiedades antioxidantes y antimicrobianas que presenta el aceite esencial de orégano (AEO) pueden retardar la oxidación de los alimentos, siendo esto de gran importancia para mantener las propiedades fisicoquímicas y mejorar la conservación de los alimentos (Sánchez, et al., 2022, pp.258-268).

Por los antecedentes expuestos con anterioridad es que se plantean los siguientes objetivos:

Evaluar el uso de aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) en el queso mozzarella como antimicrobiano.

Adquirir el aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) bajo una marca comercial disponible en el mercado.

Evaluar la eficacia de diferentes niveles (0.2 %, 0.4 %, 0.6 %) de aceites esenciales de orégano (*Origanum vulgare*) como antimicrobiano en el queso mozzarella.

Analizar la composición fisicoquímica, microbiológica y organoléptica del queso mozzarella elaborado con aceites esenciales de orégano (*Origanum vulgare*) como antimicrobiano en el queso mozzarella.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1. Leche

Según la (NTE INEN 9, 2012. pp.1-3), la leche es el producto de secreción normal de las glándulas mamarias de animales bovinos lecheros sanos, que puede ser obtenida por uno o más ordeños diarios, de modo higiénico, completa e ininterrumpida, sin ningún tipo de adición o extracción; la leche no ha sido sometida a ningún tipo de calentamiento (es decir, la temperatura no supera la de la leche inmediatamente después de ser extraída de la ubre – no más de 40 ° C) o no ha sufrido ningún tratamiento térmico, salvo del enfriamiento para su conservación, ni tampoco ha sufrido un cambio en su composición.

La leche es un líquido blanco cremoso con un sabor ligeramente dulce o salado (dependiendo de su alimentación y el agua que consuma), fresco, obtenido de animales bovinos sanos, ordeñadas completamente y en reposo, libre de calostro y cumpliendo con los parámetros físicos, microbiológicos e higiénicos; es un alimento único que apoya al crecimiento humano, ayuda en la formación de huesos y dientes debido a su elevado contenido de calcio y contribuye a la conformación de músculos debido a su contenido de proteínas (Gonzales, 2015, pp.8-33).

1.1.1. Composición físico químico de la leche.

Los valores de las principales propiedades físico - químicas de la leche natural se muestran en la tabla 1-1.

Tabla 1-1: Caracterización de la leche cruda en la planta de lácteos - Tunshi.

Requisitos	Unidad	Resultado
Densidad relativa a 20°C	g/mL	1.029
Materia Grasa	%	3.55
Sólidos no grasos	%	8.28
Sólidos totales	%	12.84
Proteína	%	3.06
pH	-	6.25
Ceniza	%	0.75

Fuente: (Camacho, 2020)

Realizado por: Guagrilla, Jefferson, 2022.

1.2. Derivados lácteos

Son productos elaborados a partir de leche entera, descremada o semi descremada que mediante procesos tecnológicos mejoran y conservan las propiedades nutricionales y sensoriales de la materia prima mediante el uso de aditivos, emulsificantes o espesantes en su composición para restituir o añadir consistencia al producto resultante, que dependiendo del tipo de subproducto que se requiera obtener, su valor nutricional puede variar (Franklin et al., 2011: pp.36-38).

1.3. Queso

Según la (NTE INEN 1528,2012, pp.3-10), define al queso como un producto blando, semiduro, duro y muy duro, maduro o no madurado y puede estar recubierto, en el que la proporción de proteína de suero a caseína no es superior a la de la leche, que se obtiene por coagulación total o parcial de la leche.

Según (Ibáñez, 2015, pp.50-98), indica que el queso es un alimento sólido elaborado a partir de la leche cuajada de vacas, cabras, ovejas, búfalos, camellos u otros mamíferos rumiantes, la leche se cuaja con una combinación de enzimas estomacales (o sustitutos) y acidificación; las bacterias son responsables de la acidificación de la leche, que desempeñan un papel importante en la determinación de la textura y el sabor de la mayoría de los quesos, algunos de los cuales pueden contener mohos en su superficie exterior como interior.

1.3.1. Clasificación de quesos

Según la (NTE INEN 1528,2012, pp.3-10), se clasifican en:

Según el contenido de humedad

- Duro: 20 a 40% de humedad.
- Semiduro: 42 a 55% de humedad.
- Semiblando: 65 % de humedad.
- Blando: 80% de humedad.

Según el contenido de grasa láctea:

- Rico en grasa: 60 % mínimo de grasa.
- Entero o graso: 45 % mínimo de grasa.

- Semidescremado o bajo en grasa: 20 % mínimo de grasa.
- Descremado o Magro: 0,1 % mínimo de grasa.

1.4. Queso Mozzarella

El queso mozzarella pertenece al grupo de los quesos de pasta hilada y es el segundo segmento de ventas más importante en las industrias queseras debido a que durante su elaboración la cuajada acidificada se somete a un amasado con agua caliente que permite estirarla de tal forma que pueda formar bandas, o que a su vez consta de varias estructuras alineadas a modo de hilos; en algunos países latinoamericanos existe un interés particular en la producción y comercialización de este queso, debido a su alto consumo especialmente en comidas rápidas (Ramírez et al., 2010: pp.60-63).

El queso mozzarella es un producto de pasta hilada cuyo proceso de elaboración recibe un tratamiento térmico que tiene como objetivo el fundir las proteínas y alinear sus fibras mediante un proceso específico denominado hilado, que se basa en el estiramiento repetitivo de la cuajada caliente para lograr una estructura suave, elástica y cremosa; los quesos que conforman parte de esta familia reciben su nombre debido a su proceso de fabricación ya que se realiza un calentamiento con agua y luego su amasado para su estiramiento o hilado (Arteaga y Parra, 2021: p.7).

1.4.1. Usos y aplicaciones

El queso mozzarella es un producto muy consumido, puede ser acompañado de aceite de oliva, orégano y otras especias, y formar parte de ensaladas, frutos secos, vinagre e infinidad de combinaciones, es un ingrediente fundamental de la mayoría de las pizzas artesanales, así como de pizzas industriales y muchos otros productos preparados, además, el queso mozzarella puede considerarse un alimento probiótico, ya que contiene microorganismos beneficiosos para quien los ingiere al permanecer vivos en el intestino y contribuye en el equilibrio de la flora bacteriana (Gaitán, 2019, p.8).

1.4.2. Elaboración del queso mozzarella

Según (Hernández, 2018, pp.4-5), describe el proceso de elaboración del queso mozzarella de manera breve a continuación:

1.4.2.1. Pasteurización

Consiste en realizar un tratamiento térmico donde se calienta la leche a una temperatura entre 70 ° C a 80 ° C por unos minutos con la finalidad de eliminar bacterias y microorganismos patógenos presentes en la leche.

1.4.2.2. Coagulación

Es un proceso por el cual la leche sufre un cambio donde se separa del suero láctico mediante la ayuda de enzimas o por una coagulación ácida.

1.4.2.3. Corte de la cuajada

Posteriormente de la coagulación se realiza el corte de la cuajada obtenida en cuadros de aproximadamente 2 cm con liras, que favorece la expulsión del suero de la masa.

1.4.2.4. Desuerado

Se realiza para eliminar completamente el suero y se lo puede efectuar mediante el prensado, para aprovechar el tiempo de esta operación.

1.4.2.5. Hilado

El queso obtenido se procede a colocarlo en un recipiente con agua caliente (70 ° C) para realizar un amasado y hacerlo elástico dando origen a las propiedades características del queso mozzarella.

1.4.2.6. Moldeado

Se procede a colocar la masa en moldes para darle forma y tamaño al producto.

1.4.2.7. Salado

Se realiza con el fin de otorgar un salado característico de la mayoría de los quesos comercializados. El proceso consiste en realizar una inmersión del queso en recipientes donde está la salmuera por un tiempo dependiendo del tamaño.

1.4.2.8. Almacenado

Se lo realiza a temperaturas bajas para su mejor conservación.

1.5. Enfermedades transmitidas por alimentos

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAs) son una variedad de enfermedades causadas por el consumo de alimentos, incluyendo el agua que puede estar contaminada con diversos agentes (bacterias, productos químicos o parásitos) también se producen por la manipulación de los alimentos; a través de vectores de enfermedades, por ejemplo: el ser humano, plagas, alimentos crudos, agua, suelo y aires contaminados (Saltos et al., 2018: p.38).

Según (Garófalo, 2021, p.20), la ingesta de este tipo de alimentos contaminados puede provocar ciertas enfermedades caracterizadas por una variedad de síntomas gastrointestinales, que incluyen náuseas, vómitos, diarrea, dolor abdominal y fiebre; e inclusive en algunos casos complicaciones graves como sepsis, meningitis, aborto espontáneo, síndrome de Reiter, síndrome de Guyana-Barré o muerte.

1.6. Contaminación de quesos

Según (Guzmán et al., 2016: pp.10-16), la presencia de microorganismos patógenos en los quesos están asociados varios factores como: la deficiente calidad de la leche ocasionado por las malas prácticas de ordeño, mal manejo que se le da a la leche, condiciones inadecuadas de almacenamiento y transporte, desconocimiento de las normas vigentes, falta de capacitación, infraestructura e instalaciones de las industrias deficientes, mal equipamiento, control de procesos, materias primas e insumos, manejo de registros, implementación de sistemas de seguridad e inocuidad, contaminación cruzada, uso de leche cruda, entre otros requisitos que establece la Buenas Prácticas de manufactura (BPM). (Ferrín et al., 2020: p.42) los microorganismos más comunes que se pueden encontrar en el queso son: coliformes fecales, *Staphylococcus aureus*, mohos y levaduras.

1.6.1. Principales microorganismos patógenos encontrados en quesos

1.6.1.1. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus pertenece a la familia Micrococcaceae que tiene la forma de cocos, agrupado en forma de racimos, inmóvil, gram positivo, aerobio y anaerobio facultativo, con una temperatura óptima de 37 ° C, de color amarillo dorado y son halotolerantes que producen

enterotoxinas, aislado comúnmente de la leche cruda de ganado vacuno con mastitis, estas bacterias son resistentes al cambio de temperatura y pueden causar desde diarrea hasta intoxicaciones severas a quien ingiere la leche o sus derivados como los quesos (Rodas et al., 2013: p.27).

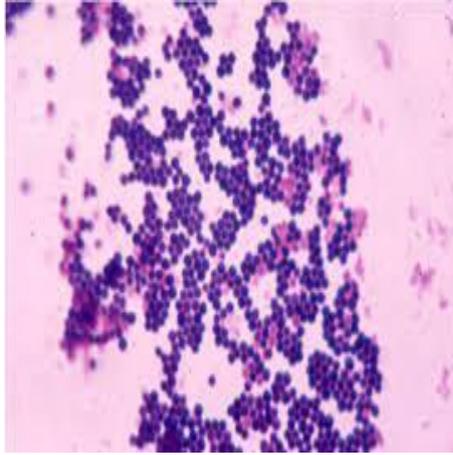


Figura 1-1. *Staphylococcus aureus*

Fuente: Tomado de (Sanjuan, 2019, p.5)

1.6.1.2. *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes son bacilos gram positivos, intracelular facultativo que se puede encontrar en la naturaleza, con frecuencia en los alimentos, esta infección puede afectar a personas inmunocomprometidos, ancianos y recién nacidos; esta bacteria se puede aislar del suelo, agua, vegetales y heces de animales; este tipo de contaminación es común en alimentos frescos y procesados de origen animal y vegetal (verduras), leche y productos lácteos no pasteurizados, carne de res, cerdo y aves, salchichas ahumadas o fermentado y pescados ahumados (Carrión, 2016, p.14).



Figura 2-1. *L. monocytogenes*

Fuente: Tomado de (Biomérieux, 2022)

1.6.1.3. *E. coli*

E. coli pertenece a la familia Enterobacteriaceae, son bacterias gram negativas, bacilos cortos, de catalasa positiva, oxidasa negativa, tamaño aproximado 0.5 μm de ancho por 3.0 μm de largo, su temperatura óptima de crecimiento es de 37 ° C, son microorganismo relativamente sensible al calor y puede ser destruido mediante temperaturas de pasteurización y también durante su almacenamiento a temperaturas de congelación (Palpa, 2015, pp.16-17).

E. coli produce la toxina Shiga (STEC) que puede ser transmitida por medio de alimentos contaminados. Entre los alimentos asociados con el brote de STEC son la carne molida cruda o poco cocida, salchichas, embutidos, lácteos no pasteurizados, mayonesa, entre otros (Once y Ruiz, 2022: p.14).



Figura 3-1. *E.coli*

Fuente: Tomado de (Reyes, 2011)

1.6.1.4. *Salmonella*

Salmonella un género de la familia de las *Enterobacteriaceae*, son gram negativos, anaerobios facultativos, oxidasa negativa, catalasa positiva, no formadores de esporas, pueden crecer en un rango de 5 a 47 ° C con un rango óptimo de 35–37 ° C; que producen ácido y en ocasiones gas a partir de la glucosa (Plaza, 2013, pp.31-32).

Según (Soria, 2012, pp.31-32), el género *Salmonella* causa salmonelosis, enfermedad que puede afectar a humanos y animales de sangre caliente y fría, cuya incidencia y mortalidad varía según la especie y el huésped; del mismo modo, la salmonelosis está vinculada con una gran lista de alimentos, que en la mayoría de los casos es consecuencia del consumo de carnes de mamíferos, aves, mariscos, huevos y leche en polvo, etc.

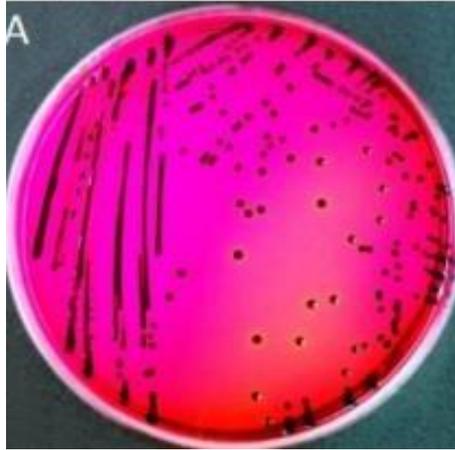


Figura 4-1. Colonias típicas de *Salmonella*.

Fuente: Tomado de (Department of Veterinary Disease Biology, 2022)

1.6.1.5. Enterobacterias

La familia de Enterobacterias son el grupo más grande y heterogéneo de bacterias gram negativas, en forma de bacilos gram negativos de 1.0 a 6.0 μm , que no son esporulados, son aerobios y anaerobios facultativos, muchos de ellos forman capsulas, la gran mayoría producen fimbrias y pilis, ninguno produce esporas. Estos microorganismos son ubicuos de distribución mundial, presentes en el suelo, agua, vegetación y forman parte de la flora intestinal en casi todos los animales, incluyendo el ser humano (Cortecero y Benítez, 2011: pp.35-56).

De igual forma (Montel et al., 2014: pp.136-154), manifiesta que las Enterobacterias se pueden encontrar de forma natural en la leche y productos lácteos como el queso, esto debido a diferentes aspectos sanitarios y tecnológicos durante su elaboración, que pueden ocasionar defectos en el sabor y la textura de estos productos.



Figura 5.1. *Enterobacteriaceae* en Petrifilm.

Fuente: Tomado de (AFNOR, 1997)

1.7. Orégano

El Orégano (*Origanum vulgare*) es una especie herbácea, perenne, que puede crecer hasta un metro de altura, perteneciente a la familia *Labiaceae*, produce flores que varían del blanco a púrpura y muestra brácteas en verano, sus hojas son de color verde a verde grisáceo que pueden ser vellosas o lisas, varias especies son conocidas comercialmente por la forma de la hoja de orégano, se debe entender que esta propiedad se relaciona principalmente con su aroma y sabor. (Cameroni, 2013, pp.1-6).

Planta herbácea perenne de aspecto leñoso que crece hasta 90 cm de altura, sus tallos a menudo adquieren una tonalidad rojiza, se ramifican en la parte superior y tienden a deshojarse en las partes más inferiores, las hojas surgen opuestas, ovales y anchas, miden 2-5 cm, tienen bordes enteros o ligeramente dentados, y vellosidad en el envés, las inflorescencias son panículos tipo cima, con brácteas negras y flores labiadas de color púrpura (Ruiz de la Torre y Melo, 2010: pp.74-109).

Según estudios realizados se ha demostrado que el orégano contiene aceites esenciales, que pueden ser beneficiosos para la salud, al igual que puede sustituir los aditivos sintéticos en los alimentos, además, posee actividad antiradicalaria, propiedad que es atribuida por los monofenoles, carvacrol y timol principales quimiotipos (Acevedo et al., 2013: pp.43-48).

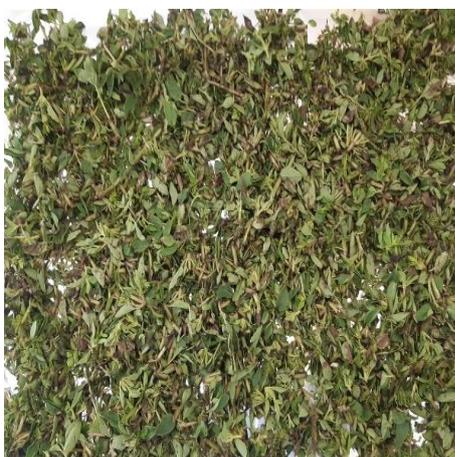


Figura 6-1. Hojas de orégano.

Realizado por: Guagrilla, Jefferson, 2022.

1.7.1. Clasificación científica del orégano (*Origanum vulgare*)

El orégano es una planta originaria del Mediterráneo, cuya altura no supera el metro, tiene hojas pequeñas y ovaladas de 1 a 3 cm de tamaño según la variedad y el hábitat, es una de las plantas más populares del mundo (López, 2017, p.4).

Tabla 2-1: Clasificación científica del orégano.

División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Lamiales
Familia	Lamiaceae
Subfamilia	Nepetoideae
Género	Origanum
Especie	Vulgare

Fuente: (Solís, 2012, p.6)

Realizado por: Guagrilla, Jefferson, 2022.

1.7.2. Usos del orégano

El orégano tiene un gran número de usos entre los cuales se encuentran los siguientes resumidos en la tabla 3-1.

Tabla 3-1: Usos y funciones del orégano.

Usos	Modo de empleo	Funciones
Ind. Alimenticia	Hoja seca	Elaboración de productos alimenticios como potenciador del sabor y conservador natural Inhibidor de crecimiento de hongos contaminantes y bacterias patógenas relacionadas con los alimentos.
	Aceite esencial	En alimentos procesado se emplea como antioxidante para la elaboración de embutidos y en conservas como: salmón, atún y sardinas. En la industria de refresquera y licorera el orégano se utiliza como fijador y saborizante.
Medicinal	Aceites esenciales	Propiedades, antioxidantes, antiinflamatorios, antiséptico y antiparásitos.
Cosméticos	Aceites esenciales	Se usa como esencia y fijador de olor de perfumes. Manufactura de jabones y productos de aromaterapia.

Fuente: (SEMARNAT, 2015)

Realizado por: Guagrilla, Jefferson, 2022.

1.8. Aceites esenciales

Los aceites esenciales son líquidos aceitosos aromáticos obtenidos por diversos métodos de extracción que provienen de materiales vegetales (flores, tallos, raíces, hojas, frutos y semillas), algunos de los cuales poseen actividad antibacteriana y antifúngica, y se evalúan como una fuente

potencial de nuevos compuestos antimicrobianos y pueden ser una alternativa para la conservación de alimentos (Argote et al., 2017: pp.52-60).

Según (Torrenegra et al., 2017: pp.160-175), el aceite esencial (AE) se utiliza para referirse a un líquido, volátil, con propiedades aromáticas. Estas sustancias son sintetizadas por las plantas como metabolitos secundarios y pueden extraerse por métodos físicos como la destilación al vapor o la hidrodestilación. Los aceites esenciales juegan un papel importante en la protección de las plantas porque actúan como agentes antibacterianos, antivirales, antifúngicos e insecticidas. Tienen una composición química compleja que incluye una mezcla de sustancias orgánicas como hidrocarburos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, etc.

Los principales componentes de los aceites esenciales son los terpenos de bajo y medio peso molecular como los monoterpenos, sesquiterpenos y en menor medida los diterpenos. Los monoterpenos son las moléculas más abundantes que pueden llegar a constituir el 90% del aceite. Los compuestos más comunes que forman parte del AE son el α -pineno, β -pineno, mirceno, limoneno, 1,8-cineol y alcanfor se clasifican como monoterpenos, y los compuestos de trans-cariofileno y óxido de cariofileno como los sesquiterpenos (Usano et al., 2014: p.62).

1.8.1. Métodos de extracción de aceites esenciales

Según (Sena, 2012, p.28), va a depender de la variedad del material vegetal, parte de la planta a utilizar y estabilidad del aceite esencial que se pretenda obtener, se usaran diferentes procedimientos físicos y químicos de extracción, su correcta aplicación determinará la calidad del producto final. Dependiendo de las variables anteriores, existen diferentes técnicas de extracción, como se muestran en la tabla 4 - 1.

Tabla 4-1: Métodos de extracción de Aceites Esenciales.

Tipo de Método	Procedimiento	Productos obtenidos
Métodos directos	Extracción	Aceites esenciales cítricos
	Exhudación	Gomas, Resinas, bálsamos
Destilación	Directa	
	Arrastre de vapor	
	Destilación – maceración (liberación enzimática de agliconas en agua caliente)	Aceites esenciales y aguas aromáticas
Extracción con solventes	Solventes volátiles	Infusiones y resinoides alcohólicos
		Concretos y absolutos
	Solventes fijos (grasas y aceites)	Absolutos de pómadas
		Absolutos de enflorados
	Extracción con fluidos en estado supercrítico	

Fuente: (SENA, 2012)

Realizado por: Guagrilla, Jefferson, 2022.

1.8.2. Propiedades de los aceites esenciales

Los aceites esenciales se caracterizan por presentar un olor pronunciado y penetrante generalmente agradable, sabor cáustico, irritante y concentrado, a veces dulce o amargo, o sabor aromático y sensación de fármaco; su densidad suele ser inferior a la del agua, poseen actividad óptica; peso específico de 0,8 a 2,0 a temperatura de 15 °C; con un punto de ebullición de 150 a 300 ° C; índice de refracción de 1,45 a 1,5; se alteran fácilmente bajo la presencia de la luz, lo cual tienden a oscurecerse y cambiar su aroma (Pinzon, 2021, p. 30). Los aceites esenciales son volátiles, lo que significa que cambian fácilmente de líquido a gas a temperatura ambiente o superior, pueden disolverse en aceite, alcohol, éter de petróleo, tetracloruro de carbono y otros disolventes orgánicos; y son insolubles en agua, generalmente, se los obtiene por arrastre de vapor y contienen sustancias que le dan el aroma a la planta algunos de ellos poseen un agradable color y sabor (Montoya, 2010, p.13).

Según (Ceballos & Londoño, 2017: pp.1-3), los aceites esenciales poseen fuertes propiedades antibacterianas y antioxidantes y, como conservantes naturales, satisfacen la demanda de los consumidores de alimentos seguros, saludables y nutritivos; debido a su alto potencial, pueden combatir microorganismos patógenos que causan enfermedades en los consumidores, y que de igual forma puede atribuir prolongar la vida útil de los alimentos conservando su calidad. Estos contienen una amplia variedad de compuestos químicos que actúan de manera de sinergismo para realizar actividades antimicrobianas, antioxidantes, antifúngicas, antivirales, insecticidas, entre otras (Cortés et al., 2014: pp. 2-3).

1.9. Aceite esencial de Orégano

Según (Camus & Trujillo, 2011: p.1), el aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) es un líquido amarillo que presenta un aroma agradable que se lo encuentra dentro de las flores y en las hojas, tiene una composición química muy compleja en los que se encuentran los componentes: timol, carvacrol, pineno, cymol, selineno, dipenteno, α -terpineno, algunos polifenólicos como el ácido rosmarínico, ácido cafeico, ácido ursólico, ácido clorogénico, taninos, algunos flavonoides (lutenol, diosmetol, kaemferol) y derivados de apigenol. Pero sin duda el componente mayoritario es el carvacrol (80,2%), el cual existe mucha información en la industria farmacéutica, alimenticia, cosmética, también su importancia en farmacología por su actividad antimicrobiana, antimicótica, antiviral y diurética (Valazque, 2019, p.2).

De acuerdo con (Mendoza, 2020, pp.54-62), en el aceite esencial de orégano encontró componentes químicos todos terpenos, principalmente el carvacrol 62,41 %, además de β -cariofileno 8,84%,

α -bergamoteno 6,75%, p-cimeno 6,24%, geraniol 4,29%; y α -humuleno, β -felandreno, 1-octen-3-ol, oxido de cariofileno, 4-terpineol, E-citral, γ -terpineno, z-citral en pequeñas cantidades.

Según (Acevedo et al., 2013: pp.43-48), los principales componentes químicos que están presentes en el aceite esencial de orégano es el Timol (67.51%) como mayoritario, seguido por p-Cimeno (11,66 %), γ -Terpineno (5,51 %), cariofileno (5,38 %), oxido de cariofileno (2,22 %), trans- α -Bergamoteno (1,65 %), Eugenol (1,49 %), y α - Bergamoteno, 1,32% representando más del 80% del total.

1.9.1. Características físicas del aceite esencial de orégano

Según (Tellez & Nollazco, 2017: pp.195-205), en la tabla 5-1, indican las condiciones, rendimientos y propiedades físicas del aceite esencial de orégano obtenido por destilación con arrastre de vapor de agua.

Tabla 5-1: Características físicas del aceite esencial de orégano

Muestra	<i>Origanum Vulgare</i>
Tiempo de destilación	60 min
Rendimiento	2,02 %
Densidad específica a 20 ° C	0,9132 g/ml
Índice de refracción	1,475
Solubilidad en alcohol	75 ml
Color (CIE L *, a *, b *)	L*60,51; a *-2,83; b *14,31

Fuente: (Tellez & Nollazco, 2017)

Realizado por: Guagrilla, Jefferson, 2022.

1.9.2. Composición química del aceite esencial de orégano

(Teixeira et al., 2013: pp.2707-2714), indica que el aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) se compone principalmente de monoterpenoides y monoterpenos; aunque su composición puede variar según su ubicación geográfica. Se han identificado más de 60 compuestos diferentes, principalmente carvacrol y timol, además, de flavonoides como apigenina y luteolina, agliconas, alcoholes alifáticos, derivados del fenilpropano y ácidos cumárico, ferúlico, caféico, r-hidroxibenzóico y vanílico (D`Antuono et al., 2000: pp. 471-478). Su propiedad antioxidante es atribuida a los ácidos fenólicos y flavonoides, y su propiedad antimicrobiana por presencia de carvacrol y timol (Faleiro et al., 2005: pp.8162-8168).

Según (Di Fabio, 2020, pp.5-6), los aceites esenciales de orégano (0,15-0,4% de plantas secas) son ricos en timol, carvacrol y terpineol; la composición del extracto de orégano varía según el origen

y la variedad, los fenoles totales constituyen casi el 90% de la esencia, también contienen hidrocarburos monoterpénicos como limoneno, pineno, cimeno y sesquiterpénicos: beta-cariofileno, bisaboleno, además como linalol y terpinen-4-ol.

(García, 2022, p. 6), en cuanto a la composición del aceite de orégano se han identificado hasta 56 compuestos, de los cuales solo se destacan cuantitativamente dos fenoles isoméricos como el carvacrol (0.1-56.6%) y timol (7.9-53.6%). Estos compuestos naturales, son considerados como antioxidantes, antifúngicos y antibacteriales que se presentan en cantidades significativas en los aceites esenciales de los géneros *Thymus*, *Origanum*, *Satureja*, *Thymbra* y *Lippia*, que se usan ampliamente como especias y tés de hierbas (Arango et al., 2012: pp.217-226).

1.9.3. Capacidad antimicrobiana del aceite esencial de orégano

Los aceites esenciales son líquidos aceitosos aromáticos que se obtienen de diferentes partes de ciertas plantas, especialmente conocidos por sus propiedades aromáticas y antibacterianas, y pueden usarse como aditivos para mejorar la seguridad alimentaria y la vida útil de los productos alimenticios (Amatiste, 2014, p.148).

El aceite esencial de orégano fue el primer antiséptico natural con amplias propiedades bactericidas, y el orégano no tiene tendencia conocida a desarrollar resistencia. El aceite esencial de orégano mata o detiene el crecimiento de casi cualquier hongo, así como de inhibir el crecimiento de la mayoría de las bacterias gram positivas como gram negativas (Sauceda, 2011, pp. 153-170). En el aceite esencial de orégano, el carvacrol y timol son los más activos y funcionan sinérgicamente para mejorar las propiedades conservantes (Solís, 2012, p.12).

Según (Palacios y Vélez, 2017: p.6), demuestran que carvacrol y timol tienen varios sitios de acción dentro de las células y dependiendo de las concentraciones utilizadas puede ocasionar la inhibición o inactivación de los microorganismos, los blancos o puntos de ataque de estos agentes antimicrobianos dentro de las células incluyen la pared y membrana, celular enzimas metabólicas síntesis de proteínas y sistema genético.

De acuerdo con (Aligiannis et al., 2001: pp.4168-4170; Elgayyar et al., 2001: pp.1019-1024), el aceite esencial de orégano presenta actividad antimicrobiana contra las gram positivas como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis* y *Listeria monocytogenes* y las bacterias gram negativas como *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Yersinia enterocolitica* y *Enterobacter cloacae*. También presenta actividad antifúngica frente

Cándida albicans, *Torulopsis glabrata*, *C.tropicalis*, *Aspergillus Níger*, *Rhodotorula* y *Geotrichum* pero no contra *Pseudomonas aeruginosa* (Sivropoulou et al., 1996: pp.1202-1205).

Según (Asensio, 2013, p.88), en cuanto al efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de orégano las bacterias gram positivas tienden a ser más sensibles tales como *B. cereus* y *S. aureus*, de igual forma tuvo zonas de inhibición pequeñas ante *E. coli* como contra *Salmonella sp*, esto debido a que las bacterias gram negativas tienen gran complejidad en su pared celular. Esto se les atribuye a los compuestos fenólicos que son conocidos como agentes inhibidores dependiendo de la concentración utilizada; el carvacrol, eugenol y timol son compuestos fenólicos que poseen una mejor actividad inhibidora (Posligua, 2021, pp. 25-30).

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Localización y duración del experimento

El trabajo de investigación se realizó en el laboratorio especializado en lácteos de la Estación Experimental Tunshi ubicado en el kilómetro 12 vía a Licto de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo y en los laboratorios de Ciencias Biológicas; Bromatología de la Facultad de Ciencias Pecuarias, situada en la Panamericana Sur Kilómetro 1½, a una altitud de 2740 msnm, 78° 4' de Longitud Oeste y 1° 38' de Latitud Sur.

La duración del trabajo tuvo un tiempo aproximado de 90 días, en los que se realizó los análisis microbiológicos, bromatológicos, físico - químicos y sensoriales.

Tabla 1-2: Condiciones meteorológicas de Riobamba.

	Indicadores
Temperatura	12.3 °C
Humedad relativa	70.3 %
Precipitación	17.3 mm/mes

Fuente: Estación Meteorológica de la FRN. ESPOCH. 2022.

Realizado por: Guagrilla, Jefferson, 2022.

2.2. Unidades experimentales

En el presente trabajo investigativo está formado por 40 unidades experimentales de producto (queso mozzarella 250g), con diferentes niveles de aceite esencial de orégano los cuales se utilizaron para los análisis bromatológicos, sensoriales y microbiológicos, en diferentes tiempos 0, 7, 14 y 21 días con el fin de evaluar su capacidad antimicrobiana.

2.3. Equipos, materiales, insumos y reactivos

2.3.1. Equipos de campo

- Marmita (olla pasteurizadora)
- Caldero

2.3.2. Equipos para pruebas bromatológicas

- Estufa
- Refrigeradora
- Equipo micro kjeldahl
- Balanza analítica
- pH – metro

2.3.3. Equipos para pruebas microbiológicas

- Autoclave
- Incubadora
- Estufas
- Cámara de flujo laminar
- Plancha de calentamiento
- Contador de colonias
- Microscopio
- Refrigeradora
- Balanzas de precisión
- Vortex

2.3.4. Materiales de campo

- Ollas
- Mesa de moldeo
- Termómetro
- Papel tornasol
- Prensa
- Tela de filtrado
- Baldes de plástico
- Lira de corte
- Mallas de plástico
- Moldes de acero inoxidable
- Tina de salmuera
- Fundas ziploc
- Fundas para empacado
- Botas, mandil
- Guantes para hilar, cofia, mascarilla

2.3.5. Materiales para para pruebas bromatológicas

- Acidómetro
- Crisoles
- Desecador
- Matraz de Erlenmeyer
- Vasos de precipitación
- Buretas
- Probetas
- Mortero y pistilo
- Papel filtro

2.3.6. Materiales para pruebas microbiológicas

- Tubos de ensayo
- Cajas Petri
- Micropipeta
- Espátula
- Vasos de precipitación
- Papel aluminio
- Papel industrial
- Guantes, cofia, mascarilla
- Mandil
- Bureta
- Mechero
- Puntas
- Gradillas
- Piseta
- Portaobjetos
- Tanque de gas
- Frascos termorresistentes
- Libreta

2.3.7. Materiales para pruebas sensoriales

- Boletas de catación
- Esferos
- Platos desechables

- Mondadientes

2.3.8. Insumos de campo

- Leche
- Aceite esencial de orégano (Orégano NAT ID 300480)
- Cuajo
- Fermento (Cheese Lat Yc Mozzarella)
- Cloruro de calcio
- Sal en grano

2.3.9. Insumos y reactivos para pruebas microbiológicas

- Agar (SS Agar Salmonella Shigella Agar)
- Agar BD Baird – Parker Agar
- Palcam Agar Listeria
- EMB Agar
- Placas Petrifilm (Enterobacterias)
- Jabón líquido
- Alcohol (70 % - 96 %)
- Agua destilada
- Cristal violeta
- Alcohol cetona
- Lugol
- Safranina
- Aceite de inmersión

2.3.10. Reactivos para para pruebas bromatológicas

- Sulfato de cobre
- Sulfato de sodio
- Catalizadores
- Ácido clorhídrico
- Ácido sulfúrico
- Hidróxido de sodio
- Alcohol

2.4. Tratamiento y diseño experimental

Se utilizó 4 tratamientos con 5 repeticiones cada una, basados en la utilización de diferentes niveles de aceite esencial del orégano (0; 0,2; 0,4 y 0,6 %) como antimicrobiano en el queso mozzarella, los cuales se analizó bajo un Diseño completamente al azar, cuyo modelo lineal aditivo es:

$$Y_{ij} = u + T_i + E_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} : valor estimado de la variable

U: media general

T_i : efecto antimicrobiano de aceite esencial del orégano

E_{ij} : error experimental o efecto de la aleatorización de los tratamientos en el campo experimental.

2.5. Esquema del experimento

El esquema del trabajo experimental se describe a continuación en la tabla 2-2.

Tabla 2-2: Esquema del experimento.

Aceite esencial de orégano (%)	Código	Repeticiones	TUE. *	TUE /# Tratamiento
Control (sin orégano)	T0	5	2	10
0,2	T1	5	2	10
0,4	T2	5	2	10
0,6	T3	5	2	10
Total				40

TUE *Tamaño de la unidad experimental.

Realizado por: Guagrilla, Jefferson, 2022.

2.6. Mediciones experimentales

Las mediciones experimentales que se desarrollaran en la presente investigación son:

2.6.1. Pruebas físico – químicas

- pH
- Acidez

2.6.2. Análisis bromatológicos

- Proteína
- Grasa
- Sólidos totales

2.6.3. Pruebas Microbiológicas

- *Enterobacterias*
- *Escherichia coli*
- *Staphylococcus aureus*
- *Listeria monocytogenes*
- *Salmonella*

2.6.4. Pruebas sensoriales

- Color
- Olor
- Sabor
- Textura

2.7. Análisis estadísticos y pruebas de significancia

Con los resultados experimentales se realizó un diseño completamente al azar y los análisis estadísticos fueron:

- Análisis de varianza (ADEVA) con $P \leq 0.05$.
- Separación de medias según Tukey
- Gráficos de Frecuencia
- Estadística descriptiva

En la tabla 3-2 se muestra el esquema del ADEVA

Tabla 3-2: Esquema del ADEVA.

Fuente de variación		Grados de Libertad
Total	(n-1)	19
Niveles de aceite esencial de orégano	(t-1)	3
Error	(n-1) - (t-1)	16

Realizado por: Guagrilla, Jefferson, 2022.

2.8. Procedimiento experimental

2.8.1. Formulación para la elaboración del queso mozzarella

En la elaboración del queso mozzarella, se utilizó la formulación que se reportan en la tabla 4 - 2, donde se observa que se utiliza diferentes niveles de aceite esencial de orégano.

Tabla 4-2: Formulación para la elaboración del queso mozzarella con diferentes niveles de aceite esencial de orégano.

Formulación	Niveles de aceite esencial de orégano			
Ingredientes	0%	0,2%	0,4%	0,6%
Leche (L)	15	15	15	15
Fermento (g)	1,25	1,25	1,25	1,25
Cuajo ml	2,5	2,5	2,5	2,5
Cloruro de calcio (ml)	2	2	2	2
Sal (%)	1	1	1	1

Tratamientos	Peso (g)	Aceite esencial de orégano (ml)
T0	1250	-
T1	1250	2,5
T2	1250	5
T3	1250	7,5

Fuente: Laboratorio especializado en lácteos Tunshi - ESPOCH

Realizado por: Guagrilla, Jefferson, 2022.

2.8.2. Proceso para la elaboración del queso mozzarella

A continuación, se muestra la figura 1 – 2, el proceso de elaboración de queso mozzarella:

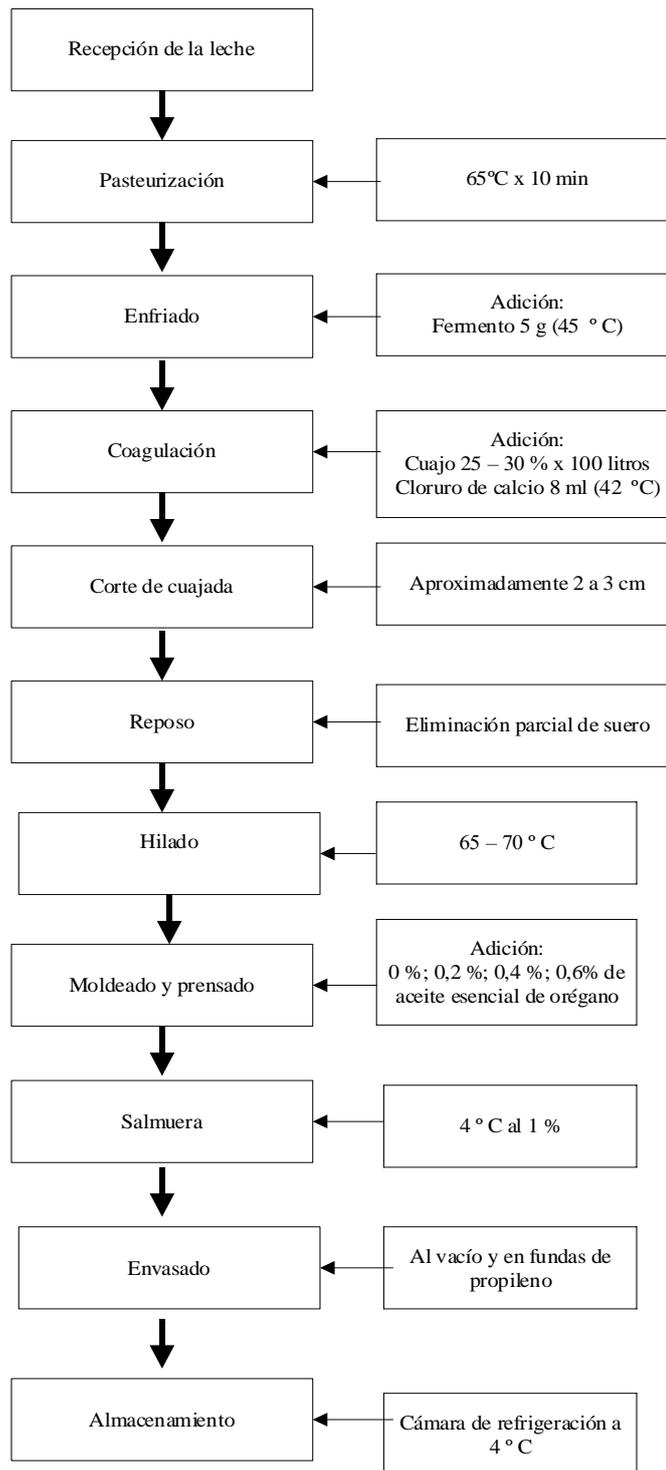


Gráfico 1-2. Diagrama de elaboración del queso mozzarella con diferentes niveles de aceite esencial de orégano.

Realizado por: Guagrilla, Jefferson, 2022.

2.8.2.1. Recepción de la leche

La leche se filtró mediante la utilización de telas para eliminar impurezas que puedan afectar el proceso de elaboración del queso mozzarella.

2.8.2.2. Pasteurización

Se sometió la leche a una pasteurización a 65 ° C durante 10 minutos.

2.8.2.3. Enfriado

Se dejó reposar para enfriar la leche a unos 45 ° C.

2.8.2.4. Coagulación

Se adicionó a los 45 ° C el fermento, posteriormente dejando reposar un tiempo y agregar entre los 40 - 42 ° C el cuajo y el cloruro de calcio. Se dejó en reposo durante 30 min.

2.8.2.5. Corte de cuajada

Se realizó el corte de cuajada con la lira aproximadamente entre 2 a 3 mm.

2.8.2.6. Reposo

Se dejará reposar por un tiempo la cuajada, hasta obtener el pH de 5.4 – 5.6. Este proceso se lo midió mediante el uso del papel tornasol.

2.8.2.7. Hilado

Se procedió calentar agua a 65 ° - 70 ° C para realizar el amasado de la cuajada e hilado de la misma. En el moldeado se adicionó los diferentes porcentajes de aceite esencial de orégano (0,2 %; 0,4 %; 0,6 %).

2.8.2.8. Moldeado y prensado

Se colocó en los moldes (250 g) para posteriormente prensarlos.

2.8.2.9. Salmuera

Se preparó la salmuera con sal en grano (1%).

2.8.2.10. Envasado

Se enfundaron en fundas de polietileno al vacío.

2.8.2.11. Almacenamiento

Se almacenó en una cámara de refrigeración a 4 ° C.

2.9. Metodología de evaluación

2.9.1. Análisis Físico – químicos

2.9.1.1. Determinación de pH

Para la determinación del pH se basó en la (NMX - F 099, 1970, pp.1-3), mediante el siguiente procedimiento:

- Colocar la muestra con agua destilada y agitar.
- Lavar los electrodos con agua destilada.
- Calibrar el pH metro con solución buffer.
- Insertar la base del pH metro en el recipiente que contiene la muestra.
- Proceder a la lectura.

2.9.1.2. Determinación de acidez

Esta prueba nos permite determinar la cantidad de acidez expresada en ácido láctico (° D), el procedimiento se lo realizó de acuerdo con la (NTE INEN 13, 1983, pp.1-2):

- Pesar 10 gramos de muestra de queso triturado.
- Agregar la muestra y 100 ml de agua destilada
- Mezclar y filtrar la solución.
- Tomar 25 ml de lo filtrado en un Erlenmeyer.
- Cargar el acidómetro con la solución de Hidróxido de sodio 0.1 N (NaOH)

- Agregar 3 – 4 gotas de fenolftaleína y proceder a titular, gota a gota hasta que adquiera un color rosa pálido.
- Registrar el gasto de NaOH en mililitros.

2.9.2. Análisis bromatológicos

2.9.2.1. Determinación de Humedad

Esta prueba nos permite determinar el contenido de humedad del queso mozzarella que se basó en la (NTE INEN 63, 1973, pp.1-7), mediante el siguiente procedimiento:

- Colocar los crisoles en la estufa durante 12 horas, luego sacarlos y dejarlos enfriar en el desecador por 30 min.
- Pesar los crisoles y poner la muestra 1-2 gramos.
- Colocarlos en la estufa por 24 horas.
- Sacarlos de la estufa y ponerlos en el desecador para enfriarlos por 30 min.
- Posteriormente pesarlos y tomar lectura.
- Finalmente aplicar la fórmula con los datos obtenidos.

$$SS (\%) = \frac{m_2 - m}{m_1 - m} \times 100$$

$$\%HUMEDAD = 100 - \% ST$$

En donde:

H = sustancia seca en porcentaje en masa.

m = masa de la cápsula en g

m1 = masa de la cápsula con la muestra en g

m2 = masa de la cápsula con la muestra después del calentamiento en g.

2.9.2.2. Determinación del contenido de proteína

Para determinar el contenido de proteína del queso mozzarella que se basó en la (NMX - F 098, 1976, pp.1-5), mediante el siguiente procedimiento:

- Colocamos en un balón de digestión micro Kjeldahl entre 1 a 2 g de muestra, se añade 1 g de sulfato de cobre y 9 g de sulfato de sodio; más 25 ml de ácido sulfúrico y lo instalamos en el aparato de digestión hasta obtener un líquido color verde esmeralda.
- Retiramos el balón y lo dejamos enfriar, posteriormente continuamos con la fase de destilación donde colocamos un Erlenmeyer con 100 ml de ácido bórico. En el balón adicionamos 200 ml de agua; granallas de zinc, y 100 ml de hidróxido de sodio y procedemos a destilar.
- Una vez obtenido el destilado procedemos a titular.
- Continuamos con la fase de titulación donde colocamos en el Erlenmeyer entre 4 a 5 gotas de indicador mixto y titulamos con HCl.
- Finalmente. La cantidad de HCl gastado en la titulación se anota para calcular con la siguiente fórmula:

$$\% P = \frac{V \times N \times f \times 0.014}{m} \times 100$$

En donde:

%P = contenido de proteína en porcentaje de masa

f = factor para transformar el %N2 en proteína, y que es específico para cada alimento.

V = volumen de HCl empleado para titular la muestra en mL

N1 = normalidad del HCl

m= masa de la muestra analizada.

2.9.2.3. *Determinación de grasa*

Esta prueba nos permite determinar el contenido de grasa del queso mozzarella que se basó en la (NTE INEN 64, 1973, pp.1-12), mediante el siguiente procedimiento:

- Pesar 1,5 gramos de muestra de queso, triturlarla.
- Colocar la muestra en el butirómetro.
- Verter ácido sulfúrico por la extremidad del butirómetro hasta que el nivel del ácido alcance las 2/3 partes de la cámara del butirómetro y recubra totalmente el queso.
- Sumergir el butirómetro dentro del baño maría de agua a 65° - 67° C, durante 5 minutos, retirarlo y agitarlo enérgicamente durante un determinado tiempo, repetir las operaciones hasta la disolución de toda la muestra.
- Verter 1 cm³ de alcohol amílico en el butirómetro y agitarlo suavemente no menos de 3 segundos.

- Si el caso lo requiere añadir más ácido sulfúrico hasta que el butirómetro se llene hasta 5 mm por debajo de la escala graduada.
- Cerrarlo y agitarlo suavemente en una vitrina de protección hasta que se mezcle completamente y las partículas sólidas desaparezcan.
- Luego colocar el butirómetro en baño maría de agua a 65° - 67° C durante 5 minutos, cuidando que la columna de grasa quede sumergida completamente en el agua.
- Retirarlo, mezclar y centrifugar el butirómetro con su tapa colocada hacia afuera, colocarlos simétricamente equilibrando con uno que contenga igual volumen, la operación tardará en un tiempo no menor a 5 ni mayor a 6 minutos.
- Retirarlo de la centrífuga y colocarlo con la tapa hacia abajo en el baño maría de agua a 65° - 67° C, durante 5 minutos, manteniendo la columna de grasa completamente sumergida en agua.
- Sacar el butirómetro del baño de agua maría y examinar su contenido, si hay una clara división entre la capa de grasa y el ácido proceder a la lectura, y si no existe una clara división repetir los pasos anteriores.

2.9.3. Análisis Microbiológico

2.9.3.1. Enterobacterias

La siembra para Enterobacterias se lo realizó de acuerdo con la (NTE INEN 1529 - 13, 2013, pp.1-3), donde se procede a:

- Esterilizar los materiales en el autoclave por 15 minutos a 125 ° C (tubos de ensayo, puntas).
- Se continúa con el pesaje de las muestras (1 g) para 9 ml de agua y la dilución de las muestras a la -1, -2 y -3.
- Encender la cámara de flujo laminar para la eliminación de posibles contaminantes en el aire.
- Con la dilución de 10⁻³ sembrar en las placas Petrifilm 3M.
- Rotular las placas Petrifilm 3M y colocar 1 ml de solución en el centro de la placa con la ayuda de una micropipeta, en posición inclinada
- Correr la película superior hacia abajo, evitando la formación de burbujas de aire.
- Presionar con el aplicador el círculo del cultivo.
- Tiempo de incubación de las placas Petrifilm 3M a 37 ° C durante 24 h ± 2 h.

Para el recuento se tomó de acuerdo con el instructivo (AFNOR 3M, 1997, pp.11-15).

2.9.3.2. *Staphylococcus aureus*

Para la determinación de *Staphylococcus aureus* se lo realizó de acuerdo con la (NTE INEN 1529 - 14, 2013, pp.1-11), donde se procede a:

- Esterilizar los materiales en el autoclave por 15 minutos a 125 ° C (tubos de ensayo, puntas).
- Preparar el agar; realizar el cálculo de acuerdo con lo requerido; auto clavar el agar (15 min a 120 °C).
- Enfriar a unos 50°C. Mezclar y verter en placas Petri estériles.
- Se continúa con el pesaje de las muestras (1 g) para 9 ml de agua y la dilución de las muestras a la -1, -2 y -3.
- Con la dilución de 10⁻³ sembrar en las cajas Petri.
- Se incubó: 30 y 37 °C durante un máximo de 48 horas preferiblemente en condiciones microaerófilas.
- Examinar las placas a las 48 horas, el crecimiento se presenta de color amarillo dorado con puntos negros.

En el caso de tener un crecimiento, no acorde al requerido se procedió a realizar tinción de gram para un mejor reconocimiento.

2.9.3.2.1. Procedimiento de Tinción de gram

Se lo realizó mediante (Toro, 2005, pp.14-17):

- Se procedió a abrir cuidadosamente la placa Petri y se tomó una pequeña parte de las colonias de bacterias con el asa de siembra (esterilizada) y cuidadosamente se lo colocó en el portaobjetos con una gota de agua destilada.
- Se lleva a la llama para fijar la muestra, teniendo cuidado con no quemar las células ya que si se lo hace no se obtendría ningún resultado.
- Colocar el portaobjetos sobre las varillas de vidrio sobre el lavabo.
- Agregar unas gotas de cristal violeta (durante 1 minuto). Posteriormente lavar la muestra con la piseta.
- Agregar unas gotas de lugol por 1 minuto. Lavar la muestra con la ayuda de la piseta.
- Colocar unas gotas de alcohol cetona (30 segundos). Lavar la muestra con la ayuda de la piseta.
- Agregar unas gotas de safranina (1 min). Lavar nuevamente.
- Secar y añadir unas gotas de aceite de inmersión para observar en el microscopio.

2.9.3.3. *Listeria monocytogenes*

Para la determinación de *Listeria monocytogenes* se lo realizó de acuerdo con la (NTE ISO 11290 - 1, 2018, pp.1-6), donde se procede a:

- Esterilizar los materiales en el autoclave por 15 minutos a 125 ° C (tubos de ensayo, puntas).
- Preparar el agar; realizar el cálculo de acuerdo con lo requerido; auto clavar el agar (15 min a 120 °C).
- Enfriar a unos 50°C. Mezclar y verter en cajas Petri estériles.
- Se continúa con el pesaje de las muestras (1 g) para 9 ml de agua y la dilución de las muestras a la -1, -2 y -3.
- Con la dilución de 10⁻³ sembrar en las cajas Petri.
- Se incubó: 30 y 37 °C durante un máximo de 48 horas preferiblemente en condiciones microaerófilas.
- Examinar las placas Petri a las 48 horas, el crecimiento se presenta de color verde grisáceo con un halo negro.

2.9.3.4. *E. coli*

Para la determinación de *E. coli* se lo realizó de acuerdo con la (NTE INEN 1529 - 8, 2016, pp.6-8), donde se procede a:

- Esterilizar los materiales en el autoclave por 15 minutos a 125 ° C (tubos de ensayo, puntas).
- Preparar el agar; realizar el cálculo de acuerdo con lo requerido; auto clavar el agar (15 min a 120 °C).
- Enfriar a unos 50°C. Mezclar y verter en cajas Petri estériles.
- Se continúa con el pesaje de las muestras (1 g) para 9 ml de agua y la dilución de las muestras a la -1, -2 y -3.
- Con la dilución de 10⁻³ sembrar en las cajas Petri.
- Incubar las placas invertidas de 35 °C a 37 °C por 24 h ± 2 h.
- Examinar las placas entre 18 – 24 horas, se presentan con un color púrpura con centro negro y verde brillo metálico.

2.9.3.5. *Salmonella* UFC/g

Para la siembra para *Salmonella* se lo realizó de acuerdo con la (NTE INEN 1529 - 15, 2013, pp.1-7), donde procedemos a:

- Esterilizar los materiales en el autoclave por 15 minutos a 125 ° C (tubos de ensayo, puntas).
- Preparar el agar; realizar el cálculo de acuerdo con lo requerido.
- Hervir con agitación frecuente para disolver completamente el medio, no esterilizar en la autoclave, ni sobrecalentar ya que el sobrecalentamiento puede destruir la selectividad del medio.
- Enfriar a unos 50°C. Mezclar y verter en cajas Petri estériles.
- Se continua con el pesaje de las muestras (1 g) para 9 ml de agua y la dilución de las muestras a la -1, -2 y -3.
- Con la dilución de 10⁻³ sembrar en las cajas Petri.
- Invertir las placas e incubarlas a 37 ± 1°C por 24h.
- Examinar las placas entre las 18 y 24 horas, si el crecimiento es pobre y no aparecen colonias típicas de salmonelas, la mayoría de las colonias típicas de salmonelas son opacas o traslúcidas, incoloras o de color crema, con o sin centro negro. Las pocas salmonelas que fermentan la lactosa presentan colonias lisas de color rosa o naranja.

2.9.4. Análisis organoléptico

Se empleó la prueba de aceptación con una escala hedónica con el fin de conocer si la muestra que se presenta es aceptada o no por los panelistas en base a (Espinoza, 2007, p. 81), donde se aplicaron boletas de catación para la evaluación sensorial, lo cual se realizó a 33 estudiantes de la Escuela de Agroindustrias de la Facultad de Ciencias Pecuarias, donde se les solicito que degustaran los distintos tratamientos de queso mozzarella con diferentes niveles de aceite esencial de orégano (0,2; 0,4; 0,6 %) y asignen una calificación según su percepción mediante una escala hedónica como se muestra en la tabla 5-2:

Tabla 5-2: Escala de 5 puntos para la prueba hedónica.

Puntos	Escala
5	Me gusta mucho
4	Me gusta
3	Ni me gusta ni me disgusta
2	Me disgusta
1	Me disgusta mucho

Realizado por: Guagrilla, Jefferson, 2022.

CAPÍTULO III

3. MARCO DE DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

3.1. Análisis físico – químico

En la presente investigación se evaluó el efecto de antimicrobiano de diferentes niveles de aceite esencial de orégano en queso mozzarella, los resultados se presentan en las tablas 1-3.

Tabla 1-3: Composición físico – química y proximal del queso mozzarella con diferentes niveles de aceite esencial de orégano (0,2%; 0,4%; 0,6%).

Parámetros	Niveles				EE.	Pro.	Resultado
	0%	0,2%	0,4%	0,6%			
N. ° Observaciones	5	5	5	5			
pH	5,4 a	5,5 a	5,4 a	5,3 a	0,07	0,2782	ns
Acidez (°D)	25,88 a	25,96 a	25,90 a	25,98 a	0,34	0,9961	ns
Sólidos totales (%)	45,15 a	45,20 a	45,19 a	44,98 a	0,15	0,7144	ns
Proteína (%)	23,24 a	23,59 a	24,23 a	23,48 a	0,27	0,0951	ns
Grasa (%)	21,26 a	21,6 a	22,26 a	22,22 a	0,32	0,1062	ns

EE: Error estándar

Prob. >0,05: No existen diferencias significativas

Prob. <0,05: Existen diferencia significativas

Prob. <0,01: Existen diferencias altamente significativas

Fuente: INFOSTAT, 2022.

Realizado por: Guagrilla, Jefferson 2022.

3.1.1. pH

El valor del pH del queso mozzarella elaborado con diferentes niveles de aceite esencial de orégano, no presentaron diferencias significativas entre las medias tomando valores entre 5,3 y 5,5 como se presenta en la tabla 1–3.

Estos resultados guardan relación con los valores señalados por (Tobar, 2012, pp.48-54), que indican que el pH del queso mozzarella están entre de 5,49 y 5,79 de igual manera los valores se encuentran dentro de los parámetros establecidos por el (MERCOSUR, 1996, pp. 1-7), el cual establece que el pH del queso mozzarella debe situarse entre 5,0 y 6,0.

3.1.2. Acidez

En cuanto a la acidez del queso mozzarella elaborado con diferentes niveles de aceite esencial de orégano, no presentaron diferencias significativas entre las medias registrando promedios de 25,88 y 25,98 °D, como se muestra en tabla 1–3.

Con respecto a (Tobar, 2012, pp. 48-54), indica valores entre 24,5 y 25 ° D para un queso mozzarella, datos similares reporta (Gutiérrez, 2000, p. 90), que establece que la acidez de un queso mozzarella oscilan entre 26 hasta 28 ° D, siendo este dato importante para determinar el grado de acidificación del queso.

3.2. Análisis proximal

3.2.1. Contenido de sólidos totales

El contenido de sólidos totales en el queso mozzarella elaborado con diferentes niveles de aceite esencial de orégano, no presentaron diferencias significativas, hallando porcentajes que están entre 44,98 % para el T3 (0,6 %) y 45,15 % para el tratamiento control T0 como se puede observar en la tabla 1-3.

Estos valores se encuentran similares presentados por (Patiño, 2014, p.52) donde establece valores de 42,40 % señalando que el contenido de sólidos va acorde al contenido de humedad del queso ya que este valor se lo obtiene de una diferenciación de esta, la cual nos permite conocer el grado de dilución de los nutrimentos o componentes de la muestra. Sin embargo, estos valores se encuentran bajo la (NTE INEN 82, 2011, pp.1-4), el cual establece que el contenido de sólidos debe estar entre un 38 – 54 % por lo que el producto se encuentra bajo la normativa.

3.2.2. Contenido de proteína

El contenido de proteína del queso mozzarella, no presentó diferencias significativas entre los tratamientos, registrando el mayor porcentaje al T2 (0,4 %) con 24,23 %, y el de menor contenido de proteína fue el T0 con un 23, 24 %, como muestra la tabla 1 -3.

Lo cual comparando los resultados obtenidos en la presente investigación con el estudio de (Serrano, 2017, p.82) el cual elabora queso mozzarella con distintos tipos de fermentación, determinó valores de proteína entre 23, 8 % y 25, 2 %, de igual manera (Patiño, 2014, p.52) establece valores entre 20,4 % y 21,41 %, resultados acorde a la presente investigación.

3.2.3. Grasa

En cuanto al contenido de grasa del queso mozzarella, no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos, registrando valores entre 21,26 % y 22,26 %, siendo el T2 (0,4 %) el que registra mayor contenido de grasa con un 22,26 %, como se muestra en el tabla 1-3.

Con respecto a (Tobar, 2012, p. 48-54), determinó valores de grasa entre 21, 5 % y 23,5 %, mientras que (Suliman et al., 2013: p.2), estableció un contenido de grasa entre 20, 3 % a 22,3 %, si bien los valores, guardan relación, la (NTE INEN 82, 2011, pp.1-4), establece que el contenido de grasa de un queso mozzarella no debe ser menor a 20 % por lo que el producto se encuentra bajo la normativa.

3.3. Microbiológicos

3.3.1. *Enterobacterias*

Tabla 2-3: Efecto del aceite esencial de orégano como antimicrobiano en el queso mozzarella durante 21 días.

VARIABLE MICROBIOLÓGICA	NIVELES DE ACEITE ESCENCIAL DE ORÉGANO			
	0%	0,2%	0,4%	0,6%
<i>Enterobacterias</i> día 0 UFC.g ⁻¹	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>Enterobacterias</i> día 7 UFC.g ⁻¹	300	300	Ausencia	Ausencia
<i>Enterobacterias</i> día 14 UFC.g ⁻¹	700	600	300	Ausencia
<i>Enterobacterias</i> día 21 UFC.g ⁻¹	1600	1100	900	600

Realizado por: Guagrilla, Jefferson, 2022.

Los resultados microbiológicos de *Enterobacterias* analizados en el queso mozzarella se pueden observar en la tabla 2–3, en dónde todos los tratamientos presentan ausencia de esta bacteria en el queso mozzarella en el día 0, posterior a esto en el día 7 los tratamientos T0 y T1 presentan recuentos de 300 UFC.g⁻¹, mientras que el T2 muestra un recuento microbiológico recién en el día 14 y el T3 recién en el día 21; esto debiéndose a que según (Asensio, 2013, pp.6-88), el aceite de orégano tiene una fuerte actividad antibacteriana contra distintas especies pertenecientes a los géneros *Bacillus*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* y *Streptococcus*; por lo que se puede corroborar con lo antes mencionado.

De la misma manera, los tratamientos T2 (0,4 %) y T3 (0,6 %), a medida que transcurren los días presenta un crecimiento lento; en dónde, se puede observar claramente que estos tratamientos en comparación al T0 presenta un menor número de recuento de *Enterobacterias*. Atribuyéndose esto a que el aceite de orégano debido a sus propiedades antimicrobianas y antioxidantes que reduce la oxidación e inhibe la proliferación de microorganismos en alimentos como embutidos, quesos, frutas, moluscos. (Shan et al., 2011: p.284-290)

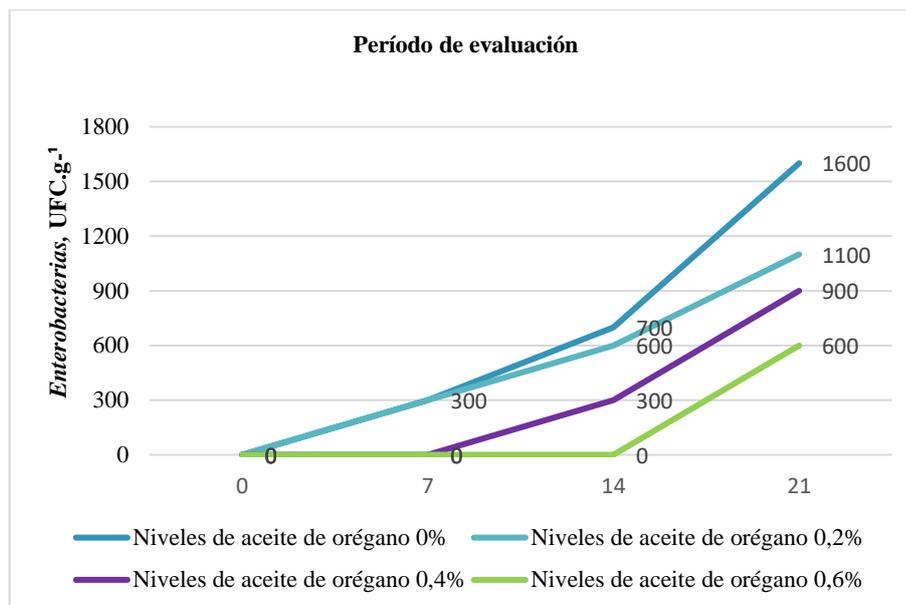


Gráfico 3-1. Evolución de las Enterobacterias evaluadas en el queso mozzarella en refrigeración a través de los días de almacenamiento.

Realizado por: Guagrilla, Jefferson, 2022.

En el gráfico 3-1, se evidencia que en el día 21 la mayor carga microbiana presenta el tratamiento testigo T0 (1600 UFC.g⁻¹) y la menor carga microbiana fue el T3 (600 UFC.g⁻¹), lo cual puede justificarse; ya que el T3 presenta en su formulación en nivel más alto 0,6% de aceite esencial de orégano, por ende, el crecimiento microbiano en el transcurso de los días en el queso mozzarella es mínimo. Estudios realizados por (Vilela, 2019, pp.36-38), demuestran que, obtuvieron un recuento microbiológico de *Enterobacterias* en queso mozzarella de 16×10^3 UFC.g⁻¹ valores altos a los obtenidos en esta investigación, siendo aceptable ya que no utilizaron en el queso ningún aceite esencial como antimicrobiano.

Por otra parte, (Sánchez, et al., 2022, pp. 258 - 268) menciona que las bacterias Gram negativas son menos sensibles a los compuestos antimicrobianos debidos en parte a la gran complejidad de su pared celular, la cual está compuesta por péptido glicano y una membrana externa constituida por fosfolípidos, proteínas y lipo-polisacáridos. Por lo que en el día 7, 14 y 21 los tratamientos T1, T2 y T3 respectivamente, empiezan a mostrar recuentos microbiológicos.

De acuerdo con la (NTE INEN 82, 2011, pp.1-4), establece que el contenido máximo de *Enterobacterias* en queso mozzarella es de 2×10^2 (nivel de buena calidad) a 1×10^3 (nivel aceptable de calidad), en relación con los datos obtenidos en la presente investigación, los valores del T0 y T1 en el día 21 se encuentran fuera del límite de vida útil, por lo que ya no es apto para el consumo humano, mientras que los tratamientos T2 (0,4 %) y sobre todo el T3 (0,6 %) hasta el día 21 se encuentran dentro de los límites permisibles.

3.3.2. *E. coli*

Tabla 3-3: Efecto del aceite esencial de orégano como antimicrobiano en el queso mozzarella durante 21 días.

VARIABLE MICROBIOLÓGICA	NIVELES DE ACEITE ESCENCIAL DE ORÉGANO			
	0%	0,2%	0,4%	0,6%
<i>E. coli</i> día 0 UFC.g ⁻¹	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>E. coli</i> día 7 UFC.g ⁻¹	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>E. coli</i> día 14 UFC.g ⁻¹	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>E. coli</i> día 21 UFC.g ⁻¹	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Realizado por: Guagrilla, Jefferson, 2022.

En la tabla 3–3, se puede observar que todos los tratamientos presentan ausencia total de *E. coli* durante el período de evaluación, encontrándose dentro de los límites permisibles establecidos en la (NTE INEN 82, 2011, pp.1-4), en dónde el nivel máximo aceptable de esta bacteria en queso mozzarella para el consumo humano es de 10 UFC.g⁻¹. De acuerdo con (Moreano, 2021, p. 61) en su investigación reportó que los análisis microbiológicos realizados en quesos frescos durante 3 semanas aproximadamente, sin adición de aceite esencial, cumplen con el índice máximo permisible del nivel de buena calidad, obteniendo valores menores a 10 UFC.g⁻¹ de *E. coli*; mientras, que en la presente investigación se obtuvo ausencia total.

Según (Asensio, 2013, p.6-88), informó que la actividad antimicrobiana del aceite esencial de orégano mejora contra estas bacterias a concentraciones superiores a 0,10 %. De esta manera se establece que la adición del 0,2; 0,4 y 0,6 % de aceite esencial de orégano incidió positivamente en el queso mozzarella durante los 21 días, previniendo la proliferación de dicho microorganismo y alargando su vida útil.

3.3.3. *Staphylococcus aureus*

Tabla 4 - 3: Efecto del aceite esencial de orégano como antimicrobiano en el queso mozzarella durante 21 días.

VARIABLE MICROBIOLÓGICA	NIVELES DE ACEITE ESCENCIAL DE ORÉGANO			
	0%	0,2%	0,4%	0,6%
<i>Staphylococcus aureus</i> día 0 UFC.g ⁻¹	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>Staphylococcus aureus</i> día 7 UFC.g ⁻¹	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>Staphylococcus aureus</i> día 14 UFC.g ⁻¹	300	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>Staphylococcus aureus</i> día 21 UFC.g ⁻¹	400	300	Ausencia	Ausencia

Realizado por: Guagrilla, Jefferson, 2022.

En la tabla 4–3, se evidencia el efecto del aceite esencial de orégano en los tratamientos T2 (0,4 %) y el T3 (0,6 %), ya que presentan ausencia total de *Staphylococcus aureus* durante todo el período de evaluación. Mientras que en los tratamientos T0 y el T1 (0,2 %) en el día 14 y 21 respectivamente, empieza la aparición de esta bacteria, teniendo un mayor crecimiento en el T0.

Fundamentalmente se debe a que según (Chapa, 2018, pp.38-41) la cantidad permitida de los conservantes, no matan en general a los microorganismos, sino que solamente evitan en cierta parte su proliferación; mientras que los aceites esenciales como el de orégano usados como antimicrobianos son compuestos que pueden retardar el crecimiento microbiano o inactivarlo dependiendo de su concentración de adición, esto se debe a que atacan la pared celular, membrana celular, enzimas metabólicas y síntesis de proteína, todos ellos son esenciales para el desarrollo celular; por lo que si uno es atacado, la velocidad de crecimiento del microorganismo se ve minimizada.

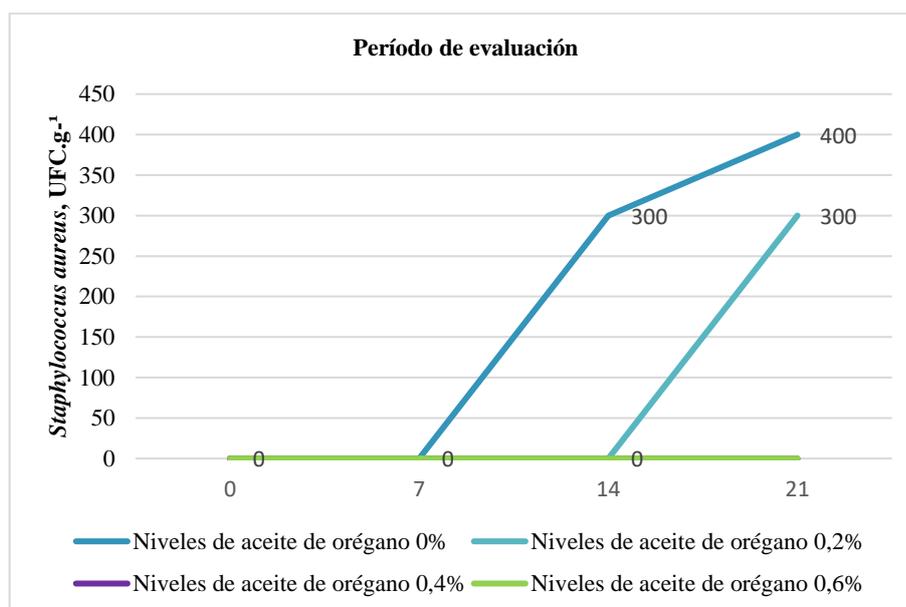


Gráfico 2-3. Evolución del *Staphylococcus aureus* evaluadas en el queso mozzarella en refrigeración a través de los días de almacenamiento.

Realizado por: Guagrilla, Jefferson, 2022.

En el gráfico 2–3, se visualiza el comportamiento de *Staphylococcus aureus* en cada uno de los tratamientos en un período de 21 días, en dónde el recuento microbiológico más alto se encuentra en el T0 (400 UFC.g⁻¹) y el más bajo en el T1 (300 UFC.g⁻¹); valores que se encuentra fuera de los límites permisibles establecidos en la (NTE INEN 82, 2011, pp.1-4), por ende; el queso mozzarella del tratamiento testigo ya no es apto para el consumo humano a partir del día 14 y el queso del T1 a partir del día 21.

Esto debido a que las bacterias Gram positivas son más sensibles al efecto de los aceites esenciales que las Gram negativas. Esto puede ser explicado por el hecho de que las bacterias Gram positivas carecen de membrana externa y poseen una capa de mureína que no ofrece resistencia al paso de sustancias, entonces los aceites esenciales pueden alcanzar fácilmente la membrana citoplasmática en donde, probablemente, ejercen su acción alterando su estructura y en consecuencia sus funciones (Sánchez et al., 2022: pp. 258-268).

3.3.4. *Listeria monocytogenes*

Tabla 5-3: Efecto del aceite esencial de orégano como antimicrobiano en el queso mozzarella durante 21 días.

VARIABLE MICROBIOLÓGICA	NIVELES DE ACEITE ESCENCIAL DE ORÉGANO			
	0%	0,2%	0,4%	0,6%
<i>Listeria monocytogenes</i> día 0 UFC.g ⁻¹	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>Listeria monocytogenes</i> día 7 UFC.g ⁻¹	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>Listeria monocytogenes</i> día 14 UFC.g ⁻¹	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>Listeria monocytogenes</i> día 21 UFC.g ⁻¹	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Realizado por: Guagrilla, Jefferson, 2022.

Durante los 21 días de evaluación, se puede visualizar en la tabla 5–3, que todos los tratamientos presentan ausencia total de *Listeria monocytogenes*, cumpliendo con lo establecido por la (NTE INEN 82, 2011, pp.1-4), donde menciona que debe existir ausencia total de esta bacteria en el queso mozzarella, para determinarse apto para el consumo humano.

3.3.5. *Salmonella*

Tabla 6-3: Efecto del aceite esencial de orégano como antimicrobiano en el queso mozzarella durante 21 días.

VARIABLE MICROBIOLÓGICA	NIVELES DE ACEITE ESCENCIAL DE ORÉGANO			
	0%	0,2%	0,4%	0,6%
<i>Salmonella</i> día 0 UFC.g ⁻¹	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>Salmonella</i> día 7 UFC.g ⁻¹	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>Salmonella</i> día 14 UFC.g ⁻¹	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>Salmonella</i> día 21 UFC.g ⁻¹	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Realizado por: Guagrilla, Jefferson, 2022.

De la misma manera, se puede observar en la tabla 6–3, que todos los tratamientos durante los 21 días de evaluación presentan ausencia total de *Salmonella*, cumpliendo con lo establecido por la

(NTE INEN 82, 2011, pp.1-4), donde menciona que debe existir ausencia total de esta bacteria en el queso mozzarella, para determinarse apto para el consumo humano.

Corroborando a lo que (Vilela, 2019, p.36-38) en su investigación menciona; ya que en los quesos mozzarellas analizados reportó ausencia total de *Salmonella*.

3.4. Sensorial

Los resultados del análisis sensorial del queso mozzarella elaborado con diferentes niveles de aceite esencial de orégano (0,2 %; 0,4 %; 0,6 %), se reporta en la tabla 7 – 3, donde se aprecia todos los parámetros analizados.

Tabla 7-3: Análisis sensorial del queso mozzarella elaborado con diferentes niveles de aceite esencial de orégano.

Parámetros	Niveles				EE.	Pro.	Resultado
	0%	0,2%	0,4%	0,6%			
N. ° Observaciones	5	5	5	5			
Color	3,5	3,7 ab	4,0 b	3,9 b	0,10	0,0196	**
Olor	3,4 a	3,7 ab	4,0 b	4,1 b	0,15	0,0206	*
Sabor	3,3 a	3,8 ab	4,1 b	4,3 b	0,13	0,0004	**
Textura	3,4 a	3,4 a	3,5 a	3,6 a	0,11	0,5101	ns

EE: Error estándar

Prob. >0,05: No existen diferencias significativas

Prob. <0,05: Existen diferencia significativas

Prob. <0,01: Existen diferencias altamente significativas

Fuente: INFOSTAT, 2022.

Realizado por: Guagrilla, Jefferson 2022.

3.4.1. Color

Los resultados en cuanto al color, se observa que presentaron diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) entre los tratamientos como se puede observar en la tabla 7–3, obteniendo el mayor puntaje el T2 (0,4 %) con 4,0/5 puntos, mientras que el T3 (0,6 %) se encuentra cercano con 3,9/5 puntos, los demás tratamientos obtuvieron puntajes bajos.

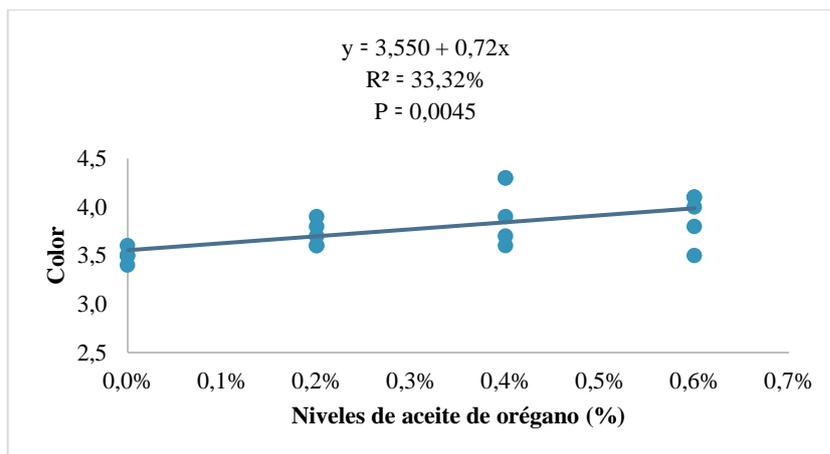


Gráfico 3-2. Regresión en función del color en los diferentes niveles de aceite esencial de orégano en queso mozzarella.

Realizado por: Guagrilla, Jefferson, 2022.

En el análisis de regresión se puede observar en el gráfico 3-3, una tendencia lineal positiva altamente significativa ($p < 0,01$), mostrando que a mayores niveles de aceite esencial de orégano los puntajes con relación al color ascienden 0,72 unidades desde el T0 hasta el T3 respectivamente.

3.4.2. Olor

Los puntajes con respecto al olor del queso mozzarella elaborado con diferentes niveles de aceite esencial de orégano presentan diferencias significativas ($p < 0,01$), entre los tratamientos, como muestra la tabla 7-3, el queso mozzarella con mayor puntaje fue el T3 (0,6 %) con 4,1/5 puntos, mostrando que a medida que se incrementa los niveles de aceite esencial de orégano se incrementa el olor.

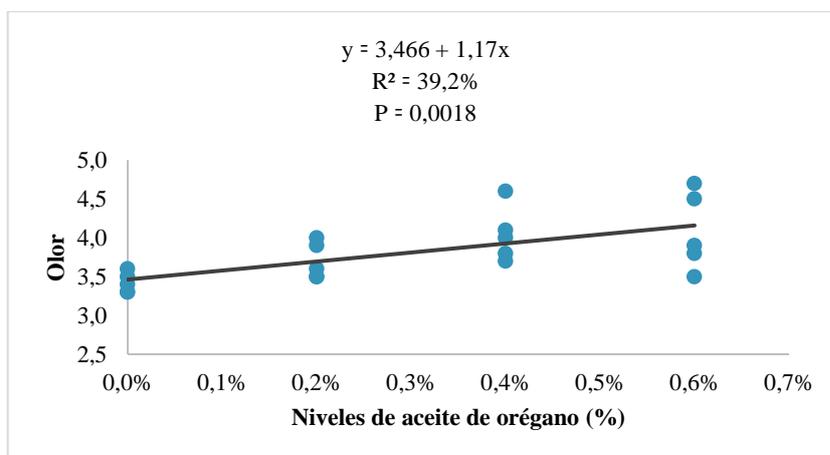


Gráfico 4-3. Regresión en función del olor en los diferentes niveles de aceite esencial de orégano en queso mozzarella.

Realizado por: Guagrilla, Jefferson, 2022.

Como se observa en el gráfico 4–3, el análisis de regresión presentó una tendencia lineal significativa ($p < 0,05$), es decir que a medida que incrementan los niveles de aceite esencial de orégano el olor se incrementa en 1,17 unidades desde el T0 hasta el T3.

3.4.3. Sabor

Con respecto al sabor queso mozzarella elaborado con diferentes niveles de aceite esencial de orégano, presentaron diferencias altamente significativas ($p < 0,01$), entre los tratamientos, presentado en la tabla 7–3, los catadores atribuyeron al T3 (0,6 %) con un puntaje de 4,30/ 5 puntos, mostrando que a medida que se incrementa los niveles de aceite esencial de orégano incrementa el sabor, teniendo en cuenta que de acuerdo con (Chapa, 2018, pp.38-41), en queso fresco el aceite esencial de orégano influye en el grado sensorial tanto en el olor como en el sabor con concentraciones superiores a 0,6 %. De igual manera hace referencia (Avalos et al., 2021: pp. 6-15), ya que menciona que el grado de aceptabilidad en cuanto al color, olor y sabor de los quesos semi madurados formulados con concentraciones superiores a 0.6% disminuye su aceptabilidad.

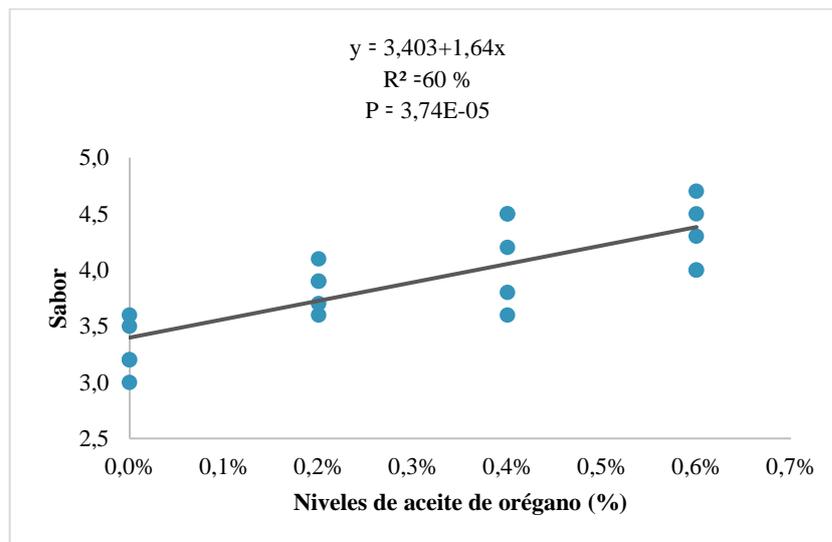


Gráfico 5-3. Regresión en función del sabor en los diferentes niveles de aceite esencial de orégano en queso mozzarella.

Realizado por: Guagrilla, Jefferson, 2022.

En el gráfico 5–3, el análisis de regresión indica una tendencia lineal altamente significativa ($p < 0,01$), lo cual indica que a mayor nivel de aceite esencial de orégano el sabor se incrementa en 1,64 unidades desde el T0 hasta el T3.

3.4.4. Textura

En la textura del queso mozzarella elaborado con diferentes niveles de aceite esencial de queso mozzarella no presentaron diferencias significativas ($P>0.05$) entre los tratamientos, mostrados en la tabla 7-3, los catadores dieron una mayor preferencia por el T3 (0,6 %) quien recibió una calificación alta de 3,6/5 puntos. La textura del queso mozzarella se categorizó por tener una consistencia blanda de buena aceptación.

Esto indica que el producto elaborado con diferentes niveles de aceite esencial de orégano no afectó la textura.

CONCLUSIONES

Se adquirió el aceite esencial de orégano (Orégano NAT ID 300480) en la empresa AROMALAB con las siguientes características: densidad 0,973 g/cm³; pH 6 y grados alcohólicos 20 ° C 43 GL, lo cual fue eficaz para evaluar la capacidad antimicrobiana en el queso mozzarella.

La concentración AEO más efectiva fue 0.6 % porque presentó ausencia de *Enterobacterias* hasta el día 14, sin embargo, en *Staphylococcus aureus* mostró efectividad durante todo el periodo de evaluación, demostrando que el aceite esencial de orégano puede ser usado como conservante natural para inhibir el crecimiento bacteriano en el producto.

En cuanto a los análisis físico-químicos en el queso mozzarella, el aceite esencial de orégano no influyó en ninguno de los tratamientos y con respecto a la evaluación sensorial el AEO influye en las características sensoriales como el olor y sabor del producto, debido a que los quesos con concentraciones superiores a 0,6 % descienden su aceptabilidad.

RECOMENDACIONES

Desde el punto de vista microbiológico y organoléptico se puede utilizar concentraciones hasta el 0,6 % de aceite esencial de orégano, puesto que con este nivel se controla en buena medida el crecimiento bacteriano no deseado, pero a mayores concentraciones tienden a descender de forma negativa las características organolépticas del producto.

Se recomienda el consumo del queso mozzarella sin ninguna adición de conservantes hasta el día 14, debido a que a partir de este tiempo excede la normativa, sin embargo, con la adición del aceite esencial de orégano lo hace apto para el consumo hasta el día 21.

Realizar otros estudios con respecto al uso del aceite esencial de orégano como conservante natural en alimentos.

BIBLIOGRAFÍA

ACEVEDO, D; et al. “Composición Química del Aceite Esencial de Hojas de Orégano (*Origanum vulgare*)”. *Información tecnológica*. [En línea]. 2013. (Cartagena), Vol. 24, 43-48. ISSN 0718-0764. [Consulta: 03 de marzo del 2021]. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642013000400005

AFNOR 3M. INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA RECuento DE ENTEROBACTERIACEAE MEDIANTE TÉCNICA PETRIFILM. Chile. 1997. pp. 11-15.

AGUIRRE, CRISTIAN IVÁN. Utilización de niveles de nisina como antibiótico en la elaboración de queso fresco. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias Pecuarias, Escuela de Ingeniería en Zootecnia. Riobamba - Ecuador. 2011. pp. 1-2.

ALIGIANNIS N; et al. “Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species”. *J. Agric. Food Chem.* 2001, pp. 4168-4170.

AMATISTE, Simonetta; et al. “Antimicrobial activity of essential oils against *Staphylococcus aureus* in fresh sheep cheese”. *Italian Journal of Food Safety*, 2014, vol. 3, p. 148.

ARANGO, Oscar, et al. Optimización del rendimiento y contenido de timol de aceite esencial de orégano silvestre obtenido por arrastre con vapor. *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial*, vol. 10, 2012, pp. 217-226.

ARGOTE VEGA, Francisco; et al. “Evaluación de la capacidad inhibitoria de aceites esenciales en *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*”. *Biotecnología en el sector Agropecuario y Agroindustrial*, vol. 15, 2017, (Colombia) pp. 52-60.

ARTEAGA RUBIO, Manuel Gabriel & PARRA AYME, Alex Danilo. Diseño del sistema productivo de la fabricación de queso mozzarella hilado para el incremento de la capacidad de producción en la empresa de lácteos “San Luis”. Universidad Técnica de Cotopaxi, Facultad de Ciencias de la Ingeniería y Aplicadas, Carrera de Ingeniería Industrial. Cotopaxi – Ecuador. 2021. p.7.

ASENSIO, Claudia Mariana. Utilización de aceites esenciales de variedades de orégano como conservante antimicrobiano, antioxidante y de las propiedades sensoriales de alimentos: quesos

cottage, ricota y aceite de oliva. [En línea] (Trabajo de Titulación) (Ingeniería). (Tesis de Pregrado) Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Escuela para Graduados. Argentina. 2013. pp. 6-88. [Consulta: 2022-10-12]. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/72040547.pdf>

AVALOS R; et al. “Evaluation of the addition of different doses of essential oil of Oregano (*Origanum vulgare*) in the production of semi-ripened cheese and its effect on the preservation of its organoleptic properties”. *Rev. Agrociencia* [en línea]. 2021. pp. 6-15. [Consulta: 27 octubre 2022]. ISSN 2522-6509. Disponible en: <https://www.agronomia.ues.edu.sv/agrociencia/index.php/agrociencia/article/view/21/22>

BIOMÉRIEUX. *Medios cromogénicos para Listeria monocytogenes* [blog]. [Consulta: 26 noviembre 2022]. Disponible en: <https://www.biomerieux.es/microbiologia-industrial/medios-cromogenicos-para-listeria-monocytogenes>

CAMACHO, CRISTINA. Rediseño de un reactor para el proceso de elaboración de yogurt en la planta de lácteos ESPOCH – TUNSHI. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias, Escuela de Ingeniería Química. Riobamba-Ecuador.2020. pp. 49-50.

CAMERONI, GIMENA. *Ficha técnica de “Origanum vulgare”*. Alimentos argentinos.2013. pp. 1-6.

CAMUS, Juan A; & TRUJILLO, Maritza A. “Contribución a la química de los aceites esenciales provenientes del orégano”. *Revista Boliviana de química*, vol. 28, 2011, (Chile) p.1.

CARRIÓN GONZÁLEZ, MIGUEL. Evaluación microbiológica de las diferentes etapas del proceso para la obtención de queso fresco en la planta procesadora “Papa Juan” situado en el cantón “Flavio Alfaro” de la provincia de Manabí. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Facultad de Ciencias Pecuarias, Escuela de Ingeniería en Alimentos. Quevedo-Ecuador.2016. p. 14.

CEBALLOS TORO, Valeria & LONDOÑO GIRALDO, Lina M. *Aceites esenciales en la conservación de alimentos*. 2017. pp. 1-3.

CHAPA VÁSQUEZ, Abigail Brenda. Efecto antimicrobiano del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare l.*) sobre *Listeria monocytogenes* en queso fresco. [En línea] (Trabajo de Titulación) (Ingeniería). (Tesis de Pregrado) Universidad Nacional Toribio Rodríguez de

Mendoza de Amazonas, Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias, Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial. Perú. 2018. pp. 38-41. [Consulta: 2022-10-13]. Disponible en: <https://repositorio.untrm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14077/1354/BRENDA%20CHAPA%20V%20c3%81SQUEZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

CORTECERO MORÉ, Luz & BENÍTEZ BELLIDO, Jamenso. Evaluación de resistencia bacteriana a antibióticos oxitetraciclina y eritromicina en quesos frescos costeños del departamento de Bolívar provenientes de los municipios de Arjona y Villanueva (tesis pregrado) Universidad de Cartagena, Facultad de Ingeniería, Programa de Ingeniería de alimentos. 2011. pp. 35-56

CORTÉS CORTÉS, Gerardo, et al. Antimicrobianos de origen natural contra mohos de interés en los alimentos, evaluación del estado del arte. 2014. pp. 2-3.

D'ANTUONO, L; et al. “Variability of essential oil content and composition of *Origanum vulgare* L. populations from a north Mediterranean Area (Liguria Region, Northern Italy)”. *Annals of Botany*, 2000, pp. 471-478

DEPARTMENT OF VETERINARY DISEASE BIOLOGY. *Salmonella* en XLD [blog]. [Consulta: 26 noviembre 2022]. Disponible en: https://atlas.sund.ku.dk/microatlas/veterinary/plating_media/XLD/

DI FABIO, Amanda. *Orégano* [blog]. Ecuador, 30 de abril del 2020. pp. 5-6. [Consulta: 21 de octubre del 2022]. Disponible en: <https://intercoonecta.aecid.es/Gestin%20del%20conocimiento/002901%20Produccion%20de%20oregano.pdf>

ELGAYYAR M; et al. “Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms”. *J. Food Protect*, 2001, pp. 1019-1024.

ESPINOZA, JULIA. Evaluación Sensorial de los alimentos. Universidad de la Habana. Ed. Universitaria. La Habana – Cuba: 2007. p.81.

FALEIRO, L; et al. “Antibacterial and antioxidant activities of essential oils isolated from *Thymbra capitata* L. (Cav.) and *Origanum vulgare* L”. *J. Agric. Food Chem*, 2005, pp. 8162–8168.

FERRÍN Y; et al. “Evaluación de la presencia de *Staphylococcus aureus* en queso fresco artesanal del mercado municipal del cantón Junín de la provincia de Manabí”. *Rev. de la Asociación Colombiana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 2020, (Manabí), p.42.

FRANKLIN, B; et al. *El libro blanco de la leche y los productos lácteos*. México D.F-México: 2011, ISBN 9788448603052, pp. 36-38.

GAITÁN, MATÍAS. Estudio de una línea de elaboración de queso mozzarella ecológico a partir de leche de búfala y de vaca. Universidad Politécnica de Madrid. Departamento de Química y Tecnología de Alimentos. Madrid-España.2019. p. 8.

GARCÍA ALCÍVAR, Jhonny. Efecto antimicrobiano del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare L*) en la industria cárnica. Tesis de grado. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba – Ecuador. 2022. p. 6.

GARÓFALO, CARLOS. Revisión Bibliográfica sobre los agentes bacterianos asociados a brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAS) en Ecuador. Universidad Nacional de Chimborazo. Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Agroindustrial. Riobamba-Ecuador. 2021. p. 20.

GONZALES, P. *Buenas prácticas de ordeño*. 1 ed. Lima – Perú, 2015, pp. 8-33.

GUAILLA CUJI, MARCIA ROCÍO. Diseño de un proceso industrial para la elaboración de queso mozzarella en la corporación de organizaciones campesinas e indígenas de las Huaconas y Culluctus (COCIHC), cantón Cola. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias, Escuela de Ingeniería Química. Riobamba - Ecuador.2018. p. 10.

GUTIERREZ, J. *Tecnología de Lácteos*. Universidad Técnica de Ambato. Ecuador. 2000. p. 90.

GUZMÁN, R, et al. “Los quesos frescos sin pasteurizar mexicanos están contaminados con *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* productora de toxina Shiga no O157 y cepas de *E. coli* uropatógenas potenciales: un riesgo para la salud pública”. *Revista internacional de microbiología alimentaria*, vol. 237, 2016, pp.10-16.

HERNÁNDEZ, GABRIELA. Diseño de un proceso industrial para la obtención de un queso mozzarella aromatizado utilizando hierbas aromáticas con la combinación de tocino en la planta

de lácteos ESPOCH. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias, Escuela de Ingeniería Química. Riobamba-Ecuador.2018. pp. 4-5.

IBÁÑEZ, ALICIA. Evaluación del tiempo de cuajado en las características organolépticas del queso fresco. Universidad Politécnica Salesiana. Facultad de Ciencias, Escuela de Ingeniería Agropecuaria Industrial. Cuenca-Ecuador.2015. pp. 50-98.

INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (INEN). Norma Técnica Ecuatoriana INEN 82. *Queso Mozzarella. Requisitos.* Quito-Ecuador. 2011. pp. 1-4. [Consulta: 14 octubre 2022]. Disponible en: <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/82-1.pdf>

INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN, INEN 13. *Leches. Determinación de la acidez titulable.* Quito – Ecuador. 1983. pp. 1-2.

INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN, INEN 1528. *Norma General para quesos frescos no madurados. Requisitos.* Quito – Ecuador. 2012. pp. 3-10.

INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN, INEN 1529-13. *Enterobacteriaceae. Recuento en placa por siembra en profundidad.* Quito – Ecuador. 2013. pp. 1-3.

INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN, INEN 1529-14. *Staphylococcus aureus. Recuento en placa de siembra por extensión de superficie.* Quito – Ecuador. 2013. pp. 1-11.

INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN, INEN 1529-15. *Salmonella. Método de detección.* Quito – Ecuador. 2013. pp. 1-7.

INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN, INEN 1529-8. *Control microbiológico de los alimentos. Detección y recuento de escherichia coli presuntiva por la técnica del número más probable.* Quito – Ecuador. 2016. pp. 6-8.

INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN, INEN 63. *Quesos. Determinación del contenido de humedad.* Quito – Ecuador. 1973. pp. 1-7.

INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN, INEN 64. *Quesos. Determinación del contenido de grasas.* Quito – Ecuador. 1973. pp. 1-12.

INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN, INEN 9. *Leches Cruda. Requisitos.* Quito – Ecuador. 2012. pp. 1-3.

INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN, ISO 11290-1. *Método horizontal para la detección y recuento de Listeria monocytogenes y de Listeria spp.* Quito – Ecuador. 2018. pp. 1-6.

LOPÉZ MOREIRO, PEDRO. *Orégano* [en línea]. 4^{ta} ed. London - Reino Unido, 2017. [Consulta: 05 mayo 2022]. Disponible en: https://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=RjoPEAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=or%C3%A9gano++origen&ots=YAd_YO_0IN&sig=1H1vBTicoyiAXas7sMhbmKMemNo#v=onepage&q=or%C3%A9gano%20%20origen&f=false

MENDOZA, Cesar Mera. “Caracterización química del aceite esencial de orégano como agente bioconservador en alimentos”. *Universidad Ciencia y Tecnología*, vol. 24, 2020, p. 54-62.

MERCOSUR, MERCADO COMÚN DEL SUR, Reglamento Técnico del Mercosur de Identidad y Calidad del Queso Mozzarella N°78, 1996, pp. 1-7.

MONTEL M; et al. “Traditional cheeses: rich and diverse microbiota with associated benefits”. *International journal of food microbiology*.2014, pp. 136-154.

MONTOYA CADAVID, GILDARDO. “Aceites esenciales: Una alternativa de diversificación para el eje cafetero”. *Departamento de física y química*, 1^{era} ed, 2010, (Colombia) p.13.

MORALES CASTRO, Andrés. Efecto antimicrobiano del aceite esencial del tomillo (*Thymus vulgaris*) sobre la contaminación de *Listeria monocytogenes* en queso Ricotta. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agrarias. Departamento de Ingeniería Agrícola y Alimentos. Medellín - Colombia. 2015. p. 13.

MOREANO TERÁN, Nancy Fabiola. Evaluación de la calidad microbiológica en quesos frescos de producción artesanal expendidos en el mercado cerrado Latacunga. [En línea] (Trabajo de Titulación) (Ingeniería). (Tesis de Pregrado) Universidad Técnica de Cotopaxi. Maestría en Agroindustria Mención Tecnología de Alimentos. Latacunga - Ecuador. 2021. p. 61 [Consulta: 2022-10-15]. Disponible en: <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/8182/1/MUTC-001039.pdf>

NORMA MEXICANA, NMX-F-098. *Determinación de proteínas en queso.* México, D.F– México. 1976. pp. 1-5.

NORMA MEXICANA, NMX-F-099. *Método de prueba para la determinación de pH en quesos procesados.* México, D.F– México. 1970. pp. 1-3.

ONCE PLACENCIA, Lilian Liseth, & RUIZ CHILA, Rosa Gabriela. Estudio de las enfermedades causadas por la bacteria *Escherichia coli 0157: H7* en comidas rápidas del Ecuador. Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas, Escuela de Ingeniería Química y Farmacia. Guayaquil-Ecuador.2022. p. 14.

PALACIOS VALENCIA, Julián, & VÉLEZ ALCÍVAR, Claudia. Efecto bioconservador del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare L*) aplicado en filetes de pollo almacenado a diferentes temperaturas. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López. Escuela de Agroindustria. Manabí-Ecuador.2017. p. 6.

PALPA CHÁVEZ, Irwin. Evaluación de la presencia de *Escherichia coli* como indicador de contaminación fecal en el queso fresco artesanal expedido en los mercadillos de Huánuco. Universidad Nacional Hermilio Valdizán. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria. Huánuco-Perú.2015. pp. 16-17.

PATIÑO MONTAYO, Susana. Adaptación tecnológica para la elaboración de queso mozzarella en el cantón Quilanga. Carrera de Ingeniería en Industrias Agropecuarias, Universidad Técnica Particular de Loja, Loja, Ecuador. 2014. p.52

PINZON, Eduardo Carlos. Efecto del aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) sobre las características fisicoquímicas y microbiológicas de la carne molida de res. Tesis Doctoral. Universidad Agraria del Ecuador. Guayaquil – Ecuador. 2021.p. 30

PLAZA IBARRA, LUIS ANTONIO. Análisis Microbiológico en quesos frescos que se expenden en supermercados de la ciudad de Guayaquil, determinando la presencia o ausencia de *Listeria* y *Salmonella*. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción, Escuela de Ingeniería en Alimentos. Guayaquil-Ecuador.2013. p. 31-32.

POSLIGUA SUÁREZ, Pablo Fernando. Estudio bibliográfico de la composición química del orégano (*Origanum vulgare*) y capacidad antimicrobiana de los aceites esenciales frente al

Staphylococcus aureus. Tesis Doctoral. Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas. 2021. pp. 25 - 30.

RAMÍREZ, J; et al. *El quesillo: un queso colombiano de pasta hilada*. Universidad del Valle, Escuela de Ingeniería de Alimentos. Cali-Colombia. 2010. pp. 60-63.

REYES, Abigail. *Microbiología General. Escherichia coli* [blog]. [Consulta: 26 noviembre 2022]. Disponible en: <https://www.uv.mx/personal/sbonilla/files/2011/06/escherichia-coli-i.pdf>

RODAS KAREN; et al. “Presencia de *Staphylococcus aureus* en quesos comercializados en la ciudad de Milagro”. *Rev. Cumbres*. 2013, (Milagro), p. 27. ISSN 1390 - 9541.

RUIZ DE LA TORRE, ALFONSO & MELO HERRÁIZ, ESTHER. *Guía de plantas medicinales del Magreb*. 1^{era} ed. Barcelona, 2010. ISBN: 978-84-937339-8-8, pp. 74-109.

SALTOS J; et al. “La implementación de procedimientos estandarizados en la prevención de Enfermedades transmitidas por los alimentos. Conteo microbiológico del *Staphylococcus aureus* en quesos frescos”. *Rev Méd Electrón* [en línea]. 2018, (Manabí) p. 38. [Consulta: 22 septiembre]. Disponible en: <http://www.revmedicaelectronica.sld.cu/index.php/rme/article/view/2729/3826>

SÁNCHEZ ZAMORA N, et al. “Efecto del aceite de orégano en las propiedades fisicoquímicas, texturales y sensoriales del queso panela”. [En línea]. México. *Revista Scielo*. 2022. pp. 258-268. [Consulta: 11 octubre 2022]. Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-11242022000100258&script=sci_arttext

SANJUAN, Norberto. *Microbiología y Parasitología I*. Universidad de Buenos Aires, Argentina. 2019. p. 5.

SAUCEDA, Elvia Nereyda Rodríguez. Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. *Ra Ximhai: Revista científica de sociedad, cultura y desarrollo sostenible*, vol. 7, no 1, 2011. p. 153-170.

SENA. *Introducción a la Industria de los aceites esenciales extraídos de las plantas medicinales y aromáticas*. [en línea]. Bogotá – Colombia. 2012. p. 28. Disponible en: https://repositorio.sena.edu.co/sitios/introduccion_industria_aceites_esenciales_plantas_medicinales_aromaticas/#

SERMANAT, *Catálogo de recursos forestales maderables o no maderables*. México: 2015. [Consulta: 11 mayo 2022]. Disponible en: https://www.conafor.gob.mx/biblioteca/Catalogo_de_recursos_forestales_M_y_N.pdf

SERRANO ALVARADO, Paola. Elaboración de queso mozzarella basado en tres tipos de fermentación: enzimática, ácida y ácida enzimática. (Trabajo Ingeniería). Facultad de Ciencias Químicas, Carrera de Ingeniería Química, Universidad de Cuenca, Cuenca, Ecuador. 2017. p. 82

SHAN, B; et al. “Potential application of spice and herbs extracts as natural preservatives in cheese”. *Journal of Medicinal Food*, 2011, pp. 284-290. [Consulta: 2022-10-14]. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/72040547.pdf>

SIVROPOULOU A; et al. “Antimicrobial and cytotoxic activities of Origanum essential oils”. *J. Agric. Food Chem.* 1996, pp. 1202-1205.

SOLÍS CAMPOVERDE, Nathaly. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE ORÉGANO (*Origanum vulgare L.*) Y TOMILLO (*Thymus vulgaris L.*) COMO POTENCIALES BIOCONSERVADORES EN CARNE DE POLLO. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y farmacia. Riobamba-Ecuador.2012. p. 12.

SORIA, Mario Alberto. Presencia de Salmonella y características físicas de huevos destinados a consumo humano. Universidad Nacional del Litoral. Facultad de Ciencias Veterinarias. Santa Fe-Argentina.2012. p. 31-32.

SULIEMAN, E; et al. “Microbiological and sensory quality of Mozzarella cheese as affected by type of milk and storage”. *J. Food Nutr. Disor*, 2013, vol. 2, no 1, 2013, p. 2.

TEIXEIRA, B; et al. “Chemical composition and bioactivity of different oregano extracts and essential oil”. *J Sci Food Agric*, 2013, pp. 2707-2714.

TELLEZ, Lena, & NOLAZCO, Diana María. Estudio de la composición química del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare spp.*) de Tacna. *Ingeniería Industrial*, 2017, p. 195-205.

TOBAR JÁCOME, Mayra. Uso de reguladores de acidez y su incidencia en el tiempo de acidificación de la cuajada para la elaboración de queso mozzarella. (Trabajo Ingeniería).

Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Carrera de Ingeniería en Alimentos, Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Ecuador. 2012. pp. 48-54.

TORO, Daniel Ricardo. *Manual para la introducción al laboratorio de microbiología.* Universidad de Caldas, Colombia. 2005. pp. 14-17.

TORRENEGRA ALARCÓN; et al. “Actividad antibacteriana in vitro de aceites esenciales de diferentes especies del género Citrus”. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, vol. 46, (2017), (Colombia) pp. 160-175.

USANO-ALEMANY, Jaime; PAÚL, Jesús Palá; & DÍAZ, Silvia. “Aceites esenciales: conceptos básicos y actividad antibacteriana”. *Reduca (Biología)*, vol.7 (2014), (Madrid) p. 62.

VALAZQUE CARRASCO, Juan Carlos. Evaluación de la actividad antimicótica del esmalte de uñas elaborado usando el aceite esencial del *Origanum vulgare* L. (Orégano) frente *Trichophyton rubrum* ATCC 28188. 2019. p. 2.

VILELA CÓRDOVA, Yeselia Estefany. Evaluación de 4 tecnologías de producción de quesos en la asociación agroforestal de CANAÁN-AGROECAN para su comercialización en la ciudad de Chachapoyas. [En línea] (Trabajo de Titulación) (Ingeniería). (Tesis de Pregrado) Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas. Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias. Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial. Perú. 2019. pp. 36-38 [Consulta: 2022-10-13]. Disponible en: <https://repositorio.untrm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14077/2082/Vilela%20Cordova%20Yeselia%20Estefany.pdf?sequence=1&isAllowed=y>


Ing. Cristian Castillo



ANEXOS

ANEXO A: REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS PARA EL QUESO MOZZARELLA.

Requisito	n	M	M	c	Método de ensayo
<i>Enterobacteriaceas</i> , UFC/g	5	2x10 ²	103	1	NTE INEN 1529-13
<i>Escherichia coli</i> , UFC/g	5	<10	10	1	NTE INEN 1 529-8
<i>Staphylococcus aureus</i> UFC/g	5	10	102	1	NTE INEN 1529-14
<i>Listeria monocytogenes</i> /25 g	5	ausencia	-	0	ISO 11290-1
Salmonella en 25g	5	ausencia	ausencia	0	NTE INEN 1529-15

Donde:

n = Número de muestras a examinar.

m = Índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad.

M = Índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad.

c = Número de muestras permisibles con resultados entre m y M.

ANEXO B: BOLETA DE EVALUACIÓN SENSORIAL DEL QUESO MOZZARELLA.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS CARRERA DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS PECUARIAS <u>EVALUACIÓN DE ACEPTABILIDAD DEL QUESO MOZZARELLA</u>				
Código:			Fecha:	
INSTRUCCIONES				
Frente a usted dispone de 4 muestras diferentes de queso mozzarella. Por favor, observe y pruebe cada una de ellas, de izquierda a derecha. Indique el grado en que le gusta cada atributo de cada muestra de acuerdo con el puntaje de cada categoría, escribiendo el número correspondiente en la línea del código de la muestra de evaluación del producto				
Puntaje	Categoría			
1	Me disgusta mucho			
2	Me disgusta			
3	Ni me gusta ni me disgusta			
4	Me gusta			
5	Me gusta mucho			
Código	Textura	Color	Olor	Sabor
A1				
B1				
A2				
B2				
Observaciones:				

ANEXO C: FICHA TÉCNICA DEL ACEITE ESENCIAL (AROMALAB).

	FICHA TÉCNICA	Versión: 001
		Fecha: 31/08/19
		Página: 1 de 1

Nombre del producto: Orégano NAT ID 300480
Grupo: Aceite Esencial
N° CAS: 8007- 11 2
INCI: Origanum oil
Origen: España

INFORMACIÓN GENERAL DEL PRODUCTO

Mezcla multicomponente de sustancias aromáticas y aceites esenciales.

CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS Y ORGANOLÉPTICAS

Parámetro	Método de análisis	Especificación (criterio de aceptación)	
		Mínimo	Máximo
Densidad	Densímetro @20°C g.cm-3	0,913	0,973
Refracción	Refractómetro @20°C	1,311	1,711
pH	Potenciómetro	5,940	6,000
Grados Alcohólicos	Alcoholímetro @20°C GL	42,970	43,030

Parámetro	Método de análisis	Especificación (criterio de aceptación)
Estado físico @20 C	Sensorial- Visual	Líquido
Color	Sensorial- Visual	Amarillo
Olor	Sensorial- Visual	Característico
Solubilidad en alcohol	Sensorial- Visual	Si
Solubilidad en agua	Sensorial- Visual	No
Solubilidad en aceite	Sensorial- Visual	Si

INFORMACIÓN ADICIONAL

Campo de aplicación: Apto para uso en productos químicos, cosméticos y demás productos comestibles.

Almacenamiento: En envases cerrados, en lugar bien ventilado y protegido de la luz a temperatura inferior a 20 °C.

Vida Útil: 18 meses, desde la fecha de elaboración, sin embargo, al final de este periodo se podría realizar un reanálisis para extender la vida útil.

Fecha de emisión: 13/09/2019
Certificado por: Ing. Monserratte Velarde
 Dpto. Control de Calidad

AROMALAB S.A.

1

ANEXO D: ESTADÍSTICA DEL PH DEL QUESO MOZZARELLA.

Resultados experimentales

Niveles de aceite de orégano %	Repeticiones					PROMEDIO
	I	II	III	IV	V	
0%	5,5	5,4	5,4	5,3	5,4	5,4
0,2%	5,5	5,5	5,4	5,6	5,5	5,5
0,4%	5,5	5,5	5,5	5,4	5,1	5,4
0,6%	5,4	5,5	5,5	5,0	5,1	5,3
Promedio						5,4
Coefficiente de variación						2,85

Análisis de la Varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
p H	20	0,21	0,06	2,85

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Niveles de aceite de orégano	0,10	3	0,03	1,40	0,2782
Error	0,38	16	0,02		
Total	0,48	19			

CUADRO DE MEDIAS Y ASIGNACION DE RANGOS DE ACUERDO CON LA PRUEBA DE TUKEY

Niveles de aceite de orégano	Medias	n	E.E.	
0%	5,4	5	0,07	A
0,2%	5,5	5	0,07	A
0,4%	5,4	5	0,07	A
0,6%	5,3	5	0,07	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

ANEXO E: ESTADÍSTICA DE LA ACIDEZ DEL QUESO MOZZARELLA.

Niveles de aceite de orégano %	Repeticiones					PROMEDIO
	I	II	III	IV	V	
0%	25	27	26	25,8	25,6	25,88
0,2%	25	26	27	25,7	26,1	25,96
0,4%	25	26	27	26,2	25,3	25,90
0,6%	27	26	25	25,4	25,7	25,82
Promedio						25,89
Coefficiente de variación						2,94

Análisis de la Varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Acidez	20	3,60E-03	0	2,94

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Niveles de aceite de orégano	0,03	3	0,01	0,02	0,9961
Error	9,31	16	0,58		
Total	9,34	19			

CUADRO DE MEDIAS Y ASIGNACION DE RANGOS DE ACUERDO CON LA PRUEBA DE TUKEY

Niveles de aceite de orégano	Medias	n	E.E.
------------------------------	--------	---	------

0%	25,88	5	0,34	A
0,2%	25,96	5	0,34	A
0,4%	25,90	5	0,34	A
0,6%	25,98	5	0,34	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

ANEXO F: ESTADÍSTICA DE LOS SÓLIDOS TOTALES DEL QUESO MOZZARELLA.

Niveles de aceite de orégano %	Repeticiones					PROMEDIO
	I	II	III	IV	V	
0%	45,2056	45,2399	45,2191	45,2099	44,8987	45,15
0,2%	45,5315	45,7407	44,3453	45,2132	45,1797	45,20
0,4%	45,3262	44,8655	45,2743	45,1567	45,3197	45,19
0,6%	45,3799	44,9574	44,5837	45,276	44,701	44,98
Promedio						45,13
Coefficiente de variación						0,75

Análisis de la Varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Sólidos totales %	20	0,08	0	0,75

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Niveles de aceite de orégano	0,16	3	0,05	0,46	0,7144
Error	1,85	16	0,10		
Total	2,01	19			

CUADRO DE MEDIAS Y ASIGNACION DE RANGOS DE ACUERDO CON LA PRUEBA DE TUKEY

Niveles de aceite de orégano	Medias	n	E.E.	
0%	45,15	5	0,15	A
0,2%	45,20	5	0,15	A
0,4%	45,19	5	0,15	A
0,6%	44,98	5	0,15	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

ANEXO G: ESTADÍSTICA DE PROTEÍNA DEL QUESO MOZZARELLA.

Niveles de aceite de orégano %	Repeticiones					PROMEDIO
	I	II	III	IV	V	

0%	23,00	23,64	22,35	23,59	23,62	23,24
0,2%	23,08	24,65	23,03	23,08	24,10	23,59
0,4%	24,41	24,94	23,53	23,98	24,31	24,23
0,6%	23,93	22,56	23,63	23,76	23,51	23,48
Promedio						23,64
Coefficiente de variación						2,53

Análisis de la Varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Proteína %	20	0,32	0,19	2,53

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Niveles de aceite de orégano	2,71	3	0,9	2,52	0,0951
Error	5,74	16	0,36		
Total	8,45	19			

CUADRO DE MEDIAS Y ASIGNACION DE RANGOS DE ACUERDO CON LA PRUEBA DE TUKEY

Niveles de aceite de orégano	Medias	n	E.E.	
0%	23,24	5	0,27	A
0,2%	23,59	5	0,27	A
0,4%	24,23	5	0,27	A
0,6%	23,48	5	0,27	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

ANEXO H: ESTADÍSTICA DE GRASA DEL QUESO MOZZARELLA.

Niveles de aceite de orégano %	Repeticiones					PROMEDIO
	I	II	III	IV	V	
0%	20,0	22,0	21,0	21,2	22,1	21,26
0,2%	21,0	22,0	22,5	21,3	21,2	21,60
0,4%	23,0	22,5	22,0	21,8	22,0	22,26
0,6%	21,0	23,0	22,5	22,7	21,9	22,22
Promedio						21,84
Coefficiente de variación						3,23

Análisis de la Varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Grasa %	20	0,31	0,18	3,23

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Niveles de aceite de orégano	3,57	3	1,19	2,40	0,1062
Error	7,95	16	0,50		

Total 11,53 19

CUADRO DE MEDIAS Y ASIGNACION DE RANGOS DE ACUERDO CON LA PRUEBA DE TUKEY

Niveles de aceite de orégano	Medias	n	E.E.	
0%	21,26	5	0,32	A
0,2%	21,60	5	0,32	A
0,4%	22,26	5	0,32	A
0,6%	22,22	5	0,32	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

ANEXO I: ESTADÍSTICA DEL COLOR DEL QUESO MOZZARELLA.

Niveles de aceite de orégano %	Repeticiones					PROMEDIO
	I	II	III	IV	V	
0%	3,5	3,4	3,5	3,5	3,6	3,5
0,2%	3,6	3,8	3,6	3,7	3,9	3,7
0,4%	3,6	4,3	3,7	4,3	3,9	4,0
0,6%	4,0	4,1	3,8	3,5	4,1	3,9
Promedio						3,8
Coefficiente de variación						5,86

Análisis de la Varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Color	20	0,45	0,35	5,86

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Niveles de aceite de orégano	0,64	3	0,21	4,39	0,0196
Error	0,78	16	0,05		
Total	1,42	19			

CUADRO DE MEDIAS Y ASIGNACION DE RANGOS DE ACUERDO CON LA PRUEBA DE TUKEY

Niveles de aceite de orégano	Medias	n	E.E.	
0%	3,5	5	0,10	A
0,2%	3,7	5	0,10	A B
0,4%	4,0	5	0,10	B
0,6%	3,9	5	0,10	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

ANEXO J: ESTADÍSTICA DEL SABOR DEL QUESO MOZZARELLA.

Niveles de aceite de orégano %	Repeticiones					PROMEDIO
	I	II	III	IV	V	
0%	3,2	3,5	3,2	3,0	3,6	3,3

0,2%	3,6	3,7	3,9	4,1	3,9	3,8
0,4%	3,6	4,5	4,2	3,8	4,5	4,1
0,6%	4,0	4,7	4,3	4,0	4,5	4,3
Promedio						3,9
Coefficiente de variación						7,71

Análisis de la Varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Sabor	20	0,66	0,6	7,71

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Niveles de aceite de orégano	2,86	3	0,95	10,59	0,0004
Error	1,44	16	0,09		
Total	4,30	19			

CUADRO DE MEDIAS Y ASIGNACION DE RANGOS DE ACUERDO CON LA PRUEBA DE TUKEY

Niveles de aceite de orégano	Medias	n	E.E.		
0%	3,3	5	0,13	A	
0,2%	3,8	5	0,13	A	B
0,4%	4,1	5	0,13		B
0,6%	4,3	5	0,13		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

ANEXO K: ESTADÍSTICA DEL OLOR DEL QUESO MOZZARELLA.

Niveles de aceite de orégano %	Repeticiones					PROMEDIO
	I	II	III	IV	V	
0%	3,3	3,5	3,4	3,3	3,6	3,4
0,2%	3,5	3,6	4,0	3,9	3,5	3,7
0,4%	3,8	4,1	3,7	4,6	4,0	4,0
0,6%	3,8	4,5	3,5	3,9	4,7	4,1
Promedio						3,81
Coefficiente de variación						8,77

Análisis de la Varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Olor	20	0,45	0,34	8,77

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Niveles de aceite de orégano	1,45	3	0,48	4,33	0,0206
Error	1,79	16	0,11		
Total	3,24	19			

CUADRO DE MEDIAS Y ASIGNACION DE RANGOS DE ACUERDO CON LA PRUEBA DE TUKEY

Niveles de aceite de orégano	Medias	n	E.E.		
0%	3,4	5	0,15	A	
0,2%	3,7	5	0,15	A	B
0,4%	4,0	5	0,15		B
0,6%	4,1	5	0,15		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

ANEXO L: ESTADÍSTICA DE LA TEXTURA DEL QUESO MOZZARELLA.

Niveles de aceite de orégano %	Repeticiones					PROMEDIO
	I	II	III	IV	V	
0%	3,4	3,4	3,8	3,2	3,3	3,4
0,2%	3,4	3,5	3,4	3,7	3,1	3,4
0,4%	3,7	3,5	3,7	3,8	3,0	3,5
0,6%	3,9	3,7	3,5	3,6	3,4	3,6
Promedio						3,5
Coefficiente de variación						6,98

Análisis de la Varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Textura	20	0,13	0	6,98

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Niveles de aceite de orégano	0,14	3	0,05	0,80	0,5101
Error	0,96	16	0,06		
Total	1,10	19			

CUADRO DE MEDIAS Y ASIGNACION DE RANGOS DE ACUERDO CON LA PRUEBA DE TUKEY

Niveles de aceite de orégano	Medias	n	E.E.	
0%	3,4	5	0,11	A
0,2%	3,4	5	0,11	A
0,4%	3,5	5	0,11	A
0,6%	3,6	5	0,11	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

ANEXO M: RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DE *S. AUREUS* DEL QUESO MOZZARELLA.

VARIABLES MICROBIOLÓGICAS	NIVELES DE ACEITE ESCENCIAL DE ORÉGANO			
	0%	0,2%	0,4%	0,6%
<i>Staphylococcus aureus</i> día 0 UFC.g ⁻¹	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>Staphylococcus aureus</i> día 7 UFC.g ⁻¹	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

<i>Staphylococcus aureus</i> día 14 UFC.g ⁻¹	300	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>Staphylococcus aureus</i> día 21 UFC.g ⁻¹	400	300	Ausencia	Ausencia

ANEXO N: RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DE *ENTEROBACTERIAS* DEL QUESO MOZZARELLA.

VARIABLES MICROBIOLÓGICAS	NIVELES DE ACEITE ESCENCIAL DE ORÉGANO			
	0%	0,2%	0,4%	0,6%
<i>Enterobacterias</i> día 0 UFC.g ⁻¹	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>Enterobacterias</i> día 7 UFC.g ⁻¹	300	300	Ausencia	Ausencia
<i>Enterobacterias</i> día 14 UFC.g ⁻¹	700	600	300	Ausencia
<i>Enterobacterias</i> día 21 UFC.g ⁻¹	1600	1100	900	600

ANEXO O: RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DE *E. COLI* EN EL QUESO MOZZARELLA.

VARIABLES MICROBIOLÓGICAS	NIVELES DE ACEITE ESCENCIAL DE ORÉGANO			
	0%	0,2%	0,4%	0,6%
<i>E. coli</i> día 0 UFC.g ⁻¹	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>E. coli</i> día 7 UFC.g ⁻¹	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>E. coli</i> día 14 UFC.g ⁻¹	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>E. coli</i> día 21 UFC.g ⁻¹	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

ANEXO P: RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DE *L. MONOCYTOGENES* EN EL QUESO MOZZARELLA.

VARIABLES MICROBIOLÓGICAS	NIVELES DE ACEITE ESCENCIAL DE ORÉGANO			
	0%	0,2%	0,4%	0,6%
<i>Listeria monocytogenes</i> día 0 UFC.g ⁻¹	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>Listeria monocytogenes</i> día 7 UFC.g ⁻¹	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>Listeria monocytogenes</i> día 14 UFC.g ⁻¹	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>Listeria monocytogenes</i> día 21 UFC.g ⁻¹	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

ANEXO Q: RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DE *SALMONELLA* EN EL QUESO MOZZARELLA.

VARIABLES MICROBIOLÓGICAS	NIVELES DE ACEITE ESCENCIAL DE ORÉGANO			
	0%	0,2%	0,4%	0,6%
<i>Salmonella</i> día 0 UFC.g ⁻¹	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>Salmonella</i> día 7 UFC.g ⁻¹	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Salmonella día 14 UFC.g⁻¹

Ausencia

Ausencia

Ausencia

Ausencia

Salmonella día 21 UFC.g⁻¹

Ausencia

Ausencia

Ausencia

Ausencia

ANEXO R: ELABORACIÓN DEL QUESO MOZZARELLA.





Fuente: Guagrilla, Jefferson, 2022.

ANEXO S: ANÁLISIS FÍSICO - QUÍMICO DEL QUESO MOZZARELLA.

PRUEBAS DE PH



Fuente: Guagrilla, Jefferson, 2022.

PRUEBAS DE ACIDEZ



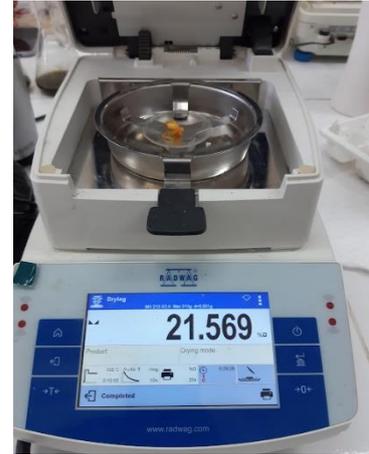
Fuente: Guagrilla, Jefferson, 2022.

ANÁLISIS DE HUMEDAD



Fuente: Guagrilla, Jefferson, 2022.

ANÁLISIS DE SÓLIDOS TOTALES



Fuente: Guagrilla, Jefferson, 2022.

ANÁLISIS DE PROTEÍNA



Fuente: Guagrilla, Jefferson, 2022.

ANÁLISIS DE GRASA

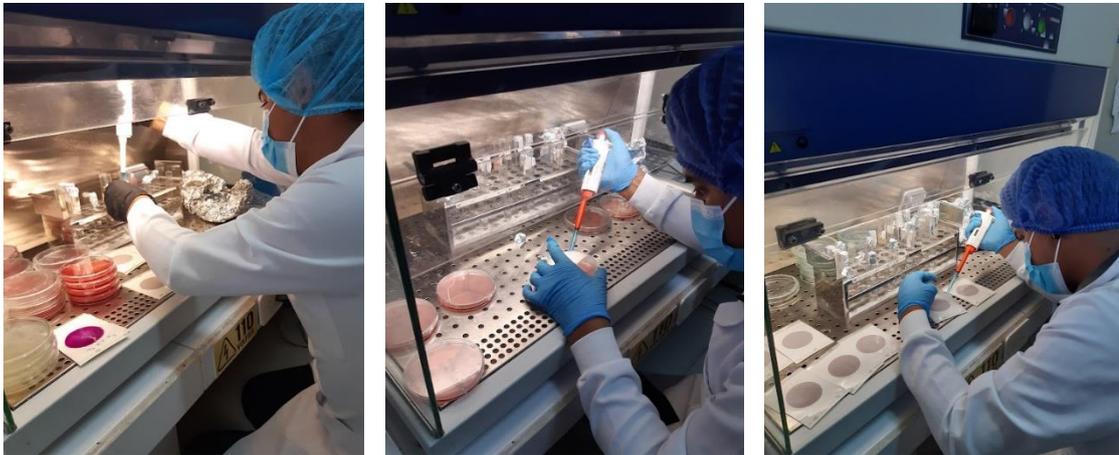


Fuente: Guagrilla, Jefferson, 2022.

ANEXO T: ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL QUESO MOZZARELLA.

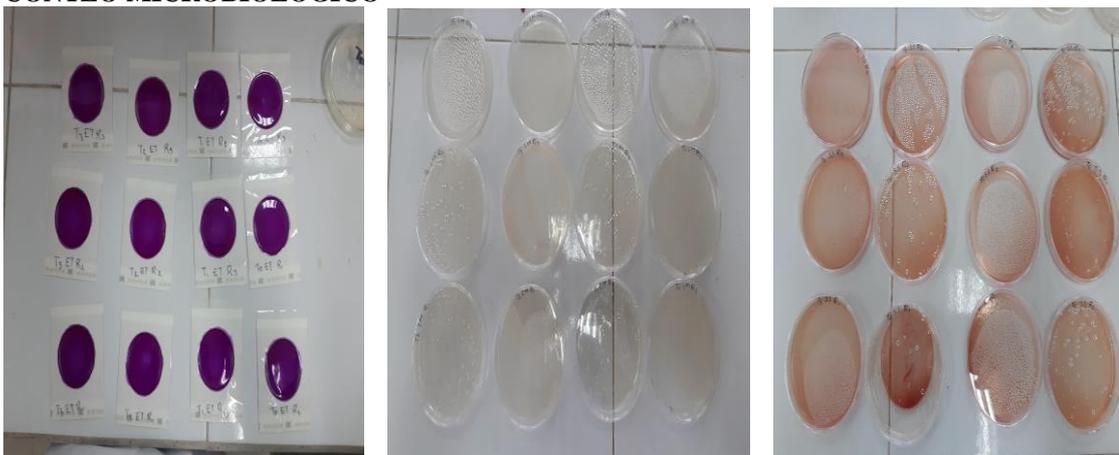


Fuente: Guagrilla, Jefferson, 2022.



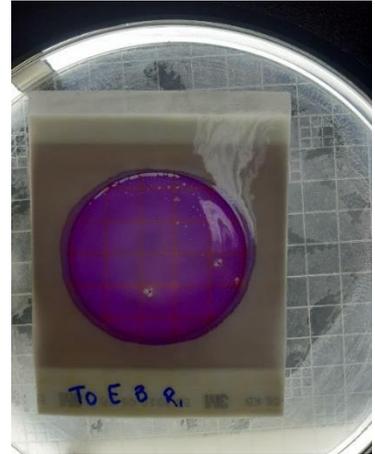
Fuente: Guagrilla, Jefferson, 2022.

CONTEO MICROBIOLÓGICO



Fuente: Guagrilla, Jefferson, 2022.

CONTEO MICROBIOLÓGICO



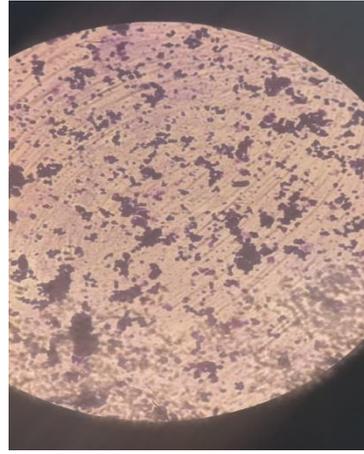
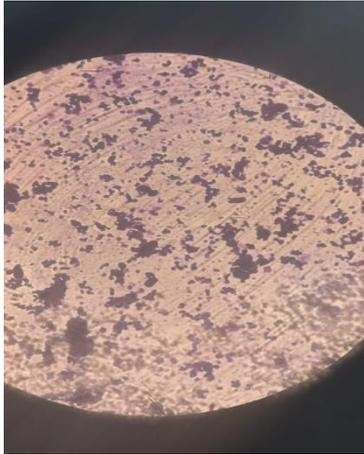
Fuente: Guagrilla, Jefferson, 2022.

ANEXO U: TINCIÓN DE GRAM.



Fuente: Guagrilla, Jefferson, 2022.





Fuente: Guagrilla, Jefferson, 2022.

ANEXO V: PRUEBA SENSORIAL EN EL QUESO MOZZARELLA.



Fuente: Guagrilla, Jefferson, 2022.



epoch

Dirección de Bibliotecas y
Recursos del Aprendizaje

UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 20 / 01 / 2023

INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)
Nombres – Apellidos: Jefferson Manuel Guagrilla Tipantuña
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: Ciencias Pecuarias
Carrera: Ingeniería en Industrias Pecuarias
Título a optar: Ingeniero en Industrias Pecuarias
f. responsable: Ing. Cristhian Fernando Castillo Ruiz


Ing. Cristhian Fernando Castillo Ruiz



0126-DBRA-UTP-2023