



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ**  
**MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

**DIRECCIÓN DE POSGRADO Y FORMACIÓN CONTINUA**

## **INFORME DE TRABAJO DE TITULACIÓN**

**PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MAGISTER EN AGROINDUSTRIA**

**MODALIDAD:**

**INFORME DE INVESTIGACIÓN**

**TEMA:**

**EFFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE  
TOMILLO (*Thymus vulgaris*) SOBRE LA VIDA ÚTIL DEL QUESO  
FRESCO ARTESANAL**

**AUTOR:**

**DIEGO ARMANDO TORRES AVELLAN**

**TUTOR:**

**ING. RICARDO MONTESDEOCA PÁRRAGA, Mg.**

**COTUTOR**

**ING. EDUARDO VALAREZO VALDEZ**

**CALCETA, AGOSTO 2019**

## **DERECHOS DE AUTORÍA**

TORRES AVELLAN DIEGO ARMANDO, declaro bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración cedo los derechos de propiedad intelectual a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

---

TORRES AVELLAN DIEGO ARMANDO

## CERTIFICACIÓN DE TUTOR

**ING. RICARDO MONTESDEOCA PÁRRAGA, Mg**, certifica haber tutelado el trabajo de titulación: **EFFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO (*Thymus vulgaris*) SOBRE LA VIDA ÚTIL DEL QUESO FRESCO ARTESANAL**, que ha sido desarrollado por **TORRES AVELLAN DIEGO ARMANDO**, previa la obtención del título de Magister en agroindustrias, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN DE LA UNIDAD DE TITULACIÓN** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

---

**ING. RICARDO MONTESDEOCA PÁRRAGA, Mg.**

## **APROBACIÓN DEL TRIBUNAL**

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** el trabajo de titulación **EFFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO (*Thymus vulgaris*) SOBRE LA VIDA ÚTIL DEL QUESO FRESCO ARTESANAL**, que ha sido propuesto, desarrollado y sustentado por **TORRES AVELLAN DIEGO ARMANDO**, previa la obtención del título de **MAGISTER EN AGROINDUSTRIAS**, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

ING. ROSANNA LOOR CUSME, M.PA  
M.B

**MIEMBRO**

ING. CARLOS BANCHON BAJAÑA B,

**MIEMBRO**

ING. LENIN ZAMBRANO VELÁSQUEZ, Mg.  
**PRESIDENTE**

## **AGRADECIMIENTO**

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López que me dio la oportunidad de crecer como ser humano a través de una educación superior de calidad y en la cual he forjado mis conocimientos profesionales día a día.

A mi familia en especial a mi madre que fue pilar fundamental en la obtención de este logro académico.

A mi tutor, cotutor y docentes de la maestría por su guía académica durante la duración de esta maestría y a todos los que fueron parte de la consecución de este logro académico.

A la institución donde actualmente laboro I.S.T.Q. por darme las facilidades culminar mis estudios de cuarto nivel.

---

**DIEGO ARMANDO TORRES AVELLAN**

## **DEDICATORIA**

A Dios, quien como guía estuvo presente en el caminar de mi vida, bendiciendo y dándome fuerzas para continuar con mis metas trazadas sin desfallecer.

A mis padres que, con apoyo incondicional, amor y confianza permitieron que logre culminar mi logro profesional.

---

**DIEGO ARMANDO TORRES AVELLAN**

## CONTENIDO GENERAL

DERECHOS DE AUTORÍA.....	ii
CERTIFICACIÓN DE TUTOR.....	iii
APROBACIÓN DE TRIBUNAL.....	iv
AGRADECIMIENTO .....	v
DEDICATORIA.....	vi
CONTENIDO GENERAL.....	vii
CONTENIDO DE CUADROS.....	ix
CONTENIDO DE FIGURAS.....	ix
CONTENIDO DE ANEXOS.....	ix
RESUMEN.....	x
PALABRAS CLAVE.....	x
ABSTRACT.....	xi
KEY WORDS.....	xi
<b>CAPÍTULO I. ANTECEDENTES.....</b>	<b>1</b>
1.1 Planteamiento y formulación del problema .....	1
1.2 Justificación .....	3
1.3 Objetivos.....	4
1.3.1 Objetivo general.....	4
1.3.2 Objetivos específicos.....	4
1.4 Hipótesis .....	4
<b>CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>5</b>
2.1 La leche .....	5
2.1.1 El queso.....	5
2.2 Nuevas tendencias para prolongar la vida útil de los alimentos .....	10
2.2.1 Indicadores de vida útil .....	11
2.2.2 Alteraciones causadas por microorganismos patógenos en el queso ...	12
2.2.3 Antimicrobianos naturales.....	12
2.3 Efectividad de los aceites esenciales para la conservación de alimentos.....	14
2.3.1 Investigaciones del poder antimicrobiano del aceite esencial de tomillo in vitro .....	14
2.3.2 Investigaciones en otros productos alimenticios.....	15
2.3.3 Investigaciones en productos lácteos .....	16
2.4 El Tomillo .....	17
2.4.1 Descripción .....	17
2.4.2 Composición .....	18
2.4.3 Acción farmacológica.....	18
2.4.4 Propiedades antimicrobianas.....	19
<b>CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO .....</b>	<b>20</b>
3.1 Duración .....	20
3.2 Factor en estudio .....	20
3.3 Diseño experimental .....	21

3.4	Unidad experimental .....	21
3.5	Manejo del experimento.....	21
3.6	Variables que se midieron .....	23
3.7	Análisis estadístico .....	25
3.8	Tratamientos de datos .....	25
	<b>CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>26</b>
4.1	Fisicoquímicos .....	26
4.1.1	Categorización por tratamiento.....	26
4.1.2	Categorización por días de almacenamiento.....	27
4.2	Instrumentales (Fiermeza y pH).....	28
4.3	Comportamiento del <i>staphylococcus aureus</i> en queso fresco durante el estudio .....	29
4.4	Cálculo de tiempo de vida útil mediante ecuación de Labuza .....	30
4.5	Análisis sensorial .....	31
	<b>CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>33</b>
5.1	Conclusiones .....	33
5.2	Recomendación.....	33
	BIBLIOGRAFÍA .....	34
	ANEXOS.....	41

## CONTENIDO DE CUADROS Y FIGURAS

### CUADROS:

2.1.	Composición del queso fresco.....	7
2.2.	Requisitos microbiológicos del queso fresco.....	7
3.1	Descripción de tratamientos .....	21
4.1	Homogeneidad de la varianza de las características fisicoquímicas e instrumentales en quesos .....	26
4.2	Medias de propiedades fisicoquímicos de los quesos con diferentes concentraciones de AET.....	27
4.3	Medias de propiedades fisicoquímicas de los quesos con diferentes concentraciones de AET durante los días de almacenamiento.....	27
4.4	Categorización de análisis instrumentales por tratamiento en los quesos.....	29
4.5	Valoración sensorial media de los quesos.....	32



**FIGURAS:**

3.1 Diagrama de flujo del queso.....	24
4.1 Comportamiento del <i>Staphylococcus aureus</i> en el queso durante el tiempo de almacenamiento.....	31
4.2 Regresión lineal para determinación de vida útil de los quesos mediante ecuación de Labuzá .....	33

**ANEXOS:**

1. Certificado de análisis de laboratorio .....	42
2. Ficha de análisis sensorial.....	45
3. Tabulación de datos de análisis sensorial .....	46
4. Ficha técnica del aceite esencial de tomillo utilizado.....	48
5. ADEVA factorial.....	49
6. Normalidad análisis sensoriales.....	50
7. Modelo de cálculo de vida útil para pH.....	51

## RESUMEN

El siguiente trabajo se realizó con el objetivo de establecer la concentración de aceite esencial de tomillo (EAT) para alargar la vida útil del queso fresco artesanal, se elaboró el queso en Agroindustrias la Marimba en la ciudad de Quinindé a partir de leche bovina entera y se utilizó un diseño uní factorial, el factor fue el % de AET el cual se adicionó en 3 niveles (0,1–0,2 y 0,3%) con 3 réplicas. A los quesos se les determinó acidez, humedad y grasa, dureza dentro del análisis de perfil de textura (TPA), *Staphylococcus aureus* según norma INEN 1529-14 y análisis sensorial; estadísticamente las variables TPA, humedad, acidez y grasa tienen normalidad, la variable de firmeza no se comportó homogéneamente mientras que las otras variables humedad y acidez con una sig  $p > 0,05$  indica que se comportan homogéneamente. Al determinar el tiempo de vida útil del queso, considerando el pH, el nivel de 0,3% de AET alcanza mayor tiempo de conservación (6,03 días), aunque no hubo diferencias estadísticas entre las variantes. En el análisis sensorial, el queso con nivel bajo de AET (0,1%) tuvo mayor aceptación en los atributos de olor y sabor (3,61 y 3,99 puntos respectivamente); en cambio en el parámetro de textura la mejor respuesta (3,80 puntos) se consiguió con el nivel más alto de AET (0,3%). Por lo tanto, se concluye que desde el punto de vista sensorial no se debería adicionar AET para la elaboración de quesos que sean expendidos comercialmente.

## PALABRAS CLAVE

*Staphylococcus aureus*, análisis sensorial, conservación de quesos, antimicrobiano.

## ABSTRACT

The following work was carried out with the objective of establishing the concentration of thyme essential oil (EAT) to extend the shelf life of artisanal fresh cheese, the cheese was made in Agroindustrias la Marimba in the city of Quinindé from bovine milk Whole and a unial factorial design was designed, the factor was the% of AET which was added in 3 levels (0.1–0.2 and 0.3%) with 3 replicates. The subjects were determined acidity, moisture and fat, hardness within the texture profile analysis (TPA), *Staphylococcus aureus* according to the INEN 1529-14 standard and sensory analysis; Statistically, the variables TPA, humidity, acidity and fat are normal, the firmness variable does not behave homogeneously while the other variables humidity and acidity with a sig  $p > 0.05$  indicate that they behave homogeneously. When determining the shelf life of the cheese, determining the pH, the level of 0.3% AET reaches a longer shelf life (6.03 days), although there were no statistical differences between the variants. In the sensory analysis, cheese with low AET level (0.1%) had greater acceptance in the attributes of smell and taste (3.61 and 3.99 points respectively); on the other hand, in the texture parameter the best response (3.80 points) was changed with the highest level of AET (0.3%). Therefore, it is concluded that from the sensory point of view, AET should not be added for the elaboration of questions that are commercial expenses

## KEYWORDS

*Staphylococcus aureus*, sensory analysis, cheese preservation, antimicrobial.

# CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

## 1.1 PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

El último informe lácteo de Tetra Pak, que realiza un seguimiento a la industria mundial, señaló que por primera vez la demanda mundial de leche superará a la oferta disponible la próxima década. Aunque esa oferta aumentará al 2024, no va a la par con el crecimiento de la demanda, el informe destaca que el consumo mundial de productos lácteos, que incluye leche, quesos y manteca fresca, crecerá el 36% desde el año 2014 al 2024, con un consumo de alrededor de 713 millones de toneladas de leche líquida. En Ecuador el crecimiento en la producción de leche se mantiene con una tendencia entre el 25 y 30% en los últimos años; por tal motivo, el sector busca consolidar nuevos mercados para vender el producto y nuevas técnicas para poder conservar por más tiempo la leche y sus derivados (El Telégrafo, 2014).

“En Ecuador se producen alrededor de 5'800.000 litros de leche diarios que abastecen la demanda local. “Tenemos un excedente de alrededor de 250.000 litros de leche al día, que es justamente lo que se trata de exportar. Uno de los principales objetivos del sector es que el país sea exportador de leche de alta calidad”, en la región Sierra, se produce el 73% de leche, en la Costa el 19% y en la Amazonía 8%. La producción lechera beneficia a unos 298.000 ganaderos, no menos de un millón y medio de personas viven directa e indirectamente de esta actividad y más de un tercio se destina a la elaboración de distintos tipos de quesos (Montero, 2017).

Pinchao y Cacuango (2017) manifiestan que el consumo per cápita de queso en Ecuador fue de 1,57 kilos en el 2017. La mayor parte de estos quesos son de origen artesanal lo cual causa gran variación en la calidad y características organolépticas del producto; sin embargo, no se cuentan con los métodos adecuados para la prevención del crecimiento de bacterias, hongos y otros microorganismos durante el almacenamiento, lo que se traduce en una baja durabilidad de los productos, consecuentemente genera grandes pérdidas

económicas a los productores y demás partícipes de las cadenas de procesamiento y distribución de los quesos (Ángel y Gómez, 2010).

La demanda de alimentos cada vez más naturales y sin conservantes ha llevado a mejorar las tecnologías de procesamiento de los alimentos. Desde hace años, y con el fin de adaptarse a este nuevo auge, la investigación ha demostrado que la utilización de compuestos inhibidores de crecimiento bacteriano de origen natural es capaz de producir alimentos seguros desde el punto de vista microbiológico, con ventajas adicionales no solo para los consumidores sino también para los procesadores de alimento (Albán, 2015).

Esencialmente la vida de anaquel de un alimento, se define como el tiempo en el cual éste conservará sus propiedades fisicoquímicas, organolépticas y nutricionales. La vida útil abarca varias facetas del valor nutritivo incluyendo seguridad, valor alimenticio y características sensoriales. Cuando se afecta este valor nutritivo, esto influye notablemente en las decisiones de compra del consumidor (Morales, 2015). Crear un producto con una vida útil fiable exige varios procesos y controles por el fabricante del alimento. Factores fundamentales que influyen en la vida de anaquel de un alimento como Formulación, Procesamiento, Empaque y Condiciones de Almacenamiento. (Espinoza, Ortiz, y López, 2017).

Con respecto a la vida de anaquel, los factores claves incluyen contenido de humedad, actividad de agua ( $A_w$ ), pH y adición de preservativos antimicrobianos y antioxidante La actividad de agua se refiere a la cantidad de agua "libre", en un sistema, disponible para apoyar reacciones biológicas y químicas; cuanto más baja es la  $A_w$  menos viables son los microorganismos que contribuyen al deterioro del producto. Los preservativos pertenecen a una clase de aditivos alimenticios que amplían la vida útil inhibiendo el crecimiento microbiano o reduciendo al mínimo los efectos destructivos del oxígeno, de los metales y de otros factores que pueden conducir a la rancidez (García, Cardona y Garcés, 2008).

En función de lo antes expuesto planteamos la siguiente interrogante: ¿Cuál será la concentración del aceite esencial tomillo que prolongue la vida útil del queso fresco artesanal?

## **1.2 JUSTIFICACIÓN**

En el estudio de la vida útil en alimentos se tiene como objetivo evaluar el posible comportamiento de los productos en desarrollo y tradicionales a los que se les ha hecho algún cambio en la receta o en el proceso, durante un tiempo determinado y a diferentes temperaturas.

La vida de anaquel de un alimento se puede definir como el periodo de tiempo durante el cual en el producto almacenado no se presentan cambios notables con respecto al producto inicial o recién elaborado. La evaluación más usada que garantiza el buen estado de estos productos está basada en pruebas bromatológicas o físico-químicas, recuentos microbiológicos y pruebas sensoriales que puedan determinar el nivel de integridad del alimento (Mamani, 2016).

Las industrias alimenticias de los países más desarrollados invierten millones de dólares anuales en investigación con el fin de prolongar la vida de anaquel de alimentos específicos que contribuyen a un alza en la economía mundial; no obstante, en países en vías de desarrollo como Ecuador no se cuenta ni con el presupuesto ni con los medios necesarios para desarrollar esta clase de tecnología; por tanto, una solución simple es emular métodos que permitan comparar grupos de alimentos con estándares para calcular su vida útil media y garantizar un mercado regional competente, productos de alta calidad y seguros.

En este orden de ideas, mundialmente han surgido normas y decretos que velan por la seguridad y buena calidad de los alimentos más susceptibles a sufrir cambios que alteren sus propiedades alimenticias o se conviertan en un riesgo para el organismo, en Ecuador la entidad responsable de regular la distribución y calidad de los mismos es el Instituto Ecuatoriano de normalización (INEN) quien se encarga de emitir normas que establecen

parámetros de calidad microbiológicos y bromatológicos, que garanticen la integridad del producto (Sánchez y Pérez, 2016).

Los aceites esenciales obtenidos de las especies de *Thymus*, como el timol, han sido reconocidos por su actividad antibacteriana y antifúngica, razón por la cual se emplean industrialmente en la preparación de desinfectantes de uso humano, enjuagues bucales y otros agentes antimicrobianos utilizados a nivel doméstico. (Robayo y Pachón, 2013).

Ahora bien, los antecedentes regionales indican que en la región costa hay carencia de quesos procesados lo cual afecta la calidad de los productos alimenticios de más riesgo a la comunidad como son los lácteos, por esta razón se ha tomado la determinación de evaluar el efecto del aceite esencial de tomillo sobre la vida útil del queso fresco artesanal evaluando la calidad instrumental, sensorial y físico-química del producto comercializable.

### **1.3 OBJETIVOS**

#### **1.3.1 OBJETIVO GENERAL**

- Establecer la concentración de aceite esencial de tomillo para alargar la vida útil del queso fresco artesanal.

#### **1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Evaluar el efecto del aceite esencial de tomillo en la vida útil del queso fresco artesanal.
- Valorar las concentraciones de aceite esencial de tomillo aplicado como conservante en las características sensoriales del queso fresco artesanal.

### **1.4 HIPÓTESIS**

Al menos una de las concentraciones del aceite esencial de tomillo causa algún efecto en el tiempo de vida útil del queso fresco artesanal.

## **CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO**

### **2.1 LA LECHE**

La producción lechera es uno de los sectores más influyentes en la generación de empleo agrícola y en la economía ecuatoriana, especialmente en la zona interandina, en Ecuador se producen alrededor de 5'100.000 litros de leche diarios, distribuidos de la siguiente manera: la sierra con un 72,80%, en la costa con una producción del 18,40 % y la Amazonía con un 8,0%; aproximadamente el 60% de la producción total de leche se destina a la elaboración de quesos tanto en las pequeñas como en las grandes industrias lácteas (Rodríguez, 2016).

El Codex alimentarios define la leche como la secreción mamaria normal de animales lecheros, obtenida a partir de uno o más ordeños sin ningún tipo de adición o extracción, destinada al consumo en forma de leche líquida o a elaboración de derivados (Códex Alimentarius, 2009).

Es el primer alimento de los mamíferos jóvenes, tiene proteína de alta calidad con vitaminas y minerales. La leche obtenida de diferentes especies: como vacas, cabras, ovejas, entre otras se puede deshidratar, fortificar, homogenizar, pasteurizar, o incorporar microorganismos para crear productos con diferente sabor, textura, valor nutritivo y vida útil (Colcha y Oña, 2015).

La composición física y química de la leche puede variar, dependiendo de factores de origen fisiológico, alimentario, climático, genético y zootécnico que hacen variar tanto el volumen como la composición de la leche lo cual es de vital importancia para la elaboración de quesos (Pinta y Rodas, 2016).

#### **2.1.1 EL QUESO**

El queso es un alimento básico que se consume desde la antigüedad y cuyo origen fue sin duda producto de la casualidad, es conocido por sus numerosas variedades, gama de sabores, texturas, valor nutricional y su diversidad como ingrediente, en el proceso de elaboración de queso la pérdida de agua es un factor que concentra los principios nutritivos de la leche, los quesos frescos



destacan por su contenido de proteínas de alto valor biológico y calcio de fácil asimilación, fósforo, magnesio, vitaminas del grupo B (especialmente, B2 o riboflavina, B12 y niacina) y vitaminas liposolubles A y D (Rodríguez, 2016).

En el Ecuador urbano, mensualmente se consumen 1,36 millones de kilos de queso de todas las variedades, lo cual representa un mercado de \$7,03 millones por mes. El consumo promedio por hogar alcanza las 2,5 unidades de 500 gramos. El 81,5% del mercado de quesos corresponde a la variedad del fresco (Imaicela, 2013).

- **VARIEDADES DE QUESO EN ECUADOR**

En 2013, el estudio de Robayo y Pachón expresan que en el Ecuador existen gran variedad de quesos y se los ha clasificado según los siguientes criterios:

Según el contenido de agua: quesos frescos o sin madurar, quesos blandos o tiernos, quesos semicurados o semiduros, quesos curados o maduros.

Según la textura del queso: quesos compactos, quesos con ojos redondeados y granulares, quesos con forma irregular

Según el contenido de grasa: quesos grasos, quesos semigrasos, quesos secos.

- **QUESO FRESCO**

El queso fresco es un producto elaborado con la cuajada de leche estandarizada y pasteurizada de vaca o de otras especies animales, obtenida por la coagulación de la caseína con cuajo, cultivos lácticos o enzimáticos, ácidos orgánicos comestibles con o sin tratamiento térmico, sales e ingredientes comestibles opcionales, su característica principal es su alto contenido de humedad, sabor y corteza blanda, tienen un periodo de vida de anaquel corto, requiriendo condiciones de refrigeración (Villegas y Huerta, 2015).

El Instituto Ecuatoriano de Normalización INEN 1528 (2012) reporta que el queso fresco es un queso no madurado ni escaldado, moldeado, de textura

relativamente firme, levemente granular, preparado con leche entera, semi descremada, coagulada con enzimas y/o ácidos orgánicos, generalmente sin cultivos lácticos que está listo para el consumo después de la fabricación.

De acuerdo a la Norma INEN 1528 los quesos frescos deben cumplir con lo establecido en las Cuadro 2.1 y 2.2.

Cuadro 2.1. Composición del queso fresco

Tipo o clase	Humedad % Max NTN INEN	Contenido de grasa en extracto seco, % m/M Mínimo NTN INEN 64
Semiduro	55	-
Duro	40	-
Semiblando	65	-
Blando	80	-
Rico en grasa		60
Entero o graso	-	45
Semidescremado bajo en grasa	-	20
Descremado o magro	-	0.1

Cuadro 2.2. Requisitos microbiológicos del queso fresco.

Requisito	N	M	M	c	Método de ensayo
<i>Enterobacterias Ufc</i>	5	2x10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	1	NTE INEN 1529-13
<i>Escherichia coli UFC/g</i>	5	<10	10	1	AOAC 991.14
<i>Staphylococcus aureus UFC/g</i>	5	10	10 <sup>2</sup>	1	NTE INEN 1529-14
<i>Listeria monocytogenes 25 g</i>	5	Ausencia	-		ISO 11290-1
<i>Salmonella/25 g</i>	5	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.

El queso contiene grasas y proteínas concentradas, es una fuente proteica de alto valor biológico, se destaca por ser una fuente importante de calcio y fósforo, necesarios para la re mineralización ósea. El queso es un alimento rico

en vitaminas A, D y del grupo B, por lo cual debe estar presente en una dieta sana y equilibrada (Haro, 2016).

- **QUESO FRESCO ARTESANAL**

En Ecuador, como en otros países en vías de desarrollo, a la par con la economía del estado existe una economía informal vinculada a la utilización de recursos genéticos locales, entre cuyas actividades se encuentra la venta de alimentos artesanales (Ángel y Gómez, 2010). Esta forma de ofrecer los alimentos a los consumidores puede ser de alto riesgo sanitario, ya que las condiciones en que se procesan y expenden dichos productos no son apropiadas, porque favorecen la contaminación microbiológica (Báez et al., 2016). Por esta razón, resulta de particular importancia tratar de determinar el impacto que la venta de alimentos artesanales como el queso fresco y consecuentemente la presencia de enfermedades por su consumo. Los productos artesanales por su tradición y el compendio de características sensoriales que poseen, gozan de una alta aceptación entre la población ecuatoriana (Villegas y Huerta, 2015).

El queso fresco artesanal se elabora a partir de leche cruda por lo general de vacas criollas, con fermentación espontánea y corta maduración usando metodologías muy rudimentarias, no estandarizadas. El queso fresco artesanal, dentro de la gama de productos lácteos elaborados, es el que cuenta con mayor número de microorganismos patógenos al momento de ser comercializado. Por esta razón la Organización Mundial de Salud le asocia con mayor frecuencia con brotes de intoxicaciones alimentarias (Códex Alimentarius, 2009).

- **PRINCIPALES AGENTES PATÓGENOS QUE DETERIORAN LA VIDA ÚTIL DEL QUESO FRESCO.**

Mamani (2016) considera que cuando se recibe la leche cruda en una industria láctea puede estar contaminada con agentes patógenos tales como *Brucella abortus*, *Campylobacter*, *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes* y *Mycobacterium tuberculosis*, y por microorganismos psicrotróficos causantes

de alteración, tales como pseudomonas. Además, la leche puede estar contaminada con residuos de medicamentos, tales como antibióticos. El proceso de pasteurización debe estar diseñado y controlado para eliminar todos estos riesgos. Posteriormente se han de mantener unas condiciones de refrigeración adecuadas, para evitar la proliferación de microorganismos (Montero, 2017).

- ***Staphylococcus aureus***

Este microorganismo es visible en medios de cultivo como TPEY (tellurite polymyxin egg yolk agar), KRANEP (kalium-rhodani-actidione-natriumazid-eigelb-pyruvate. agar), agar sangre, BP (baird parker agar), agar mullerhinton; es un microorganismo patógeno muy versátil, puede producir enfermedad por toxinas o súper antígenos, invadir cualquier órgano o tejido y originar supuración, necrosis tisular, trombosis vascular y bacteriemia (Saltos, Márquez, López, Martínez y Guerrero, 2018). Los *Staphylococcus aureus* pueden hallarse en el aire, polvo, agua, seres humanos, animales, aguas negras, pisos y ropa. Se ha informado que persisten en el tracto digestivo de las moscas por varios días. Sobreviven y se propagan en el ambiente como saprófitos, pero también son parásitos facultativos de hombres y animales (Ortega, 2018).

El hombre es la fuente más importante de los *Staphylococcus aureus* y es el principal reservorio. Los animales también los albergan y sirven como reservorios, siendo los bovinos los más importantes, ya que en ellos puede provocar mastitis. La fuente principal de *Staphylococcus aureus* es la nariz del humano, aunque también se encuentra en la piel, heridas infectadas, quemaduras, tracto urogenital y gastrointestinal, y en casi todo el cuerpo y sus secreciones (López et al. 2017).

- ***Escherichia coli***

La *E. coli* es una bacteria común que se encuentra en los intestinos de los animales y las personas. Existen muchas cepas de *E. coli*, y la mayoría resultan inofensivas, sin embargo, existe una variedad peligrosa, la *E. coli* O157:H7, que produce una poderosa toxina (shiga) que puede originar graves

enfermedades, como el síndrome urémico hemolítico, que puede desencadenar un fallo renal (Espinoza et al., 2017).

Cuando la bacteria *E. coli* contamina accidentalmente los alimentos destinados al consumo humano, la enfermedad se propaga entre aquellos que han ingerido dichos alimentos. La carne de ganado vacuno, incluso aunque aparentemente tenga buen aspecto, suele ser la principal vía de infección, sobre todo si la carne se comercializa picada, o cuando no tiene el tratamiento térmico adecuado. La *E. coli* puede vivir también en las ubres de las vacas, por lo que puede estar presente en la leche si esta no ha sido pasteurizada, en el queso, *E. coli* se utiliza como un indicador para evaluar la contaminación después de la pasteurización y su presencia puede indicar un tratamiento térmico inadecuado, la falta de higiene durante el procesamiento o el post procesamiento (Saltos et al., 2018).

- ***Listeria monocytogenes***

Es una bacteria que se desarrolla intracelularmente, es uno de los patógenos causantes de infecciones alimentarias más violentas como la listeriosis. Puede encontrarse en una variedad de alimentos crudos, así como en alimentos procesados y hechos con leche no pasteurizada. La listeria es distinta a muchos otros gérmenes porque puede crecer incluso dentro de las temperaturas frías de un refrigerador (Báez et al., 2016).

## **2.2 NUEVAS TENDENCIAS PARA PROLONGAR LA VIDA ÚTIL DE LOS ALIMENTOS**

Los estudios de vida útil para definir la duración de los alimentos son necesarios para no sub o sobre dimensionar el tiempo que realmente dura el producto (Valencia, Millan, Restrepo, y Jaramillo, 2017). La vida útil de un alimento comprende el tiempo transcurrido entre la fabricación y el momento en que se presentan cambios significativos en él, que puedan generar rechazo en el consumidor final. Puede variar según el proceso de producción, la naturaleza del producto y el tiempo de almacenamiento, obteniéndose cambios a nivel microbiológicos, sensoriales y/o fisicoquímicos (Espinoza et al., 2017).

Es importante identificar los factores específicos que afectan la vida útil y evaluar sus efectos individualmente y en combinación. Estos se pueden dividir en: a) factores intrínsecos: materia prima (composición, estructura, naturaleza), actividad de agua, pH, acidez, disponibilidad de oxígeno y potencial redox (Eh); y b) factores extrínsecos: procesamiento, higiene y manipulación, materiales y sistemas de empaque, almacenamiento, distribución y lugares de venta. A nivel sensorial, la vida útil en estantería de los alimentos depende de la aceptación, al interactuar el alimento con el consumidor. Por ello los consumidores son la herramienta más apropiada para determinarla (García et al., 2008).

Morales (2015) detalla que cuando se realizan pruebas sensoriales, el número de muestras representa un punto crítico y se determina según el tipo de diseño experimental, sea básico o escalonado. En el diseño básico se almacena un lote de muestra en las condiciones seleccionadas e ir haciendo un muestreo en tiempos prefijados, mientras que en el diseño escalonado se almacenan diferentes lotes de producción en las condiciones seleccionadas a diferentes tiempos.

### **2.2.1 INDICADORES DE VIDA ÚTIL**

García et al., (2008) expresa que la vida útil es un atributo importante de todos los alimentos; guarda relación con la calidad total del alimento y depende de los ingredientes, del sistema de producción, del transporte y del almacenamiento (incluyendo el que se realiza en los hogares). La vida útil puede determinarse mediante una combinación de análisis microbiológicos y químicos en muestras del alimento tomadas a lo largo de su vida de almacén, siguiendo diversas estrategias.

En las pruebas de almacenamiento, en las que se toman muestras a ciertos intervalos de tiempo y se determina su carga microbiana total y la de ciertos microorganismos alterantes, como *Pseudomonas*, *Brochothrix thermosphacta* o bacterias lácticas. Los recuentos de bacterias viables se comparan con la evaluación química y sensorial del producto, y se establecen correlaciones para

identificar los indicadores clave de la alteración inicial de los alimentos (Tofiño, Ortega, Herrera, Fragoso y Pedraza, 2017).

### **2.2.2 ALTERACIONES CAUSADAS POR MICROORGANISMOS PATÓGENOS EN EL QUESO**

La inocuidad de los alimentos engloba acciones encaminadas a garantizar la máxima seguridad posible de los alimentos. Las políticas y actividades que persiguen dicho fin deben abarcar toda la cadena alimenticia, desde la producción al consumo (Códex Alimentarius, 2009).

En una investigación realizada en el laboratorio de microbiología de la facultad de ingeniería zootécnica de la escuela superior politécnica de Chimborazo, se encontró que, de 40 muestras de leche sin pasteurizar de vendedores ambulantes del sector, 19 resultaron positivas con patógenos de las 19 muestras positivas, 11 presentaron *Staphylococcus aureus*, 7 presentaron *Escherichia coli* y 1 presentó *Shigella* (Colcha y Oña, 2015).

Las propiedades físicas del queso pueden ser afectadas por los diferentes procesos bioquímicos tales como la proteólisis y lipólisis. Las enzimas involucradas en estos procesos pueden estar presentes en el cuajo, la leche o bien ser producidas por microorganismos (Haro, 2016).

Lessard, Viel, Boyle, St-Gelais y Labrie (2014) evaluaron la presencia de *Streptococcus thermophilus* en las propiedades del queso, concluyendo que la presencia de dicho compuesto incrementó la retención de humedad y grasa dentro de la matriz del queso provocando el deterioro del producto por causa de microorganismos.

### **2.2.3 ANTIMICROBIANOS NATURALES**

Se los llama antibióticos naturales ya que proceden del mundo vegetal y pueden inhibir el crecimiento de microorganismos o a su vez eliminarlos, se diferencian de los antibióticos químicos sintéticos porque poseen las siguientes características: No tienen efectos secundarios: en general, no producen reacciones alérgicas o sensibilidad en el estómago. No afectan a los

microorganismos beneficiosos para el organismo, por ejemplo, aquellos que son necesarios para la flora intestinal, no resultan peligrosos por acumulación (Sauceda, 2011).

Un agente antimicrobiano tiene diferentes espectros de inhibición, muchos son efectivos contra una variedad limitada de patógenos, mientras que otros son de amplio espectro es decir atacan diferentes clases de patógenos (Bandoni, Retta, Di Leo y Baren, 2009). Hoy en día existe una demanda significativa de los consumidores por los alimentos que son mínimamente procesados y libres de conservantes químicos sintéticos con la percepción de ser natural (Gamboa y Vásquez, 2015). Como resultado la industria alimentaria se enfrenta a grandes desafíos para producir alimentos naturales, antimicrobianos y antioxidantes para reducir el uso de conservantes químicos sintéticos y seguir produciendo alimentos seguros y saludables (Dennis, Aguilera, y Satin, 2013).

Según García y Palou (2008) los extractos de plantas, principalmente de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), orégano (*Origanum vulgare*), tomillo (*Thymus vulgaris*) y algunos otros, presentan actividad antimicrobiana inhibidora contra ciertos microorganismos de importancia en alimentos. Considerando el gran número de diferentes grupos de compuestos químicos presentes en aceites esenciales es importante decir que su actividad antimicrobiana no se atribuye a un mecanismo específico; sin embargo, existen algunos sitios de acción en la célula en donde pueden ocurrir los siguientes efectos: daño a la membrana citoplasmática, degradación de la pared celular, daño a las proteínas, filtración del contenido celular, coagulación del citoplasma y disminución de la fuerza motriz (Escalante, Urrutia, Arriola, Méndez y Watanabe 2008).

La estructura química de los componentes individuales de los aceites esenciales afecta su modo preciso de acción y su actividad antimicrobiana. La importancia de la presencia de grupos hidroxilo en los compuestos fenólicos ha sido confirmada. Hay estudios que demuestran los efectos antimicrobianos que ejercen los compuestos aromáticos sobre la membrana citoplasmática, alterando su estructura y por consiguiente su función (Pinta y Rodas, 2016).



## **2.3 EFECTIVIDAD DE LOS ACEITES ESENCIALES PARA LA CONSERVACIÓN DE ALIMENTOS**

Los aceites esenciales son líquidos aceitosos obtenidos a partir de diferentes partes de las plantas como flores, yemas, semillas, hojas, ramas, corteza, hierbas, madera, frutos y raíces. Son mezclas complejas de ésteres, aldehídos, cetonas y terpenos. Además, son compuestos olorosos, muy solubles en alcohol y poco solubles en agua. Para la extracción de estos compuestos se pueden utilizar distintos solventes (acetato, etanol, y cloruro de etileno). Los aceites esenciales derivados de plantas son conocidos por su actividad antimicrobiana contra un amplio rango de bacterias y hongos (Sauceda, 2011).

Recientemente, en la industria alimentaria existe un considerable interés en los extractos y aceites esenciales derivados de las plantas debido a su propiedad de controlar el crecimiento de microorganismos patógenos tales como *Fusarium* spp, *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp y *Rhizopus* spp., que han sido reportados como agentes causantes de enfermedades producidas por los alimentos y/o descomposición de los mismos (Viteri y Prado, 2017).

### **2.3.1 INVESTIGACIONES DEL PODER ANTIMICROBIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO IN VITRO**

El timol tiene efectos antibacterianos, antifúngicos y antihelmínticos, pero su mecanismo de acción no está determinado a gran escala, por lo cual se considera que los diferentes grupos químicos que lo componen actúan de diferente forma sobre la célula, teniendo en cuenta que no todos los mecanismos de acción son independientes, algunos pueden verse afectados por la acción del otro (Morales, 2015).

El carvacrol tiene la capacidad de interactuar con la membrana mediante la unión con la capa de los fosfolípidos, provocando una desestabilización de la célula y por consiguiente aumentando la fluidez y la permeabilidad de la misma. Entre los principales mecanismos por el cual los microorganismos son inhibidos por los compuestos fenólicos están, la sensibilización de la bicapa fosfolipídica

de la membrana celular, la cual causa una pérdida de la permeabilidad y de los constituyentes celulares o provoca un daño en las enzimas bacterianas (Melo, López y Méndez, 2015). Es importante resaltar que el carvacrol y el timol, al actuar en conjunto aumentan la permeabilidad de la membrana celular, desintegrando la membrana externa de las bacterias Gram negativas, liberando lipopolisacáridos (LPS) y aumentando la permeabilidad de la membrana citoplasmática a ATP (Rojas, Ortiz, y Almonacid, 2015).

El aceite esencial de tomillo presenta un efecto antimicrobiano de moderado a fuerte sobre algunas bacterias tanto Gram positivas y Gram negativas y en diferentes hongos presentes en alimentos (Montes et al., 2000). Entre algunos de los microorganismos que han presentado actividad antibacteriana se encuentra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Proteus vulgaris*, *Vibrio spp.*, y *Listeria monocytogenes* (Rojas et al., 2015).

Además de ello Gamboa y Vásquez (2015), utilizaron el aceite esencial de tomillo para evaluar algunas especies de bacterias patógenas, donde observaron que este presentaba un gran espectro de acción sobre varios microorganismos, pero sobre *Listeria monocytogenes* su acción fue reducida, lo que indica el bajo rendimiento de este microorganismo al ser evaluado en el actual estudio. Por otro lado, se ha determinado que el aceite esencial de tomillo no presenta actividad a bajas concentraciones frente algunas cepas bacterianas, como por ejemplo la presencia de *Clostridium perfringens* (Morales, 2015).

El aceite esencial de tomillo ha tenido efecto sobre algunas bacterias entéricas ya mencionadas anteriormente incluyendo a *Bacillus cereus* y *Clostridium botulinum*, donde ha producido halos de inhibición alrededor de 7 a 24 mm (Ardila, Vargas, Pérez y Mejía, 2009).

### **2.3.2 INVESTIGACIONES EN OTROS PRODUCTOS ALIMENTICIOS**

Son relativamente pocos los estudios sobre la actividad antimicrobiana de aceites esenciales en sistemas modelo de alimentos o en alimentos propiamente dichos. Para poder evaluar la actividad antimicrobiana de los AE

sobre microorganismos patógenos, se aplican convencionalmente dos técnicas básicas: Método de difusión en agar y Método de dilución (agar o caldo líquido).

Poaquiza (2015) al evaluar el efecto antimicrobiano del AET determinó el 100% de eficiencia germicida en *Staphylococcus aureus* en las cuatro hortalizas; mediante la aplicación de la tecnología de mínimo proceso (inmersión de las hortalizas en aceite esencial de tomillo y el posterior el tratamiento de mínimo proceso mejorando la calidad microbiológica sin afectar el pH y la acidez de las hortalizas, pero si disminuyendo la cantidad de humedad y de ácido ascórbico en cantidades pequeñas obteniéndose inclusive el 100% de eficiencia germicida en coliformes totales, *Salmonella* y *Staphylococcus aureus*.

Melo et al., (2015) en su estudio han demostrado que el AET es efectivo para el tratamiento del acné, gracias a sus propiedades antibacterianas sobre las cepas vinculadas a la fase infectiva del mismo (*P. acnes*, *S. epidermidis*, *S. aureus*).

Lo anterior sirvió de antecedente para que Tofiño et al. (2017) escogieran AET como aceite modelo para probar si sus propiedades bactericidas se mantenían aún después de encapsulado, se evaluó la emulsión del mismo frente a las cepas de acuerdo con la metodología descrita en el modelo empleado y se evidenció que la hidrólisis y posterior liofilización del almidón de ñame permite la microencapsulación de aceite esencial de tomillo con una eficiencia mayor al 98%, en donde el amiloplasto nativo original se constituye en un micro reservorio de este aceite. Su posterior emulsificación lo estabiliza y lo mantiene confinado, aislado del oxígeno y la luz, elementos importantes en la degradación de estos materiales.

### **2.3.3 INVESTIGACIONES EN PRODUCTOS LÁCTEOS**

López et al. (2017) realizaron un estudio denominado "*Tomillo (Thymus vulgaris) como agente antimicrobiano en la producción de queso fresco*" donde se evaluó el efecto de la utilización de las hojas de tomillo en el desarrollo de *Staphylococcus aureus*, microorganismo que está asociado con brotes de

intoxicaciones alimentarias y que comúnmente se encuentra presente en queso fresco de tipo artesanal los cuales concluyeron que a mayor concentración de tomillo mayor el efecto inhibitorio sobre *S. aureus* y que podría utilizarse en la conservación de alimentos como principales compuestos antimicrobianos naturales a fin de asegurar la producción de alimentos microbiológicamente estable.

Morales (2015) analizó el efecto antimicrobiano del aceite esencial del tomillo sobre la contaminación de *Listeria monocytogenes* en queso Ricotta y concluyó que las propiedades organolépticas del queso tratado con aceites esenciales de tomillo a concentraciones menores de 1,6% no afecta de manera significativa los aspectos sensoriales del queso. Así mismo, en los estudios realizados por Elizari (2013) determinó que la inhibición del crecimiento bacteriano aumentó con la concentración de los aceites esenciales, siendo óptima al 3% (p/p) aplicado en films de proteína del suero de leche.

## **2.4 TOMILLO**

El tomillo, es originario del Mediterráneo y pertenece a la familia botánica de las labiadas, igual que otras plantas que se emplean con fines medicinales y culinarios como es el caso del romero, la albahaca o la menta. En la cocina, el tomillo se utiliza como una especia para condimentar todo tipo de platos debido al aroma y sabor de esta planta aromática. Con fines medicinales se utilizan las hojas y flores del tomillo. Podemos prepararlas en infusión de forma interna o también usar el aceite esencial de tomillo (Ortiz y Lombardo, 2009).

### **2.4.1 DESCRIPCIÓN**

*T. vulgaris* o tomillo es una planta aromática, vivaz (que vive más de dos años), leñosa, muy polimorfa, de 10 a 40 cm. de altura, alcanzando el medio metro en zonas protegidas, posee numerosas ramas, leñosas, compactas, de color blanco aterciopelado. Las hojas son lineares, entre 4 y 8 mm., oblongas, sentadas o brevemente pediculadas, opuestas, sin cilios, con el peciolo o sus márgenes revueltos hacia abajo y blanquecinas por su revés (Montes et al., 2000).

Las flores se encuentran agrupadas en la extremidad de las ramas, son rosadas, blancas, y axilares, forman una especie de apículo terminal, a menudo, con inflorescencia interrumpida. Los cálices se presentan algo gibosos, tres dientes en el labio superior, cortos y casi iguales, y dos en el inferior, siendo estos muy agudos, de mayor longitud, con pelos en sus bordes y de color rojizo. Las corolas son algo más largas que los cálices, con el labio superior erguido y el inferior trilobulado (Ortiz y Lombardo, 2009).

#### **2.4.2 COMPOSICIÓN**

En su composición química destacan los flavonoides y el aceite esencial en un 1-2,5% constituido principalmente por fenoles monoterpénicos, como timol, carvacrol, p-cimeno, gamma terpineno, limoneno, borneol y linalol. No obstante, se ha de tener en cuenta que la composición del aceite esencial es variable según la época y lugar de la cosecha, además de la bien conocida existencia de diferentes quimiotipos, por esto sus principales componentes son el timol y el carvacrol, cimol, Vitamina B1, Vitamina C, taninos, Manganeseo, saponinas, triterpenoides, flavonoides (derivados de apigenol y luteolol), ácidos fenoles (ácido cafeico, rosmarínico), alcoholes (borneol, linalol), terpenos (terpineno, cimeno) (Angulo et al., 2009).

#### **2.4.3 ACCIÓN FARMACOLÓGICA**

Se lo utiliza como digestivo, estimulante del apetito, antiparasitario, antihelmíntico, anticatarral, antimicrobiano, antiséptico, cicatrizante, antiespasmódico, carminativo, expectorante, mucolítico, diaforético. Las propiedades carminativas del aceite esencial de tomillo lo hacen un efectivo tratamiento para diferentes malestares estomacales (Rovetto et al., 2010).

El tomillo es una de las fuentes más ricas de potasio, hierro, calcio, manganeso, magnesio y selenio. El potasio es esencial para el funcionamiento y control adecuado de los fluidos corporales, ayuda a mantener regulada la presión arterial y el ritmo cardíaco, también contiene grandes cantidades de vitaminas y minerales esenciales para la salud (Folcarà y Vanaclocha, 2000).

#### 2.4.4 PROPIEDADES ANTIMICROBIANAS

Entre sus propiedades podemos destacar sus características antibacterianas y anti fungicidas debido al timol y otros aceites esenciales que se encuentran en esta planta. El aceite esencial de tomillo se compone de timol, carvacrol, borneol, linalol, cimeno, pineno, dipenteno y acetato de bornila), un principio amargo, tanino y materias resinosas y pépticas el tomillo actúa como digestivo, antiséptico, vermífugo, y como estimulante sedativo en las crisis de tos (Aziz, Asghar y Ahmed, 2010).

La esencia tiene un poder antiséptico superior del fenol al del agua oxigenada en la actualidad está bien comprobada la acción bactericida de la esencia de tomillo sobre los bacilos tífico, diftérico, tuberculoso (bacilo de Koch), y sobre los meningococos (causantes de la meningitis), los neumococos y los *Staphylococcus aureus*. Su acción antimicrobiana se ve potenciada por la capacidad que tiene para estimular el fenómeno de la leucocitosis (Cardoso y Sosa, 2012).

Estudios realizados recientemente demostraron que esta planta contiene componentes fenólicos como el timol anetol y boneol en las hojas y carvacrol y anetol en toda la planta, lo cual hace que tenga una gran propiedad antimicrobiana contra diversos microorganismos de interés en alimentos (Escalante et al., 2018).

Está comprobado que sobre células de *B. cereus* y *Clostridium botulinum*, el timol puede inhibir algunos de los procesos como la germinación, crecimiento y multiplicación célula, e igualmente timol depende de ciertos factores como el tipo de microorganismo, pH del medio y temperatura de incubación (Rojas et al., 2015). Su propiedad antimicrobiana se debe a su carácter lipofílico en la acumulación en membranas pérdida de energía, y en cuanto a la inhibición bacteriana se debe a su hidrofobicidad y a los puentes de hidrógeno de sus constituyentes fenólicos a proteínas de membrana, cambiando la permeabilidad y características de la membrana (Elizari, 2013).

## **CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO**

El desarrollo de esta investigación se llevó a cabo en La planta de elaboración de quesos artesanales "LA MARIMBA", la cual está ubicada en el Km. 1 vía Venado de la parroquia Rosa Zárate, cabecera cantonal del cantón Quinindé, provincia de Esmeraldas entre las coordenadas 0°19' 48" N y 79° 28' 48" W.

Los análisis microbiológicos y fisicoquímicos se realizaron en el laboratorio de investigación de ciencias de alimentos de la facultad ciencias agropecuarias de la universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, ubicada en la avenida circunvalación, vía San Mateo en la ciudad de Manta, entre las coordenadas: 0°57'9.86" S y 80° 44'42.64" W.

El análisis sensorial se realizó en ESPAM-MFL en la ciudad de Calceta sitio El Limón, entre las coordenadas 0° 49' 35.25" S y 80° 11' 10.54" W.

### **3.1 DURACIÓN**

La presente investigación se desarrolló durante 5 meses los cuales comprendieron desde el mes de enero hasta el mes de mayo del 2019.

### **3.2 FACTOR EN ESTUDIO**

El factor de estudio fue la concentración de aceite esencial de tomillo.

#### **NIVELES DEL FACTOR**

Los niveles de estudio fueron los siguientes y se detallan en el cuadro 3.1.

a1 = 0,1%

a2 = 0,2%

a3 = 0,3%

Los porcentajes estuvieron en relación peso/peso

Cuadro 3.1 Descripción de factor y niveles

FACTOR	Niveles	Descripción
0,1 %	A1	0,1% de AET
0,2 %	A2	0,2% de AET
0,3 %	A3	0,3% de AET

### 3.3 DISEÑO EXPERIMENTAL

La parte experimental de esta investigación constó de dos etapas en la primera se calculó la vida útil en días utilizando el modelo de regresión lineal para cada uno de los tratamientos y sus respectivas réplicas.

El modelo estadístico fue del ADEVA de 1 factor donde el factor fue cada tratamiento y la variable respuesta en días.

Por último, a los resultados del análisis sensorial de preferencias por ordenamiento a 75 catadores no entrenados, se le realizó análisis estadístico no paramétrico mediante el ADEVA de Friedman.

### 3.4 UNIDAD EXPERIMENTAL

La unidad experimental fue de 4,54 kg por cada tratamiento cantidad que se fraccionó en presentaciones de 0,454 kg para el mejor manejo de las pruebas de laboratorio.

### 3.5 MANEJO DEL EXPERIMENTO

Se elaboraron los quesos a partir de leche bovina entera la cual fue caracterizada mediante análisis físico químicos, microbiológicos e instrumentales por el personal de los laboratorios de la ULEAM. Luego de tomadas las muestras se realizó el proceso según el siguiente diagrama (figura 3.1).



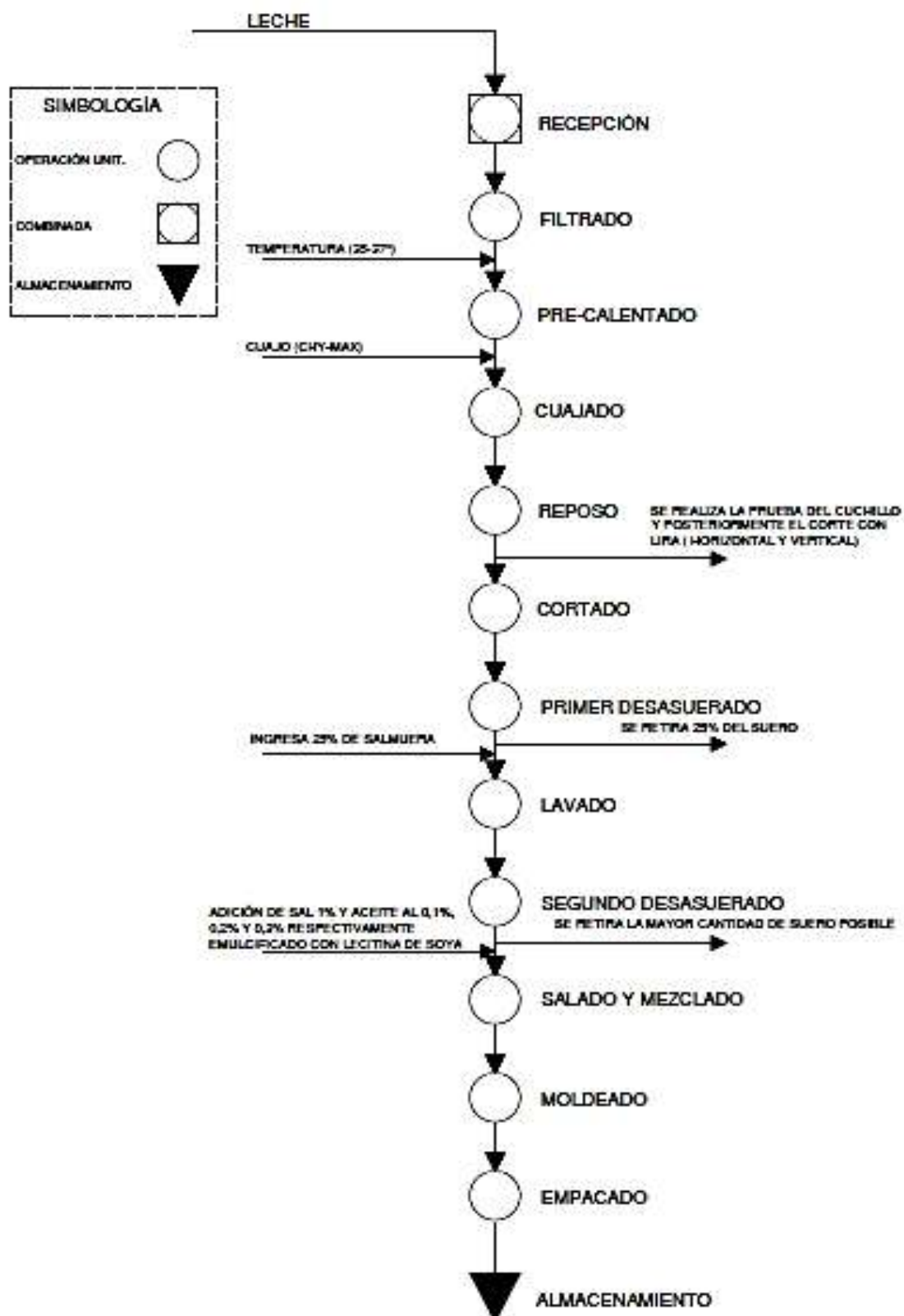


Figura 3.1 Diagrama de flujo del queso

### 3.6 VARIABLE EVALUADA

Para el experimento se midió la variable de la vida útil por indicadores fisicoquímicos y microbiológicos, además se realizaron análisis requeridos por las normativas locales para garantizar la inocuidad del alimento, a continuación, se detallan los análisis realizados.

- **Vida útil**

Se determinó aplicando un método predictivo de acuerdo a la ecuación propuesta por Alvarado (1996) en base a Labuzá (1982):

$$\ln A = \ln A_0 + Kt \quad [3.1]$$

Donde: A = número de microorganismos al tiempo t

A<sub>0</sub> = número de microorganismos al tiempo cero

K = Constante de velocidad de reacción (incremento del número UFC/g a través del tiempo)

t = tiempo de vida útil

Para poder aplicar la ecuación previamente se realizó contaje del parámetro microbiológico para el cual se seleccionó el *Staphylococcus aureus* por ser el microorganismo contaminante más peligroso en este tipo de producto, para el parámetro físico químico se midió el pH una vez obtenidos los 5 valores se procedió a determinar el logaritmo natural de cada uno de ellos, valores necesarios que permitieron obtener la cinética de comportamiento de orden 0, la cual es específica para el crecimiento de microorganismos en alimentos (Alvarado, 1996).

- **Análisis fisicoquímicos**

A los quesos frescos se les realizó las siguientes determinaciones: pH. Se realizó mediciones a los días 0, 2, 4, 6, 8 a todos los tratamientos y sus

respectivas réplicas y se determinó la curva de vida útil mediante este parámetro de deterioro.

Acidez por titulación, método 16.267 (AOAC, 2000), usando como indicador fenolftaleína y NaOH 0.1N. Se evaluó humedad por el método gravimétrico 966.02 (AOAC, 1996) y grasa mediante el método Babcock, el cual emplea un butirómetro de escala 0-50%, todos estos análisis se realizaron a los días 0, 2, 4, 6, 8 de cada tratamiento y sus respectivas réplicas. (ver anexo 1)

- **Análisis sensorial**

Para este análisis se convocaron 75 consumidores. Se aplicó un análisis descriptivo cuantitativo, la escala utilizada fue de 1 a 5, siendo 5 la característica más óptima de la categoría, decreciendo los defectos hacia 1. Las categorías evaluadas serán: olor, sabor y textura. Cada consumidor se le brindó 4 muestras de queso en cucharas plásticas codificadas con números aleatorios de tres cifras (antes mencionados), entre las muestras cada consumidor debía comer galleta de marca comercial para limpiar su paladar, este análisis se realizó al día 5 de haber sido producidos los quesos, pero únicamente a los tratamientos que estuvieron dentro de los parámetros establecidos para queso fresco artesanal esto en base a los resultados del día 2 y 4. (ver anexo 2 y 3)

- **Análisis Instrumental**

Se realizaron mediciones instrumentales mediante análisis de perfil de textura (TPA), usando un texturómetro TAXT2i (stable micro systems), provisto con una celda de carga de 50 kg y una sonda esférica de 0,5 mm de diámetro. Las condiciones de operación fueron: velocidad de pre ensayo 2 mm/s, velocidad de ensayo 10 mm/s, velocidad post ensayo 5 mm/s, altura de compresión del producto 80% y tiempo entre compresión de 0,8 seg, los parámetros de instrumentales para la textura, en este parámetro solo se tomó en cuenta el rango de firmeza. Esta prueba se realizó a igual tiempo que la evaluación de pH.

- **Análisis microbiológicos**

Se realizaron los análisis a todos los tratamientos y sus réplicas, el microorganismo de interés escogido fue el *Staphylococcus aureus* y este se basó a la norma NTE INEN 1529-14 en los laboratorios de la ULEAM, esta prueba se realizó a igual tiempo que la evaluación de pH.

### **3.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Para el análisis estadístico de la variable en estudio se realizó las siguientes pruebas:

- a) Análisis de varianza (ADEVA): supuestos de normalidad, independencia y homocedasticidad. Se realizó para determinar la existencia de diferencia significativa estadística entre tratamientos.
- b) Prueba de Levene.
- c) Por último, a los resultados del análisis sensorial, se le realizó estadístico no paramétrico mediante el ADEVA de Kruskal Wallis.

### **3.8 TRATAMIENTOS DE DATOS**

SPSS Statistics ayudó con el análisis de datos, utilizado para generar informes tabulares, gráficos y estadísticos descriptivos.

## CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las propiedades físicas del queso fresco con aceite esencial de tomillo se analizaron mediante los supuestos del ADEVA los cuales sugieren pruebas como normalidad y homogeneidad; en este estudio los datos se comportaron con normalidad  $p > 0,05$ .

Luego de comprobar la normalidad se procedió a comprobar la homogeneidad (Cuadro 4.1) con la prueba de Levene, para los tratamientos a1, a2, a3, la misma que arrojó una sig.  $p < 0,05$  para firmeza la que indica que esta variable no se está comportando con homogeneidad; mientras que las otras variables como la humedad y el parámetro de acidez con una sig.  $p > 0,05$  lo que indica que se comportan homogéneamente.

**Cuadro. 4.1 Homogeneidad de la varianza de las características fisicoquímicas e instrumentales en quesos**

Parámetro	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
FIRMEZA	4,83	2	42	0,01
HUMEDAD	2,69	2	42	0,08
ACIDEZ	2,70	2	42	0,08

En el ADEVA factorial (Anexo 5) se pudo identificar el p-valor para tratamientos como para días; teniendo una sig.  $p < 0,05$  para humedad y acidez tanto para tratamiento como para días; mientras que para la variable grasa esta no sufrió cambio durante la investigación

### 4.1 FISICOQUÍMICOS

#### 4.1.1 Categorización de variables físico químicas por tratamiento

Se pudo observar la categorización de las variables humedad y acidez según la prueba discriminativa de Tukey (Cuadro 4.2), la humedad proyectó dos categorías teniendo al queso con 0,3% de aceite de tomillo en la primera categoría con una media de 44,44%. Todos los quesos se mantuvieron en la categoría de los quesos semi duro según la categorización de la Norma INEN 1528. En cuanto a la acidez se tiene que el queso con 0,1% de adición de AET como el mejor puntuado con una media de 0,51% mismo que presentó menor

concentración de acidez. Este parámetro en el queso es un factor que no solo tiene incidencia en el sabor si no también provoca cambios en la red de proteína (cuajada) del queso, teniendo esta una correlación directa en los fenómenos de sinéresis, y textura final (Ramírez y Vélez, 2012).

**Cuadro 4.2 Medias de propiedades fisicoquímicos de los quesos con diferentes concentraciones de AET**

AET %	HUMEDAD %	Acidez %
0,1	44,44 <sup>a</sup>	0,51 <sup>a</sup>
0,2	45,20 <sup>b</sup>	0,54 <sup>b</sup>
0,3	45,91 <sup>b</sup>	0,56 <sup>b</sup>
Sig.	p< 0,05	p< 0,05

#### 4.1.2 Categorización por días de almacenamiento

Categorización de las variables humedad y acidez con respecto a los días de almacenamiento según la prueba discriminativa de tukey (cuadro 4.3), muestra tres categorías; teniendo al día 8 de almacenamiento como el mejor puntuado con una media de 41,79 el contenido de humedad es uno de los factores más importantes, en cuanto a la durabilidad del producto y está relacionado con el contenido de actividad acuosa del mismo, a mayor contenido de humedad mayor contenido de aw en el producto y por lo tanto es más susceptible al ataque por microorganismos sin contar con las condiciones de almacenamiento adecuadas (Imaicela, 2013). Para la variable acidez el día 0 fue el de mejor media con un valor de 0,47 esto es consecuente con los resultados obtenidos por Maldonado, et al. (2011), donde muestra las curvas de descenso de pH y aumento de acidez durante el almacenamiento de los quesos.

**Cuadro 4.3 Medias de propiedades fisicoquímicas de los quesos con diferentes concentraciones de AET durante los días de almacenamiento.**

PERIODO DE ALMACENAMIENTO	HUMEDAD %	Acidez %
DIA 0	48,00 <sup>c</sup>	0,47 <sup>a</sup>
DIA 2	47,66 <sup>c</sup>	0,53 <sup>b</sup>
DIA 4	44,68 <sup>b</sup>	0,56 <sup>c</sup>
DIA 6	43,79 <sup>b</sup>	0,57 <sup>c</sup>
DIA 8	41,79 <sup>a</sup>	0,58 <sup>c</sup>
Sig.	p< 0,05	p< 0,05

La grasa en los análisis se mantuvo constante en todos los tratamientos durante los 8 días de análisis, esto se debió a que todos los tratamientos y repeticiones se realizaron con la misma materia prima homogenizada previamente esto con la intención de evitar el porcentaje de materia grasa y con ella el aroma y sabor característico del queso, coincidiendo con los estudios realizados por Rodríguez (2016), quien asegura que los componentes de la grasa de la leche son parcialmente responsables tanto del aroma y sabor del queso, sino también del cuerpo y textura. Los efectos debidos a la grasa sobre determinado tipo de queso, dependen de la composición y carácter físico de la grasa.

#### **4.2 INSTRUMENTALES FIRMEZA Y pH**

La caracterización de los rangos según los subconjuntos de la categoría firmeza muestra 3 categorías (Cuadro 4.4) teniendo a el tratamiento 0,1% de AET es el que tiene mejor características de firmeza, esto concuerda con los datos que obtuvimos en el parámetro de humedad donde el mismo tratamiento tuvo la mejor categoría, y además con los resultados de Villegas y Huerta (2015), que expresan que: un contenido alto de humedad o grasa debilita la firmeza de la estructura dado que, necesariamente, las proteínas deben estar más alejadas entre sí; en el pH se obtuvieron dos categorías teniendo al tratamiento con 0,1% de AET con una media de 5,07 en la categoría (a), esto aporta un sabor ligeramente ácido al queso elaborado y una textura blanda lo cual coincide con los estudios de Montero (2017) quien asegura que las variaciones en el pH se asocian con los cambios de textura.

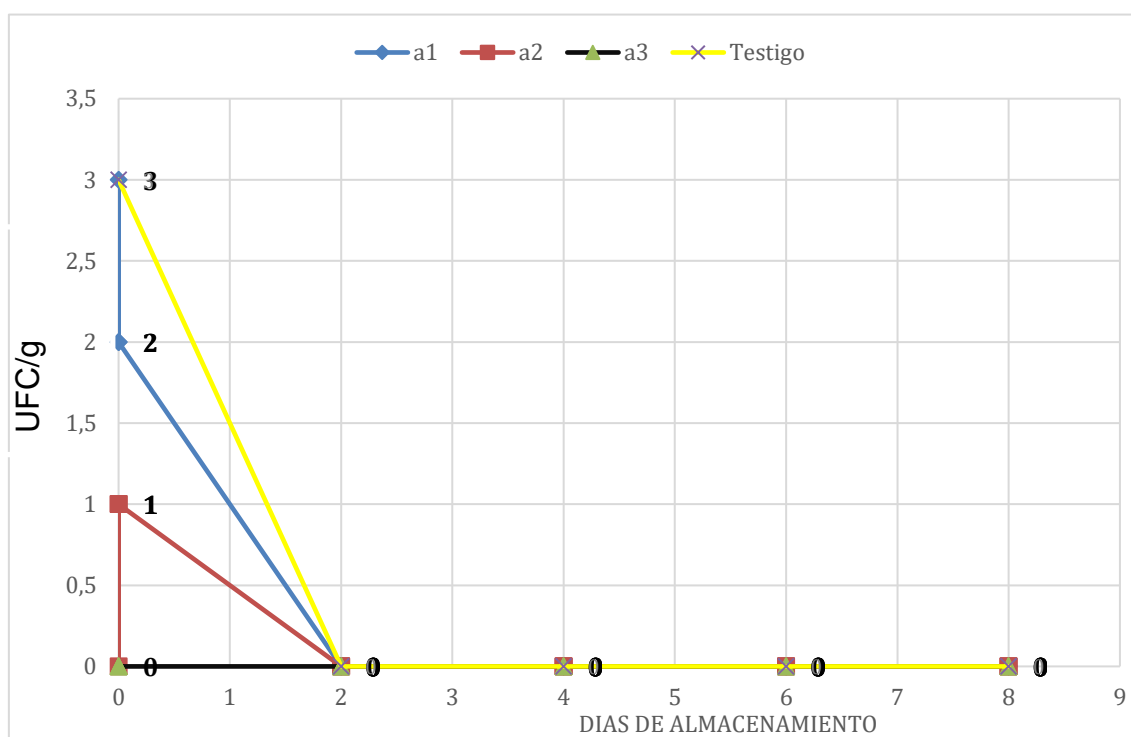
La leche líquida contiene varios componentes entre los que destaca su azúcar, la lactosa, este lo aprovechan las bacterias, tanto las “beneficiosas” como las bacterias ácido lácticas (las que producen el queso), como las contaminantes como fuente de energía. La lactosa cuando se utiliza por las bacterias produce entre otros compuestos ácido láctico y este es el responsable de que el pH o acidez de la leche vaya disminuyendo a lo largo de la producción de queso. (Báez et al., 2016).

**Cuadro 4.4 Categorización de análisis instrumentales por tratamiento en los quesos**

EAT %	Firmeza %	pH
0,1	31,60 <sup>a</sup>	5,07 <sup>b</sup>
0,2	23,00 <sup>a-b</sup>	5,10 <sup>a-b</sup>
0,3	14,40 <sup>b</sup>	5,14 <sup>a</sup>
Sig.	p<0,05	p< 0,05

### 4.3 COMPORTAMIENTO DEL *Staphylococcus aureus* EN QUESO FRESCO DURANTE EL ESTUDIO

La figura 4.1 muestra el comportamiento del *Staphylococcus aureus* en el queso, en las cinco evaluaciones realizadas, las cuales no sobrepasaron el límite permisible de M = 10 UFC/g que denota la norma INEN 1528 por lo se tuvo la confianza que el total de las muestras fueron aptas para el consumo humano en cuanto al criterio de calidad microbiológica.



**Figura 4.1 Comportamiento del *Staphylococcus aureus* en el queso durante el tiempo de almacenamiento**

Se observa en la gráfica que en todas las concentraciones utilizadas e incluso en el testigo se controló el microorganismo a partir del segundo día, por lo cual no se puede atribuir este comportamiento al AET, pero las bacterias lácticas no



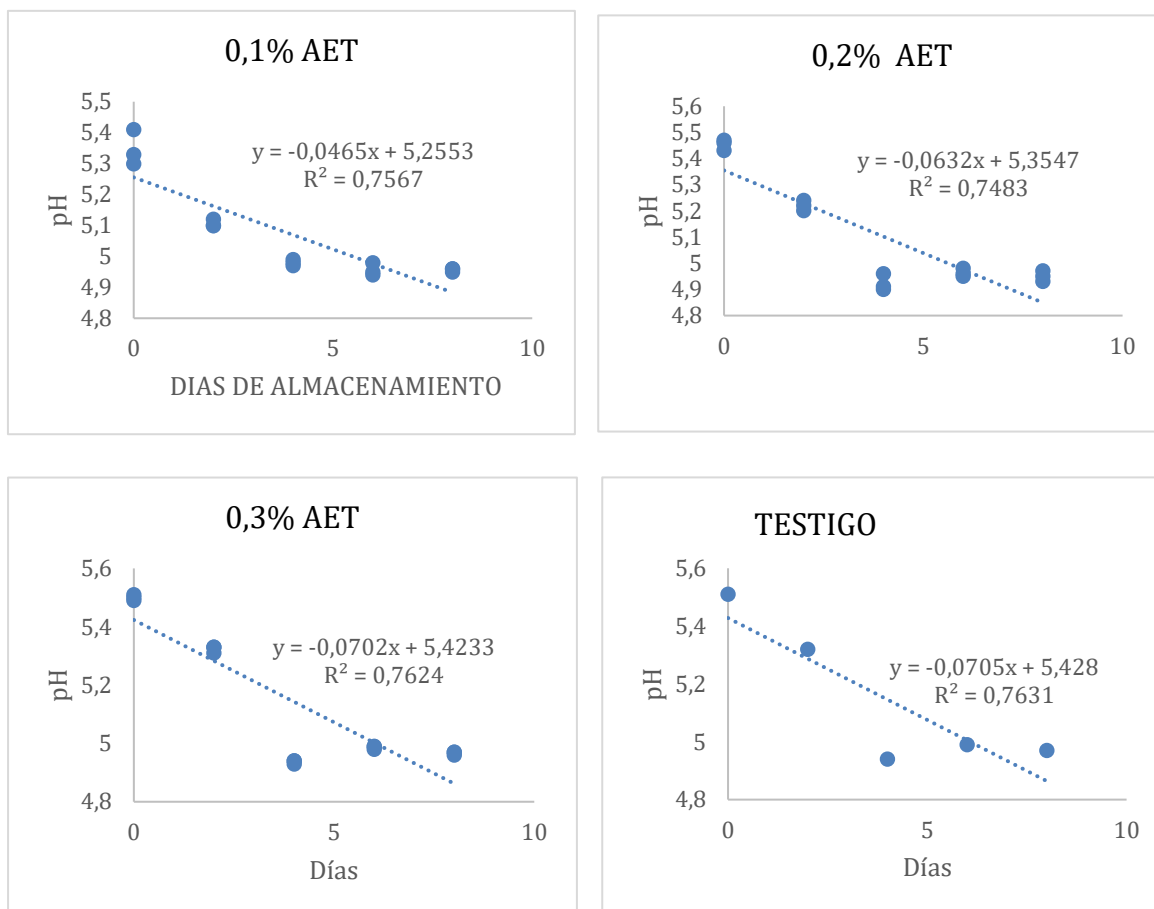
sólo son interesantes en la industria alimentaria por inducir características organolépticas y estructurales deseables, sino también por inhibir el desarrollo de microorganismos no deseables, alterantes y patógenos, por lo que en muchos casos son utilizadas para extender la vida útil e incrementar la calidad higiénica de los alimentos, la reducción del pH y la utilización de los carbohidratos disponibles parecen constituir el principal mecanismo de antagonismo microbiano (Ortega, 2018).

Además, los análisis mostraron un ascenso brusco de la acidez y disminución del pH en los primeros dos días esto debido a que las bacterias lácticas producen, además de los ácidos orgánicos, otras sustancias antagonistas, como son el peróxido de hidrógeno y otros radicales libres, diacetilo, acetaldehído, isómeros "D" en los aminoácidos y otros metabolitos, como moléculas pequeñas no proteicas y bacteriocinas (Báez et al., 2016).

#### **4.4 VIDA ÚTIL DEL QUESO ARTESANAL**

Para determinar la vida útil del queso fresco con respecto al pH se aplicó una regresión lineal con la ecuación de Labuzá, con esto se obtuvo el tiempo en días (t) para esto se debe establecer un límite mínimo de pH el cual fue 5, este valor dado por la norma mexicana NMCF-099-1970 (SCFI, 1970) ya que la normativa local no hace referencia a este parámetro. (ver Anexo 7)

En la figura 4.2 se procedió a realizar una regresión lineal de grado 0, en la cual las pendientes son negativas por eso se tomó el valor mínimo de la norma mexicana para quesos frescos pasteurizados ya que no hay normativa para quesos artesanales con leche sin pasteurizar; con lo que obtuvo el tiempo de vida útil para los quesos con concentraciones de AET del 0,1% (5,49 días); 0,2% (5,61 días); 0,3% (6,03 días) y el testigo (6,07 días). Podemos denotar que a pesar de que la leche no tuvo tratamiento térmico la vida útil de los quesos se mantuvo dentro de los rangos aceptables.



**Figura 4.2** Regresión lineal para determinación de vida útil de los quesos mediante ecuación de Labuzá.

## 4.5 ANÁLISIS SENSORIAL

Una vez realizado el análisis sensorial a los 75 catadores no entrenados teniendo una tabla de categorías de acuerdo con escala hedónica (Ver anexo 2), se tabularon los datos y se obtuvieron los siguientes resultados.

La prueba de normalidad de la varianza de Kolmogórov-Smirnov indica que se cumple el supuesto estadístico el mismo que fluctúa entre 0,22 y 0,47  $gl=75$  con una significancia  $p < 0,05$  para todas las categorías las cuales son; olor, sabor, textura (Ver anexo 6)

El resumen de prueba de hipótesis de Kruskal Wallis de muestras independientes indica que se rechaza la hipótesis nula para la distribución de los tratamientos (con una sig.  $p < 0,05$  en las categorías olor, sabor y textura).

La caracterización de los rangos según los sub conjuntos homogéneos (Cuadro 4.5) muestra para la categoría olor y sabor a las muestras con 0,1% de AET una categoría más cercana al testigo, esto concuerda con Ortega (2018) quien detalla que las concentraciones menores de aceite esencial de orégano en quesos fueron más aceptadas por los panelistas en su estudio y con Hernández (2005) quien detalla que el sentido del gusto hace referencia a los sabores en los alimentos y a la combinación de tres propiedades: olor, aroma y gusto

Para el atributo textura en cambio fueron los quesos con 0,3% de AET es el que tiene una categoría más cercana al testigo, lo cual corrobora los datos obtenidos en el parámetro de firmeza donde el tratamiento a3 también obtuvo la mejor categoría lo cual corrobora que existe una convergencia entre las medidas instrumentales y las técnicas de la ciencia sensorial (Valencia et al., 2017).

**Cuadro 4.5 Valoración sensorial media de los quesos.**

EAT (%)	OLOR	ATRIBUTO SABOR	TEXTURA
<b>0</b>	4,19 <sup>a</sup>	4,27 <sup>a</sup>	4,19 <sup>a</sup>
<b>0,1</b>	3,61 <sup>b</sup>	3,99 <sup>b</sup>	3,53 <sup>c</sup>
<b>0,2</b>	2,99 <sup>c</sup>	3,53 <sup>c</sup>	3,31 <sup>d</sup>
<b>0,3</b>	2,09 <sup>d</sup>	2,59 <sup>d</sup>	3,80 <sup>b</sup>

## **CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

### **5.1 CONCLUSIONES**

- El Aceite esencial de tomillo en concentraciones de 0.3% tiene efectos positivos en relación a las demás concentraciones evaluadas, permitiendo alargar la vida útil del queso fresco artesanal.
- El aceite esencial de tomillo en las concentraciones evaluadas no tuvo aceptación por parte de los panelistas en cuanto a las características sensoriales del queso fresco artesanal.

### **5.2 RECOMENDACION**

- No utilizar el aceite esencial de tomillo en la elaboración de queso fresco, debido a que no proporciona una buena aceptación por parte de los consumidores.

## BIBLIOGRAFÍA

- Albán, J. (2015). *Evaluación de la capacidad antimicrobiana de las hojas frescas y deshidratadas de laurel (Laurus nobilis) y tomillo (Thymus vulgaris) para la conservación de queso fresco* (Tesis de pregrado). Recuperado de dspace. unach: <https://goo.gl/Sfwd7f>
- Alvarado, J. (1996). Principios de ingeniería aplicados a alimentos. Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos. Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. Proyecto Multinacional de Biotecnología y Tecnología de Alimentos. Recuperado de: <https://www.researchgate.net/profile>
- Ángel, F., y Gómez, A. (2010). *Implementación y diseño de procedimiento para determinación de vida útil de quesos frescos, chorizos frescos y aguas en bolsa* (Tesis doctoral). Recuperado de utp.edu: <https://goo.gl/uWrjJC>
- Angulo, M. Á., Armenta, E., García, R. S., Carrillo, J. A., Salazar, E., y Valdéz, J. B. (2009). Extractos de semilla de *Swietenia humilis* Zucc. con actividad antifúngica en *Rhizopus stolonifer*. *Revista mexicana de fitopatología*, 27(2), 84-92. Recuperado de: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S018533092009000200001&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S018533092009000200001&script=sci_arttext&tlng=pt)
- Ardila, M., Vargas, A., Pérez, J., y Mejía, L. (2009). Ensayo preliminar de la actividad antibacteriana de extractos de *Allium sativum*, *Coriandrum sativum*, *Eugenia Caryophyllata*, *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis* y *Thymus vulgaris* frente a *Clostridium perfringens*. *Biosalud*, 8(3), 47-57.
- Aziz, S. I., M., Asghar, S. F., y Ahmed, I.A. (2010). Phytotoxic and antifungal activities of essential oils of *Thymus serpyllum* grown in the State of Jammu and Kashmir. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 13(2), 224-229. Recuperado de: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/0972060X.2010.10643816>
- Báez, R.E., Medina, J.A., Escalona, A.D., Rodríguez, J.L., Olivares, A.E., y Thomas, L.D. (2016). Quesos artesanales venezolanos: evaluación de la calidad bacteriológica e identificación de bacterias ácido lácticas como componentes bacterianos de interés biotecnológico. *Revista Científica*, 26(2). Recuperado de: <http://www.redalyc.org/html/959/95945988002/>

- Bandoni, A. L., Retta, D., Di Leo, P. M., y Baren, C. M (2009). ¿Son realmente útiles los aceites esenciales? *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 8(5).
- Cardoso, G. A., y Sosa, M. E. (2012). Propiedades del aceite esencial de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) y sus aplicaciones en alimentos. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos*, 6(1), 54-65. Recuperado de: <https://tsia.udlap.mx/propiedades-del-aceite-esencial-de-albahaca-ocimum-basilicum-l-y-sus-aplicaciones-en-alimentos/>
- Chapa, B. A. (2018). Efecto antimicrobiano del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) sobre *Listeria monocytogenes* en queso fresco (Doctoral dissertation, Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas-UNTRM).
- Códex Alimentarius (2009). *Código de prácticas de higiene para la leche y los productos lácteos*. 2 ed. Roma, IT. FAO/OMS. p. 187-190.
- Colcha, F., y Oña, W. (2015). "Proyecto de Factibilidad para la creación de una empresa dedicada a la pasteurización de leche en la parroquia de San Isidro, cantón Morona, provincia de Morona Santiago" (Tesis de pregrado). Recuperado de dspace. epoch.edu.ec: <http://dspace.epoch.edu.ec/handle/123456789/8253>
- Dennis, C., Aguilera, J. M., y Satin, M. (2013). Tecnologías que dan forma al futuro. *Agroindustrias para el desarrollo*, 103. Recuperado de: <http://bivica.org/upload/agroindustrias-desarrollo.pdf#page=112>
- El Telégrafo. (18 de octubre de 2014). La producción lechera en Ecuador genera \$1.600 millones en ventas anuales. *El Telégrafo*. Recuperado el 15 de junio de 2018 de: <https://alsur.eltelegrafo.com.ec/noticias/economia/4/la-produccion-lechera-en-ecuador-genera-1-600-millones-en-ventas-anuales-infografia>
- Elizari, R. (2013). Actividad antibacteriana de aceites esenciales de orégano y tomillo incorporados en soluciones formadoras de films sobre la microbiota superficial de filetes de merluza. (Tesis de maestría). Recuperado de: <https://academica-e.unavarra.es/handle/2454/8746>
- Escalante, A. S., Urrutia, R. T., Arriola, P. C., Méndez, F. G., y Watanabe, G. H. (2008). Sistemas combinados de conservación para prolongar la vida útil de la carne y los productos cárnicos. *Nacameh*, 2(2), 124-159. Recuperado de: <https://bmcgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2164-15-235>

- Espinoza, S., Ortiz, P., y López, H. (2017). Evaluación de la capacidad antimicrobiana de las hojas de *Laurus nobilis* y *Thymus vulgaris*. *Revista Ciencia UNEMI*, 10(24), 46-50. Recuperado de: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6430733>
- Folcarà, S. C., y Vanaclocha, B. V. (2000). del tomillo. *Revista de fitoterapia*, 1, 5-13. Recuperado de: <https://www.fitoterapia.net/index.html>
- Gamboa, J.A, y Vásquez, M.T. (2015). Efecto del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* sobre la supervivencia de *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi A* y *Bacillus cereus*. *Revista Rebiolest*, 3(1), 42-51. Recuperado de: <http://www.revistas.unitru.edu.pe/index.php/ECCBB/article/view/894>
- García R. M., y Palou, E.K. (2008). Mecanismos de acción antimicrobiana de timol y carvacrol sobre microorganismos de interés en alimentos. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 2(2), 41-51. Recuperado de: [https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No2-Vol-2/TSIA-2\(2\)Garc%C3%ADa-Garcia-et-al-2008a.pdf](https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No2-Vol-2/TSIA-2(2)Garc%C3%ADa-Garcia-et-al-2008a.pdf)
- García, E., Cardona, J., y Garcés, Y. (2008). Estimación de la vida útil fisicoquímica, sensorial e instrumental de queso crema bajo en calorías. *Revista Lasallista de investigación*, 5(1), 28-33. Recuperado de: <http://hdl.handle.net/10567/478>
- Haro, J. (2016). Análisis Microbiológico de los quesos frescos comercializados en el mercado Simón Bolívar (San Alfonso) de la ciudad de Riobamba (Tesis de pregrado). Recuperado de: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/4986>.
- Hernández, E. (2005). Evaluación sensorial. Bogotá, DC. Centro Nacional de Medios para el Aprendizaje. Recuperado de: <https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/34955977/4902>
- Imaicela, E. (2013) “*Estudio de mercado en la ciudad de Loja, para los productos yogurt, queso y leche pasteurizada sin envasar, elaborados por la empresa de lacteos Zamora chinchipe S.A.*”,(Tesis de pregrado) Recuperado de: [dspace.unl.edu.ec:http://dspace.unl.edu.ec/jspui/handle/123456789/9579](http://dspace.unl.edu.ec:8080/handle/123456789/9579)
- Instituto Ecuatoriano de Normalización (2012) *NTE INEN 1528: Norma general para quesos frescos no madurados. Requisitos*. Primera revisión. Ecuador

- Labuzá, T. P. (1982). Shelf-life dating of foods. *Food y Nutrition Press, Inc.*.recuperado de <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract>
- Lessard, M. H., Viel, C., Boyle, B., St-Gelais, D., y Labrie, S. (2014). Metatranscriptome analysis of fungal strains *Penicillium camemberti* and *Geotrichum candidum* reveal cheese matrix breakdown and potential development of sensory properties of ripened Camembert-type cheese. *BMC genomics*, 15(1), 235. Recuperado de: <https://bmcbgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2164-15-235>
- López, A. M., Herrera, B., Salazar, M., Rojas, F., Gavín, V., y Escobar, J. A. (2017). Tomillo (*Thymus vulgaris*) como agente antimicrobiano en la producción de queso fresco. *Revista Amazónica Ciencia y Tecnología*, 6(1), 45-54. Recuperado de: <http://revistas.proeditio.com/REVISTAMAZONICA/article/view/1901>
- Mamani, E. (2016). *Evaluación de factores que influyen en la absorción de sal y determinación de vida anaquel en la elaboración de queso tipo paria*. (Tesis de pregrado). Recuperado de unap.edu: <https://goo.gl/Bh81T1>
- Maldonado, R., Rodríguez, M., Llanca, L., Román, Y., Isturiz, R., Giménez, O., y Meléndez, B. (2011). Esquema tecnológico general y caracterización del queso hilado tipo telita. *Agronomía Tropical*, 61(3-4), 177-188.
- Melo, E., López, K., y Méndez, G. (2015). Microencapsulación de aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris*) en matrices poliméricas de almidón de ñame (*Dioscorea rotundata*) modificado. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 44(2), 189-207. Recuperado de: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/rccquifa/article/view/56293>
- Montero, M. (2017). *Los procesos administrativos y su incidencia en la producción de la microempresa artesanal de productos lácteos "Don Jorge", en la ciudad de Santo Domingo de los Colorados, año 2014* (Tesis de maestría). Recuperado de dspace.uti: <https://goo.gl/ZkfzBF>
- Montes, B.R., Cruz, V.T., Martínez, G.R., Sandoval, G., García, R.A., Zilch, S., y Carvajal, M.R. (2000). Propiedades antifúngicas en plantas superiores. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 18(2). Recuperado de: <http://www.redalyc.org/html/612/61218210/>
- Morales, A. (2015). Efecto antimicrobiano del aceite esencial del tomillo (*Thymus vulgaris*) sobre la contaminación de *Listeria monocytogenes* en



queso Ricotta (Tesis de posgrado). Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.

National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1997; 17:234-238.

Ortega, A. (2018). Determinación del efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de tomillo (*Thymus vulgaris*) y orégano (*Origanum vulgare*) frente a la bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC: 12600 (Tesis de pregrado). Recuperado de dspace.ups <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/16043>

Ortiz, A. C., y Lombardo, C. M. (2009). Cultivo de plantas medicinales en la provincia de Jaén. *Boletín del Instituto de Estudios Giennenses*, (200), 195-230. Recuperado de: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3177099>

Pinchao, P., y Cacuango, I. (2017). *Proyecto de factibilidad para la creación de una microempresa dedicada a la elaboración y comercialización de queso de mesa ubicada en la parroquia de Tabacundo* (Tesis de pregrado). Recuperado de dspace.uce: <https://goo.gl/kqxRzv>

Pinta, M., y Rodas, C. (2016). "Evaluación del grado de desnaturalización de la proteína, calcio y fósforo de la leche durante el calentamiento utilizando un número de combinaciones de tiempo/temperatura y su influencia en la calidad y rendimiento del queso fresco elaborado" (Tesis de pregrado). Recuperado de dspace.unach.edu.ec: <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/3037>

Poaquiza, R (2015). *Desarrollo de una tecnología innovadora de procesamiento mínimo para la conservación de hortalizas frescas lechuga (*Lactuca sativa* L.), col de repollo (*Brassica oleracea* var. *capitata*), col morada (*Brassica oleracea* var. *Lambarda*), espinaca (*Spinacia oleracea*) picadas, previamente tratadas con aceite esencial de tomillo (*Tymus vulgaris*)* (Tesis doctoral). Recuperado de: repositorio.uta.edu.ec <http://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/9370>

Ramírez, C., y Vélez, J. F. (2012). Quesos frescos: propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad. *Temas selectos de Ingeniería en Alimentos*, 6(2), 131-148. Recuperado de: <https://www.researchgate.net/profile>.

Robayo, A. M., y Pachón, F. A. (2013). Caracterización de la cadena de los quesos Paipa y campesino en el marco del programa mercados

campesinos: dos estudios de caso. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 60(III), 196-212. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/pdf/4076/407639237005.pdf>

Rovetto, G., Moreno, N., Bolívar, V., Suárez, G., y Caballero, O. (2010). Aplicaciones medicinales del tomillo. *Universidad, Ciencia y Sociedad*, 1, 16. Recuperado de: [http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S888888882010000100004&script=sci\\_arttext&tIng=en](http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S888888882010000100004&script=sci_arttext&tIng=en)

Rodríguez, L. (2016). "*Propuesta de un plan de manejo ambiental para la agro empresa" la quesera del cantón Colta provincia de Chimborazo* (Tesis de pregrado). Recuperado de [dspace.unach.edu.ec](http://dspace.unach.edu.ec): <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/1361>.

Rojas, J., Ortiz, J., y Almonacid R. (2015). Aceite esencial de *Thymus vulgaris* (tomillo), su combinación con EDTA contra *Cándida albicans* y formulación de una crema. In *Anales de la Facultad de Medicina* (Vol. 76, No. 3, pp. 235-240). Recuperado de: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1025-55832015000400002&Ing=es&tIng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832015000400002&Ing=es&tIng=es).

Sánchez, J., y Pérez, J. (2016). Vida útil sensorial del queso mantecoso por pruebas aceleradas. *Scientia Agropecuaria*, 7(2), 215-222. Recuperado de: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2077-99172016000400008](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2077-99172016000400008)

Saltos, J., Márquez, Y., López, A., Martínez, J., y Guerrero, D. (2018). La implementación de procedimientos estandarizados en la prevención de enfermedades transmitidas por los alimentos. Conteo microbiológico del *Staphylococcus aureus* en quesos frescos. *Revista Médica Electrónica*, 40(2), 371-382. Recuperado de: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S168418242018000200013&script=sci\\_arttext&tIng=en](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S168418242018000200013&script=sci_arttext&tIng=en)

Sauceda, N. R. (2011). Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. *revista científica de sociedad, cultura y desarrollo sostenible*, 7(1), 153-170. Recuperado de: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/revista?codigo=6936>

Tofiño, A.D., Ortega, M.N., Herrera, B.K., Fragoso, P.O., y Pedraza, B.A. (2017). conservación microbiológica de embutido cárnico artesanal con aceites esenciales *Eugenia caryophyllata* y *Thymus vulgaris*. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 15(spe2), 30-41. [https://dx.doi.org/10.18684/bsaa\(v15\)edición especial2.576](https://dx.doi.org/10.18684/bsaa(v15)edición especial2.576)

- Valencia, F. E, Millan, L.D., Restrepo, C.A., y Jaramillo G.Y. (2017). Efectos de sustitutos de grasa en propiedades sensoriales y texturales del queso crema. *Revista Lasallista de investigación*. 4(1) p. 20-26. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/html/695/69540104/>
- Villegas, A. D. y Huerta, R.A. (2015). Naturaleza, evolución, contrastes e implicaciones de las imitaciones de quesos mexicanos genuinos. *Estudios sociales Hermosillo*, 23(45), 213-236. Recuperado, de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0188-45572015000100009&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-45572015000100009&lng=es&tlng=es).
- Viteri, L. D., y Prado, J. A. (2017). *Efecto de la sustitución del nitrito de sodio con aceite de romero en la calidad final de una jamonada*. (Tesis de pregrado). Recuperado de: <http://repositorio.espam.edu.ec/handle/42000/657>

# **ANEXOS**

## ANEXO 1

## 1.A CERTIFICADO DE ANALISIS DE LABORATORIO



Lab. De Análisis

Facultad Ciencias Agropecuarias

Manta 21 de marzo de 2019

## A Quien Corresponda

Ciudad. -

**CERTIFICO:** Que los análisis presentados en este informe corresponden al estudiante **Torres Avellan Diego Armando** C.I. 171889983-2, Estudiante de Posgrado de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí (ESPAM MFL.). Los análisis fueron realizados en el Lab. De Análisis de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la (ULEAM), siendo estos los siguientes: (Pruebas de plataforma en leche, pH, TPA, *Staphylococcus aureus*, Humedad, Acidez titulable y Grasa), dichos análisis corresponden al trabajo de titulación "Efecto de la concentración del aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris*) sobre la vida útil del queso fresco artesanal".

ANÁLISIS PRELIMINARES DE LA LECHE		
ANÁLISIS	RESULTADOS	METODO DE ENSAYO
pH	6,65	AOAC 981.12
DENSIDAD	1,030	NTE INEN 0011
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia	NTE INEN 1529-14
CENIZAS	0,67	NTE INEN 0014
ACIDEZ TITULABLE (%)	0,14	AOAC 966.02 1996
GRASA (%)	5	NTE INEN 0064

Muestra	DÍA 0					
	pH	TPA	<i>Staphylococcus aureus</i>	HUMEDAD	ACIDEZ	GRASA
304	5,30	1,93	2,00	48,00	0,42	7,98
383	5,33	1,98	3,00	48,00	0,40	7,98
394	5,41	1,96	2,00	48,00	0,41	7,98
245	5,43	1,95	1,00	48,00	0,46	7,98
278	5,46	1,98	SD	48,00	0,49	7,98
293	5,47	2,13	SD	48,00	0,50	7,98
111	5,49	2,05	SD	48,00	0,50	7,98
152	5,50	2,22	SD	48,00	0,51	7,98
193	5,51	2,14	SD	48,00	0,51	7,98
911	5,51	2,11	SD	48,00	0,52	7,98

Téc. Responsable de Lab. De Análisis  
Téc. Responsable de Lab. De Aguas

www.uleam.edu.ec

## 1.B CERTIFICADO DE ANALISIS DE LABORATORIO

Lab. De Análisis



Facultad Ciencias Agropecuarias

Muestra	DIA 2					
	pH	TPA	<i>Staphylococcus aureus</i>	HUMEDAD	ACIDEZ	GRASA
304	5,10	2,10	SD	47,80	0,51	7,98
383	5,12	2,13	SD	47,90	0,51	7,98
394	5,10	2,12	SD	47,80	0,50	7,98
245	5,20	2,12	SD	47,80	0,52	7,98
278	5,22	2,11	SD	47,60	0,53	7,98
293	5,24	2,60	SD	47,56	0,56	7,98
111	5,31	2,65	SD	47,53	0,56	7,98
152	5,33	2,66	SD	47,50	0,56	7,98
193	5,33	2,63	SD	47,50	0,56	7,98
911	5,32	2,66	SD	47,00	0,56	7,98

Muestra	DIA 4					
	pH	TPA	<i>Staphylococcus aureus</i>	HUMEDAD	ACIDEZ	GRASA
304	4,98	2,14	SD	45,00	0,54	7,98
383	4,99	2,14	SD	45,00	0,54	7,98
394	4,97	2,16	SD	45,10	0,56	7,98
245	4,96	2,17	SD	45,17	0,56	7,98
278	4,90	2,79	SD	44,90	0,56	7,98
293	4,91	2,71	SD	44,81	0,58	7,98
111	4,93	2,70	SD	44,17	0,58	7,98
152	4,94	2,74	SD	44,03	0,58	7,98
193	4,94	2,77	SD	44,00	0,58	7,98
911	4,94	2,76	SD	44,00	0,58	7,98

## 1.C CERTIFICADO DE ANALISIS DE LABORATORIO



Lab. De Análisis

Facultad Ciencias Agropecuarias

Muestra	DIA 6					
	pH	TPA	<i>Staphylococcus aureus</i>	HUMEDAD	ACIDEZ	GRASA
304	4,98	2,17	SD	44,70	0,56	7,98
383	4,95	2,17	SD	44,66	0,56	7,98
394	4,94	2,17	SD	44,65	0,55	7,98
245	4,95	2,22	SD	44,60	0,55	7,98
278	4,96	2,24	SD	44,50	0,56	7,98
293	4,98	2,24	SD	43,12	0,56	7,98
111	4,99	2,26	SD	43,17	0,60	7,98
152	4,98	2,26	SD	42,44	0,60	7,98
193	4,99	2,28	SD	42,28	0,60	7,98
911	4,99	2,34	SD	42,19	0,60	7,98

Muestra	DIA 8					
	pH	TPA	<i>Staphylococcus aureus</i>	HUMEDAD	ACIDEZ	GRASA
304	4,96	2,23	SD	44,00	0,56	7,98
383	4,95	2,20	SD	44,10	0,57	7,98
394	4,96	2,44	SD	44,00	0,58	7,98
245	4,93	2,31	SD	43,00	0,56	7,98
278	4,95	2,32	SD	41,00	0,57	7,98
293	4,97	2,40	SD	40,00	0,59	7,98
111	4,97	2,41	SD	40,00	0,59	7,98
152	4,96	2,40	SD	40,00	0,60	7,98
193	4,97	2,48	SD	40,00	0,60	7,98
911	4,97	2,51	SD	40,00	0,60	7,98

## ANEXO 2

## 2.A FICHA DE ANÁLISIS SENSORIAL



## TEST DE EVALUACIÓN SENSORIAL DE QUESO FRESCO

Fecha: \_\_\_\_\_

Frente a usted tiene 4 muestras diferentes de queso fresco, con un código de tres dígitos. La escala a utilizar es de 1 a 5 puntos (5 = me gusta mucho; 4 = me gusta; 3 = ni me gusta; ni me disgusta; 2 = casi no me gusta; 1 = no me gusta), para medir las características sensoriales que encuentre en cada una de ellas marque con una X, según lo considere usted mejor.

CODIGO					
PARAMETROS EVALUADOS	PUNTUACION				
	Me gusta mucho	Me gusta	Ni me gusta Ni me disgusta	Casi no me gusta	No me gusta
Olor					
Sabor					
Textura					

CODIGO					
PARAMETROS EVALUADOS	PUNTUACION				
	Me gusta mucho	Me gusta	Ni me gusta Ni me disgusta	Casi no me gusta	No me gusta
Olor					
Sabor					
Textura					

CODIGO					
PARAMETROS EVALUADOS	PUNTUACION				
	Me gusta mucho	Me gusta	Ni me gusta Ni me disgusta	Casi no me gusta	No me gusta
Olor					
Sabor					
Textura					

CODIGO					
PARAMETROS EVALUADOS	PUNTUACION				
	Me gusta mucho	Me gusta	Ni me gusta Ni me disgusta	Casi no me gusta	No me gusta
Olor					
Sabor					
Textura					



## ANEXO 3

## 3.A TABULACIÓN DE DATOS DE ANÁLISIS SENSORIAL

	Olor				Sabor				Textura			
	304	278	111	911	304	278	111	911	304	278	111	911
JUEZ 1	4	4	2	4	5	5	4	4	3	3	3	3
JUEZ 2	4	4	4	4	4	4	3	5	5	5	5	5
JUEZ 3	4	4	2	4	5	5	4	4	4	4	4	4
JUEZ 4	3	2	1	4	4	4	2	3	3	3	3	4
JUEZ 5	4	4	2	4	5	5	3	5	3	3	3	3
JUEZ 6	4	3	2	4	4	3	3	5	5	5	5	5
JUEZ 7	2	2	1	2	2	2	1	3	3	3	4	5
JUEZ 8	4	3	2	4	4	3	2	5	3	3	3	4
JUEZ 9	4	3	2	4	4	3	2	4	3	3	4	4
JUEZ 10	4	4	2	4	5	5	4	4	3	3	3	3
JUEZ 11	4	4	2	4	4	2	2	3	3	3	4	5
JUEZ 12	3	3	3	4	4	3	2	4	3	3	3	4
JUEZ 13	3	3	3	5	3	2	2	4	3	3	4	4
JUEZ 14	4	4	2	4	4	3	2	3	3	3	3	3
JUEZ 15	4	4	2	4	4	4	3	4	3	3	4	5
JUEZ 16	4	4	2	4	4	4	3	5	3	3	3	4
JUEZ 17	4	4	2	4	4	4	3	5	5	3	3	4
JUEZ 18	4	4	2	4	4	4	3	4	3	3	3	3
JUEZ 19	4	4	2	4	4	4	3	5	5	5	5	5
JUEZ 20	4	3	2	4	4	5	3	4	3	3	4	5
JUEZ 21	4	3	2	5	4	5	4	5	3	3	3	4
JUEZ 22	2	2	1	3	3	2	1	3	3	3	3	3
JUEZ 23	3	3	3	4	3	3	2	4	3	3	4	5
JUEZ 24	4	3	2	4	4	4	3	4	3	3	4	5
JUEZ 25	4	3	2	4	4	5	3	4	3	3	3	3
JUEZ 26	4	4	2	4	4	5	4	5	5	5	5	4
JUEZ 27	4	3	2	4	4	5	4	5	4	4	4	5
JUEZ 28	3	3	3	4	3	3	3	4	3	3	4	5
JUEZ 29	4	3	2	4	4	4	3	4	3	3	3	4
JUEZ 30	3	3	3	5	3	3	2	4	3	3	4	5
JUEZ 31	4	3	3	4	4	3	2	4	3	3	4	5
JUEZ 32	3	3	2	4	3	3	2	4	3	3	3	4
JUEZ 33	4	3	2	4	4	5	3	4	3	4	5	5
JUEZ 34	4	3	2	5	4	4	3	4	3	3	4	4
JUEZ 35	2	2	1	3	3	2	2	3	3	3	4	4
JUEZ 36	4	3	2	4	4	3	2	4	3	3	3	3
JUEZ 37	3	3	3	4	4	4	3	5	3	3	4	4

### 3.B TABULACIÓN DE DATOS DE ANÁLISIS SENSORIAL

JUEZ 38	4	3	2	4	5	5	3	5	5	5	5	5
JUEZ 39	2	2	1	3	3	2	2	3	3	3	3	3
JUEZ 40	3	3	3	4	4	3	2	4	4	3	4	5
JUEZ 41	4	3	2	4	4	4	3	5	5	5	5	5
JUEZ 42	4	4	2	4	4	3	2	4	3	3	3	4
JUEZ 43	4	3	2	5	4	4	3	5	4	4	4	5
JUEZ 44	4	3	2	4	4	4	3	5	5	5	5	5
JUEZ 45	4	3	2	4	4	3	2	4	3	3	4	4
JUEZ 46	4	3	2	4	4	3	2	4	3	3	3	3
JUEZ 47	4	3	2	5	5	5	3	4	3	3	4	4
JUEZ 48	3	2	3	4	4	2	2	4	3	3	4	4
JUEZ 49	3	2	3	4	4	2	2	4	4	4	4	5
JUEZ 50	4	3	2	4	4	4	3	5	5	3	4	4
JUEZ 51	4	3	2	4	4	3	2	4	4	4	4	4
JUEZ 52	4	4	2	5	5	4	3	5	4	4	4	5
JUEZ 53	4	3	2	5	4	4	3	5	5	3	4	4
JUEZ 54	3	2	3	4	4	2	2	4	4	3	3	3
JUEZ 55	3	2	3	4	4	2	2	4	4	4	4	5
JUEZ 56	4	3	2	4	4	4	3	5	3	3	4	4
JUEZ 57	4	3	2	5	5	4	3	5	3	3	4	5
JUEZ 58	4	3	2	4	4	3	2	4	3	3	3	4
JUEZ 59	4	3	2	4	4	3	2	4	4	4	4	4
JUEZ 60	3	2	2	4	4	2	2	5	3	3	4	4
JUEZ 61	3	2	2	5	4	2	2	3	3	3	4	5
JUEZ 62	4	3	2	4	4	3	2	4	4	3	4	4
JUEZ 63	4	3	2	4	5	4	3	5	3	3	4	5
JUEZ 64	3	2	2	5	4	4	3	5	4	3	3	3
JUEZ 65	4	3	2	5	4	4	3	5	3	3	4	4
JUEZ 66	4	3	2	4	4	3	2	3	3	3	4	4
JUEZ 67	3	2	1	5	4	4	3	5	4	3	4	5
JUEZ 68	3	2	2	5	4	4	3	5	4	3	4	4
JUEZ 69	4	3	2	5	5	4	3	5	4	3	3	3
JUEZ 70	4	3	2	5	4	3	2	4	4	3	4	5
JUEZ 71	3	2	2	5	4	4	3	5	4	3	4	4
JUEZ 72	4	3	2	5	4	4	2	4	4	3	4	4
JUEZ 73	2	2	1	5	3	4	2	4	4	3	4	4
JUEZ 74	4	3	2	4	4	3	2	4	4	3	4	4
JUEZ 75	4	3	2	4	4	3	3	5	3	3	4	4

## ANEXO 4

## 4.A FICHA TÉCNICA DEL ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO UTILIZADO.

# FEELMARK

## Organic Red Thyme Essential Oil Aceite Esencial Tomillo Rojo Orgánico

### GENERAL INFORMATION INFORMACIÓN GENERAL

Batch No. Lote	K0189KE2018
Manufacturing Date Fecha de Elaboración	10/2018
Re-test Date Fecha de Reanálisis	10/2020
Physical State Estado Físico	Liquid Líquido
Color and Appearance Apariencia y Color	Slightly Yellow to Brownish Clear liquid Líquido claro ligeramente amarillo a café claro
Odor Olor	Warm, Aromatic, Characteristic of thyme Cálido, Aromático, Característico al tomillo
Solubility Solubilidad	Insoluble in water but soluble in alcohol and oils Insoluble en agua, pero soluble en alcohol y aceites
Botanical Name Nombre Botánico	Thymus Serpyllum
CAS Number Número CAS	8007-46-3
Extraction Method Método de Extracción	Steam Distilled Destilación al vapor
Parts Used Partes Usadas	Herbs Hierba
Storage Almacenamiento	Cool and dry place. Keep container closed and away from heat sources Almacenar en lugar fresco y seco. Mantener el recipiente cerrado y alejado de fuentes de calor

### PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES PROPIEDADES FÍSICO QUÍMICAS

PROPERTIES PROPIEDADES	SPECIFICATION ESPECIFICACIÓN	RESULTS RESULTADOS
Specific Gravity Gravedad Específica	0.890 - 0.950	0.909
Optical Rotation Rotación Óptica	-5 - +5	+0
Refractive Index Índice de Refracción	1.480 - 1.499	1.495
Thymol Content Contenido Timol	40%+	42.27%
Flash Point Punto de Inflamabilidad		120°

## ANEXO 5

## 5.A ADEVA FACTORIAL

Origen	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo	HUMEDAD	92148,157	7	13164,022	20682,691	,000
	ACIDEZ	13,380	7	1,911	6930,970	,000
	GRASA	2865,618	7	409,374	.	.
Tratamiento	HUMEDAD	16,273	2	8,136	12,783	,000
	ACIDEZ	,019	2	,010	34,906	,000
	GRASA	,000	2	,000	.	.
DÍAS	HUMEDAD	250,220	4	62,555	98,283	,000
	ACIDEZ	,077	4	,019	69,497	,000
	GRASA	,000	4	,000	.	.
Error	HUMEDAD	24,186	38	,636		
	ACIDEZ	,010	38	,000		
	GRASA	,000	38	,000		
Total	HUMEDAD	92172,343	45			
	ACIDEZ	13,391	45			
	GRASA	2865,618	45			

## ANEXO 6

## 6.A NORMALIDAD ANÁLISIS SENSORIALES

TRATAMIENTO		Kolmogórov-Smirnov		
		Estadístico	GI	Sig.
OLOR	a1	0,416	75	0,000
	a2	0,295	75	0,000
	a3	0,394	75	0,000
	TESTIGO	0,377	75	0,000
SABOR	a1	0,376	75	0,000
	a2	0,222	75	0,000
	a3	0,273	75	0,000
	TESTIGO	0,269	75	0,000
TEXTURA	a1	0,370	75	0,000
	a2	0,472	75	0,000
	a3	0,321	75	0,000
	TESTIGO	0,244	75	0,000

**ANEXO 7****7.A MODELO DE CÁLCULO DE VIDA ÚTIL PARA pH**

Remplazando y despejando el tiempo nos queda la siguiente ecuación.

$$\ln A_e = \ln A_o + Kt \quad [3.1]$$

$$x = \frac{\ln A_e - \ln A_o}{k}$$

Donde:  $A_e$  = pH al tiempo  $t$

$A_o$  = pH al tiempo cero

$K$  = Constante de velocidad de reacción (incremento del pH a través del tiempo)

$t$  = tiempo de vida útil

Para realizar el cálculo remplazamos en la ecuación de la curva donde:

$A_e = y$

$\ln = b$

$K = m$

$t = x$