

Universidad Austral de Chile

Escuela de Ingeniería en Alimentos

**Evolución de la Maduración de Queso Gauda
Semidescremado con Adición de Cultivo Probiótico
Lactobacillus paracasei subsp. *paracasei* y del
Prebiótico Inulina**

Memoria presentada como parte
de los requisitos para optar al
Título de Ingeniero en Alimentos

Erika Jocelyn Flores Garnica

Valdivia – Chile
2008

PROFESOR PATROCINANTE:

Sra. Carmen Brito Contreras
Ingeniero en Alimentos, M. Sc. Food Science
Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

PROFESORES INFORMANTES:

Sra. Renate Schöbitz Twele
Tecnólogo Medico, M. Sc. Food Microbiology
Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

Sr. Ociel Muñoz Fariña
Bioquímico, Dr. en Ciencias Químicas
Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

AGRADECIMIENTOS

A mis padres por su paciencia, amor incondicional, respaldo y confianza que siempre me han brindado no sólo a lo largo de mis estudios sino en todo momento.

A Alejandra, mi ñaña, muchas gracias por tu apoyo, confianza y cariño, compartiendo toda esta etapa conmigo.

A mis amigos por otorgarme su amistad y cariño en todo momento de mi paso por la universidad. En especial a Jesu, Angie, Pame, Karla, Pili y Toña por compartir valiosos momentos con ustedes.

A mi profesora patrocinante de tesis Sra. Carmen Brito e informantes Sra. Renate Schöbitz y Sr. Ociel Muñoz, por sus consejos, dedicación y ayuda durante el desarrollo de esta investigación.

A los docentes, secretarias y auxiliares del ICYTAL por su infinita colaboración y ayuda.

En general muchas gracias.

INDICE DE MATERIAS

Capítulo		Página
1	INTRODUCCIÓN	1
2	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1	Efectos de la grasa en la salud	3
2.1.1	Alimentos reducidos en grasa	3
2.1.2	Quesos reducidos en grasa	3
2.2	Aspectos bioquímicos de la maduración de quesos	4
2.2.1	Glicólisis	4
2.2.2	Proteólisis	4
2.2.2.1	Evaluación de la proteólisis durante la maduración	4
2.2.3	Lipólisis	5
2.3	Queso Gauda	5
2.4	Probióticos	6
2.4.1	Historia de los probióticos	7
2.4.2	Efectos beneficiosos para la salud	7
2.4.3	Efectos de los probióticos en alimentos	8
2.4.4	Selección de probióticos	9
2.4.5	Características del grupo <i>Lactobacillus casei</i>	9
2.4.6	Efectos <i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> en quesos	10
2.5	Prebióticos	10
2.5.1	Definición	10
2.5.2	Relación entre Probióticos y Prebióticos	11
2.5.3	Inulina	11
2.5.4	Prebióticos en Productos lácteos	12
3	MATERIAL Y MÉTODOS	13
3.1	Lugar de trabajo	13

3.2	Materiales, equipos y métodos de trabajo	13
3.2.1	Materia prima	13
3.2.2	Laboratorios de análisis	13
3.2.3	Cámara de maduración	13
3.3	Metodología	13
3.3.1	Diseño experimental	13
3.3.2	Maduración de los quesos	14
3.3.3	Análisis	14
3.3.3.1	Análisis físicos y químicos	14
3.3.3.2	Análisis de seguimiento de la maduración	14
3.3.3.3	Análisis Estadístico	15
4	PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	16
4.1	Características físicas y químicas	16
4.1.1	Contenido de humedad (%)	16
4.1.2	pH	19
4.1.3	Materia grasa en base total y en base seca (%)	21
4.1.4	Contenido de proteína total (%)	22
4.1.5	Contenido de sal (%) y sal en humedad (%)	24
4.2	Análisis de seguimiento de la maduración	26
4.2.1	Viabilidad de bacterias probióticas, <i>L. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> , durante la maduración	26
4.2.3	Evolución de la proteólisis: Perfil aminoacídico	29
5	CONCLUSIONES	33
6	RESUMEN - SUMMARY	34
7	BIBLIOGRAFÍA	36
8	ANEXOS	41

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Requisitos físicos y químicos del queso Gauda	6
2	Algunos microorganismos que son considerados como probióticos	7
3	Microorganismos usados como probióticos con efectos beneficiosos para la salud documentados en ensayos clínicos en humanos	8
4	Composición química y características de carbohidratos prebióticos y prebióticos potenciales	11
5	Características físicas y químicas del queso Gauda semidescremado al inicio y final del período de maduración	16
6	Pérdida de humedad entre el inicio y final del periodo de maduración del queso Gauda semidescremado (promedio)	18
7	Contenido de materia grasa en base total y base seca (%), al inicio y final de maduración (promedio y desviación estándar)	21
8	Contenido de proteína (%), al inicio y final de maduración (promedio y desviación estándar)	22
9	Contenido de NaCl en base total y humedad (%) al final de la maduración del queso Gauda (promedio y desviación estándar)	24
10	Recuento de <i>L. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> (log ufc/g) durante la maduración	26
11	Diferencia del área ocupada por cada aminoácido (mV.s) entre el día 0 y 21 de maduración, en cada tratamiento	31

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Evolución del contenido de humedad (%), por tratamiento durante los distintos tiempos de maduración del queso Gauda.	17
2	Evolución del pH por tratamiento durante el transcurso de la maduración del queso Gauda	19
3	Variación del contenido de proteína al inicio y después de maduración (21 días).	23
4	Contenido de NaCl en base total y en humedad al final del periodo de maduración del queso Gauda	25
5	Fotografías de la tinción de gram en <i>L. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> y en cultivo mixto (starter)	27
6	Desarrollo de <i>L. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> sobre agar MRS-IM y su diferenciación frente al starter	28
7	Área de aminoácidos de mayor producción durante la maduración	30

INDICE DE ANEXOS

Anexo		Página
1	Método del recuento del cultivo <i>L. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>	42
2	Método de la determinación de aminoácidos	43
2.1	Fotos de la determinación de aminoácidos	44
2.2	Patrones de aminoácidos	45
2.2.1	Tiempo de retención y área ocupada por los distintos patrones de aminoácidos	45
2.2.2	Cromatograma de los patrones de aminoácidos	45
3	Resultados de los análisis físicos y químicos de los tratamientos del queso Gauda en los diferentes tiempos de maduración	46
3.1	Resultados del promedio de duplicados en el análisis de humedad (%) durante la etapa de maduración	46
3.2	Resultados del promedio de duplicados en el análisis de pH durante la etapa de maduración	47
3.3	Resultados del promedio de duplicados en el análisis de materia grasa en base total y materia grasa en base seca (%) durante la etapa de maduración	48
3.4	Resultados del promedio de duplicado en el análisis de proteína (%) durante la etapa de maduración	49
3.5	Resultados del promedio de duplicado en el análisis de sal (%) y sal en humedad (S/H) a los 21 días de maduración	50
4	Resultados de los análisis de evolución de la maduración de los tratamientos del queso Gauda en los diferentes tiempos de maduración.	51

4.1	Resultados del recuento de <i>L. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>	51
	Área ocupada por cada aminoácido presente en los 4 tratamientos de queso Gauda semidescremado.	
4.2	Resultados de primera repetición del estudio.	52
4.2.1	Cromatograma de aminoácidos del queso Gauda, por tratamiento	53
4.2.2	Área de aminoácidos durante el periodo de maduración del Gauda, por tratamiento	54
5	Análisis estadístico para el % de humedad	55
5.1	Entre tratamientos	55
5.2	Entre tiempos	57
5.3	Análisis multifactorial	58
6	Análisis estadístico para pH	60
6.1	Entre tratamientos	60
6.2	Entre tiempos	62
6.3	Análisis multifactorial	64
7	Análisis estadístico para el % de materia grasa	65
7.1	Entre tratamientos	65
7.2	Entre tiempos	66
7.3	Análisis multifactorial	67
8	Análisis estadístico para el % de materia grasa en base seca	69
8.1	Entre tratamientos	69
8.2	Entre tiempos	70
8.3	Análisis multifactorial	71
9	Análisis estadístico para el % de proteínas	73
9.1	Entre tratamientos	73
9.2	Entre tiempos	74
9.3	Análisis multifactorial	75
10	Análisis estadístico para el contenido de sal (NaCl)	77
10.1	Entre tratamientos	77

11	Análisis estadístico para el contenido de sal en humedad (S/H)	78
11.1	Entre tratamientos	78
12	Análisis estadístico para los recuentos de <i>L. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> (ufc/g)	79
12.1	Entre tratamientos	79
12.2	Entre tiempos	81
12.3	Análisis multifactorial	82

1. INTRODUCCIÓN

Los alimentos funcionales son aquellos que tienen acciones más allá de su función nutricional, que son específicas y dirigidas, tales como la prevención o retraso del brote de algunas enfermedades. Dentro de los más populares se cuenta el conjunto de alimentos fermentados por bifidobacterias y lactobacilos, pertenecientes al grupo de alimentos funcionales denominados probióticos, los cuales se caracterizan por contener microorganismos vivos que ejercen acciones beneficiosas para el huésped.

Gran parte de las investigaciones se han enfocado a las leches fermentadas como vehículos de probióticos, no obstante últimamente se ha visto que su incorporación en productos como los quesos es más promisoría debido a que el pH, el contenido de grasa, el nivel de oxígeno y las condiciones de almacenamiento son más adecuadas para la supervivencia de este tipo de microorganismos durante el procesamiento y su digestión del producto.

Para prolongar el efecto probiótico es necesario potenciar su supervivencia y así asegurar que mayores poblaciones alcancen el intestino grueso, y/o aumentar su tiempo de residencia en este medio. Esto puede facilitarse mediante la incorporación de prebióticos, lo cual corresponde a un ingrediente alimentario no digerible que afecta beneficiosamente al huésped mediante la estimulación selectiva del crecimiento y actividad de un número limitado de bacterias en el intestino.

Hipótesis

La incorporación del cultivo probiótico *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* y el prebiótico inulina, no afectan las características físicas y químicas del queso Gauda semidescremado, transformándolo en un queso semidescremado simbiótico.

Objetivo general

Estudiar la influencia ejercida por la adición del probiótico *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* y el prebiótico inulina en 2 diferentes concentraciones, sobre el proceso de maduración del queso Gauda semidescremado.

Objetivos específicos

- § Estudiar los cambios físicos y químicos (pH, humedad, materia grasa, proteínas, sal) de los quesos durante la etapa de maduración
- § Contabilizar el número de bacterias probióticas viables en los quesos durante el proceso de maduración.

- § Medir y comparar el desarrollo de proteólisis de los quesos con probióticos y prebióticos frente al queso control, sin la incorporación de estas variables.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Efectos de la grasa en la salud

Las grasas y los aceites o triglicéridos son un grupo de compuestos orgánicos (lípidos) que aportan la mayor cantidad de energía al organismo, además son importantes para que se produzca la absorción de algunas vitaminas, como las liposolubles A, D, E y K, y también responsables en gran parte del sabor de los alimentos (POTTER, 1999).

Sin embargo, su consumo en exceso puede ocasionar problemas como niveles altos de colesterol, de obesidad, enfermedades de la vesícula biliar y algunos tipos de cáncer. Investigaciones realizadas sobre determinadas enfermedades cardíacas y vasculares indican que estas son causadas por dietas ricas en grasas, especialmente si se trata de grasas saturadas, ya que elevan el nivel de colesterol en la sangre (CARRASCO, 2004).

2.1.1 Alimentos reducidos en grasa. Los alimentos reducidos en grasa se consideran generalmente para mejorar la salud, ayudar al control del peso y beneficiar la condición física (HAMILTON et al, 2000).

Estudios realizados demuestran que las opiniones del consumidor acerca de los alimentos reducidos en grasa pueden influir en la aceptación del producto. A partir de esto, han indicado que aunque las características sensoriales afectan la preferencia, otros factores tales como confianza del sector alimenticio y las demandas de la salud, conducen a la aceptación o rechazo de varios alimentos (HAMILTON et al., 2000).

2.1.2 Quesos reducidos en grasa. En Estados Unidos un queso bajo en grasa debe contener 6 gramos de grasa o menos por 100 gramos de queso, mientras un queso reducido en grasa requiere al menos un 25% de reducción en el nivel de grasa normal (JOHNSON, 2002).

El queso “reducido en grasa” abarca una amplia gama incluyendo los quesos blandos, semiduros y duros. Los quesos blandos tales como Cottage y Quarg, preparados por coagulación ácida usando leche descremada, son los productos con baja grasa que han sido fabricados durante décadas y son aceptados por los consumidores como productos apetecibles (BANKS, 2004).

Los quesos con poca grasa, especialmente variedades maduradas con baja humedad, son caracterizados generalmente con una textura y sabor anormal, comparado con uno elaborado con grasa normal. Investigaciones con queso reducido en grasa del tipo Cheddar fue percibido como seco, excesivamente firme y difícil de masticar; además presentaba baja intensidad de sabor y presencia de amargor (BANKS, 2004).

A partir de estos estudios se han probado distintas tecnologías para poder mejorar estos resultados: diferentes parámetros para realzar la humedad, control de los niveles

de lactosa, selección de starters, uso de cultivos adjuntos o enzimas, para optimizar el sabor y la textura (BANKS, 2004).

2.2 Aspectos bioquímicos de la maduración de quesos

El objetivo de la maduración del queso es convertir la cuajada fresca, que difiere muy poco entre las distintas variedades, a una cuajada que posee diferentes características de apariencia, gusto, aroma, textura y funcionalidad según variedad de queso (FOX, 2002)

La maduración de los quesos plantea uno de los problemas más complejos de la bioquímica de las sustancias alimenticias, y es el resultado global de una serie de variados fenómenos (ALAIS, 1985).

2.2.1 Glicólisis. Corresponde a la acción degradativa de los cultivos lácticos sobre la lactosa para así transformarla en ácido láctico (BRITO, 1993).

Más del 98% de la lactosa en la leche es removida en el suero como lactosa o ácido láctico, por lo tanto la cuajada del queso contiene entre 1-2% de lactosa (FOX y McSWEENEY, 1998). Consecuentemente durante la maduración finaliza la glicólisis, debido a que la lactosa se degrada rápidamente, ya que es muy bajo el porcentaje que contiene la cuajada en esta etapa.

La producción de ácido láctico tiene varias misiones, entre ellas influir en el aroma, protección del medio, por el descenso de pH, modificación de la textura, por solubilización de los minerales ligados a la caseína nativa, etc.

2.2.2 Proteólisis. La proteólisis en la mayoría de los quesos es considerada como el suceso más importante ocurrido en la maduración (FOX y McSWEENEY, 1998).

El proceso comienza con la formación del gel provocado por el cuajo al romper el enlace fenilalanina 105 y metionina 106 de la caseína k, más tarde los agentes proteolíticos son los que determinan la proteólisis en el queso, lo que ocasiona la ruptura de las cadenas de aminoácidos formándose cadenas más cortas de proteosomas, peptonas y péptidos, los cuales otorgan cuerpo y consistencia al queso, luego son degradadas hasta aminoácidos, los cuales ayudan a aportar al aroma y sabor en el queso (BRITO, 1993).

Cabe destacar finalmente que ciertos cambios de la cuajada, particularmente lo relativo a consistencia típica de los quesos, se deben a los procesos degradativos ocurridos a la proteína especialmente a la caseína κ 1 (BRITO, 1993).

2.2.2.1 Evaluación de la proteólisis durante la maduración. Se han desarrollado una serie de técnicas analíticas para la evaluación de proteólisis en queso, estos métodos pueden ser clasificados en dos categorías, tanto específicos como no específicos (FOX y McSWEENEY, 1998).

Los métodos no específicos, dan información a partir de la extensión de la proteólisis y de la actividad de agentes proteolíticos, la cual incluye determinación de nitrógeno

soluble o extraíble por varios solventes o buffers. Sin embargo, estos análisis dan una idea general de la proteólisis, pero no entregan información acerca de péptidos específicos o degradados durante la maduración (UPADHYAY *et al.*, 2004).

Los análisis específicos son ampliamente usados para resolver, aislar e identificar los péptidos que son producidos durante la maduración. Dentro de ellos se encuentra, electroforesis en gel de poliacrilamida UREA-PAGE que es usada para monitorear la hidrólisis de caseína en la primera etapa de maduración de los quesos; también y dentro de los distintos tipos de cromatografías, la más utilizada es la líquida de alta resolución (HPLC), la cual sirve para caracterizar y comparar el grado de proteólisis del queso de distinto tiempo de maduración, calidad y tecnología, además ayuda a la identificación de aminoácidos libres, utilizando diferentes tipos de compuestos para la derivatización de aminoácidos, destacando por su estabilidad y sensibilidad (UPADHYAY *et al.*, 2004).

Los aminoácidos y péptidos pequeños, son los principales responsables de las características de sabor en el queso durante la proteólisis, es por esto la importancia de poder cuantificarlos e identificarlos durante el periodo de maduración (FOX, 2002).

2.2.3 Lipólisis. Se define como la división hidrolítica de los triglicéridos a ácidos grasos libres, como butírico, propiónico, caproico, caprílico y cáprico. Aunque esta degradación normalmente no es extensiva en la maduración, dependiendo de la variedad sus productos son importantes en el sabor y aroma del queso (BRITO, 1993).

Tiene un importante papel en la formación del aroma; por el contrario no provoca modificaciones notables en la textura del queso. La hidrólisis de la materia grasa, es en general muy limitada en los quesos de pasta dura, por el contrario muy acusada en los quesos de pasta azul y de pasta blanda (ALAIS, 1985).

Las enzimas responsables de la lipólisis de la grasa pueden ser originarias de la leche, de los microorganismos y en algunas variedades de queso de preparaciones especiales, agregadas a la grasa o adicionadas con el cuajo (FAO, 1981).

2.3 Queso Gauda

Se puede definir el queso Gauda, como un queso madurado, sin cáscara, que se elabora con leche pasteurizada de vaca, obtenido por coagulación enzimática coadyudado por la acidez desarrollada por los cultivos lácticos puros que se agregan; su maduración se produce en un envase de material retráctil durante un mínimo de 15 días en condiciones controladas (CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACIÓN, INN, 1999).

Según su nivel de grasa el queso Gauda se puede clasificar en queso Gauda y queso Gauda semisdecremado, en el CUADRO 1 se muestran los requisitos físicos y químicos de ambos.

CUADRO 1 Requisitos físicos y químicos del queso Gauda.

Requisitos	Queso Gauda	Queso Gauda semidescremado
Humedad (%)	46 – 48	48 – 50
Materia seca (%)	52 – 54	50 – 52
Materia grasa en extracto seco (%)	45 – 59,9	25,0 - 44,9
Nitrato de sodio o potasio	R.S.A*	R.S.A*
pH	5,1 – 5,3	5,1 – 5,3
Fosfatasa	Negativa	Negativa

* En dosis permitidas por el Reglamento Sanitario de los Alimentos.

FUENTE: CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACION, NCh 2478 Of 1999 (1999).

Las características organolépticas que debe presentar el queso Gauda son: una consistencia firme y elástica, adecuada para cortar y laminar; el color de la masa interna debe ser amarilla pálida y constar de una masa cerrada con escasos ojos redondos (de cultivos lácticos); la forma del queso debe ser en block rectangular, con pesos de 2 kg a 15 kg. (CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACIÓN, INN, 1999).

2.4 Probióticos

Probióticos se definen como microorganismos vivos que, cuando están administrados en cantidades adecuadas, confieren un efecto beneficioso a la salud del huésped (SENOK *et al.*, 2005).

Estos últimos años, ha habido un aumento dentro de las investigaciones, así como el creciente interés comercial de alimentos con probióticos. Estas investigaciones han dado lugar a avances significativos en cuanto a la comprensión y caracterización de los organismos probióticos específicos, además de verificar las ventajas atribuidas a la salud (SENOK *et al.*, 2005).

En el CUADRO 2 se muestran tres grupos de microorganismos que son considerados como probiótico.

CUADRO 2 Algunos microorganismos que son considerados probióticos.

<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>Bifidobacterium spp.</i>	<i>Otros</i>
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Escherichia coli</i> Nissle
<i>L. casei</i>	<i>B. breve</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>L. delbrueckii subs. bulgaricus</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Streptococcus faecium</i>
<i>L. fermentum</i>	<i>B. longum</i>	
<i>L. gasseri</i>	<i>B. lactis</i>	
<i>L. johnsonii</i>	<i>B. adolescentis</i>	
<i>L. paracasei</i>		
<i>L. plantarum</i>		
<i>L. reuteri</i>		
<i>L. rhamnosus</i>		

FUENTE: SENOK et al. (2005).

2.4.1 Historia de los probióticos. El término probiótico es una palabra relativamente nueva que significa “a favor de la vida” y actualmente se utiliza para designar las bacterias que tienen efectos beneficiosos para los seres humanos y los animales. La observación original de la función positiva desempeñada por algunas bacterias se atribuye a Eli Metchnikoff, ruso galardonado con el premio Nóbel, que afirmó que “la dependencia de los microbios intestinales con respecto a los alimentos hace posible adoptar medidas para modificar la flora de nuestro organismo y sustituir los microbios nocivos por microbios útiles” (PARVEZ et al., 2006).

2.4.2 Efectos beneficiosos para la salud. Los síntomas que se han tratado o tienen el potencial de ser tratados con probióticos incluyen, diarrea, gastroenteritis, enfermedades inflamatorias y síndromes intestinales, cáncer, estreñimiento, infecciones por *Helicobacter pylori*, enfermedades cardiovasculares, entre otras (PARVEZ et al., 2006).

CUADRO 3 Microorganismos usados como probióticos con efectos beneficiosos para la salud documentados en ensayos clínicos en humanos.

Género	Especie	Beneficio para la salud
<i>Lactobacillus</i>	<i>acidophilus</i>	Reduce diarrea asociada a antibióticos.
	<i>casei</i>	Acorta la diarrea causada por rotavirus. Reduce la recurrencia de cáncer de vejiga.
	<i>johnsonii</i>	Mejora la vacunación oral. Reduce la colonización por <i>Helicobacter pylori</i> .
<i>Bifidobacterium</i>	<i>breve</i>	Reduce los síntomas del síndrome de intestino inflamable.
	<i>lactis</i>	Acorta la diarrea causada por rotavirus. Reduce la incidencia de la diarrea del viajero.
<i>Escherichia</i>	<i>coli</i>	Evita recaída a la enfermedad de inflamación del intestino
<i>Saccharomyces</i>	<i>cerevisiae</i>	Evita recaída a la enfermedad de inflamación del intestino

FUENTE: OUWEHAND et al., 2002 adaptado por JUAREZ (2005).

2.4.3 Efectos de los probióticos en alimentos. Las bacterias probióticas se agregan principalmente en alimentos fermentados, siendo los productos lácteos los que desempeñan un papel predominante como portadores de probióticos.

Al agregar probióticos a los alimentos fermentados, se deben considerar varios factores que pueden influir sobre la capacidad de sobrevivencia del probiótico en el producto y, de llegar a ser activo, al incorporarse en el aparato gastrointestinal del consumidor.

Estos factores incluyen:

- El estado de los organismos probióticos agregados: en la fase móvil o inmóvil de crecimiento.
- Las condiciones físicas de almacenaje del producto: temperatura.

- La composición química del producto al cual se agrega el probiótico como: acidez, contenido de carbohidratos disponibles, fuentes de nitrógeno, actividad de agua y contenido de oxígeno.

- Interacciones posibles del probiótico con los cultivos ya presentes, como producción de bacteriocinas, antagonismos y sinergismo (HELLER, 2001).

Desafortunadamente, la concentración de probióticos en productos alimenticios varía mucho y no hay actualmente estándares de la identidad para los niveles de las bacterias requeridas en yogurt u otros productos fermentados. Por lo mismo el sector alimenticio debe determinar cuidadosamente la seguridad y la eficacia de las nuevas especies y cepas de probióticos antes de incorporarlas en productos alimenticios (SENOK et al., 2005).

Todavía no se encuentra muy claro el momento de adición de los probióticos; para algunas variedades de quesos es posible agregarlos al momento de su salado. Otro problema es en qué medida las diferentes cepas podrán sobrevivir el periodo de maduración de los quesos, sin que se vean afectadas sus características funcionales.

Se puede pensar que la capacidad tampón relativamente alta de la matriz del queso, la proporción de grasa y consistencia apretada pueden estabilizar los probióticos, no sólo durante la maduración sino que también durante el paso intestinal después de su consumo (HELLER, 2001).

2.4.4 Selección de probióticos. Según SALMINEN y OUWEHAND (2002), para la selección de bacterias probióticas se debe tener en cuenta una serie de criterios como: que sean de origen humano, que no sean microorganismos patógenos ni cancerígenos, que posean tolerancia a la acidez y a la bilis, capacidad para resistir procesos tecnológicos y permanecer viables durante el periodo de vida útil del producto. Además deben ser genéticamente estables, presentar adherencia a la mucosa intestinal y finalmente evidenciar un potencial efecto beneficioso para la salud del huésped.

2.4.5 Características del grupo *Lactobacillus casei*. Los miembros del grupo *L. casei* son bastones inmóviles, no formadores de esporas, catalasa negativos, gram positivos y generalmente de 0,7 – 1,1 µm x 2,0 – 4,0 µm, además se encuentran solos, en pares o en cadenas. Todas las especies en el grupo son heterofermentativos facultativos, que producen ácido láctico como el principal producto final de la fermentación y no producen gas de la glucosa. Bajo condiciones limitadas de glucosa, producen otros tres productos como: ácido acético, etanol y ácido fórmico. (CURRY y CROW, 2002).

Se pueden clasificar en las especies: *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* y *Lactobacillus rhamnosus*. (CURRY y CROW, 2002).

Las cepas del grupo *L. casei*, tanto *L. paracasei* o *L. rhamnosus*, se encuentran normalmente en los quesos como contaminantes, por lo que se les ha denominado comúnmente como cepas de bacterias ácido lácticas no starter (NSLAB) o como cultivos adjuntos (CURRY y CROW, 2002).

2.4.6 Efectos del *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* en quesos. La adición de cultivos adjuntos en este caso *L. paracasei* subsp. *paracasei* es principalmente para ayudar a la maduración del queso, siendo al principio insignificante su participación comparados con el *starter*. (CURRY y CROW, 2002).

MADUREIRA et al. (2005) en un estudio realizado a partir de la incorporación de bacterias probióticas en queso Requeijao, demostraron que *L. paracasei* subsp. *paracasei* exhibió excelentes características de crecimiento en todas las matrices de quesos muestreadas, presentando células viables a los 21 días de maduración, lo cual concuerda con investigaciones similares realizadas con queso fresco argentino (VINDEROLA et al., 2000) y queso Cheddar (MADKOR et al., 2000).

2.5 Prebióticos

Los prebióticos tienen como finalidad mejorar la salud del huésped mediante la modulación de la flora intestinal. En algunos casos los prebióticos pueden ser beneficiosos para los probióticos, ya que ayudan a la supervivencia de éstos, lo que se entiende por simbiosis. (FAO/OMS, 2006).

2.5.1 Definición. Se definen en general como “ingredientes no digeribles de los alimentos que afectan beneficiosamente al huésped estimulando selectivamente el crecimiento y/o la actividad de las especies de bacterias que están ya establecidas en el colon o de un número limitado de ellas, y por consiguiente mejoran de hecho la salud del huésped” (JUAREZ, 2005).

Se trata de influir en la microflora intestinal a través de la dieta. Un ejemplo clásico lo constituye la leche humana, cuyo elevado contenido en oligosacáridos y la naturaleza dinámica de los mismos se considera responsable de la mayor proporción de bifidobacterias en el tracto gastrointestinal de los niños alimentados con leche materna respecto a los alimentados con fórmulas infantiles, lo que normalmente se correlaciona con un menor riesgo de sufrir infecciones gastrointestinales (DEL MORAL et al., 2003).

La relación de prebióticos incluye tanto hidratos de carbono no digeribles/fermentables como otros compuestos menos definibles químicamente que se mencionan como fibras solubles de la dieta. Los continuos avances en biología molecular, a partir de los análisis de especies de bacterias en muestras biológicas, ayudarán en el futuro, a confirmar o identificar nuevos prebióticos entre nutrientes no digeribles (DEL MORAL et al., 2003).

CUADRO 4 Composición química de carbohidratos prebióticos y prebióticos potenciales.

Componente	Composición
Inulina	(2-1)fructano
Fructo-oligosacáridos	(2-1)fructano
Galacto-oligosacáridos	Oligogalactosa (85%)
Oligosacáridos de soja	Mezcla de rafinosa y estaquiosa
Xilo-oligosacáridos	Xilosa con uniones (1-4)
Isomalto-oligosacáridos	Mezcla de oligómeros de glucosa con uniones (1-6)
Oligosacáridos Transgalactosilados	6' galactosil - lactosa
Lactulosa	Galactosil (1-4) fructosa

FUENTE: JUAREZ (2005).

2.5.2 Relación entre probióticos y prebióticos. El término “simbiosis” se utiliza a veces para describir productos que contienen probióticos y prebióticos. Las combinaciones de probióticos y prebióticos pueden exhibir efectos sinérgicos, debido a que los prebióticos no sólo promueven el crecimiento de bacterias beneficiosas, sino que también actúan para mejorar la supervivencia, la implantación, y el crecimiento de probióticos ingeridos con el prebiótico. El concepto de simbiosis es popular en Europa basada en la premisa que algunos productos lácteos, por ejemplo yogurt, son buenos vehículos para ambos, bacterias viables de probióticos y prebióticos (KONG *et al.*, 2005).

2.5.3 Inulina. La inulina es un polisacárido soluble llamado fructano, el cual se encuentra compuesto principalmente por unidades de fructosa, unidas por enlaces - 2,1 glicosídicos, además poseen típicamente una glucosa terminal. (TANAKA y SAKO, 2002).

Los prebióticos más comúnmente usados son inulina, fructo-oligosacáridos y lactulosa (HOLZAPFEL y SCHILLINGER, 2002). Los fructanos tipo inulina, están presentes de forma natural en algunas plantas como: ajos, cebollas, achicoria, entre otras; además son usados por la industria alimentaria por sus propiedades tecnológicas y nutricionales como: sustitutos de grasa y azúcar, o como fibra dietética (DEL MORAL *et al.*, 2003).

2.5.4 Prebióticos en productos lácteos. Özer et al. (2005) realizaron un estudio en yogurt con la adición de inulina y lactulosa, para observar la sobrevivencia de *L. acidophilus* y *B. bifidum*, donde la lactulosa mostró ser más efectiva para estimular el crecimiento de *B. bifidum* que la inulina. El 2006, GOTTELAND y BRUNSER realizaron una investigación con el propósito de ver el efecto del yogurt adicionado con inulina, sobre la función intestinal de sujetos sanos y constipados, el que arrojó como resultados que en individuos constipados el consumo del producto con inulina alivia las molestias, en cambio el consumo de dos yogurt al día en individuos sanos aumenta los síntomas desagradables. BURITI et al. (2007) demostraron que *L. paracasei* subsp. *paracasei* puede ser usado junto con *S. thermophilus* en la producción de queso crema fresco, con o sin la adición de un prebiótico en este caso inulina, resultando un queso potencialmente probiótico y simbiótico con propiedades inhibitorias contra contaminantes microbianos.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Lugar de trabajo

La realización del trabajo de tesis, se llevó a cabo en las dependencias de la Universidad Austral de Chile, específicamente en los laboratorios del Instituto de Ciencias y Tecnología de los Alimentos (ICYTAL), y en la Planta Piloto del ICYTAL.

3.2 Materiales, equipos y métodos de trabajo

3.2.1 Materia prima. Queso Gauda semidescremado, alrededor de un 25% menos de grasa que un Gauda normal, con adición de probiótico (*Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*) y prebiótico (inulina).

3.2.2 Laboratorios de análisis. Laboratorios del Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICYTAL) y Laboratorios para el Aseguramiento de la Calidad de la Medición (LACM), ubicados en las dependencias de la Universidad Austral de Chile.

3.2.3 Cámara de maduración. Los quesos se almacenaron en una cámara climatizada a $14^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ con una humedad relativa de $88\% \pm 3\%$. Consta de estantería de madera, termómetro y ventiladores.

3.3 Metodología

Las producciones de queso Gauda semidescremado fueron realizadas en tesis paralela (Moscoso, Magíster de Ciencia y Tecnología de la leche).

3.3.1 Diseño experimental. Se estudiaron 4 tratamientos con 3 repeticiones cada uno.

Las variables que se analizaron fueron: Incorporación de un cultivo probióticos y adición de un prebiótico en 2 diferentes concentraciones.

Tratamiento 1 (control): Queso Gauda semidescremado (*)

Tratamiento 2: Queso Gauda semidescremado (*) con cultivo probiótico *L. paracasei* subsp. *paracasei*

Tratamiento 3: Queso Gauda semidescremado (*) con cultivo probiótico *L. paracasei* subsp. *paracasei* e inulina al 0,5%

Tratamiento 4: Queso Gauda semidescremado (*) con cultivo probiótico *L. paracasei* subsp. *paracasei* e inulina al 1%.

* Queso con 25,0 - 44,9% materia grasa en extracto seco (CHILE, INN, 1999), se usó leche estandarizada a 1,6% de MG, para obtener aproximadamente un 25% de reducción del nivel de grasa normal (alrededor de 37-40% materia grasa en base seca).

Para todos los tratamientos se utilizó como starter un cultivo mesófilo mixto, constituido por las cepas: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* y *Leuconostoc cremoris* (cultivo comercial LD-Culture CH-N-22) y para los tratamientos 2, 3 y 4 el cultivo probiótico *L. paracasei* subsp. *paracasei* (L. casei 01), ambos del laboratorio CHR. Hansen's.

3.3.2 Maduración de los quesos. Los quesos permanecieron en la cámara de maduración durante 21 días, 7 días por sobre la maduración mínima (CHILE, INN, 1999).

3.3.3 Análisis. Se describen a continuación los análisis realizados en el presente estudio.

3.3.3.1 Análisis físicos y químicos. Todos los análisis se realizaron en duplicado.

- § **Determinación de humedad:** Se determinó a los 0, 7, 14 y 21 días de maduración por el Método Gravimétrico. IDF/ FIL 4A: (1982); citado por PINTO *et al.*, 1998.
- § **Determinación de pH:** se determinó a los 0, 7, 14 y 21 días de maduración a través del Método Potenciométrico NCh. 1671-1979 (CHILE, INN, 1979).
- § **Determinación materia grasa:** se determinó a los 0 y 21 días de maduración a través del Método Gerber Van Gulik, NEN 3059:1957. LEIDEN, HOLANDA; ISO N° 3433. 1975 (PINTO *et al.* 1998).
- § **Determinación de proteínas:** se determinó a los 0 y 21 días de maduración a través de la determinación de nitrógeno total, por medio del método Kjeldahl descrito por PINTO *et al.* (1998).
- § **Contenido total de cloruros (NaCl):** se determinó a los 21 días de maduración a través del Método titrimétrico. AOAC. INTERNATIONAL. 33.7.10. 1995, descrito por PINTO *et al.* (1998).

3.3.3.2 Análisis de seguimiento de la maduración.

- § **Recuento de bacterias probióticas:** se determinó a los 0, 7, 14 y 21 días de maduración, a partir de agar MRS-IM con glucosa incubado a 37 °C por 72 horas, recomendado por el proveedor del cultivo (ANEXO 1).
- § **Proteólisis:** se determinó el perfil aminoacídico a los 0, 7, 14 y 21 días de maduración, a través de cromatografía líquida (HPLC), por el reactivo

Phenylisothiocyanate (PITC) para la derivatización de aminoácidos. (JANSSEN et al. 1986) (ANEXO 2).

3.3.3.3 Análisis estadístico. Para el análisis de los datos, se calculó el promedio y desviación estándar entre las repeticiones de cada tratamiento y variables estudiadas.

- § Test de homocedasticidad de varianzas, para verificar si se puede aplicar el análisis de varianza.
- § Análisis de varianza (ANDEVA) para determinar si existe diferencia significativa entre los tratamientos en estudio.
- § Análisis alternativo para la varianza de Kruskal-Wallis, cuando las varianzas de las muestras no fueron similares.
- § Análisis de comparación múltiple: Test de Tukey, en el caso de existir diferencias significativas entre los tratamientos y tiempos de maduración según corresponda.

Para estos análisis se utilizó el programa estadístico STATGRAPHICS plus 5.1

4. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1 Características físicas y químicas

En el CUADRO 5 se pueden apreciar los resultados de los promedios, entre repeticiones, de las características físicas y químicas para cada tratamiento, al inicio y final del periodo de maduración.

Los promedios y sus respectivas desviaciones estándar de los duplicados, se encuentran en el ANEXO 3 para cada tratamiento.

CUADRO 5 Características físicas y químicas del queso Gauda semidescremado al inicio y final del periodo de maduración (*)

Parámetro	T1		T2		T3		T4	
	0	21	0	21	0	21	0	21
Humedad (%)	51,25 ± 1,34	50,35 ± 0,59	51,29 ± 0,35	50,71 ± 0,56	51,37 ± 0,11	49,48 ± 0,19	50,86 ± 2,06	49,70 ± 0,46
Materia grasa (%)	18,25 ± 0,43	19,08 ± 0,38	17,83 ± 0,88	18,75 ± 0,66	19,42 ± 0,29	18,67 ± 1,38	19,33 ± 0,95	19,25 ± 1,09
Proteína (%)	25,93 ± 0,37	26,52 ± 1,31	26,50 ± 0,68	26,86 ± 0,67	27,13 ± 0,59	26,63 ± 0,12	26,69 ± 1,19	26,69 ± 1,56
pH	5,19 ± 0,10	5,41 ± 0,01	5,15 ± 0,09	5,35 ± 0,07	5,28 ± 0,00	5,40 ± 0,03	5,21 ± 0,01	5,41 ± 0,04

(*) Promedio y desviación estándar de las 3 repeticiones; análisis realizados en duplicado.

4.1.1 Contenido de humedad (%). El contenido de humedad es un parámetro muy importante en el proceso de maduración de quesos, puesto que controla el crecimiento y actividad de microorganismos; controla el equilibrio de las sales, además de los fenómenos de difusión (SCOTT, 1991). Por su parte FOX y COGAN (2004), mencionan que el contenido de humedad junto con el porcentaje de sal y el pH son los determinantes claves de la calidad del queso.

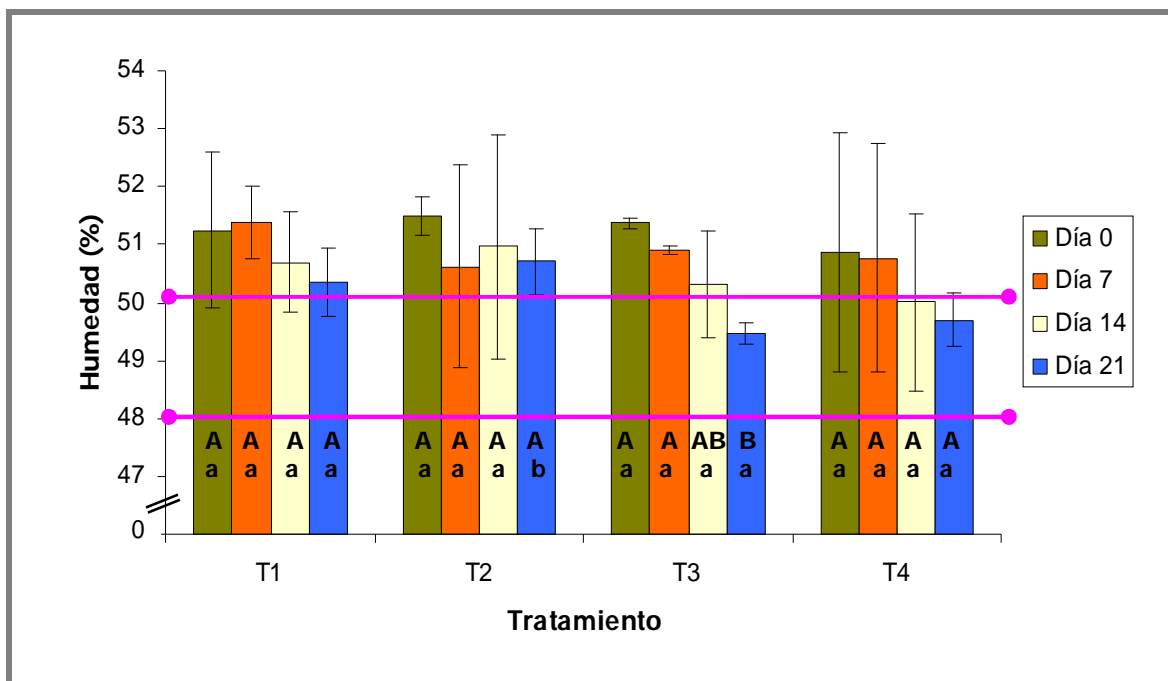


FIGURA 1 Evolución del contenido de humedad (%), por tratamiento durante los distintos tiempos de maduración del queso Gauda.

Promedio de las tres repeticiones

Letras distintas indican diferencia significativa al 5% (Tukey).

Minúsculas: diferencia entre tratamientos; Mayúsculas: diferencia entre tiempos.

En la FIGURA 1 se ilustra la evolución de la humedad de los diferentes tratamientos durante la maduración, observándose una disminución con el transcurso del tiempo, lo que es considerado normal en quesos madurados en cámara. Para quesos semiduros, es recomendada una maduración a una temperatura entre 10°C y 15°C por 3 a 4 semanas y un 85% a 95% de humedad relativa del aire. (FAO, 1986 y SCOTT, 1991). En esta investigación la cámara se mantuvo durante los 21 días de maduración a 14°C ± 1°C y 88% ± 3% humedad relativa aproximadamente, cumpliendo así con lo estipulado por los autores anteriormente mencionados.

Según el Instituto Nacional de Normalización (Nch 2478 Of 1999), el queso Gauda semidescremado debe tener un rango de humedad entre 48-50%, a un período mínimo de 15 días de maduración. Al observar la FIGURA 1 a los 15 días, maduración mínima estipulada por CHILE, INN (1999), sólo el T4 cumple y T3 está ligeramente por sobre la norma. Cabe destacar que se prolongó el estudio una semana por sobre la norma, principalmente para considerar un lapso de tiempo más, mientras es comercializado el producto y poder así observar su evolución durante este periodo; a partir de esto se puede apreciar a los 21 días de maduración que los tratamientos 3 y 4 cumplen con la normativa, mientras que 1 y 2 se encuentran levemente por sobre ésta.

Al realizar el análisis estadístico entre tratamientos (ANEXO 5.1), se aprecia que T2 presenta diferencias significativas con T1-T3 y T4 ($p < 0.05$) al día 21 de maduración y,

el T3 al día 21 si se realiza un análisis estadístico entre tiempos (ANEXO 5.2) con un p -valor <0.05 . Sin embargo al realizar un análisis estadístico multifactorial, con interacción de ambos factores (tratamiento-tiempo), se observa que no existen diferencias significativas para el contenido de humedad.

Al observar las FIGURA 1 se puede apreciar que las desviaciones estándar son amplias, lo cual pudo deberse al sector del queso de donde se sacó la muestra, ya que la humedad varía entre el centro (mayor humedad) y la periferia del queso (menor humedad), por lo tanto la toma de muestras no fue homogénea entre repeticiones. Dichas variaciones, pudieron haber contribuido a que en el análisis estadístico no se manifiesten mayores diferencias entre tratamientos y tiempo.

Al comparar los tratamientos 3 y 4 (con inulina), se comprueba que no difieren estadísticamente con el control. Esto indica que su incorporación no alteraría esta característica, además de encontrarse dentro del rango de humedad establecido por CHILE, INN (1999).

CUADRO 6 Pérdida de humedad entre el inicio y final del periodo de maduración del queso Gauda semidescremado (promedio).

Tratamiento	Humedad (%) (*)		Pérdida de humedad
	Día 0	Día 21	
1	51,25	50,35	0,90
2	51,29	50,71	0,58
3	51,37	49,48	1,89
4	50,86	49,70	1,17

(*) Promedio de las tres repeticiones

El queso Gauda se clasifica como un queso semiduro, según la Norma Chilena Oficial 2478. Of 1999 (CHILE, INN, 1999), al respecto FAO (1986) señala que, en los quesos la humedad disminuye lentamente en el transcurso de la maduración, en el caso de los semiduros en rangos de 2 a 4% en el lapso de seis semanas, según las condiciones de almacenamiento. En el CUADRO 6, se aprecia una reducción de humedad a lo largo de los días de maduración, sin embargo ésta no alcanza el 2%, debido que esta variedad de queso es almacenado y envasado con una bolsa de material termoretráctil, la cual impide intercambio de gases y expulsión de humedad.

CICHOSZ et al. (2003), realizaron un estudio en queso Gouda producido bajo condiciones industriales en Polonia, allí obtuvieron valores de humedad que variaron entre 41,8 a 43% a las 6 semanas de maduración, valores inferiores a los obtenidos en esta investigación. A diferencia de CICHOSZ et al., NAVARRETE (2007), realizó un estudio con queso Gauda reducido en grasa incorporando *L. paracasei* subsp. *paracasei*, la investigadora, reportó valores entre 50,84 - 52,86% de humedad a los 21 días de maduración, resultados similares a los obtenidos en el presente estudio de

queso Gauda, cuyo rango inferior es similar al tratamiento 1 (control) y 2 (incorporación de *L. pasara-casei subsp. paracasei*).

4.1.2 pH. Según SCOTT (1991) y McSWEENEY (2004), el pH de la cuajada (concentración de iones de hidrógeno) controla el crecimiento de los microorganismos y actividad proteolítica durante la maduración, lo que influye en la textura de los quesos, al tener un efecto sobre la solubilidad de las caseínas. Se ha comprobado que la actividad de las enzimas proteolíticas, provenientes de las bacterias agregadas con los cultivos, disminuye a pH inferiores a 5, lo cual significa que los quesos muy ácidos maduran lentamente, pues se reduce la producción de compuestos nitrogenados de bajo peso molecular (FAO, 1981).

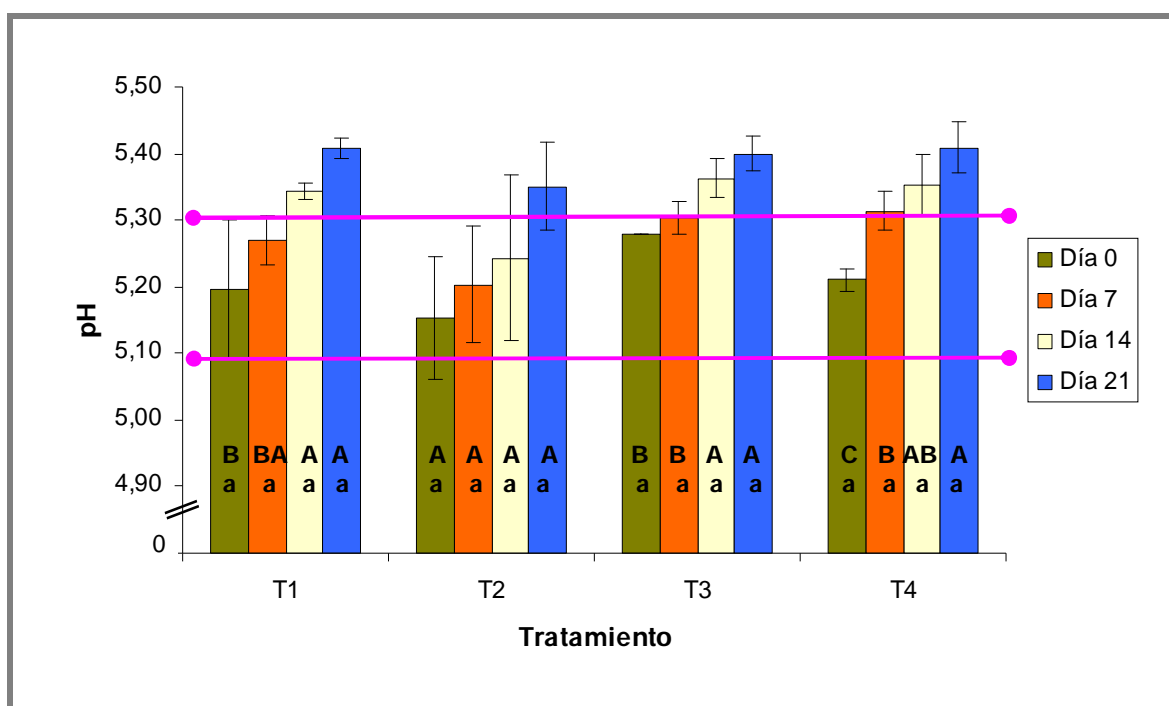


FIGURA 2 Evolución del pH por tratamiento durante el transcurso de la maduración del queso Gauda.

Promedio de las tres repeticiones

Letras distintas indican diferencia significativa al 5% (Tukey).

Minúsculas: diferencia entre tratamientos; Mayúsculas: diferencia entre tiempos.

En la FIGURA 2, se muestran los promedios y desviaciones estándar de las 3 repeticiones para los valores de pH, durante la etapa de maduración; en el ANEXO 3.2, se encuentra el detalle de los promedios entre duplicados para cada tratamiento.

Los cuatro tratamientos muestran un incremento normal de pH durante el periodo de maduración, lo que se debe a la degradación de las proteínas, liberándose amoníaco,

aminoácidos, aminas básicas y por la degradación del ácido láctico (ALAIS, 1985; FAO, 1986). Al observar las desviaciones estándar se ve reflejado una variabilidad entre las mediciones, lo cual pudo deberse a problemas metodológicos o de carácter instrumental, como podría ser una incorrecta calibración del equipo.

Según el Instituto Nacional de Normalización (Nch 2478 Of 1999), el queso Gauda semidescremado debe tener un rango de pH entre 5,1 a 5,3 durante un período mínimo de 15 días de maduración. Al observar la FIGURA 2, todos los tratamientos están por sobre este rango a los 21 días de maduración, siendo el tratamiento 2 el que más se acerca a lo establecido por CHILE, INN (1999).

Al realizar el análisis estadístico no se observan diferencias significativas entre tratamientos (ANEXO 6.1); sin embargo sí existen diferencias significativas al analizar los datos estadísticamente entre tiempos (ANEXO 6.2), ($p < 0,05$) en los tratamientos 1, 3 y 4 (FIGURA 2). Al analizar los datos en conjunto (tratamiento-tiempo) (ANEXO 6.3), se aprecian diferencias significativas mostrándose tres grupos homogéneos entre tratamientos: T1, T2-T3 y T4; y entre tiempos siendo homogéneos sólo el día 7 y 14.

Según BERTOLA *et al.* (2000), en una investigación realizada durante la maduración de queso Gouda, los quesos madurados a 20°C tuvieron un pH promedio de $5,41 \pm 0,03$ mientras que, los madurados a 10°C presentaron un pH de $5,56 \pm 0,03$, indicando una aceleración en la producción de ácido y degradación de proteínas a temperaturas de maduración más altas. En esta investigación, los quesos Gauda estuvieron almacenados en una cámara de maduración climatizada a $14^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ y $88\% \pm 3\%$ de humedad, con valores de pH similares a los obtenidos a 20°C. A su vez, MADKOR *et al.* (2000) realizaron un estudio en queso Cheddar con la aplicación de cultivos adjuntos *L. helveticus* y *L. casei*, allí se mostraron valores de pH más bajos en quesos elaborados con *L. casei*, observándose mayor actividad en éstos. MICHAELIDOU *et al.* (2003), trabajaron con queso bajo en grasa del tipo Kefalograviera, donde el pH a los 90 días de maduración fue de 5,31 con la adición de *L. casei* subsp. *rhamnosus*, lo cual no presentó diferencias significativas con otros tratamientos sin la incorporación de esta cepa. NAVARRETE (2007) en su estudio de queso Gauda reducido en grasa con la incorporación de *L. paracasei* subsp. *paracasei*, no obtuvo diferencias significativas entre tratamientos, con y sin la incorporación del probiótico, mostrando pH entre 5,40 - 5,48 a los 21 días de maduración. BURITI (2006) y RAMOS *et al.* (2006), investigaron el efecto simbiótico entre *L. paracasei* y la incorporación de inulina en queso crema fresco donde el pH presentó diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, frente al control sin la incorporación de ambas variables, mostrando niveles más bajos de pH cuando se incorporaba inulina.

A partir de lo citado anteriormente, se establece en este estudio que la adición del cultivo probiótico *L. paracasei* subsp. *paracasei* no afectó las características de pH del queso. Además al comparar los datos entre el control y T3-T4, se ve reflejado que la combinación del probiótico (*L. paracasei* subsp. *paracasei*) y prebiótico (inulina) no afectaron el pH, presentando valores similares al control finalizado el período de maduración. No obstante, considerando que los tratamientos 3 y 4 fueron los que presentaron mayor producción de aminoácidos de tipo básicos (4.2.2), se esperaría que también hubiesen presentado mayor pH; sin embargo como el *L. paracasei* subsp. *paracasei* en condiciones limitadas de glucosa produce ácido acético, etanol y ácido fórmico (CURRY y CROW, 2002), es probable que esto limitara la subida de pH esperada.

4.1.3 Materia grasa en base total y en base seca (%). Los lípidos en alimentos pueden experimentar la degradación hidrolítica u oxidativa. Los triglicéridos en todas las variedades de queso experimentan la hidrólisis por la acción de las lipasas indígenas, endógenas y/o exógenas, que dan lugar a la liberación de ácidos grasos durante la maduración. Los triglicéridos de la leche de vaca son ricos en ácidos grasos de cadena corta, las cuales contribuyen perceptiblemente al sabor de muchas variedades de queso (McSWEENEY, 2004). Por su parte FOX (2002), señala que la lipólisis es limitada en la mayoría de las variedades, exceptuando algunas tipos de quesos italianos y azules, sin embargo, las reacciones lipolíticas son importantes en el aroma y sabor del queso por la liberación de ácidos grasos y otros compuestos lipídicos.

Al ser removido un cierto contenido de materia grasa, ocasiona una serie de defectos a nivel físico y químico, influyendo en la proteólisis primaria, especialmente sobre las micelas de caseína, durante la maduración; además de presentar aumentos en el contenido de humedad, proteína y pH, consecuentemente la grasa cumple un rol fundamental en las características sensoriales de los quesos (FENELON et al., 2000 y BANKS, 2004).

CUADRO 7 Contenido de materia grasa en base total y base seca, al inicio y después de maduración (promedio y desviación estándar).

Tratamiento	Materia Grasa (%) (*)		MG/BS (%) (*)	
	Día 0	Día 21	Día 0	Día 21
1	18,25 ± 0,43 ^{a,A}	19,083 ± 0,38 ^{a,A}	37,47 ± 1,89 ^{a,A}	38,44 ± 1,12 ^{a,A}
2	17,83 ± 0,88 ^{a,A}	18,75 ± 0,66 ^{a,A}	36,76 ± 1,57 ^{a,A}	38,05 ± 1,76 ^{a,A}
3	19,42 ± 0,29 ^{a,A}	18,67 ± 1,38 ^{a,A}	39,92 ± 0,66 ^{a,A}	36,95 ± 2,83 ^{a,A}
4	19,33 ± 0,95 ^{a,A}	19,25 ± 1,09 ^{a,A}	39,35 ± 1,45 ^{a,A}	38,26 ± 1,88 ^{a,A}

(*) Promedio de las tres repeticiones

Letras distintas indican diferencia significativa al 5% (Tukey).

Minúsculas: entre tratamientos; Mayúsculas: entre tiempos.

En el CUADRO 7, se presenta el contenido de materia grasa tanto en base total, como en base seca. Según BRITO (1995), es más lógico evaluar el contenido de materia grasa en base seca (MG/BS), debido a las pérdidas de humedad en los quesos durante el período de maduración.

En el ANEXO 3.3 se encuentra el detalle de los promedios de los duplicados por tratamiento, en los distintos tiempos del periodo de maduración; tanto para materia grasa en base total, como en base seca.

Según los análisis estadísticos (ANEXO 7 y 8), no se presentan diferencias significativas entre tratamientos ni entre los distintos tiempos de maduración ($p > 0,05$); tanto para porcentaje de materia grasa en base total como en base seca (CUADRO 7).

El contenido de grasa obtenido en esta investigación, se ajusta a lo señalado según el Instituto Nacional de Normalización (Nch 2478 Of 1999) para queso Gauda semidescremado, donde el porcentaje de MG/BS debe encontrarse entre 25,0 - 44,9 %, estando dentro de este rango los cuatro tratamientos (aproximadamente entre 37-40% MG/BS); los cuales fueron elaborados con leche estandarizada a 1,6% de materia grasa con el objeto de obtener un queso semidescremado con aproximadamente un 25% menos de grasa que el producto normal.

Durante la maduración, se manifiesta un aumento paulatino de materia grasa y de los componentes sólidos, debido a la reducción del contenido de humedad (BRITO et al., 1995). Los tratamientos 1 y 2 presentan dichas características, mientras que T3 y T4 muestran una disminución del contenido de grasa, lo cual pudo deberse a problemas metodológicos, principalmente por no quedar bien digerida la muestra de queso.

4.1.4 Contenido de proteína total (%). Las proteínas constituyen la parte más importante en los quesos, porque forma la estructura o malla en la cual se alojan la grasa y parte de la humedad, por lo que tienen un papel trascendental en el desarrollo de las propiedades reológicas del producto; aunque estas últimas también dependen del contenido de agua, grasa y NaCl. Se componen de largas cadenas de aminoácidos, estando en el queso constituidas principalmente por paracaseína (ALAIS, 1985).

En el CUADRO 8, se presentan los valores promedios y desviación estándar del contenido de proteína de los cuatro tratamientos, al inicio y después del periodo de maduración (21 días). El detalle de los promedios entre duplicados y su desviación estándar se encuentra en el ANEXO 3.4.

CUADRO 8 Contenido de proteína (%), al inicio y final de maduración (promedio y desviación estándar).

Tratamiento	Proteína (%) (*)	
	Día 0	Día 21
1	25,93 ± 0,67	26,52 ± 1,31
2	26,50 ± 0,68	26,86 ± 0,67
3	27,13 ± 0,59	26,63 ± 0,12
4	26,69 ± 1,19	26,69 ± 1,56

(*) Promedio de las tres repeticiones

Los análisis estadísticos realizados (ANEXO 9), indican que no existen diferencias estadísticamente significativas ($p>0,05$), ya sea entre tratamiento, entre tiempos o de forma combinada de ambos factores (tratamiento-tiempo).

De manera gráfica, se presentan dichos parámetros en la FIGURA 3.

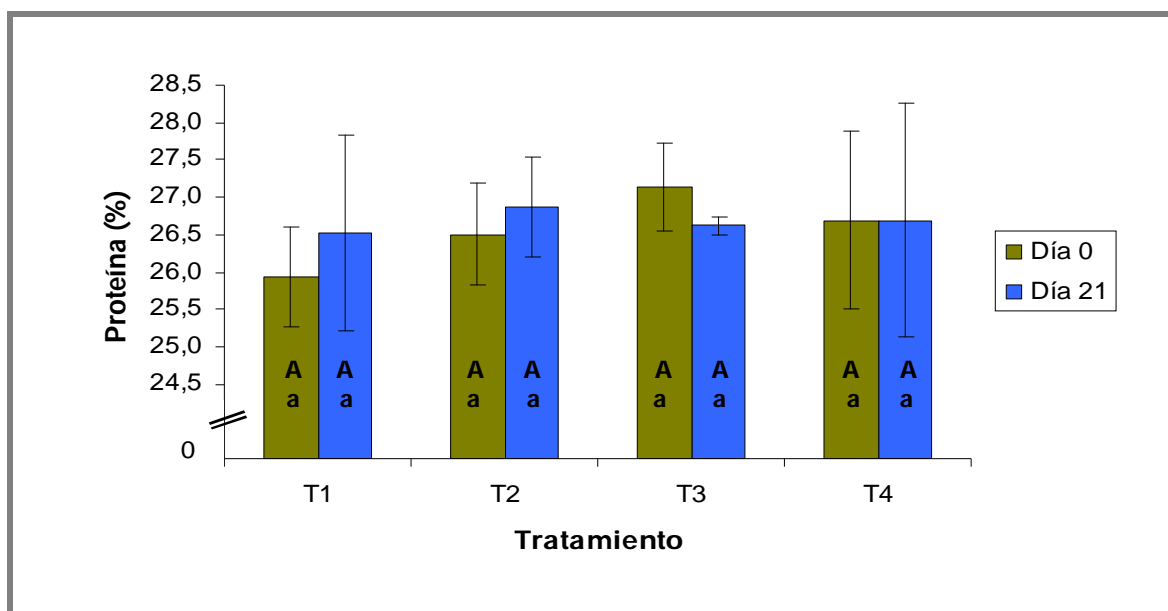


FIGURA 3 Variación del contenido de proteína al inicio y después de maduración (21 días).

Promedio de las tres repeticiones

Letras distintas indican diferencia significativa al 5% (Tukey).

Minúsculas: entre tratamientos; Mayúsculas: entre tiempos.

A medida que transcurre el tiempo los porcentajes de proteínas se manifiestan en mayor nivel numérico, esto se debe a la pérdida de humedad de la masa, siendo más alta cuando la deshidratación es mayor (FAO, 1986). Sin embargo, al observar los datos, dos tratamientos no coinciden con lo señalado, ya que a los 21 días de maduración T3 disminuye el contenido de proteína y T4 se mantiene, aunque ambos tratamientos fueron los que presentaron mayor pérdida de humedad (CUADRO 6). Esto pudo deberse a problemas metodológicos en la medición principalmente por el almacenamiento de las muestras, ya que algunas tuvieron que ser refrigeradas durante 3 a 4 días en espera de disponer del equipo en LACM, lo cual pudo alterar algunos resultados por una posible incorporación de humedad en las muestras debido a la falta de hermeticidad en el envase; lo que se ve reflejado al observar las desviaciones estándar, que muestran cierta variabilidad entre mediciones.

ALAIS (1985), señala para queso con 50% de humedad, un contenido de 22,50% de proteína, valor que se encuentra por debajo al obtenido (aproximadamente entre 25-27% de proteína). BAZAES (2004) obtuvo valores entre 25,84 - 26,60% de proteína a los 28 días de maduración para queso Gauda. SALAZAR (2005) presentó a los 42

días de maduración entre 23,48 – 25,80% de proteína para queso Chanco reducido en grasa, adicionado con suero en polvo y cultivo adjunto; en tanto OJEDA (2007), obtuvo entre 25,98 – 27,29% de proteína para queso Chanco reducido en grasa a los 42 días de maduración.

Se pueden observar diferencias en el contenido inicial de proteína, esto dependerá principalmente del contenido inicial de ésta en la leche utilizada como materia prima y de las condiciones de elaboración, lo cual incide en el porcentaje de pérdidas de este componente en el suero liberado (ALAIS, 1985).

Respecto a la influencia de la incorporación del prebiótico, inulina, se puede apreciar que no influye en el contenido de proteína del queso, tanto al inicio como al final de la maduración

4.1.5 Contenido de sal (%) y sal en humedad (%). La sal tiene tres importantes funciones en el queso: actúa como conservante, contribuye directamente al sabor y es una fuente de sodio dietético. Junto con el pH, actividad de agua y potencial redox, la sal ayuda a minimizar el deterioro y prevenir el crecimiento de patógenos (GUINEE, 2004).

El contenido de sal en queso es mejor expresado como sal-humedad (S/H), pues esa razón controla el grado en que la actividad del cultivo starter continúa después de la salazón. Valores típicos de S/H para queso Cheddar son entre 4-6%, más allá del 6% la actividad de la mayoría de las bacterias starter se ve inhibida (FARKYE, 2004). Los resultados obtenidos en esta investigación son inferiores a los mencionados anteriormente, presentando niveles entre 2,63 a 3,23% S/H (CUADRO 9), por lo tanto las bacterias starter ni las probióticas sufrieron inhibición por este concepto.

CUADRO 9 Contenido NaCl en base total y humedad (%) al final de la maduración del queso Gauda (promedio y desviación estándar).

Tratamiento	Sal (%) (*)	S/H (%) (*)
	Día 21	Día 21
1	1,44 ± 0,32	2,87 ± 0,68
2	1,37 ± 0,34	2,71 ± 0,50
3	1,22 ± 0,34	2,63 ± 0,46
4	1,60 ± 0,09	3,23 ± 0,16

(*) Promedio de las tres repeticiones

A partir de los análisis estadísticos realizados para el contenido de sal (ANEXO 10) y de sal en humedad (ANEXO 11) no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos ($P > 0,05$), lo que se puede observar con mayor claridad en la FIGURA 4.

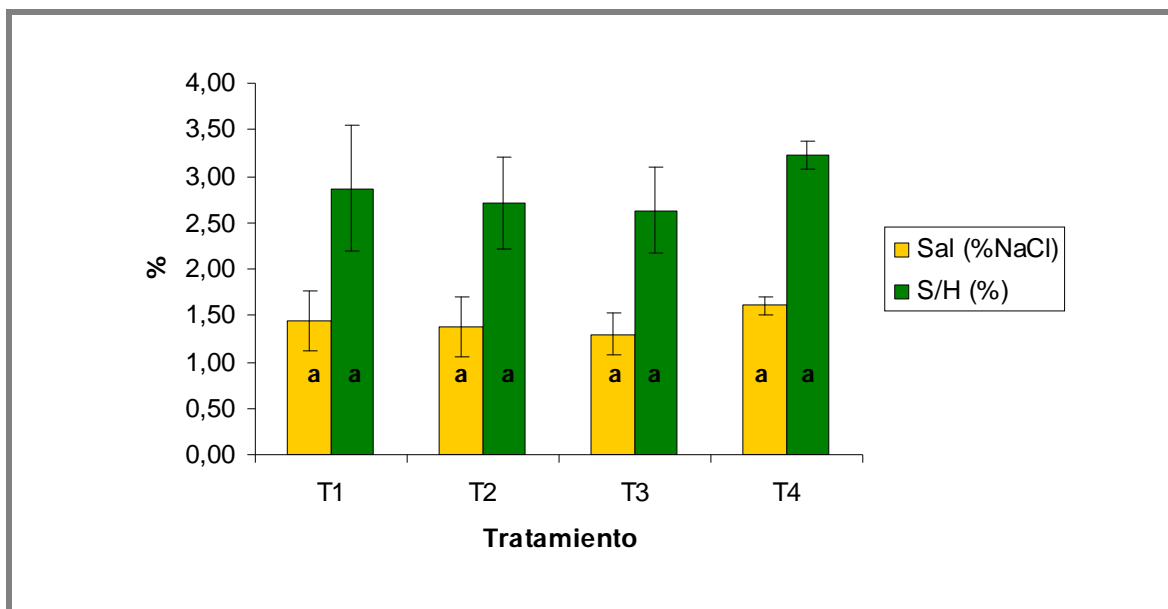


FIGURA 4 Contenido de NaCl en base total y en humedad al final del periodo de maduración del queso Gauda.

Promedio de las tres repeticiones

Letras distintas indican diferencia significativa al 5% (Tukey).

Minúsculas: entre tratamientos

El Instituto Nacional de Normalización en la norma del queso Gauda (Nch 2478 Of 1999), no establece niveles de NaCl en su composición, por lo que sólo se cuenta con información de diversos autores. CICHOSZ *et al.* (2003), realizaron un estudio en queso Gouda producido bajo condiciones industriales donde obtuvo valores de contenido de sal de 1,23 a 1,48%. Los niveles de sal reportados por investigadores para el producto chileno van entre 0,89-0,99% a los 21 días de maduración en queso Gauda reducido en grasa (NAVARRETE, 2007), pasando por 1,06-1,39% a los 28 días de maduración para Gauda de la décima región (BAZAES, 2004), hasta alrededor de 1,79 en Gauda a los 30 días de maduración (NIKLITSCHKEK 1999).

El contenido de sal obtenido en este estudio a los 21 días de maduración presenta niveles entre 1,22-1,60% (CUADRO 9), coincidiendo con algunos autores mencionados anteriormente. Además al observar las desviaciones estándar en los distintos tratamientos, se aprecia que el tratamiento 4 es el que presentó una menor desviación estándar, mostrando valores más homogéneos del contenido de sal entre duplicados e indicando que las muestras extraídas eran más homogéneas en comparación con los otros tratamientos.

Los factores que afectan la cantidad de sal absorbida por un queso son la concentración de la salmuera, el tiempo de salado, la temperatura de la cuajada y de la salmuera, la geometría del queso, el contenido de humedad inicial de la cuajada y el pH del queso y de la salmuera. Este fenómeno de difusión se produce debido a un

intercambio osmótico continuo ocurrido entre la fase acuosa del queso y el cloruro de sodio de la salmuera (SUTHERLAND, 2002; GUINEE, 2004).

Cabe destacar que la sal absorbida por los quesos, depende de diversos factores, entre ellos, el tiempo de salado, la temperatura de la cuajada y de la salmuera, la geometría del queso, el contenido de humedad inicial de la cuajada y el pH del queso y de la salmuera (SUTHERLAND, 2002). El efecto de la sal en la calidad del queso está relacionado con efectos sobre la actividad de agua, crecimiento microbiano, actividad enzimática, metabolismo de la lactosa, lipólisis, proteólisis e hidratación de caseína (GUINEE, 2004).

4.2 Evolución de la maduración

4.2.1 Viabilidad de bacterias probióticas, *L. paracasei* subsp. *paracasei*, durante la maduración. Desde hace algunos años se están elaborando productos lácteos que contienen probióticos como: *Bifidobacterias*, *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus casei*, los cuales han sido seleccionados por sus propiedades saludables.

En el CUADRO 10, se observan los recuentos de *L. paracasei* subsp. *paracasei* usado en esta investigación durante la maduración del queso, correspondiendo al promedio de las 3 repeticiones. En el ANEXO 4.1 se encuentra el detalle de los recuentos por repetición.

CUADRO 10 Recuento de *L. paracasei* subsp. *paracasei* (log ufc/g) durante la maduración.

Días de maduración	Tratamiento 2 (*)	Tratamiento 3 (*)	Tratamiento 4 (*)
0	9,07 ± 0,24 ^{a,A}	8,46 ± 0,37 ^{a,A}	8,61 ± 0,15 ^{a,A}
7	9,07 ± 0,43 ^{a,A}	8,61 ± 0,73 ^{a,A}	8,70 ± 0,16 ^{a,A}
14	9,13 ± 0,49 ^{a,A}	8,60 ± 0,21 ^{a,A}	8,98 ± 0,13 ^{a,A}
21	8,81 ± 0,24 ^{a,A}	8,79 ± 0,10 ^{a,A}	8,94 ± 0,19 ^{a,A}

(*) Promedio de 3 repeticiones; datos individuales (sin duplicado)

Letras distintas indican diferencia significativa al 5% (Tukey).

Minúsculas: entre tratamientos; Mayúsculas: entre tiempos.

Según los análisis estadísticos realizados (ANEXO 12), se aprecia que no existen diferencias significativas entre tratamientos (ANEXO 12.1) ni entre los distintos tiempos de maduración (ANEXO 12.2) presentando un p-valor >0,05. Sin embargo, al realizar un análisis estadístico multifactorial, con la interacción tratamiento – tiempo (ANEXO 12.3), se observan diferencias significativas entre tratamientos (p<0,05) con

un 95% de confianza, identificándose dos grupos homogéneos constituido por el T2, el cual presentó mayor recuento en los primeros días de maduración y el segundo grupo conformado por T3 y T4.

Al comparar los datos numéricos, los recuentos del día 0 y 21 (CUADRO 10), se observa que los tratamientos 3 y 4 presentaron un aumento en sus colonias durante este periodo, probablemente por la presencia de inulina en ellos, la cual sirve de sustrato para el probiótico ayudándolo a mantenerse viable. A su vez el tratamiento 4 presentó un aumento constante en sus recuentos, finalizando con la mayor cantidad de ufc/g a los 21 días de maduración. Cabe mencionar que ningún recuento estuvo por debajo de las 10^8 ufc/g, lo que da como resultado un buen comportamiento del cultivo probiótico en el queso Gauda semidescremado y además cumplen con ser un queso probiótico, cuyo mínimo exigido es de 10^7 ufc/g (PARVEZ et al., 2006)

El queso es un conveniente vehículo para la introducción de cultivos probióticos en la dieta, porque en comparación con el yogurt y otras leches fermentadas que son los productos más comunes en el mercado, el queso tiene una matriz sólida, mayor pH, capacidad buffer y contenido de grasa, que ayudan a proteger al probiótico durante el tránsito intestinal (BERESFORD y WILLIAMS, 2004).

Además del recuento de bacterias probióticas, se realizó una tinción gram a colonias al azar, para identificar la presencia de bacilos para el caso de *L. paracasei* subsp. *paracasei* y de cocos para el cultivo mixto (starter). En la FIGURA 5 se aprecia la imagen en el microscopio de la tinción gram realizada, donde se corrobora lo mencionado anteriormente.

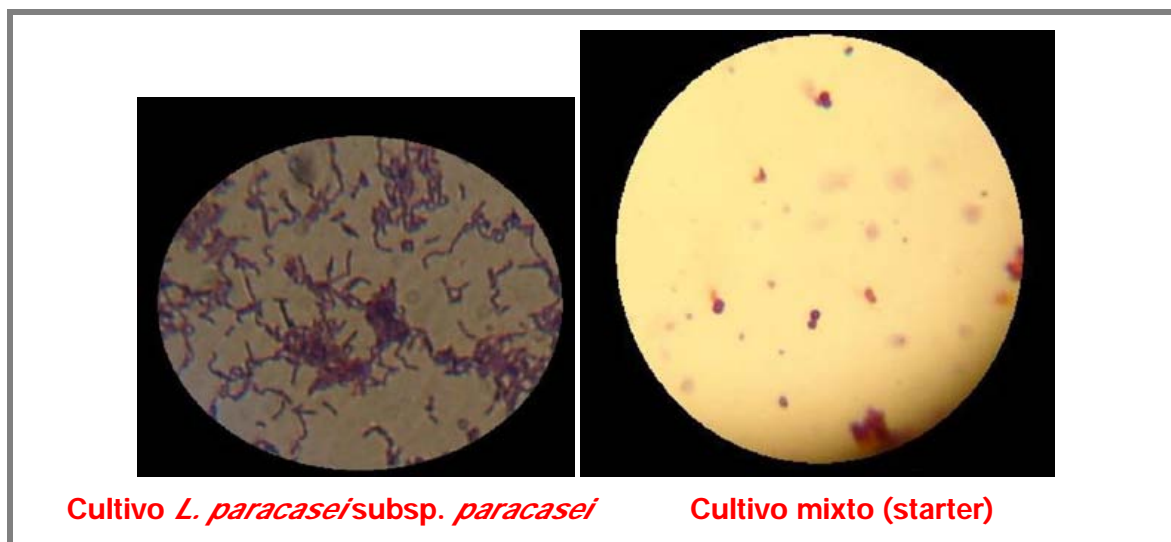


FIGURA 5 Fotografías de la tinción de gram en *L. paracasei* subsp. *paracasei* y en cultivo mixto (starter).

La FIGURA 6, muestra la morfología de las colonias de *L. paracasei* subsp. *paracasei* en la placa petri con agar MRS-IM con glucosa, después de las 72 horas de incubación a 37°C; donde se aprecia que la colonia del cultivo probiótico es blanca, ovalada y

cóncava; en cambio la del cultivo starter es de color amarillento, cremosa y más plana. Cabe mencionar que el agar utilizado es específico para la identificación de *L. paracasei subsp. paracasei*, por lo tanto la presencia de cultivo mixto en las placas fue muy escaso; pero a pesar de esto igual existió crecimiento de éste lo que comprueba que ambos pueden crecer en forma conjunta.

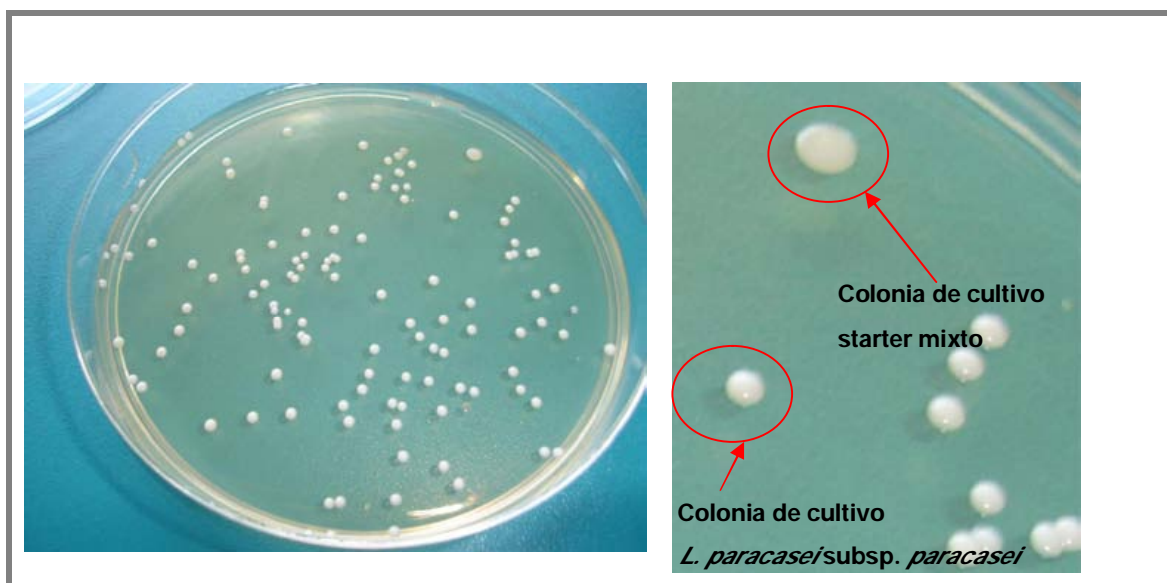


FIGURA 6 Desarrollo de *L. paracasei subsp. paracasei* sobre agar MRS-IM y su diferenciación frente al starter.

Resultados obtenidos por NAVARRETE (2007), indican que los recuentos, en queso Gauda reducido en grasa almacenados en una cámara de maduración climatizada a 14°C y 85% humedad relativa, se mantuvieron del orden de 10^8 ufc/g, inoculando el cultivo probiótico (*L. paracasei subsp. paracasei*) al inicio junto con el cultivo starter; igual técnica utilizada en esta investigación. RAMOS et al. (2006), en la realización de queso crema con probiótico (*L. casei*) y prebiótico (inulina), obtuvieron un recuento a los 15 días de elaboración almacenados a 4°C, de $1,2 \times 10^7$ ufc/g, pudiendo así considerarse como un alimento funcional.

Una investigación obtenida el 2004 por KASIMO LU et al., muestra un rápido crecimiento de *L. acidophilus* durante los primeros 7 días de maduración a 4°C (10^9 y 10^{10} ufc/g); indicando que ello se debe principalmente al alto contenido de humedad y bajo contenido de sal en el centro del queso; por ello estos recuentos se ven disminuidos a los 15 días de maduración probablemente por la disminución del nivel de humedad, el aumento del contenido de sal en el interior de la masa y bajas temperaturas en la cámara de maduración. MADKOR et al. (2000), en estudios sobre queso Cheddar con adición de cultivo probiótico *Lactobacillus helveticus* y *Lactobacillus casei* demostraron que aumentó el recuento durante el primer mes de maduración, viéndose disminuido ese nivel desde el tercer mes en adelante.

Dentro de los productos lácteos que se han elaborado con incorporación de probióticos y prebióticos se encuentra una investigación realizada por PAVÁN et al. (2006) en queso tipo Cheddar, donde se observa que la presencia de goma de algarrobo, usado como prebiótico, prolonga la viabilidad del *Lactobacillus acidophilus*,

manteniendo recuentos por sobre 10^6 ufc/g durante 10 semanas de maduración. BURITI et al. (2006), realizaron un estudio en queso crema fresco con la adición de *L. paracasei* e inulina, donde no se presentaron diferencias significativas en el recuento del probiótico durante su almacenamiento (21 días). Por su parte ÖZER et al. (2005), compararon el efecto de inulina y lactulosa sobre la viabilidad de *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium bifidum* en yogurt, obteniéndose como resultado, que tanto la inulina como lactulosa, no afecta el crecimiento de la bacteria starter del yogurt, pero sí estimula el crecimiento de ambos probióticos, siendo más efectiva la lactulosa que la inulina.

4.2.2 Evolución de la proteólisis: perfil aminoacídico. Proteólisis es la más compleja y, en la mayoría de las variedades, el más importante de los tres acontecimientos bioquímicos que se producen en el queso durante la maduración (MCSWEENEY, 2004). Desempeña un papel importante durante la maduración en el desarrollo de textura y sabor en la mayoría de las variedades de queso. Contribuye directamente al sabor, a través de la formación de péptidos y aminoácidos libres, e indirectamente a través de la conversión de los aminoácidos libres a diversos compuestos como aminas, ácidos y tioles (FENELON et al. 2000). Los péptidos pueden tener un impacto directo en el sabor del queso; sin embargo, recientes investigaciones han indicado que el mayor rol de la proteólisis en el sabor del queso es en la producción de aminoácidos, los cuales actúan como precursores para el alcance de reacciones del catabolismo, produciendo compuestos volátiles como aldehídos, alcoholes, ácidos carboxílicos, tioles, etc. (MCSWEENEY, 2004).

Dependiendo del aminoácido que se trate será la característica que el queso presente, es decir, con la producción de Gly, Ser, Thr, Ala y Pro será sabor dulce; His, Glu y Asp será agrio y finalmente Arg, Met, Val, Leu, Phe, Tyr, Ile y Trp será amargo (MCSWEENEY, 2004). A partir de lo mencionado anteriormente se puede señalar que los quesos producidos en esta investigación debieron presentar una mezcla de las 3 características, ya que varios de los aminoácidos nombrados fueron encontrados en este estudio durante el los distintos tiempos de maduración (0, 7, 14 y 21 días) (FIGURA 7).

Al observar la FIGURA 7 se aprecia un constante aumento en la producción de aminoácidos a lo largo del periodo de maduración, destacándose Glu, Ser, Leu y Lys en todos los tratamientos. Al comparar su producción se observa que tanto T1 y T2, destacan los mismos aminoácidos (Glu, Ser, Val, Leu y Lys); sin embargo al contrastarlos con T3 y T4 sobresalen otros además de los mencionados anteriormente como Pro y Phe para T3 y Gly, His, Ala, Pro, Ile y Phe para T4; lo cual coincide con la adición de inulina, es decir los tratamientos que contienen dicho prebiótico presentan mayor producción de aminoácidos, lo cual se acentúa con mayor contenido de inulina (1%) presentando la mayor cantidad de aminoácidos y en mayor área; donde se podría decir que el probiótico al contar con inulina en mayor cantidad favorecería la actividad proteolítica de éste, ayudándolo a degradar la proteína formando más aminoácidos libres. El detalle del área ocupada por todos los aminoácidos durante los distintos tiempos de maduración, se encuentra en el ANEXO 4.2.

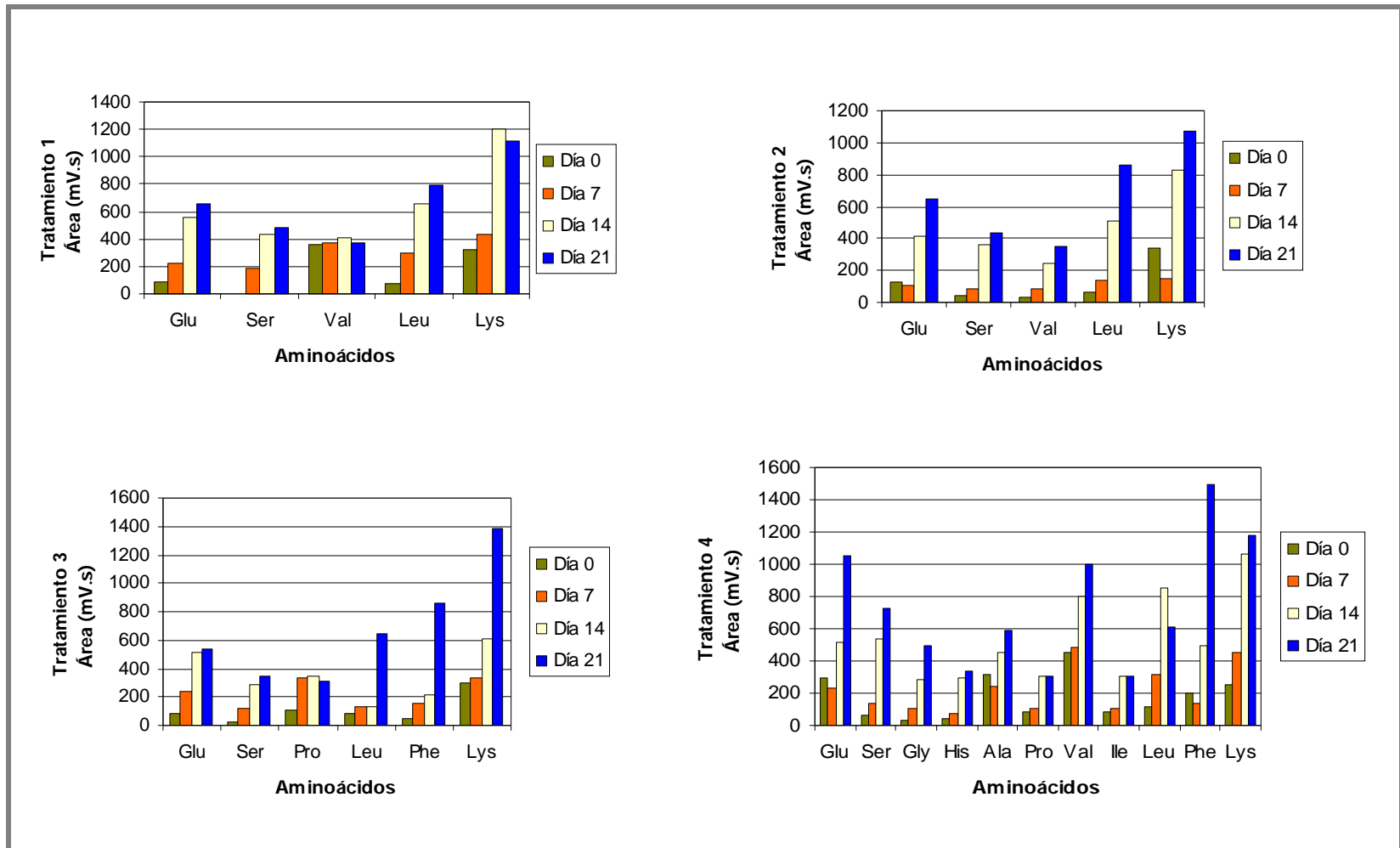


FIGURA 7 Área de aminoácidos de mayor producción durante la maduración.

La determinación de aminoácidos se realizó por HPLC por medio de Phenylisothiocyanate (PITC), el cual ha sido ampliamente utilizado para la derivatización de aminoácidos debido a su sensibilidad y estabilidad; además se prepararon patrones de aminoácidos para su identificación posterior en las muestras (ANEXO 2), teniendo como referencia su tiempo de retención para la identificación de éstos en el queso Gauda semidescremado. En el ANEXO 4.2, están los cromatogramas que fueron obtenidos a partir de este análisis para los diferentes tratamientos durante la maduración (0, 7, 14 y 21 días).

Este análisis se realizó sólo en la primera repetición y no se realizó en duplicado, salvo cuando alguna corrida no pasara correctamente o presentaran imperfecciones los peaks caso en el cual se repitió el análisis, existiendo una sustitución del resultado.

CUADRO 11 Diferencia del área ocupada por cada aminoácido (mV.s) entre el día 0 y 21 de maduración, en cada tratamiento.

Aminoácidos	Tratamiento 1		Diferencia	Tratamiento 2		Diferencia
	Área día 0	Área día 21		Área día 0	Área día 21	
Aspártico	0,00	60,03	60,03	28,03	60,95	32,92
Glutámico	80,81	654,05	573,24	127,19	642,70	515,51
Serina	0,00	488,63	488,63	46,70	438,25	391,56
Glicina	18,36	187,69	169,33	24,15	184,36	160,21
Histidina	18,86	132,24	113,39	15,60	160,67	145,07
Arginina	19,01	86,29	86,29	16,69	87,35	70,66
Alanina	16,01	61,28	45,27	15,70	113,24	97,54
Prolina	47,39	291,67	244,29	34,10	288,68	254,58
Valina	362,19	376,29	14,10	35,11	351,81	316,70
Isoleucina	20,30	164,95	144,65	14,88	154,70	139,82
Leucina	73,93	791,34	717,41	58,43	857,75	799,32
Fenilalanina	46,29	299,06	252,77	45,04	299,97	254,93
Lisina	320,23	1120,38	800,15	340,12	1074,10	733,98
Aminoácidos	Tratamiento 3		Diferencia	Tratamiento 4		Diferencia
	Área día 0	Área día 21		Área día 0	Área día 21	
Aspártico	15,39	241,46	226,07	60,21	128,34	68,14
Glutámico	85,61	541,61	456,00	295,17	1054,24	759,06
Serina	24,12	346,36	322,24	64,29	728,13	663,84
Glicina	19,32	147,96	128,64	36,02	494,95	458,93
Histidina	10,78	166,91	156,13	38,90	341,58	302,68
Arginina	27,52	52,58	25,06	18,03	162,57	144,54
Alanina	12,57	94,56	81,99	315,71	589,96	274,25
Prolina	110,87	306,66	195,79	84,97	309,69	224,72
Valina	26,84	127,45	100,62	457,72	1003,13	545,41
Isoleucina	36,35	85,45	49,09	85,40	312,38	226,98
Leucina	82,81	644,18	561,37	114,76	611,56	496,80
Fenilalanina	53,55	854,38	800,83	196,16	1495,81	1299,65
Lisina	295,84	1386,45	1090,61	257,21	1178,10	920,89

FENELON **et al.** (2000), realizaron un estudio sobre el efecto del contenido de grasa durante la maduración en queso Cheddar, donde al analizar las concentraciones de aminoácidos libres (ug/g de queso) en los días 90 y 180 de maduración, arrojó como principales a Glu, Leu, Phe, Lys, Val y Ser; aumentando todas las concentraciones a medida del transcurso del tiempo de maduración y con la reducción inicial del nivel de grasa. Lo anterior coincide con lo señalado por MICHAELIDOU **et al.** (2003), en queso del tipo Kefalograviera reducido en grasa, con agregado de cultivos adjuntos, donde la concentración de aminoácidos se vio favorecida por la reducción de grasa en el queso. En esta investigación la reducción de grasa no viene a ser una variable a considerar, ya que todos los tratamientos presentan igual contenido graso; sin embargo algunos de los aminoácidos mencionados anteriormente coinciden con los que se encuentran en mayor concentración en este estudio, viéndose también reflejado el aumento del contenido de aminoácidos por tratamiento, a través del periodo de maduración, lo cual se muestra en el CUADRO 11, a partir de la diferencia en las concentraciones de aminoácidos libres, comparando el día 0 y 21 de maduración.

La caseína se encuentra compuesta por una serie de aminoácidos, dentro de los cuales los que están en mayor cantidad son Pro, Glu, Gln, Leu, Ser, Val y Lys y los aminoácidos en menor proporción son Cys, Trp, His, Met, Arg, Asp y Gly (WALSTRA, **et al.** 1999). Al compararlos con los obtenidos en este estudio (CUADRO 11), se puede observar que dentro de los aminoácidos que destacan en todos los tratamientos, son los que se encuentran en mayor proporción en la caseína, exceptuando Pro, el cual sobresale en T3 y T4 y sin considerar a Gln, el cual no se contabilizó debido a que no estaba dentro de los patrones de aminoácidos preparados.

LYNCH, **et al.** (1999), midieron el índice de proteólisis de diferentes formas para queso Cheddar con la adición de cultivos adjuntos como *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* y *Lb. plantarum*, encontrando diferencias sólo al medir la concentración total de aminoácidos libres, donde resultó superior en el queso que contenía *Lb. paracasei* subsp. *paracasei*, al ser comparado con el control sin la presencia de éste. Este fenómeno pudo deberse al aumento de la actividad peptidasa causada por el cultivo adjunto; lo cual coincide con lo informado por GARDINER, **et al.** (1998), quienes señalaron que, si bien la proteólisis primaria no se ve afectada por la adición de *L. paracasei*, al analizar los aminoácidos libres se pueden observar diferencias en presencia del probiótico, destacándose las concentraciones de ácido glutámico, metionina, leucina, lisina y valina.

Los resultados de esta investigación señalan (CUADRO 11), que los tratamientos 3 y 4 son los que presentan mayor producción de aminoácidos a través del tiempo de maduración; probablemente por la presencia de inulina (0,5 y 1%), que les sirve como sustrato al *L. paracasei* subsp. *paracasei*, aumentando así su actividad proteolítica.

5. CONCLUSIONES

De acuerdo a los objetivos y los resultados obtenidos en esta investigación, se concluye lo siguiente:

- § La incorporación del probiótico *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* y del prebiótico inulina, no afectaron significativamente las características físicas y químicas del queso Gauda semidescremado.
- § El recuento de células probióticas, en los tratamientos con esta variable, se mantuvo durante todo el período de maduración sobre 10^8 ufc/g, por lo tanto puede ser considerado un queso probiótico (mínimo 10^7 ufc/g).
- § La proteólisis, medida a partir de un perfil aminoacídico por HPLC, mostró un aumento constante de éstos a medida que transcurrieron los días de maduración. Dentro de los aminoácidos que destacaron en todos los tratamientos está la presencia de Glu, Ser, Leu y Lys, los cuales se encuentran entre los aminoácidos de mayor proporción en la caseína.

A partir de los resultados obtenidos en esta investigación, se puede concluir que es aceptada la hipótesis propuesta: *“La incorporación del cultivo probiótico Lactobacillus paracasei subsp. paracasei y el prebiótico inulina, no afectan las características físicas y químicas del queso Gauda semidescremado, transformándolo en un Queso semidescremado simbiótico”*

6. RESUMEN

Evolución de la maduración de queso Gauda semidescremado con adición de cultivo probiótico *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* y del prebiótico inulina

En esta investigación se estudió la influencia ejercida por la adición del probiótico *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* y el prebiótico inulina en dos diferentes concentraciones, durante la maduración del queso Gauda semidescremado. Para esto se contó con 4 tratamientos, con tres repeticiones cada uno: tratamiento control (T1), queso Gauda semidescremado (QGSD); T2, QGSD con adición del probiótico; T3, QGSD con adición del probiótico y prebiótico al 0,5%; T4, QGSD con adición del probiótico y prebiótico al 1%. Los resultados indican que las características físicas y químicas, no se vieron afectadas significativamente por la incorporación del probiótico y prebiótico; en tanto el recuento de bacterias probióticas viables se mantuvo del orden de 10^8 ufc/g en todos los tratamientos. La proteólisis, medida a partir del perfil aminoacídico, arrojó un aumento sostenido durante la maduración y como principales aminoácidos destacados en todos los tratamientos a Glu, Ser, Leu y Lys.

Palabras claves: Queso Gauda semidescremado, probiótico, prebiótico

SUMMARY

Evolution of the ripening of reduced fat Gauda cheese with addition of probiotic culture *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* and the prebiotic inuline

In this research the influence of the addition of probiotic *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* and prebiotic inuline in two different concentrations was studied during the ripening of reduced fat Gauda cheese. For that purpose, four treatments, with three repetitions each were studied: control treatment (T1), Gauda cheese reduced fat (QGSD); T2, QGSD with the addition of the probiotic; T3, QGSD with probiotic and 0,5% prebiotic; T4, QGSD with probiotic and 1% prebiotic. Results indicated that the physical and chemical characteristics were not affected significantly by the incorporation of probiotic and prebiotic. The counts of viable probiotic bacteria stayed in order of 10^8 cfu/g in all treatments. The proteolysis measure for the amino acidic profile, gave as a result a steady increase during ripening. The main amino acids present in all treatment were Glu, Ser, Leu and Lys.

Key words: reduced fat Gauda cheese, probiotic, prebiotic.

7. BIBLIOGRAFÍA

- ACUÑA, P.; PAGANO, T.; GROMPONE, M. y BERMÚDEZ, J. 2001. Ácidos grasos libres en quesos, como parámetros vinculados a su maduración. *Tecnología Láctea Latinoamericana (Uruguay)* 1(26): 55-60.
- ALAIS, CH. 1985. *Ciencia de la leche. Principios de Técnica Lechera*. 2da Edición. Barcelona, España. Reverté. 873 p.
- BANKS, J. 2004. The technology of low-fat cheese manufacture. *International Journal of Dairy Technology*. 57(4): 199-207.
- BANKS, J. y WILLIAMS, A. 2004. The role of the nonstarter lactic acid bacteria in Cheddar cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology*. 57(2/3): 145-152.
- BAZAES, M. 2004. Características de calidad química y sensorial de Queso Gauda. Tesis Lic. Cs. Alim. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 86 p.
- BERESFORD, T. y WILLIAMS, A. 2004. The Microbiology of Cheese Ripening. In: Fox, P., McSweeney, P., Cogan, T., Guinee, T. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Volumen 1. 3ª Ed. Elsevier. Londres. pp. 287-309.
- BERTOLA, N.; CALIFANO, A.; BEVILACQUA, A. y ZARITZKY, N. 2000. Effects of ripening conditions on the texture of Gouda cheese. *International Journal of Food Science and Technology*. 35: 207-214.
- BRITO, C. 1993. Aspectos bioquímicos de la maduración de quesos. *Alimentos*. 18(4):40-55.
- . 1995. Guía de práctico. Queso Gauda. Caracterización, Procesamiento y Control de Calidad. *Tecnología de Productos Lácteos, ITCL 272*. Universidad Austral de Chile. Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Valdivia. 7p.
- .; MORALES, O.; MOLINA, L.; PESSOT, R. y PINTO, M. 1995. Evolución de la maduración de queso Chanco tipo campo almacenado a altas temperaturas. Parte 1. Parámetros fisicoquímicos y pérdida de peso. *Agro Sur* 23 (2): 95 – 105.
- . 2006. Production of low-fat Chanco cheese using homogenized milk and adjunct lactic culture. *International Journal of Dairy Technology*. 59(4): 242-249.
- BURITI, F.; CARDARELLI, H. y SAAD, S. 2007. Biopreservation by *Lactobacillus paracasei* in Coculture with *Streptococcus thermophilus* in Potentially Probiotic and Synbiotic Fresh Cream Cheeses. *Journal of Food Protection*. 70(1):228-235.
- CARRASCO, F.; REYES, E.; RIMLER, O. y RIOS, F. 2004. Exactitud del índice de masa corporal en la predicción de la adiposidad medida por impedanciometría bioeléctrica. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 54 (3): 280-286.

- CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACIÓN, INN. 1999. Productos Lácteos. Queso Gauda. Requisitos. Norma Chilena 2478.
- , INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACIÓN, INN. 1979 b. Leche y productos lácteos; Determinación del pH. Norma Chilena 1671. Of. 1979.
- CICHOSZ, G.; ZALECKA, A. y LENKIEWICZ, M. 2003. The influence of streptococci and lactobacilli on Proteólisis in Gouda cheese. *Milchwissenschaft*. 58(5/6): 297-300.
- CONTRERAS, M.; IZQUIERDO, P. y ALLARA, M. 2007. Determinación de aminas biógenas en quesos madurados. *Revista científica FCV-LUZ*. 17(1): 89-95.
- CURRY, B. y CROW, V. 2002. *Lactobacillus* spp. In: Roginski, H., Fuquay, J and Fox, P. *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Elsevier. Londres. pp1479-1511.
- CURTIN, A. y McSWEENEY, P. 2004. Catabolism of Amino Acids in Cheese during Ripening. In: Fox, P., McSweeney, P., Cogan, T., Guinee, T. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Volumen 1. 3ª Ed. Elsevier. Londres. pp. 435- 451
- DEL MORAL, A.; MORENO, J. y MARTÍNEZ, A. 2003. Efecto de los prebióticos sobre el metabolismo lipídico. *Nutrición Hospitalaria*. 18: 181-188.
- DE VUYST, L. 2000. Technology aspects related to the application of functional starter cultures. *Food Technology and Biotechnology*. 38(2):105-112.
- FAO, FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. 1981. Manual Correspondiente al Módulo III Elaboración de Quesos. Equipo Regional de Fomento y Capacitación en Lechería de la FAO para América Latina. Santiago. Chile.
- FAO, FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. 1986. Manual correspondiente al Módulo III-B. Elaboración de quesos. Equipo regional de fomento y capacitación en lechería de la FAO para América Latina. Santiago, Chile. 132p.
- FAO y OMS. 2006 Probióticos en los alimentos. Roma, Italia. 49p.
- FARKYE, N Y. 2004. Cheese technology. *International Journal of Dairy Technology*. 57(2/3): 91-98.
- FENELON, M.; CONNOR, P. y GUINEE, T. 2000. The Effect of Fat Content on the Microbiology and Proteólisis in Cheddar Cheese During Ripening. *Journal Dairy Science*. 83: 2173-2183.
- FERMIN, B.; RADINSKY, J.; KRATOCHVIL, J.; HALL, J. y LO, Y. Integration of Rapid Derivatization and Gradient Elution Techniques for Enhanced High- Performance Liquid Chromatography Analysis of Key Amino Acids in Wheat Flour. *Journal of Food Science*. 68 (9): 2667-2671.
- FOX, P. y McSWEENEY, P. 1998. *Dairy chemistry and biochemistry*. Blackie Academic & Professional. Londres. 479 p.
- . 2002. Biochemistry of cheese ripening. In: Roginski, H., Fuquay, J and Fox, P. *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Elsevier. Londres. pp 320-326.

- . y COGAN, T. 2004. Factors that affect the quality of cheese. In: Fox, P., McSweeney, P., Cogan, T., Guinee, T. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Elsevier. Londres. pp. 583-608.
- GARDINER, G., ROSS, R.P., COLLINS, J.K., FITZGUERALD, G. y STANTON, C. 1998. Development of a probiotic Cheddar cheese containing human-derived *Lactobacillus paracasei* strains. Applied and Environmental Microbiology. 64(6): 2192-2199
- GOTTELAND, M. y BRUNSER, O. 2006. Efecto de un yogur con inulina sobre la función intestinal de sujetos sanos o constipados. Revista Chilena de Nutrición. 33(3): 553-563
- GUINEE, T. 2004. Salting and the role of salt in cheese. International Journal of Dairy Technology. 57 (2/3): 99-109.
- GÜLER, Z. 2005. Quantification of free fatty acids and flavor characteristics of kasar cheeses. Journal of Food Lipids. 12: 209-221.
- HAMILTON, J.; KNOX, B.; HILL, D. y PARR, H. Desmond Hill and Heather Parr. 2000. Reduced fat products Consumer perceptions and preferences. British Food Journal. 102 (7): 494-506.
- HELLER, K. 2001. Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organisms. The American Journal of Clinical Nutrition. 73 (suppl):374S-379S.
- HOLZAPFEL, W. y SCHILLINGER, U. 2002. Introduction to pre- and probiotics. Food Research International. 35: 109-116.
- JANSSEN, P.; VAN NISPEEN, J.; MELGERS, P. y VAN DEN BOGAART, H. HPLC Analysis of Phenylthiocarbamyl (PTC) Amino Acids. Application in the Analysis of (Poly)peptides. Chromatographia. 22(7-12): 351-357.
- JOHNSON, M. 2002. Low fat cheese. In: ROGINSKI, H. FUQUAY, J.N.; FOX P.F. (Ed) 2003. Encyclopedia of Dairy Sciences. Academia Press. London. pp 438-443.
- JUAREZ, M. 2005. Alimentos Funcionales. Fundación Española para Ciencia y Tecnología. FECYT. Madrid. 313p.
- KASIMOGLU, A.; GÖNCÜO LU, M. y AKGÜN, S. 2004. Probiotic white cheese with *Lactobacillus acidophilus*. International Dairy Journal. 14: 1067-1073.
- KONG, CH.; GLAHN, R.; WELCH, R. y MILLER, D. 2005. Prebiotics and Iron Bioavailability— Is There a Connection?. Journal of Food Science. 70 (5): 88-92.
- LYNCH, C.; MUIR, D.; BANKS, J.; McSWEENEY, P. y FOX, P. 1999. Influence of adjunct cultures of *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* or *Lactobacillus plantarum* on Cheddar cheese ripening. Journal of Dairy Science. 82 (8):1618-1628.
- MADRID, A. 1990. Manual de Tecnología Quesera. Madrid Ediciones. Madrid. 335p
- MADKOR, S.; TONG, P. y EL SODAT, M. 2000. Ripening of Cheddar Cheese with Added Attenuated Adjunct Cultures of Lactobacilli. Journal of Dairy Science. 83:1684–1691.

- McSWEENEY, P. 2004. Biochemistry of cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology*. 57(2): 127-144.
- McSWEENEY, P. 2004. Biochemistry of cheese ripening: Introduction and overview. In: Fox, P., McSweeney, P., Cogan, T., Guinee, T. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Volumen 1. 3ª Ed. Elsevier. Londres. pp. 347-360.
- MICHAELIDOU, A.; KATSIARI, M.; VOUTSINAS, L.; KONDYLI, E. y ALICHANIDIS, E. 2003. Effect of commercial adjunct cultures on proteolysis in low-fat Kefalograviera-type cheese. *International Dairy Journal*. 13: 743–753.
- MUDEREIRA, A.; GIAO, M.; PINTADO, M.; GOMES, A.; FREITAS, C. y MALCATA, X. 2005. Incorporation and Survival of Probiotic Bacteria in Whey Cheese Matrices. *Journal of Food Science*. 70 (3): 160-165.
- MUIR, D.; WILLIAMS, S.; TAMIME, A. y SHENANA, M. 1997. Comparison of the sensory profiles of regular and reduced – fat commercial processed cheese spreads. *International Journal of Food Science and Technology*. 32: 279 – 287.
- NAVARRETE, C. 2007. Efecto del cultivo probiótico *Lactobacillus subsp. paracasei* sobre la maduración de Gouda reducido en grasa. Tesis licenciado en Ciencia de los Alimentos. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 80p.
- NIKLITSCHKEK, L. 1999. Evaluación de ecuaciones predictivas del rendimiento teórico en queso tipo Gouda. Tesis Magister en Ciencias y Tecnología de la Leche. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 135 p.
- OJEDA, M. 2007. Maduración de Queso Chanco Reducido en Grasa, Elaborado con Leche de Variante Genética B de -caseína y B de -lactoglobulina y Adición de Suero en Polvo. Tesis licenciado en Ciencia de los Alimentos. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 126p.
- ÖZER, D.; AKIN, S. y ÖZER, B. 2005. Effect of Inulin and Lactulose on Survival of *Lactobacillus Acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium Bifidum* BB-02 in Acidophilus-Bifidus Yoghurt. *International Journal of Food Science and Technology*. 11(1): 19-24.
- PAVÁN, A.; LÓPEZ, A.; MORALES, M. y VÉLEZ, J. 2006. Viabilidad de *Lactobacillus acidophilus* en queso tipo Cheddar. VII congreso de Ciencia de los alimentos. Guanajuato, México. 108-113.
- PARVEZ, S.; MALIK, K.; AH KANG, S. y KIM, H. 2006. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *Journal of Applied Microbiology* 100: 1171-1185.
- PINTO, M.; VEGA y LEON, S. y PEREZ, N. 1998. Métodos de Análisis de la Leche y Derivados. Imprenta Universitaria, S.A. Valdivia. Chile. 489 p.
- POTTER, N. 1999. *Ciencia de los Alimentos*. Editorial Acribia S.A.. Zaragoza, España. 667p.
- RAMOS, L. ; GALLARDO, Y. ; ORTEGA, O. ; DEL REAL, E. y PAZ, T. 2006. Elaboración de Queso Crema Probiótico (*L. casei*), Bajo en Grasa, Adicionado

- con Inulina y Saborizado. VII congreso de Ciencia de los alimentos. Guanajuato, México. 55-62.
- SALAZAR, S. 2005. Maduración de Queso Chanco de reducido contenido graso, con adición de suero en polvo y cultivo adjunto atenuado. Tesis Lic. Cs. Alim. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 139 p.
- SALMINEN, S. y OUWEHAND, A. 2002. Probiotics, applications in dairy products. **In:** Roginski, H., Fuquay, J and Fox, P. Encyclopedia of dairy Science. Elsevier. Londres. pp 2315-2322.
- SCOTT, R. 1990. Fabricación de queso. Acribia. Zaragoza, España. 519 p.
- SENOK, A.; ISMAEEL, A. y BOTTA, G. 2005. Probiotics: facts and myths. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 11: 958-966.
- SUTHERLAND, B. (2002). Salting of cheese. **In:** Roginski, H., Fuquay, J and Fox, P. Encyclopedia of Dairy Science. Elsevier. Londres. pp 293-300.
- TANAKA, R. y SAKO, T. 2002. Prebiotics. **In:** Roginski, H., Fuquay, J and Fox, P. Encyclopedia of Dairy Sciences. Elsevier. Londres. pp 2256-2268.
- UPADHYAY, V.; McSWEENEY, P.; MAGBOUL, A. y FOX, P. 2004. Proteolysis in Cheese during Ripening. **In:** Fox, P., McSweeney, P., Cogan, T., Guinee, T. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Volumen 1. 3ª Ed. Elsevier. Londres. pp. 435- 451.
- VINDEROLA, C.; PROSELLO, W.; GHIBERTO, D. y REINHEIMER, J. 2000. Viability of Probiotic (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*) and Nonprobiotic Microflora in Argentinian Fresco Cheese. Journal of Dairy Science. 83:1905–1911.
- WALSTRA, P.; GEURTS, T.; NOOMEN, A.; JELLEMA, M. y van BOEKEL. 1999. Dairy Technology; Principles of Milk Properties and Processes. Marcel Dekker, Inc. New York. 727 p.

ANEXOS

ANEXO 2

Método de la determinación de aminoácidos (JANSSEN *et al.*, 1986)

Preparación de la muestra:

Rayar 5 g de queso y homogenizarlos con 40 ml TCA al 10%. Centrifugar a 4500 rpm durante 10 minutos.

Retirar el sobrenadante y congelar a -18°C.

Preparación patrones de aminoácidos:

Disolver 0,2 g de cada aminoácido en 50ml de HCL 0,1N. Refrigerar en frascos plásticos.

Pipetear 0,5ml de cada patrón (15) e introducirlos en tubos de 10 ml.

Preparación solución resecado (A):

Preparar solución de 1 ml de: etanol, agua, trietilamina; en relación 2:2:1.

Preparación solución derivatización (B):

Preparar solución de 1 ml de: etanol, agua, trietilamina y fenilisotiocianato; en relación 7:1:1:1.

Procedimiento:

- En distintos tubos colocar 20µl de cada muestra, además de 30µl, 20µl y 10µl de los patrones de aá. Cada tubo debe ser secado a través de una bomba de vacío durante aproximadamente 30 minutos
- Agregar 10µl de solución A a cada tubo y secar al vacío durante 30 minutos.
- Agregar 20µl de solución B a cada tubo y secar al vacío durante 30 minutos.
- Congelar las muestras a -18°C, que no sean inyectadas inmediatamente al HPLC.
- Descongelar las muestras al momento de inyectar al HPLC, diluirlas con 200µl de la fase móvil (600ml acetonitrilo, 400ml agua calidad milli Q) y agitar en vortex.
- Inyectar 20µl al HPLC. Cada corrida tarda 30 minutos.

Anexo 2.1 Fotos de la determinación de aminoácidos

Muestras congeladas



Equipo de HPLC



Inyección de la muestra



Cromatograma de aminoácidos

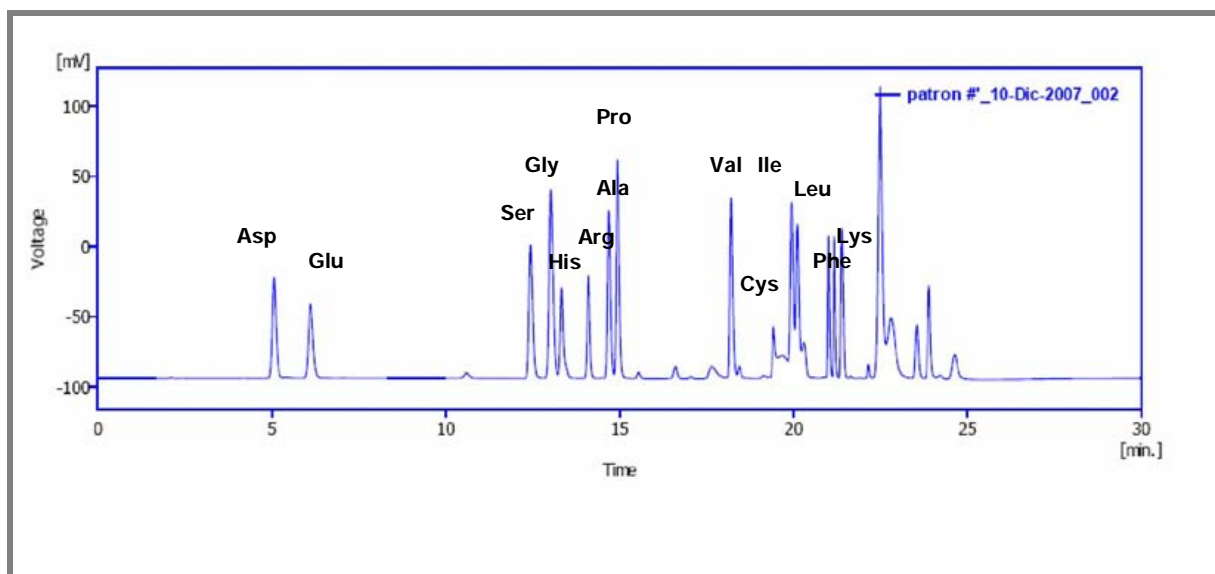


Anexo 2.2 Patrones de aminoácidos

Anexo 2.2.1 Tiempo de retención y área ocupada por los distintos patrones de aminoácidos

Aminoácido	Tiempo de retención	Área
Aspártico	5,060	1847,957
Ác. Glutámico	6,107	1657,035
Serina	12,440	2.394.028
Glicina	13,017	3477,730
Histidina	13,333	1455,301
Arginina	14,100	1351,456
Alanina	14,690	2335,021
Prolina	14,937	3193,048
Valina	18,207	2475,976
Metionina	18,437	236,270
Cistina	19,423	821,714
Isoleucina	19,950	2638,764
Leucina	20,110	2300,597
Fenilalanina	21,003	1288,758
Lisina	21,387	1816,424

Anexo 2.2.2 Cromatograma de los patrones de aminoácidos



ANEXO 3

Resultados de los análisis físicos y químicos de los tratamientos del queso Gauda en los diferentes tiempos de maduración.

Anexo 3.1 Resultados del análisis de humedad (%), durante la etapa de maduración (promedio de duplicados).

Tratamiento	Repetición	Humedad (%)			
		Día 0	Día 7	Día 14	Día 21
T1	1	49,71	50,64	50,13	49,67
	2	52,07	51,80	51,69	50,77
	3	51,98	51,71	50,26	50,60
	Promedio	51,25	51,38	50,69	50,35
	Desv. Estándar	1,34	0,64	0,87	0,59
T2	1	51,70	52,64	53,19	51,25
	2	51,70	49,77	49,70	50,12
	3	51,09	49,48	50,02	50,76
	Promedio	51,49	50,63	50,97	50,71
	Desv. Estándar	0,35	1,75	1,93	0,56
T3	1	51,46	50,90	49,64	49,26
	2	51,25	50,84	51,35	49,54
	3	51,40	50,99	49,91	49,63
	Promedio	51,37	50,91	50,30	49,48
	Desv. Estándar	0,11	0,08	0,92	0,19
T4	1	51,82	52,84	51,41	49,63
	2	48,50	48,88	48,37	49,28
	3	52,27	50,61	50,27	50,18
	Promedio	50,86	50,77	50,01	49,70
	Desv. Estándar	2,06	1,98	1,53	0,46

Anexo 3.2 Resultados del análisis de pH del Gauda durante la maduración (promedio de duplicados).

Tratamiento	Repetición	pH			
		Día 0	Día 7	Día 14	Día 21
T1	1	5,28	5,23	5,35	5,40
	2	5,08	5,28	5,35	5,43
	3	5,23	5,30	5,33	5,40
	Promedio	5,19	5,27	5,34	5,41
	Desv. Estándar	0,10	0,04	0,01	0,01
T2	1	5,18	5,13	5,10	5,28
	2	5,05	5,18	5,30	5,38
	3	5,23	5,30	5,33	5,40
	Promedio	5,15	5,20	5,24	5,35
	Desv. Estándar	0,09	0,09	0,12	0,07
T3	1	5,28	5,28	5,33	5,38
	2	5,28	5,33	5,38	5,43
	3	5,28	5,30	5,38	5,40
	Promedio	5,28	5,30	5,36	5,40
	Desv. Estándar	0,00	0,02	0,03	0,03
T4	1	5,20	5,33	5,30	5,38
	2	5,20	5,33	5,38	5,40
	3	5,23	5,28	5,38	5,45
	Promedio	5,21	5,31	5,35	5,41
	Desv. Estándar	0,01	0,03	0,04	0,04

Anexo 3.3 Resultados del análisis de materia grasa en base total y materia grasa en base seca (%) durante la etapa de maduración del Gauda (promedio de duplicados).

Tratamiento	Repetición	Grasa (%)		MG/BS	
		Día 0	Día 21	Día 0	Día 21
T1	1	17,75	18,75	21,85	23,99
	2	18,50	19,00	22,84	24,62
	3	18,50	19,50	22,98	25,32
	Promedio	18,25	19,08	22,56	24,64
	Desv. Estándar	0,43	0,38	0,62	0,66
T2	1	17,75	19,25	21,98	24,67
	2	17,00	18,00	20,73	22,71
	3	18,75	19,00	23,15	24,72
	Promedio	17,83	18,75	21,95	24,03
	Desv. Estándar	0,88	0,66	1,21	1,15
T3	1	19,75	17,25	23,87	22,66
	2	19,25	20,00	24,06	26,34
	3	19,25	18,75	23,69	24,57
	Promedio	19,42	18,67	23,87	24,52
	Desv. Estándar	0,29	1,38	0,19	1,84
T4	1	19,75	20,00	24,69	26,56
	2	20,00	19,75	24,92	26,31
	3	18,25	18,00	22,26	23,15
	Promedio	19,33	19,25	23,96	25,34
	Desv. Estándar	0,95	1,09	1,48	1,90

Anexo 3.4 Resultados del análisis de proteína (%), durante la etapa de maduración del Gauda (promedio de duplicados).

Tratamiento	Repetición	Proteína (%)	
		Día 0	Día 21
T1	1	26,18	26,22
	2	26,44	27,95
	3	25,17	25,40
	Promedio	25,93	26,52
	Desv. Estándar	0,67	1,31
T2	1	25,78	26,31
	2	27,14	27,61
	3	26,58	26,68
	Promedio	26,50	26,86
	Desv. Estándar	0,68	0,67
T3	1	27,47	26,49
	2	27,47	26,70
	3	26,45	26,70
	Promedio	27,13	26,63
	Desv. Estándar	0,59	0,12
T4	1	27,71	28,06
	2	25,38	24,99
	3	26,98	27,04
	Promedio	26,69	26,69
	Desv. Estándar	1,19	1,56

Anexo 3.5 Resultados del análisis de sal en base total (%) y sal en humedad (S/H) del Gauda a los 21 días de maduración (promedio de duplicados).

Tratamiento	Repetición	% Sal (NaCl)	% S/H
		Día 21	Día 21
T1	1	1,81	3,63
	2	1,32	2,60
	3	1,20	2,36
	Promedio	1,44	2,87
	Desv. Estándar	0,32	0,68
T2	1	1,39	2,71
	2	1,61	3,21
	3	1,12	2,21
	Promedio	1,37	2,71
	Desv. Estándar	0,32	0,50
T3	1	1,12	2,27
	2	1,56	3,15
	3	1,22	2,46
	Promedio	1,30	2,63
	Desv. Estándar	0,23	0,46
T4	1	1,57	3,15
	2	1,54	3,12
	3	1,71	3,41
	Promedio	1,60	3,23
	Desv. Estándar	0,09	0,16

ANEXO 4

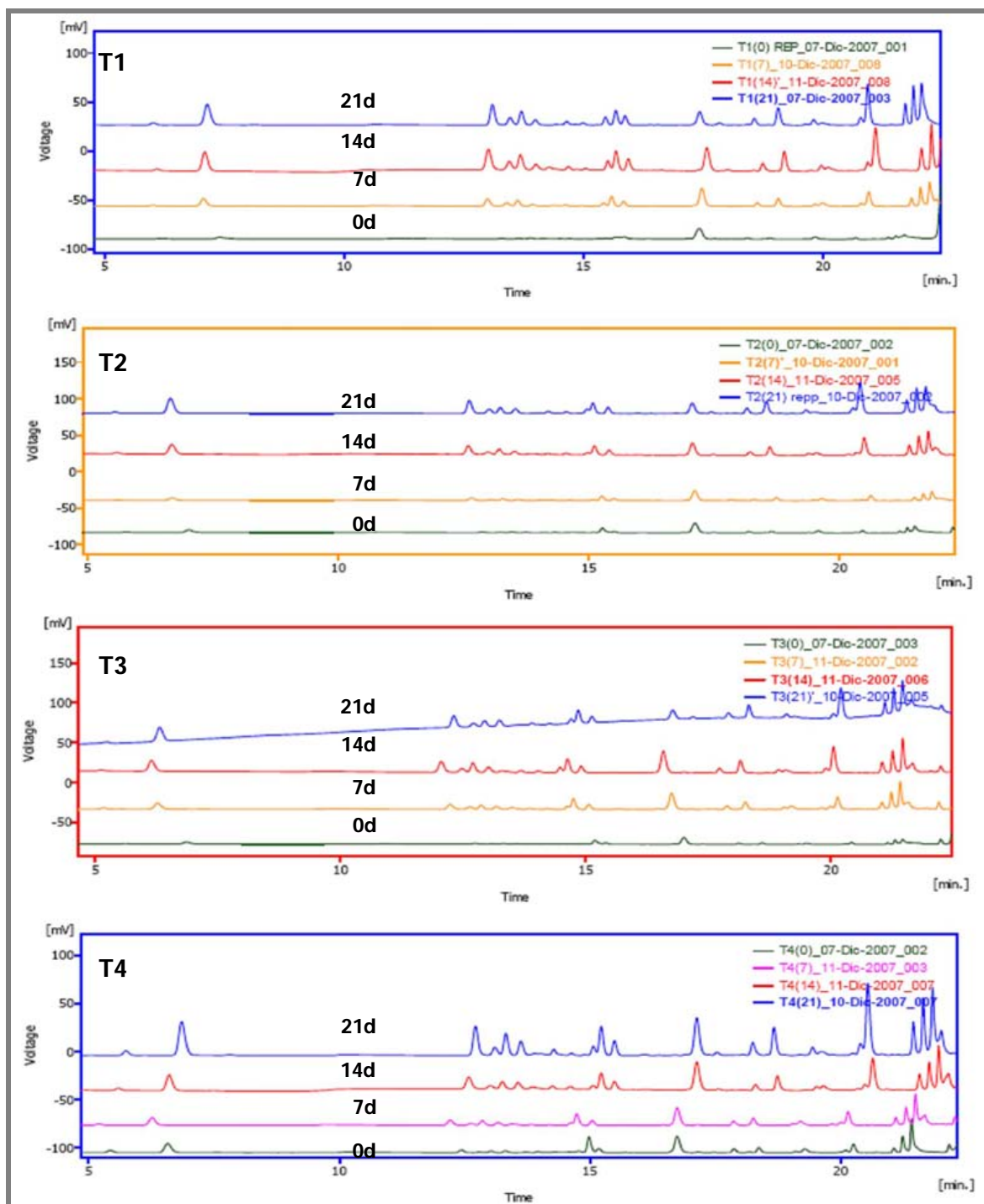
Resultados de los análisis de evolución de la maduración de los tratamientos del queso Gauda .

Anexo 4.1 Resultados del recuento de *L. paracasei subsp. paracasei*

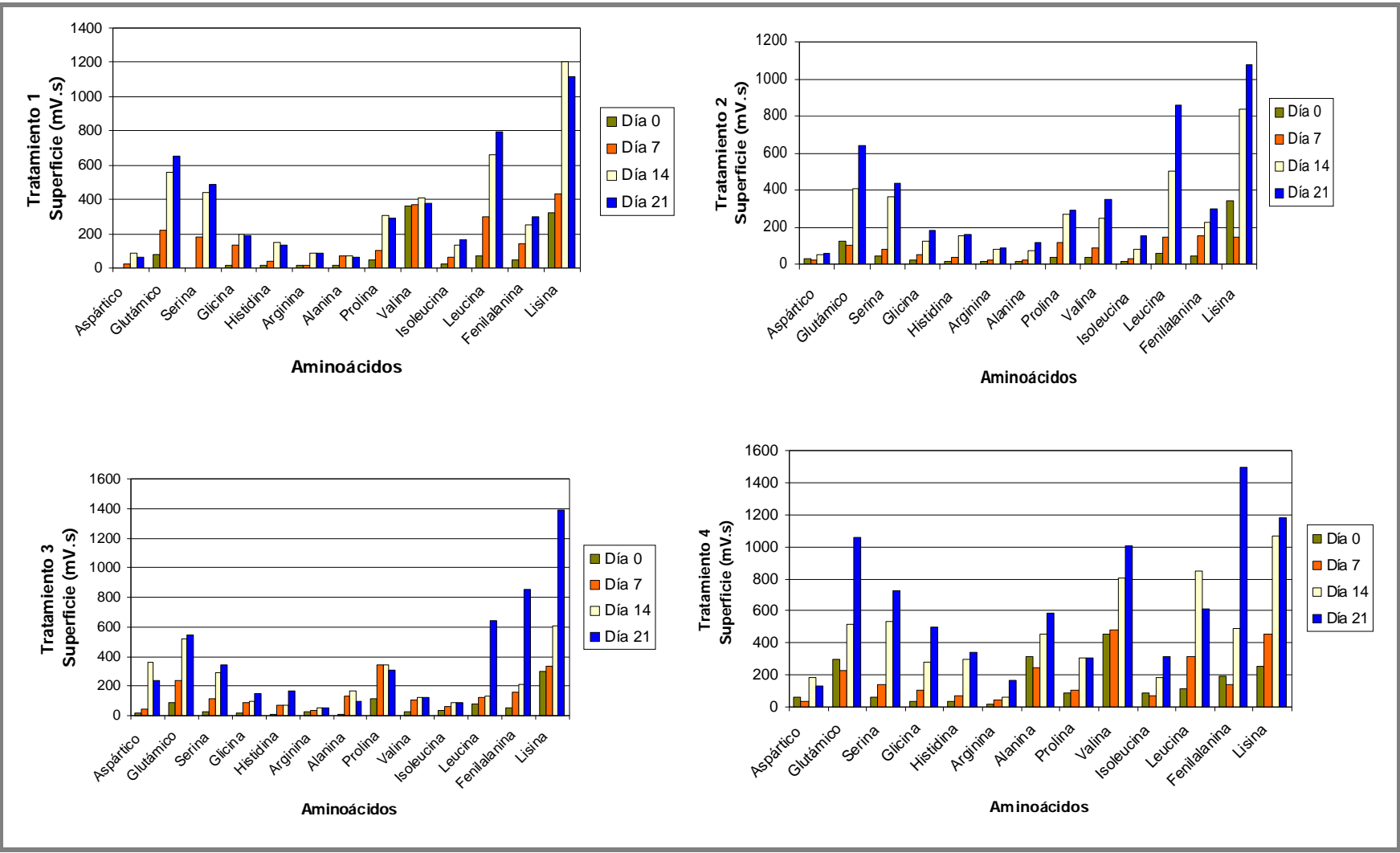
Tratamiento	Repetición	Recuento <i>Lactobacillus paracasei subsp. paracasei</i> (log ufc/g)			
		Día 0	Día 7	Día 14	Día 21
T2	1	8,97	8,63	8,69	8,54
	2	8,90	9,08	9,65	8,99
	3	9,34	9,49	9,04	8,91
	Promedio	9,07	9,07	9,13	8,81
	Desv. Estándar	0,24	0,43	0,49	0,24
T3	1	8,20	8,30	8,36	8,90
	2	8,88	9,45	8,77	8,76
	3	8,30	8,08	8,67	8,70
	Promedio	8,46	8,61	8,60	8,79
	Desv. Estándar	0,37	0,73	0,21	0,10
T4	1	8,79	8,59	8,83	9,15
	2	8,52	8,89	9,04	8,89
	3	8,52	8,62	9,08	8,79
	Promedio	8,61	8,70	8,98	8,94
	Desv. Estándar	0,15	0,16	0,13	0,19

Anexo 4.2 Área ocupada por cada aminoácido presente en los 4 tratamientos de queso Gauda semidescremado. Resultados de primera repetición del estudio.

Aminoácidos	Tratamiento 1				Aminoácidos	Tratamiento 2			
	Área día 0	Área día 7	Área día 14	Área día 21		Área día 0	Área día 7	Área día 14	Área día 21
Aspártico	0,00	22,46	84,26	60,03	Aspártico	28,03	18,53	48,52	60,95
Glutámico	80,81	219,21	559,52	654,05	Glutámico	127,19	104,81	410,65	642,70
Serina	0,00	183,60	437,63	488,63	Serina	46,70	83,07	361,44	438,25
Glicina	18,36	134,93	195,60	187,69	Glicina	24,15	51,21	126,88	184,36
Histidina	18,86	38,03	145,96	132,24	Histidina	15,60	36,88	150,07	160,67
Arginina	19,01	15,58	89,37	86,29	Arginina	16,69	21,23	78,61	87,35
Alanina	16,01	68,26	68,48	61,28	Alanina	15,70	23,28	70,51	113,24
Prolina	47,39	102,05	310,46	291,67	Prolina	34,10	117,78	268,45	288,68
Valina	362,19	370,33	405,83	376,29	Valina	35,11	87,47	249,32	351,81
Isoleucina	20,30	63,90	130,87	164,95	Isoleucina	14,88	29,62	83,32	154,70
Leucina	73,93	299,89	659,80	791,34	Leucina	58,43	142,88	504,68	857,75
Fenilalanina	46,29	139,21	248,99	299,06	Fenilalanina	45,04	154,97	228,04	299,97
Lisina	320,23	434,28	1200,53	1120,38	Lisina	340,12	146,18	833,43	1074,10
Aminoácidos	Tratamiento 3				Aminoácidos	Tratamiento 4			
	Área día 0	Área día 7	Área día 14	Área día 21		Área día 0	Área día 7	Área día 14	Área día 21
Aspártico	15,39	40,58	357,80	241,46	Aspártico	60,21	35,86	185,52	128,34
Glutámico	85,61	239,45	515,47	541,61	Glutámico	295,17	230,87	519,73	1054,24
Serina	24,12	117,86	290,18	346,36	Serina	64,29	140,44	532,61	728,13
Glicina	19,32	85,06	99,42	147,96	Glicina	36,02	108,29	279,06	494,95
Histidina	10,78	71,71	67,49	166,91	Histidina	38,90	72,03	298,63	341,58
Arginina	27,52	35,12	56,88	52,58	Arginina	18,03	41,66	65,37	162,57
Alanina	12,57	130,93	168,10	94,56	Alanina	315,71	241,02	455,65	589,96
Prolina	110,87	339,54	345,88	306,66	Prolina	84,97	104,71	307,00	309,69
Valina	26,84	102,99	120,86	127,45	Valina	457,72	484,58	802,05	1003,13
Isoleucina	36,35	58,20	86,30	85,45	Isoleucina	85,40	72,09	180,70	312,38
Leucina	82,81	125,91	133,21	644,18	Leucina	114,76	310,74	847,51	611,56
Fenilalanina	53,55	156,63	212,11	854,38	Fenilalanina	196,16	139,45	489,64	1495,81
Lisina	295,84	330,96	603,59	1386,45	Lisina	257,21	456,76	1067,56	1178,10

Anexo 4.2.1 Cromatograma de aminoácidos del queso Gauda, por tratamiento

ANEXO 4.2.2 Área de aminoácidos durante el periodo de maduración del Gauda, por tratamiento



ANEXO 5

Análisis estadístico para el % de humedad

5.1 Entre tratamientos:

Día 0

Descriptivos:

Tratamiento	Frecuencia	Promedio	Varianza	Desv. estándar
1	3	51,2533	1,78843	1,33732
2	3	51,2933	0,124033	0,352184
3	3	51,37	0,0117	0,108167
4	3	50,8633	4,23963	2,05904

Prueba de homogeneidad de varianzas

		P-valor
Cochran	0,687828	0,121687
Bartlett	4,75781	0,0159819
Levene	0,718373	0,568392

El menor de los p-valores es inferior a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar no son homogéneas, con un 95% de confianza.

Prueba de Kruskal-Wallis

P-valor	
	0,787952

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre las medianas, con un 95% de confianza

Día 7

Descriptivos:

Tratamiento	Frecuencia	Promedio	Varianza	Desv. estándar
1	3	51,3833	0,416433	0,645316
2	3	50,63	3,0511	1,74674
3	3	50,91	0,0057	0,0754983
4	3	50,7767	3,94123	1,98525

Prueba de homogeneidad de varianzas

		P-valor
Cochran	0,53156	0,411171
Bartlett	4,50965	0,0188031
Levene	0,976237	0,450525

El menor de los p-valores es inferior a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar no son homogéneas, con un 95% de confianza.

Prueba de Kruskal-Wallis

P-valor	
	0,788844

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre las medianas, con un 95% de confianza

Día 14

Descriptivos:

Tratamiento	Frecuencia	Promedio	Varianza	Desv. estándar
1	3	50,6933	0,749233	0,865583
2	3	50,97	3,7219	1,92922
3	3	50,3	0,8451	0,919293
4	3	50,0167	2,35853	1,53575

Prueba de homogeneidad de varianzas

		P-valor
Cochran	0,484953	0,546514
Bartlett	1,2496	0,687988
Levene	0,238011	0,867474

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Media Cuadrática	Coficiente F	P-Valor
Inter grupos	1,59537	3	0,531789	0,28	0,8404
Intra grupos	15,3495	8	1,91869		
Total	16,9449	11			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, con un 95% de confianza

Día 21

Descriptivos:

Tratamiento	Frecuencia	Promedio	Varianza	Desv. estándar
1	3	50,3467	0,350633	0,592143
2	3	50,71	0,3211	0,566657
3	3	49,4767	0,0372333	0,192959
4	3	49,6967	0,205833	0,453689

Prueba de homogeneidad de varianzas

		P-valor
Cochran	0,38329	0,938219
Bartlett	1,33438	0,591319
Levene	0,362527	0,78198

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Media Cuadrática	Coficiente F	P-Valor
Inter grupos	2,93082	3	0,976942	4,27	0,0446
Intra grupos	1,8296	8	0,2287		
Total	4,76042	11			

El p-valor es menor a 0,05, por lo tanto existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, con un 95% de confianza

Comparaciones múltiples HSD de Tukey, 95 %

Tratamiento	Promedio	Grupos homogéneos
1	50,3467	a
2	50,71	b
3	49,4767	a
4	49,6967	a

5.2 Entre tiempos:**Tratamiento1****Prueba de homogeneidad de varianzas**

		P-valor
Cochran	0,541173	0,386373
Bartlett	1,24224	0,697088
Levene	0,156243	0,922728

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Media Cuadrática	Coficiente F	P-Valor
Inter grupos	2,11762	3	0,705875	0,85	0,5026
Intra grupos	6,60947	8	0,726183		
Total	8,72709	11			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre los días, con un 95% de confianza

Tratamiento 2**Prueba de homogeneidad de varianzas**

		P-valor
Cochran	0,515632	0,454556
Bartlett	2,20047	0,156273
Levene	0,478193	0,706276

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Media Cuadrática	Coficiente F	P-Valor
Inter grupos	0,805825	3	0,268608	0,15	0,9275
Intra grupos	14,4363	8	1,80453		
Total	15,2121	11			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre los días, con un 95% de confianza

Tratamiento 3

Prueba de homogeneidad de varianzas

		P-valor
Cochran	0,939278	0,000895555
Bartlett	5,90988	0,00824233
Levene	1,18628	0,374458

El menor de los p-valores es inferior a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar no son homogéneas, con un 95% de confianza.

Prueba de Kruskal-Wallis

P-valor	0,0329005
----------------	-----------

El p-valor es menor a 0,05, por lo tanto existen diferencias estadísticas significativas entre las medianas, con un 95% de confianza

Tratamiento 4

Prueba de homogeneidad de varianzas

		P-valor
Cochran	0,394559	0,887718
Bartlett	1,59176	0,37982
Levene	0,46775	0,71289

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Media Cuadrática	Coficiente F	P-Valor
Inter grupos	2,9489	3	0,982967	0,37	0,7797
Intra grupos	21,4905	8	2,68631		
Total	24,4394	11			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre los días, con un 95% de confianza

5.3 Análisis multifactorial:

Tratamiento-Tiempo

Análisis estadístico combinado

Parámetro	Análisis de varianza		
	Fuente	Coef - F	P-valor
Humedad (%)	Tratamiento	0,72	0,5470
	Tiempo	2,15	0,1121

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas con un 95% de confianza

Test de rango múltiple: Tukey LSD 95%, por día de maduración y tratamiento

Parámetro	Tratamiento		Tiempo	
Humedad (%)	1	a	0	A
	2	a	7	A
	3	a	14	A
	4	a	21	A

ANEXO 6

Análisis estadístico para pH

6.1 Entre Tratamientos:

Día 0

Descriptivos:

Tratamiento	Frecuencia	Promedio	Varianza	Desv. estándar
1	3	5,19667	0,0108333	0,104083
2	3	5,15333	0,00863333	0,0929157
3	3	5,28	0,0	0,0
4	3	5,21	0,0003	0,0173205

Prueba de homogeneidad de varianzas

		P-valor
Cochran	0,548061	0,612747
Bartlett	2,16833	0,149612
Levene	1,33227	0,330288

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Media Cuadrática	Coficiente F	P-Valor
Inter grupos	0,0248667	3	0,00828889	1,68	0,2482
Intra grupos	0,0395333	8	0,00494167		
Total	0,0644	11			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, con un 95% de confianza

Día 7

Descriptivos:

Tratamiento	Frecuencia	Promedio	Varianza	Desv. estándar
1	3	5,27	0,0013	0,0360555
2	3	5,20333	0,0076333	0,0873689
3	3	5,30333	0,00063333	0,0251661
4	3	5,31333	0,00083333	0,0288675

Prueba de homogeneidad de varianzas

		P-valor
Cochran	0,733974	0,0753062
Bartlett	1,71868	0,309838
Levene	0,825	0,516055

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Media Cuadrática	Coficiente F	P-Valor
Inter grupos	0,022225	3	0,00740833	2,85	0,1051
Intra grupos	0,0208	8	0,0026		
Total	0,043025	11			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, con un 95% de confianza

Día 14**Descriptivos:**

Tratamiento	Frecuencia	Promedio	Varianza	Desv. estándar
1	3	5,34333	0,00013333	0,011547
2	3	5,24333	0,0156333	0,125033
3	3	5,36333	0,0008333	0,0288675
4	3	5,35333	0,0021333	0,046188

Prueba de homogeneidad de varianzas

		P-valor
Cochran	0,83452	0,0181259
Bartlett	3,3755	0,0449003
Levene	0,78733	0,53394

El menor de los p-valores es inferior a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar no son homogéneas, con un 95% de confianza.

Prueba de Kruskal-Wallis

P-valor	
	0,181156

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre las medianas, con un 95% de confianza.

Día 21**Descriptivos:**

Tratamiento	Frecuencia	Promedio	Varianza	Desv. estándar
1	3	5,41	0,0003	0,0173205
2	3	5,35333	0,0041333	0,0041333
3	3	5,40333	0,000633333	0,0006333
4	3	5,41	0,0013	0,0013

Prueba de homogeneidad de varianzas

		P-valor
Cochran	0,649215	0,172657
Bartlett	1,58344	0,385057
Levene	0,501401	0,691753

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Media Cuadrática	Coficiente F	P-Valor
Inter grupos	0,00675833	3	0,00225278	1,42	0,3079
Intra grupos	0,0127333	8	0,00159167		
Total	0,0194917	11			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, con un 95% de confianza

6.2 Entre tiempos:**Tratamiento 1****Prueba de homogeneidad de varianzas**

		P-valor
Cochran	0,862069	0,0104965
Bartlett	3,62634	0,036255
Levene	1,32689	0,331802

El menor de los p-valores es inferior a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar no son homogéneas, con un 95% de confianza.

Prueba de Kruskal-Wallis

P-valor	
	0,0203091

El p-valor es menor a 0,05, por lo tanto existen diferencias estadísticas significativas entre las medianas, con un 95% de confianza

Tratamiento 2**Prueba de homogeneidad de varianzas**

		P-valor
Cochran	0,433858	0,725835
Bartlett	1,11515	0,868115
Levene	0,121212	0,945018

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Media Cuadrática	Coficiente F	P-Valor
Inter grupos	0,0651	3	0,0217	2,41	0,1424
Intra grupos	0,0720667	8	0,00900833		
Total	0,137167	11			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre los días, con un 95% de confianza

Tratamiento 3

Prueba de homogeneidad de varianzas

		P-valor
Cochran	0,396825	1,0
Bartlett	1,00864	0,979101
Levene	0,641026	0,609746

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Media Cuadrática	Coficiente F	P-Valor
Inter grupos	0,028425	3	0,009475	18,05	0,0006
Intra grupos	0,0042	8	0,000525		
Total	0,032625	11			

El p-valor es menor a 0,05, por lo tanto existen diferencias estadísticas significativas entre los días, con un 95% de confianza

Comparaciones múltiples HSD de Tukey, 95 %

Tiempo	Promedio	Grupos homogéneos
0	5,28	B
7	5,30333	B
14	5,33667	A
21	,536333	A

Tratamiento 4

Prueba de homogeneidad de varianzas

		P-valor
Cochran	0,467153	0,605156
Bartlett	1,25113	0,686112
Levene	0,168091	0,914934

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Media Cuadrática	Coficiente F	P-Valor
Inter grupos	0,0640333	3	0,0213444	18,70	0,0006
Intra grupos	0,00913333	8	0,00114167		
Total	0,0731667	11			

El p-valor es menor a 0,05, por lo tanto existen diferencias estadísticas significativas entre los días, con un 95% de confianza

Comparaciones múltiples HSD de Tukey, 95 %

Tiempo	Promedio	Grupos homogéneos
0	5,21	C
7	5,31333	B
14	5,35333	AB
21	5,41	A

6.3 Análisis multifactorial:**Tratamiento-Tiempo****Análisis estadístico combinado**

Parámetro	Análisis de varianza		
	Fuente	Coef - F	P-valor
pH	Tratamiento	6,60	0,0013
	Tiempo	21,30	0,0000

El p-valor es menor a 0,05, por lo tanto existen diferencias estadísticas significativas con un 95% de confianza.

Test de rango múltiple: Tukey LSD 95%, por día de maduración y tratamiento

Parámetro	Tratamiento		Tiempo	
pH	1	c	0	C
	2	b	7	B
	3	b	14	B
	4	a	21	A

ANEXO 7

Análisis estadístico para el % de materia grasa

7.1 Entre tratamientos:

Día 0

Descriptivos:

Tratamiento	Frecuencia	Promedio	Varianza	Desv. estándar
1	3	18,25	0,19	0,43
2	3	17,83	0,77	0,88
3	3	19,42	0,083	0,29
4	3	19,33	0,90	0,95

Prueba de homogeneidad de varianzas

		P-valor
Cochran	0,462366	0,621615
Bartlett	1,5029	0,440693
Levene	0,48538	0,701753

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Media Cuadrática	Coficiente F	P-Valor
Inter grupos	5,6041	3	1,86806	3,86	0,0563
Intra grupos	3,875	8	0,484375		
Total	9,47917	11			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, con un 95% de confianza

Día 21

Descriptivos:

Tratamiento	Frecuencia	Promedio	Varianza	Desv. estándar
1	3	19,0833	0,145833	0,381881
2	3	18,75	0,4375	0,661438
3	3	19,25	1,89583	1,08972
4	3	18,6667	1,1875	1,37689

Prueba de homogeneidad de varianzas

		P-valor
Cochran	0,517045	0,450588
Bartlett	1,489	0,451258
Levene	0,544444	0,665474

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Media Cuadrática	Coefficiente F	P-Valor
Inter grupos	0,682292	3	0,227431	0,25	0,8605
Intra grupos	7,33333	8	0,916667		
Total	8,01563	11			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, con un 95% de confianza

7.2 Entre tiempos:**Tratamiento 1****Prueba de homogeneidad de varianzas**

		P-valor
Cochran	0,5625	0,875
Bartlett	1,00791	0,873876
Levene	0,0	1,0

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Media Cuadrática	Coefficiente F	P-Valor
Inter grupos	1,04167	1	1,04167	6,25	0,0668
Intra grupos	0,666667	4	0,166667		
Total	1,70833	5			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre los días, con un 95% de confianza

Tratamiento 2**Prueba de homogeneidad de varianzas**

		P-valor
Cochran	0,637931	0,724138
Bartlett	1,04037	0,721939
Levene	0,153846	0,714889

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Media Cuadrática	Coefficiente F	P-Valor
Inter grupos	1,26042	1	1,26042	2,09	0,2221
Intra grupos	2,41667	4	0,604167		
Total	3,67708	5			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre los días, con un 95% de confianza

Tratamiento 3

Prueba de homogeneidad de varianzas

		P-valor
Cochran	0,957895	0,0842105
Bartlett	2,48968	0,0875444
Levene	2,31429	0,202837

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Media Cuadrática	Coeficiente F	P-Valor
Inter grupos	0,84375	1	0,84375	0,85	0,4081
Intra grupos	3,95833	4	0,989583		
Total	4,80208	5			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre los días, con un 95% de confianza

Tratamiento 4

Prueba de homogeneidad de varianzas

		P-valor
Cochran	0,57	0,86
Bartlett	1,00995	0,858751
Levene	0,0135135	0,913059

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Media Cuadrática	Coeficiente F	P-Valor
Inter grupos	0,0104167	1	0,0104167	0,01	0,9252
Intra grupos	4,16667	4	1,04167		
Total	4,17708	5			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre los días, con un 95% de confianza

7.3 Análisis multifactorial:

Tratamiento- Tiempo

Análisis estadístico combinado

Parámetro	Análisis de varianza		
	Fuente	Coef - F	P-valor
Materia grasa (%)	Tratamiento	1,64	0,2199
	Tiempo	0,45	0,5120

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas con un 95% de confianza

Test de rango múltiple: Tukey LSD 95%, por día de maduración y tratamiento

Parámetro	Tratamiento		Tiempo	
Materia grasa(%)	1	a	0	A
	2	a	21	A
	3	a		
	4	a		

ANEXO 8

Análisis estadístico para el % de materia grasa en base seca

8.1 Entre tratamientos:

Día 0

Descriptivos:

Tratamiento	Frecuencia	Promedio	Varianza	Desv. estándar
1	3	37,4667	3,55463	1,88537
2	3	36,6167	3,21743	1,79372
3	3	39,92	0,4368	0,660908
4	3	39,3533	2,09603	1,44777

Prueba de homogeneidad de varianzas

		P-valor
Cochran	0,382017	0,944038
Bartlett	1,29317	0,636452
Levene	0,246398	0,86169

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Media Cuadrática	Coficiente F	P-Valor
Inter grupos	21,7675	3	7,25583	3,12	0,0881
Intra grupos	18,6098	8	2,32623		
Total	40,3773	11			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, con un 95% de confianza

Día 21

Descriptivos:

Tratamiento	Frecuencia	Promedio	Varianza	Desv. estándar
1	3	38,4367	1,24973	1,11791
2	3	38,0533	3,08903	1,75756
3	3	36,95	7,9789	2,82469
4	3	38,26	3,5509	1,88438

Prueba de homogeneidad de varianzas

		P-valor
Cochran	0,502812	0,491613
Bartlett	1,22673	0,716602
Levene	0,383506	0,767883

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Media Cuadrática	Coficiente F	P-Valor
Inter grupos	4,02337	3	1,34112	0,34	0,7986
Intra grupos	31,7371	8	3,96714		
Total	35,7605	11			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, con un 95% de confianza

8.2 Entre tiempos:**Tratamiento 1****Prueba de homogeneidad de varianzas**

		P-valor
Cochran	0,739876	0,520249
Bartlett	1,13972	0,517677
Levene	0,10053	0,767054

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Media Cuadrática	Coficiente F	P-Valor
Inter grupos	1,41135	1	1,41135	0,59	0,4861
Intra grupos	9,60873	4	2,40218		
Total	11,0201	5			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre los días, con un 95% de confianza

Tratamiento 2**Prueba de homogeneidad de varianzas**

		P-valor
Cochran	0,51018	0,97964
Bartlett	1,00021	0,979452
Levene	0,00443424	0,950104

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Media Cuadrática	Coficiente F	P-Valor
Inter grupos	3,09602	1	3,09602	0,98	0,3778
Intra grupos	12,6129	4	3,15323		
Total	15,709	5			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre los días, con un 95% de confianza

Tratamiento 3

Prueba de homogeneidad de varianzas

		P-valor
Cochran	0,948097	0,103806
Bartlett	2,25397	0,106819
Levene	2,07287	0,223354

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Media Cuadrática	Coficiente F	P-Valor
Inter grupos	13,2313	1	13,2313	3,14	0,1509
Intra grupos	16,8314	4	4,20785		
Total	30,0628	5			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre los días, con un 95% de confianza

Tratamiento 4

Prueba de homogeneidad de varianzas

		P-valor
Cochran	0,628819	0,742362
Bartlett	1,03494	0,740266
Levene	0,0684478	0,80653

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Media Cuadrática	Coficiente F	P-Valor
Inter grupos	1,79307	1	1,79307	0,64	0,4701
Intra grupos	11,2939	4	2,82347		
Total	13,0869	5			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre los días, con un 95% de confianza

8.3 Análisis multifactorial:

Tratamiento- Tiempo

Análisis estadístico combinado

Parámetro	Análisis de varianza		
	Fuente	Coef - F	P-valor
MG/BS (%)	Tratamiento	0,77	0,5264
	Tiempo	0,33	0,5753

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas con un 95% de confianza

Test de rango múltiple: Tukey LSD 95%, por día de maduración y tratamiento

Parámetro	Tratamiento		Tiempo	
MG/BS (%)	1	a	0	A
	2	a	21	A
	3	a		
	4	a		

ANEXO 9

Análisis estadístico para el % de proteínas

9.1 Entre tratamientos:

Día 0

Descriptivos:

Tratamiento	Frecuencia	Promedio	Varianza	Desv. estándar
1	3	25,93	0,4501	0,670895
2	3	26,5	0,4672	0,68352
3	3	27,13	0,3468	0,588897
4	3	26,69	1,4203	1,19176

Prueba de homogeneidad de varianzas

		P-valor
Cochran	0,529094	0,417699
Bartlett	1,18296	0,77699
Levene	0,30779	0,819316

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Media Cuadrática	Coficiente F	P-Valor
Inter grupos	2.22682	3	0.742275	1.11	0.4016
Intra grupos	5.3688	8	0.6711		
Total	7.59562	11			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, con un 95% de confianza

Día 21

Descriptivos:

Tratamiento	Frecuencia	Promedio	Varianza	Desv. estándar
1	3	26,5233	1,69463	1,30178
2	3	26,8667	0,448633	0,669801
3	3	26,63	0,0147	0,121244
4	3	26,6967	2,44463	1,56353

Prueba de homogeneidad de varianzas

		P-valor
Cochran	0,531142	0,412273
Bartlett	2,83021	0,075558
Levene	1,08239	0,41008

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Media Cuadrática	Coficiente F	P-Valor
Inter grupos	0,186492	3	0,0621639	0,05	,09823
Intra grupos	9,2052	8	1,15065		
Total	9,39169	11			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, con un 95% de confianza

9.2 Entre tiempos:**Tratamiento 1****Prueba de homogeneidad de varianzas**

		P-valor
Cochran	0,790137	0,419726
Bartlett	1,22787	0,417659
Levene	0,533368	0,505668

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Media Cuadrática	Coficiente F	P-Valor
Inter grupos	0,528067	1	0,528067	0,49	0,5215
Intra grupos	4,28947	4	1,07237		
Total	4,81753	5			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre los días, con un 95% de confianza

Tratamiento 2**Prueba de homogeneidad de varianzas**

		P-valor
Cochran	0,510136	0,979727
Bartlett	1,00021	0,97954
Levene	0,00309464	0,958305

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Media Cuadrática	Coficiente F	P-Valor
Inter grupos	0,201667	1	0,201667	0,44	0,5432
Intra grupos	1,83167	4	0,457917		
Total	2,03333	5			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre los días, con un 95% de confianza

Tratamiento 3

Prueba de homogeneidad de varianzas

		P-valor
Cochran	0,959336	0,0813278
Bartlett	2,53151	0,0847022
Levene	0,604979	0,480124

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Media Cuadrática	Coficiente F	P-Valor
Inter grupos	0,375	1	0,375	2,07	,02232
Intra grupos	0,723	4	0,18075		
Total	1,098	5			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre los días, con un 95% de confianza

Tratamiento 4

Prueba de homogeneidad de varianzas

		P-valor
Cochran	0,632516	0,734967
Bartlett	1,03709	0,732829
Levene	0,107863	0,759064

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Media Cuadrática	Coficiente F	P-Valor
Inter grupos	0,0000666	1	0,000066	0,00	0,9956
Intra grupos	7,42987	4	1,93247		
Total	7,72993	5			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre los días, con un 95% de confianza

9.3 Análisis multifactorial:

Tratamiento-Tiempo

Análisis estadístico combinado

Parámetro	Análisis de varianza		
	Fuente	Coef - F	P-valor
Proteína (%)	Tratamiento	0,51	0,6819
	Tiempo	0,09	0,7685

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas con un 95% de confianza

Test de rango múltiple: Tukey LSD 95%, por día de maduración y tratamiento

Parámetro	Tratamiento		Tiempo	
Proteína (%)	1	a	0	A
	2	a	21	A
	3	b		
	4	a		

ANEXO 10

Análisis estadístico para el contenido de sal (NaCl)

10.1 Entre tratamientos:

Día 21

Descriptivos:

Tratamiento	Frecuencia	Promedio	Varianza	Desv. estándar
1	3	1,44333	0,103233	0,321299
2	3	1,37333	0,0602333	0,245425
3	3	1,3	0,1156	0,34
4	3	1,60667	0,00863333	0,0929157

Prueba de homogeneidad de varianzas

		P-valor
Cochran	0,46189	0,623266
Bartlett	1,38739	0,538317
Levene	0,378203	0,771433

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Media Cuadrática	Coefficiente F	P-Valor
Inter grupos	0,154492	3	0,0514972	0,91	0,4776
Intra grupos	0,4522	8	0,056525		
Total	0,606692	11			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, con un 95% de confianza

ANEXO 11

Análisis estadístico para el contenido de sal en humedad (S/H)

11.1 Entre tratamientos:

Día 21

Descriptivos:

Tratamiento	Frecuencia	Promedio	Varianza	Desv. estándar
1	3	2,86333	0,455233	0,67471
2	3	2,71	0,25	0,5
3	3	2,62667	0,214433	0,463069
4	3	3,22667	0,0254333	0,159478

Prueba de homogeneidad de varianzas

		P-valor
Cochran	0,481677	0,557007
Bartlett	1,49693	0,445195
Levene	0,437592	0,732253

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Media Cuadrática	Coficiente F	P-Valor
Inter grupos	0,634067	3	0,211356	0,89	0,4847
Intra grupos	1,8902	8	0,236275		
Total	2,52427	11			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, con un 95% de confianza

ANEXO 12

**Análisis estadístico para los recuentos de *L. paracasei* subsp. *paracasei*
(log ufc/g)**

12.1 Entre Tratamientos:**Día 0****Descriptivos:**

Tratamiento	Frecuencia	Promedio	Varianza	Desv. estándar
2	3	9,07	0,0559	0,236432
3	3	8,46	0,1348	0,367151
4	3	8,61	0,0243	0,155885

Prueba de homogeneidad de varianzas

		P-valor
Cochran	0,626977	0,417439
Bartlett	1,26206	0,564796
Levene	0,266764	0,77448

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Media Cuadrática	Coficiente F	P-Valor
Inter grupos	0,6062	2	0,3031	4,23	0,0715
Intra grupos	0,43	6	0,0716667		
Total	1,0362	8			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, con un 95% de confianza

Día 7**Descriptivos:**

Tratamiento	Frecuencia	Promedio	Varianza	Desv. estándar
2	3	9,06667	0,185033	0,430155
3	3	8,61	0,5413	0,735731
4	3	8,7	0,0273	0,165227

Prueba de homogeneidad de varianzas

		P-valor
Cochran	0,718254	0,238143
Bartlett	1,79648	0,237416
Levene	0,627364	0,565705

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Media Cuadrática	Coficiente F	P-Valor
Inter grupos	0,351089	2	0,175544	0,70	0,5336
Intra grupos	1,50727	6	0,251211		
Total	1,85836	8			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, con un 95% de confianza

Día 14**Descriptivos:**

Tratamiento	Frecuencia	Promedio	Varianza	Desv. estándar
2	3	9,12667	0,236033	0,485833
3	3	8,6	0,0457	0,213776
4	3	8,98333	0,0180333	0,134288

Prueba de homogeneidad de varianzas

		P-valor
Cochran	0,78739	0,135609
Bartlett	1,72454	0,262467
Levene	1,05743	0,404213

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Media Cuadrática	Coficiente F	P-Valor
Inter grupos	0,444867	2	0,222433	2,23	0,1892
Intra grupos	0,599533	6	0,0999222		
Total	1,0444	8			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, con un 95% de confianza

Día 21**Descriptivos:**

Tratamiento	Frecuencia	Promedio	Varianza	Desv. estándar
2	3	8,81333	0,0576333	0,240069
3	3	8,78667	0,0105333	0,102632
4	3	8,94333	0,0345333	0,185831

Prueba de homogeneidad de varianzas

		P-valor
Cochran	0,561181	0,577685
Bartlett	1,24153	0,588003
Levene	0,267074	0,77426

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Media Cuadrática	Coficiente F	P-Valor
Inter grupos	0,0421556	2	0,0210778	0,62	0,5712
Intra grupos	0,2054	6	0,0342333		
Total	0,247556	8			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, con un 95% de confianza

12.2 Entre tiempos:**Tratamiento 2****Prueba de homogeneidad de varianzas**

		P-valor
Cochran	0,441514	0,696783
Bartlett	1,22713	0,716083
Levene	0,423412	0,741487

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Media Cuadrática	Coficiente F	P-Valor
Inter grupos	0,176292	3	0,0587639	0,44	0,7309
Intra grupos	1,0692	8	0,13365		
Total	1,24549	11			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre los días, con un 95% de confianza

Tratamiento 3**Prueba de homogeneidad de varianzas**

		P-valor
Cochran	0,739144	0,0710005
Bartlett	2,37819	0,125196
Levene	0,693758	0,581239

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Media Cuadrática	Coficiente F	P-Valor
Inter grupos	0,161225	3	0,0537417	0,29	0,8291
Intra grupos	1,46467	8	0,183083		
Total	1,62589	11			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre los días, con un 95% de confianza

Tratamiento 4

Prueba de homogeneidad de varianzas

		P-valor
Cochran	0,33152	1,0
Bartlett	1,02718	0,981126
Levene	1,91497	0,988337

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Media Cuadrática	Coficiente F	P-Valor
Inter grupos	0,299758	3	0,0999194	3,84	0,0570
Intra grupos	0,208333	8	0,0260417		
Total	0,508092	11			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre los días, con un 95% de confianza

12.3 Análisis multifactorial:**Tratamiento-Tiempo****Análisis estadístico combinado**

Parámetro	Análisis de varianza		
	Fuente	Coef - F	P-valor
Recuento <i>L. casei</i>	Tratamiento	4,31	0,0252
	Tiempo	0,52	0,6739

El p-valor para el tratamiento es menor a 0,05, por lo tanto existen diferencias estadísticas significativas con un 95% de confianza para este factor

Test de rango múltiple: Tukey LSD 95%, por día de maduración y tratamiento

Parámetro	Tratamiento		Tiempo	
Recuento <i>L. casei</i>	2	b	0	A
	3	c	7	A
	4	ac	14	A
			21	A