



# Propuesta de control de calidad para un alimento a base de queso fresco y mermelada y estudio de su vida útil

---

***Trabajo fin de Grado***

***Grado en ciencia y tecnología de los alimentos***

Verónica Latorre Merchán

73012468-A

c/Río Guadalupe nº4 2ºB

635150928; [vero\\_75\\_zgz@hotmail.com](mailto:vero_75_zgz@hotmail.com)

## **1. Índice**

### **2. Resumen**

2.1. Resumen español..... -1-

2.2. Abstract..... -2-

### **3. Introducción..... -3-**

### **4. Justificación y objetivos..... -6-**

### **5. Material y métodos..... -10-**

5.1. Control de calidad..... -10-

5.2. Envasado en atmósfera protectora y estudio de vida útil..... -13-

5.3. Tratamiento estadístico de los datos..... -14-

### **6. Resultados y discusión..... -16-**

6.1. Control de calidad..... -16-

6.2. Envasado en atmósfera protectora y estudio de vida útil..... -25-

### **7. Conclusiones**

7.1. Conclusiones..... -33-

7.2. Conclusions..... -34-

### **8. Aportaciones..... -35-**

### **9. Evaluación y sugerencias de mejora..... -37-**

### **10. Bibliografía..... -38-**

## **2. Resumen**

### **2.1. Resumen**

Este proyecto tiene como origen el diseño y elaboración de un producto innovador, un queso fresco relleno de mermelada de fresa, realizado en el marco de la asignatura Practicum Planta Piloto del Grado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos.

El primer objetivo de este estudio consistía en plantear, desde un punto de vista teórico, los análisis físicos, químicos y microbiológicos necesarios para realizar un control de calidad de las materias primas, productos intermedios y producto finalmente elaborado, mediante una búsqueda y revisión de la bibliografía científica, así como de la legislación vigente; y desde un punto de vista práctico, a partir de esta revisión, la realización de aquellos análisis que, siendo factibles, nos permitieran obtener una valoración inicial de la calidad de estos productos, así como de las condiciones de trabajo en la sala de procesado de la Planta Piloto. De esta manera se determinó que su calidad era aceptable para el consumo o comercialización. Además, este trabajo nos permitió comprobar la importancia de la higiene en el proceso de forma que se han podido plantear diversas acciones con objeto de mejorar las condiciones de trabajo en la Planta Piloto.

El segundo objetivo planteado fue evaluar el papel de las atmósferas protectoras como método de prolongación de la vida útil de este nuevo alimento, mediante la realización de un estudio preliminar comparativo de su vida útil basado en la caracterización microbiológica y sensorial del producto envasado o no en atmósfera protectora (30%CO<sub>2</sub>/70%N<sub>2</sub>) durante su posterior almacenamiento en refrigeración. Para lograr este objetivo, se propuso un estudio de durabilidad y el empleo de microbiología predictiva. De modo preliminar, se puede concluir que la atmósfera modificada ensayada no permitió prolongar la vida útil de este nuevo alimento. Si bien la atmósfera protectora permitió controlar el crecimiento de la flora microbiana contaminante y así, prolongar la vida útil del producto de 7 días hasta al menos 11 días, desde un punto de vista sensorial, los alimentos, elaborados y envasados en atmósfera protectora no se consideraron aptos para su consumo más allá de los 4 días de almacenamiento bajo refrigeración.

## **2.2. Abstract**

The origin of this project is the design and development of an innovative product, a fresh cheese with strawberry jam, made in the context of the subject Practicum Pilot Plant of the Food Science and Technology Degree.

The first objective of this study was to raise, from a theoretical point of view, the physical, chemical and microbiological analyses necessary for quality control of raw materials, intermediate products and the final product developed by a search and scientific review, as well as current legislation. As well, our objective was to perform those feasible analysis that would allow us to get an initial assessment of the quality of these products and of the working conditions in the Pilot Plant processing room. In this way, it was determined that the quality of these products was acceptable for consumption or sale. In addition, these analyzes allowed us to check the importance of hygiene in the process so as to have been able to raise several actions to improve the processing conditions of the Pilot Plant.

The second objective of this investigation was to evaluate the role of protective atmospheres as a method of prolonging the shelf life of this new food product, by making a preliminary comparative study of its shelf life based on microbiological and sensory characterization of the product packaging in a protective atmosphere (30% CO<sub>2</sub>, 70% N<sub>2</sub>) or without these conditions, during subsequent refrigerated storage. To achieve this goal, we proposed a study of durability and the use of predictive microbiology. Preliminarily, it may be concluded that the modified atmosphere tested did not allow extending the shelf life of fresh cheese with jam. While the protective atmosphere allowed to control the growth of the microbial contaminant and thus prolong the shelf life from 7 days until at least 11 days, from a sensory point of view, foods, processed and packaged in a protective atmosphere, were not considered suitable for consumption beyond 4 days of storage under refrigeration.

### **3. Introducción**

La política alimentaria de la Unión Europea se basa en normas rigurosas de seguridad alimentaria que sirven para proteger la salud de los consumidores, ya que todos deberíamos poder acceder a una amplia gama de productos seguros y de elevada calidad procedentes de todos los Estados miembros. En esta política, es necesario un planteamiento global e integrado para garantizar la seguridad alimentaria desde el lugar de producción primaria hasta su puesta en el mercado o exportación. Cada uno de los operadores de empresa alimentaria a lo largo de la cadena alimentaria debe garantizar que no se comprometa la seguridad alimentaria. En este sentido, el Reglamento (CE) 852/2004<sup>(1)</sup> define la **Higiene alimentaria** como las medidas y condiciones necesarias para controlar los peligros y garantizar la aptitud para el consumo humano de un producto alimenticio teniendo en cuenta la utilización prevista para dicho producto. Para considerar un alimento apto para el consumo, debe cumplir una serie de exigencias o requisitos entre los que destacan claramente cuatro: debe ser en primer lugar sano o inocuo, es decir, que no transmita ningún agente que atente contra la salud del consumidor, debe ser apetecible para quienes lo consuman, nutritivo, y por tanto cubrir las necesidades de la población a la que se destina, y debe responder a unos caracteres de pureza o genuidad que justifiquen su valor comercial.

La **calidad** es el conjunto de atributos de un alimento que justifican su mejor apreciación en el mercado. No solo es un atributo intrínseco del producto, sino que va asociado también a la satisfacción y seguridad que produce en quien lo utiliza. Por ello, el concepto de calidad alimentaria incluye también el valor para el consumo, es decir, la capacidad de conservación, de transporte, la facilidad de utilización, la novedad de un alimento y otros aspectos que puedan influir, como factores psicológicos para valorar un determinado alimento e influir así en su consumo.

**La calidad es una combinación de diversas características o factores**, cuya suma tiene como resultado la calidad global. Estos factores se pueden clasificar en cuatro grupos<sup>(2)</sup>:

1. Factores higiénicos y sanitarios. Son aquellos que afectan a la pureza integridad o contaminación de un alimento: residuos de plaguicidas, unidades dañadas o podridas, fragmentos de insectos, microorganismos viables o no, etc.
2. Factores sensoriales. Son los que el consumidor aprecia con los sentidos. Es un componente subjetivo y variable con el tiempo.
3. Factores nutritivos. Define la bondad del alimento como nutriente, su contenido en grasas, proteínas, vitaminas, etc.

4. Factores cuantitativos. Son el peso o el volumen, es decir, la cantidad de producto que adquiere el consumidor a un determinado precio.

**Controlar la calidad** consiste en comparar las características que tiene un producto determinado con las que ha de tener, diferenciando lo aceptable de lo inaceptable. El control de calidad persigue la medición de una característica, su comparación con una base de referencia, la interpretación de los resultados y finalmente la investigación de las razones por las que el producto no alcanza la calidad deseada<sup>(2)</sup>.

La **vida útil** de un alimento es el periodo de tiempo en el que, en unas circunstancias definidas, el producto mantiene unos parámetros de calidad específicos. La mayor o menor vida útil del producto depende de la naturaleza del alimento en sí, pero también de otros factores como los procesos higienizantes y de conservación a los que se someta, el envasado y las condiciones de almacenamiento, como la temperatura y la humedad. La vida útil se establece tras someter el alimento a condiciones controladas de almacenamiento, y este tipo de estudios son fundamentales en el sector alimentario. Estos estudios, basados en procedimientos científicos, deben adaptarse a cada producto concreto para determinar los cambios que experimenta durante su conservación y que influyen en su calidad. Para la evaluación, se tienen en cuenta tanto los límites de calidad que fija el consumidor como la normativa específica del alimento. Para ello, se toman como referencia los límites establecidos por la ley en cuanto a los resultados analíticos y la valoración de los expertos mediante paneles de cata. Existen dos tipos de estudios para determinar la vida útil: estudios de durabilidad y estudios de desafío. Por otra parte, la microbiología predictiva es, en la actualidad, una herramienta muy utilizada en la estimación de la vida útil de los alimentos<sup>(3)</sup>.

Los **estudios de durabilidad** permiten evaluar el crecimiento de microorganismos en un alimento contaminado de forma natural durante su conservación en condiciones razonablemente previsibles. Los estudios de durabilidad pueden considerarse más realistas que los ensayos de desafío para los alimentos individuales, ya que se trata de una contaminación presente de forma natural. Su interpretación depende de la probabilidad de que el alimento esté contaminado con el microorganismo objeto de estudio. El procedimiento de muestreo, bajo la responsabilidad de la empresa y en colaboración con el laboratorio que realizará la prueba, debe ser representativo de la población (para tener en cuenta la diversidad de la población) y debe tener una buena precisión, la cual dependerá del tamaño de la subpoblación muestreada<sup>(3)</sup>.

Los **ensayos de desafío** dan información del crecimiento de un microorganismo que ha sido inoculado artificialmente en el alimento en condiciones normales de almacenado. Pueden establecerse bajo dos formas: estudios de potencial de crecimiento (se calcula la diferencia entre  $\log_{10}$  ufc/g al final y al comienzo de cada prueba potencial) y estudios para establecer la velocidad máxima de crecimiento (se calcula la tasa de crecimiento de un microorganismo en un alimento contaminado artificialmente a temperatura apropiada). Para los ensayos de desafío hay que tener en cuenta las características del alimento, el número de lotes a investigar (al menos tres lotes), el tipo de cepa elegida (al menos tres cepas diferentes), la preparación del inóculo (debe ensayarse anteriormente para determinar el tiempo necesario para alcanzar la fase estacionaria) y las condiciones de almacenado<sup>(3)</sup>.

La **microbiología predictiva** es una herramienta que tiene como objetivo predecir el comportamiento de los microorganismos en los alimentos durante su fabricación o almacenamiento. Se basa en el desarrollo de ecuaciones matemáticas que permiten simular y prever el comportamiento de la flora alterante y de los patógenos en los productos alimenticios. Los parámetros de las ecuaciones matemáticas se pueden haber determinado a partir de pruebas realizadas con los alimentos, o a partir de curvas de crecimiento en medios líquidos, o más frecuentemente, a partir de ambas fuentes<sup>(3)</sup>.

Los cambios en el estilo de vida en los países industrializados han impulsado la aparición de **nuevas tendencias en el consumo de alimentos**. En la actualidad, existe un gran interés por los productos frescos y “naturales”, es decir, con un contenido menor de aditivos o libres de ellos y que conserven sus propiedades nutritivas y organolépticas tras el procesado. Asimismo, se ha incrementado de forma considerable la demanda de productos de preparación sencilla y rápida como los platos precocinados, los productos de IV y V gama y otros alimentos “listos para consumir”. Parte de esta demanda procede de la hostelería, la restauración y las cadenas de comida rápida. En respuesta a los nuevos hábitos de consumo, la industria agroalimentaria ha implementado paulatinamente tecnologías de producción y conservación que garantizan la calidad higiénica de los alimentos y prolongan su vida útil minimizando las alteraciones en los mismos. En este grupo se incluyen los sistemas de envasado bajo atmósferas protectoras o modificadas<sup>(4)</sup>.

La **tecnología de la conservación de alimentos con gases protectores** consiste en sustituir el aire que rodea al producto por un gas o una mezcla de gases que ofrezcan mejores condiciones para el mantenimiento de la calidad química, microbiológica y estructural del alimento. Existen varios tipos de atmósferas protectoras: envasado a vacío, envasado en

atmósferas modificadas, almacenamiento en atmósfera controlada y almacenamiento en atmósferas hipobáricas<sup>(5)</sup>. El envasado en atmósfera modificada es una técnica mediante la cual se sustituye el aire del envase que contiene un alimento por un gas o una mezcla de gases. Los gases más utilizados son el nitrógeno, el oxígeno y el dióxido de carbono. El nitrógeno ( $N_2$ ) es un gas de relleno que se utiliza para desplazar el oxígeno; es incoloro, inodoro, insípido, químicamente inerte y prácticamente insoluble en la facción líquida de los alimentos, por lo que no contribuye al colapso del envase. El oxígeno ( $O_2$ ) es también incoloro, inodoro e insípido pero no es químicamente inerte; es el sustrato de la respiración de productos vegetales y es imprescindible para el desarrollo de los microorganismos aerobios. El dióxido de carbono ( $CO_2$ ) es un gas muy empleado en el envasado en atmósferas protectoras; es incoloro, inodoro, y soluble en agua y grasas. Su solubilidad aumenta a bajas temperaturas, originando un sabor ácido. Su utilización se debe a su actividad antimicrobiana de amplio espectro: antibacteriana y fungicida<sup>(5)</sup>.

#### **4. Justificación y objetivos**

Este proyecto fin de grado tiene como origen el diseño y elaboración de un producto innovador, un queso fresco relleno de mermelada de fresa, realizado en el marco de la asignatura Practicum Planta Piloto del Grado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Se trata de un plato preparado compuesto de dos productos intermedios, queso fresco y mermelada de fresa. El queso fresco se realizó mediante coagulación enzimática y prensado de la cuajada a partir de leche cruda sometida a un tratamiento térmico de pasterización baja ( $63^{\circ}C/30\text{ min}$ ) y la adición de fermentos, cuajo animal, cloruro cálcico y sal. La mermelada se formó a partir de la cocción de fresas con la adición de pectinas y azúcar. La *Figura 1* muestra el aspecto del producto finalmente elaborado en el marco de la asignatura Practicum Planta Piloto.



*Figura 1. Queso fresco relleno de mermelada realizado en la asignatura Practicum Planta Piloto.*

**La leche y muchos de sus derivados se deterioran con facilidad** en condiciones de almacenamiento inapropiadas (temperatura alta, exposición a la luz, contacto con el oxígeno). La elevada proporción de nutrientes que contienen favorece el desarrollo de su microflora natural y de otros microorganismos procedentes del entorno que alteran sus características<sup>(4)</sup>. Por ello, **es importante el control de calidad** de estos alimentos para asegurar, entre otros, la seguridad de los mismos. La responsabilidad de asegurar la inocuidad de los alimentos corresponde a las empresas incluidas en todos los eslabones de la cadena alimentaria.

El papel de la industria de transformación es determinante para la calidad final de los productos alimenticios manufacturados, desde la elección de la materia prima hasta la adecuación de los procedimientos de fabricación. En este sentido, las tres etapas fundamentales del control de calidad en todo proceso de transformación son<sup>(2)</sup>:

1. **Control de la materia prima.** Es necesario llevar a cabo un control del estado sanitario (suciedad, contaminación microbiana, residuos de plaguicidas, etc). Las características sensoriales y tecnológicas son igualmente condiciones importantes para la elección de variedades vegetales o animales. No se puede obtener un producto de calidad aceptable, partiendo de una materia prima inadecuada.
2. **Control de fabricación.** Es el control individual de cada una de las operaciones de fabricación y la coordinación de todas ellas. El control de cada operación comprende los controles de trabajo y los controles de eficacia.
3. **Control del producto terminado.** Éste nos suministra información sobre: a) la posibilidad de mejorar tanto la calidad de la materia prima como el proceso de fabricación y b) sobre el valor comercial del producto. Además, pretende ver si el producto cumple con la legislación vigente de modo que se pueda garantizar la seguridad del producto. Dos aspectos también muy importantes en este punto son el sistema de almacenamiento, y las interacciones embalaje-alimento.

Hay una serie de razones que justifican la necesidad de analizar los alimentos para determinar cualitativa o cuantitativamente la presencia de microorganismos. Los principales **objetivos del análisis microbiológico** son asegurar que<sup>(6)</sup>:

- el alimento debe cumplir criterios microbiológicos legales;
- se ajusta a normas internas establecidas por la compañía procesadora y a las externas exigidas por el comprador;
- las materias alimenticias que llegan a la factoría para ser procesadas cumplen las normas exigidas y las pactadas con el productor;

- se mantienen el control del proceso y la higiene de la línea de fabricación.

Además del control de calidad, en este proyecto se plantea la realización de un **estudio de vida útil del producto final**. Este tiene como objetivo determinar la fecha límite de consumo del alimento desde un punto de vista microbiológico y sensorial. Cada alimento tiene una caducidad microbiológica, una caducidad química y una caducidad organoléptica. La caducidad y la seguridad alimentaria están íntimamente unidas. Además, los factores que controlan la seguridad y el deterioro de los alimentos, sobre todo los relacionados con el crecimiento microbiano, son a menudo idénticos<sup>(7)</sup>. El Reglamento (CE) nº 2073/2005<sup>(8)</sup> de la Comisión, de 15 de noviembre de 2005, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios, establece que los responsables de empresas alimentarias deben realizar de forma obligatoria estudios para investigar su cumplimiento en toda la vida útil del producto. Otro aspecto a tener en cuenta es que en el etiquetado se debe mencionar obligatoriamente la fecha de duración mínima o de caducidad del alimento y por tanto la herramienta para determinarla es la realización de un estudio vida útil del producto<sup>(9)</sup>.

Los productos lácteos conservan su calidad higiénica y sensorial durante más tiempo bajo un ambiente gaseoso creado artificialmente. Los gases de envasado seleccionados para constituir este ambiente actúan sobre el crecimiento microbiano y las reacciones de oxidación lipídica. Por esta razón, en el contexto de este Proyecto Fin de Grado, se decide envasar el producto final elaborado en el marco de la asignatura Practicum Planta Piloto en dos atmósferas distintas: en aire y en atmósfera modificada, y comprobar el efecto que el uso de este sistema de conservación/envasado puede tener sobre la vida útil y las características sensoriales del producto final<sup>(4)</sup>.

En el caso del envasado en atmósfera modificada la estabilidad microbiológica de los productos lácteos se logra mediante la incorporación de dióxido de carbono en el envase. Las concentraciones superiores al 20% son suficientes para inhibir la proliferación de mohos y bacterias aeróbicas en quesos. En el envasado de quesos blandos el contenido máximo de dióxido de carbono puede llegar a alcanzar hasta un 40%. No obstante, existe un riesgo importante de colapso del envase lo que obliga a incluir nitrógeno en su interior como gas de relleno<sup>(4)</sup>. Este colapso parcial se debe a que el CO<sub>2</sub> se solubiliza en la fracción líquida del alimento, reduciendo el tamaño del envase al disminuir el volumen del gas libre. También a que el envasado se hace generalmente a temperaturas superiores a la de refrigeración e incluso superiores a la temperatura ambiente normal, debido al calor de fricción de las maquinas envasadoras, y al recuperar la temperatura de almacenamiento disminuye el volumen del gas

con el consiguiente colapso parcial<sup>(5)</sup>. Por todo ello, se eligió una composición de gases para el envasado en atmósfera modificada de 30% de CO<sub>2</sub> y 70% de N<sub>2</sub>, con la que se pretendió lograr un efecto bacteriostático sin causar el colapso del envase. No obstante, cabe señalar que, dada la escasa financiación con la que se ha contado en la asignatura Practicum Planta Piloto, no se pudieron fabricar suficientes unidades como para plantear un trabajo experimental completo, de modo que esta última parte del trabajo debe ser considerada como un estudio preliminar.

Como consecuencia de lo mencionado en este apartado, esta investigación propone la consecución de los siguientes objetivos:

1. Preparar una propuesta que plantee, desde un punto de vista teórico, los análisis físicos, químicos y microbiológicos necesarios para valorar la calidad de las materias primas necesarias para la elaboración de un nuevo alimento (queso fresco relleno de mermelada), de los productos intermedios (mermelada y queso) y la de este producto finalmente elaborado; y desde un punto de vista práctico, la realización de aquellos análisis que, siendo factibles, nos permitieran efectuar una valoración inicial de la calidad de las materias primas y del producto elaborado, así como de las condiciones de trabajo en todo el proceso de producción, desde la recepción de la materia prima y en la sala de procesado de la Planta Piloto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos de la Facultad de Veterinaria;
2. Evaluar el papel de las atmósferas protectoras como método de prolongación de la vida útil de este nuevo alimento elaborado en el marco de la asignatura Practicum Planta Piloto, mediante la realización de un estudio preliminar comparativo de su vida útil basado en la caracterización microbiológica y sensorial del producto envasado al aire y en atmósfera protectora (30% CO<sub>2</sub>, 70% N<sub>2</sub>) durante su posterior almacenamiento en refrigeración.

## **5. Metodología**

En este apartado se diferencian dos partes que corresponden a los dos objetivos establecidos, la primera relativa al control de calidad de materias primas, productos intermedios y producto final, y la segunda relativa al estudio de la vida útil del producto final envasado o no en atmósfera protectora.

### **5.1. Control de calidad**

En este proyecto, el control de calidad se realiza desde dos puntos de vista, uno teórico y otro práctico. La parte teórica recoge la interpretación de las referencias bibliográficas y legales necesarias para plantear un control de calidad completo durante y al final de la producción del alimento, y la parte práctica recoge aquellos análisis que se han llevado a cabo en el laboratorio.

Cabe señalar que el producto elaborado en el contexto de la asignatura Practicum Planta Piloto consta de dos alimentos intermedios: queso fresco y mermelada. En ese contexto, la leche cruda recibida era tratada térmicamente mediante una pasterización baja como paso previo a su utilización en la fabricación del queso.

El queso fresco se compone de leche cruda y leche pasterizada, como principales materias primas, y de sal, fermentos lácticos, cuajo animal y cloruro cálcico. La mermelada consta de fresas, pectinas de alto metoxilo y azúcar.

#### **5.1.1. Propuesta teórica**

Se llevó a cabo una búsqueda bibliográfica mediante la consulta de libros científicos en la biblioteca de la facultad de Veterinaria, y en especial una revisión de la legislación. Mediante la base de datos Iberlex, integrada en el portal del Boletín Oficial del Estado (BOE)<sup>(10)</sup>, se recopiló e interpretó la legislación alimentaria vigente en materia de higiene, criterios microbiológicos, límites máximos de residuos y contaminantes, parámetros útiles para el control de calidad. En el apartado “Bibliografía” quedan recogidas tanto las referencias bibliográficas como las disposiciones legales consultadas. Además de la búsqueda de aquellos análisis necesarios para el control de calidad, se efectuó una consulta de aquellos ingredientes y aditivos que estaban permitidos utilizar para la elaboración del alimento objeto de estudio.

#### **5.1.2. Análisis realizados**

Se realizaron análisis diversos de las materias primas (leche cruda y pasterizada), de productos intermedios (mermelada) y del producto final.

Los controles realizados fueron:

- Temperatura de llegada de la **leche cruda** a la industria
- Color, olor y apariencia de la **leche cruda**
- Contaminación macroscópica de la **leche cruda**
- Concentración de gérmenes a 30°C en **leche cruda y leche pasterizada**
- Enterobacteriáceas en **leche pasterizada**
- Prueba de la fosfatasa alcalina en **leche pasterizada**
- Materia seca soluble en **mermelada**
- pH en **mermelada y producto final**
- $a_w$  en **mermelada y producto final**
- *E. coli* en **producto final**
- *Staphylococcus coagulasa +* en **producto final**
- *Salmonella spp.* en **producto final**
- *Listeria monocytogenes* en **producto final**

La leche cruda se recibió en un contenedor de plástico, se midió la **temperatura** mediante un termómetro (Multi thermometer. Alla France. Chemillé, Francia) y se observó el **color, olor, aspecto y contaminación macroscópica**. Además, se tomó una muestra para la realización del análisis de gérmenes a 30°C.

Para la realización del recuento de **gérmenes a 30°C** en ambos tipos de leche, se tomó como referencia la norma ISO 4833. Se realizaron las pertinentes diluciones en Agua de Peptona al 0,1% (Peptone water. Merck. Darmstadt, Alemania) y se sembró en agar PCA (Plate Count Agar. Merck) por homogeneización en masa con doble capa para evitar el crecimiento de microorganismos indeseables, por duplicado. La incubación se llevó a cabo en estufa (Incudigit. Jp. Selecta, S.A. Barcelona, España) a 30°C durante 72 h. Las colonias típicas de estos microorganismos en este medio son blancas sin relieve.

El recuento de **Enterobacteriáceas** se realizó en base a la norma ISO 21528-1. Se realizaron diluciones pertinentes y se sembró en agar VRBG (Cristal Violeta, Rojo Neutro, Sales Biliares y Glucosa. Merck) por homogeneización en masa con doble capa, por duplicado, y se procedió a su incubación a 37°C/24 h.

La **prueba de la fosfatasa alcalina** consiste en un kit rápido que detecta la presencia de esta enzima. Esta enzima se desnaturaliza a temperaturas de 60°C, y por tanto, a las temperaturas de pasterización, en este caso de 63°C, se inactiva. Tiene una termoestabilidad similar a la de *Mycobacterium tuberculosis*, microorganismo patógeno más resistente que puede encontrarse

en este tipo de matriz, de modo que permite comprobar la seguridad del tratamiento. La prueba consiste en la introducción de una tira reactiva en la leche tratada y la incubación de la tira a 37°C. Se realiza una lectura a los 15 min y otra pasada 1 h. Si se produce viraje de color la enzima se encuentra presente. (Phosphatesmo M1. Macherey-Nagel. Duren, Alemania).

La cantidad de **materia seca soluble** en mermelada fue medida mediante refractómetro (NAR-1T liquid. Atago. Milán, Italia). La medida de la **actividad de agua**, tanto en la mermelada como del producto final, se llevó a cabo en un decagón (Decagón CX-1. Washington, USA) y la del **pH** con sonda de pH (Dulcotest ph. Prominent. Argelaguer, Gerona, España) y registro dataloger (AHLBORN. Almemo 2590).

En el caso del producto terminado, se dispuso de una sola muestra para la realización de los análisis. Se realizó recuento de *E. coli* y *Staphylococcus coagulasa +* e investigación de *Salmonella spp.* y *Listeria monocytogenes*, en base a los criterios establecidos, los cuales serán discutidos en el apartado de “Resultados y discusión”.

El recuento de *E. coli* se llevó a cabo, teniendo en cuenta la norma ISO 16640-1, en agar VRBL (Cristal Violeta, Rojo Neutro, Sales Biliares, Lactosa. OXOID. Balingstoke, Hampshire, Inglaterra), por siembra en homogeneización en masa, por duplicado. Las placas de las distintas diluciones se incubaron a 44,5°C/48 h. En el caso de detección de colonias típicas (color rojo-violeta, diámetro mayor o igual a 0,5 mm con halo blanquecino de precipitación), éstas se sembraron en agar Levine (Bacto Levine EMB Agar. DIFCO Laboratories. Detroit. USA) en superficie y se incubaron a 44,5°C/24 h.

Para el recuento de *Staphylococcus coagulasa +* se tomó como referencia la norma ISO 6888-1. Las distintas diluciones se sembraron en agar BP (Baird Parker. Biolife. Milán, Italia) suplementado con plasma de conejo y fibrinógeno (Biolife. Milán, Italia). Las placas se incubaron a 37°C/24 h.

La investigación de *Salmonella spp.* se llevó a cabo para 25 g de alimento siguiendo como método de referencia la norma ISO 6579. Se realizó un preenriquecimiento a partir del alimento y 225 ml de Agua de Peptona (Merck), el cual se incubó a una temperatura de 37°C durante 24h. A continuación se realizó un segundo enriquecimiento a partir de 0,1 ml del primero en un tubo con 9 ml de caldo RV (Rappaport-Vassiliadis. Merck). Este se incubó a 42,5°C/24 h en baño termostático (BTG-1. Bunsen, S.A. Madrid, España). Para la detección se utilizó un test rápido para *Salmonella spp.* (Performance tested. Merck). Tras la incubación se tomaron 2 ml del enriquecimiento y se pasaron a un tubo, el cuál fue calentado en baño

maría durante 15 min. Se tomaron 5 gotas del tubo y se adicionaron al test. Tras 20 min se procedió a la lectura del mismo.

*Listeria monocytogenes* se determinó por investigación en 25 g siguiendo como método de referencia la ISO 11290-1. Se realizó un enriquecimiento primario con 225 ml de Caldo Fraser semi (OXOID) suplementado (suplemento Fraser media concentración. OXOID) y se incubó a 30°C/24 h. Se sembró 0,1 ml de este enriquecimiento en un tubo con 9 ml de caldo Fraser completo (OXOID) suplementado (suplemento Fraser. OXOID), el cual se incubó a 37°C/24 h. Tras la incubación, se tomó 0,1 ml de este último enriquecimiento y se sembró en superficie en agar ALOA (Agar Listeria acc. to Ottaviani & Agosti. OXOID). Las placas de ALOA se incubaron a 37°C/24 h.

## 5.2. Envasado en atmósfera protectora y estudio de vida útil

Si bien nuestro objetivo inicial fue plantear la realización de un estudio de vida útil del producto elaborado en el contexto de la asignatura Practicum Planta Piloto, envasado al aire y en atmósferas protectoras, las limitaciones presupuestarias no nos permitieron fabricar todas las muestras necesarias para llevar a cabo los análisis microbiológicos, físicos, químicos y sensoriales que un estudio de estas características requiere. Por ello, entiéndase este apartado como un esbozo de los aspectos que debería comprender un estudio de estas características. Concretamente, se dispuso de 25 litros de leche, con los que se pudo fabricar 7 kg de queso que se envasaron al aire y en una atmósfera modificada (30% CO<sub>2</sub>, 70% N<sub>2</sub>) (Envasadora-termoselladora. Modelo SMART-400. ULMA. Oñati, Guipúzcoa). Se obtuvieron así 7 muestras para cada tipo de envasado. En este contexto, se realizó un estudio de durabilidad<sup>(12)</sup>, el cual consistió en una prueba de almacenamiento del producto en condiciones similares a las que probablemente tendrían lugar durante esta etapa, analizando muestras a lo largo de una serie de días establecidos. Se estableció una temperatura de refrigeración de 3-4°C, al ser un producto que se debe comercializar refrigerado, y se realizaron análisis a los días 0, 1, 4, 8 y 11. Se realizaron tres tipos de análisis: microbiológicos, físico-químicos y sensoriales.

Desde un punto de vista microbiológico se analizaron aquellos **microorganismos** llamados **indicadores**, cuya presencia o ausencia proporciona evidencias indirectas de la presencia en la muestra de cualquier grupo taxonómico, fisiológico o ecológico de bacterias. Concretamente, se analizaron Enterobacteriáceas, coliformes totales y coliformes termotolerantes por ser microorganismos que indican falta o no de higiene en la producción y algunos de ellos, como los coliformes, que son alterantes del queso. Además de los

coliformes, *Pseudomonas spp.* también puede alterar el queso, pero no pudo analizarse ya que la Planta Piloto no disponía en ese momento de los medios de cultivo específicos para su análisis.

Para el recuento de Enterobacteriáceas y *E. coli* se siguió el mismo procedimiento descrito en el apartado de “Control de calidad”.

El recuento de coliformes tanto totales como termotolerantes se realizó mediante siembra por duplicado por homogeneización de las diferentes diluciones realizadas en agar VRBL (OXOID). Las placas de coliformes totales se incubaron a 37°C/24 h y las de coliformes termotolerantes a 44,5°C/24 h. El método de referencia seguido fue la norma ISO 4832.

Los análisis físico-químicos realizados fueron de **pH, actividad de agua y composición de gases** de la atmósfera del envase. Para el pH y la actividad de agua se utilizaron los mismos equipos mencionados en apartados anteriores, y para la composición de gases del envase se utilizó un analizador de gas portátil (Oxybaby. Wittgas. Santander, España).

La **evaluación sensorial** consistió en la realización de catas constituidas por 4 cataadores que evaluaron: aspecto externo, textura, olor, sabor, presencia de desuerado en el envase y de olores y sabores extraños, y una valoración general del producto. Para ello, se diseñó un cuestionario, el cual se encuentra recogido en el Anexo 1 de este documento. Estas catas se realizaron los mismos días en los que se llevaron a cabo el resto de análisis (día 0, 1, 4, 8 y 11).

### 5.2.1. Modelización matemática

Una herramienta cada vez más utilizada en el establecimiento de la vida útil de los alimentos es la microbiología predictiva. Una vez obtenidos los recuentos microbiológicos a lo largo del almacenamiento del producto se representan las gráficas de crecimiento microbiano y se procede a su modelización. Para describir cinéticas de crecimiento se pueden utilizar modelos matemáticos sencillos, como la simple regresión de la fase de crecimiento exponencial de la curva de crecimiento, o bien, otros que describen detalladamente todas las fases<sup>(11)</sup>. Dentro de estos últimos, uno de los más utilizados, por su versatilidad, es el modelo de Gompertz, modelo primario, el cual se ha elegido para este trabajo.

Se trata de una curva sigmoidea, asimétrica, determinada por cuatro parámetros (A, C, M, B), cuya ecuación es:

$$L(t) = A + C * e^{(-e^{(-B * (t-M))})}$$

siendo:

$L(t)$  = logaritmo decimal del recuento en el tiempo  $t$  (Log ufc/ml)

$A$  = logaritmo decimal del recuento inicial (Log ufc/ml).

$C$  (ciclos de incremento en el recuento)= logaritmo del recuento en fase estacionaria- $A$

$M$  = tiempo al cual el cultivo alcanza su máxima velocidad de crecimiento (horas).

$B$  = velocidad de crecimiento relativo en el punto  $M$  ( $\text{h}^{-1}$ )

$t$  = tiempo (h).

Para la aplicación de este modelo a las curvas de crecimiento obtenidas se utilizó la herramienta Solver de Excel (Microsoft. Redmon, Washington, Estados Unidos).

### 5.3. Tratamiento estadístico de los datos

En el caso de los análisis microbiológicos los resultados se expresan según las normas recomendadas por el ICMSF<sup>(12)</sup>. En ellas se indica que se deben contar aquellas placas en las que haya un crecimiento de colonias típicas entre 30 y 300, excepto en el caso de Enterobacteriáceas que debe haber entre 15 y 150 colonias típicas.

Al realizarse los recuentos por duplicado, se obtuvieron 2 resultados de cada dilución. Para obtener los resultados se calculó el límite de fiabilidad al 95% y la media aritmética de los recuentos de placas de una misma dilución que cumplieran el criterio recogido en el párrafo anterior multiplicada por el factor de dilución que correspondiera. En el caso de haber dos diluciones o más que cumplieran este criterio, se realizó la media aritmética de cada una de las diluciones, se multiplicó por el factor de dilución y se volvió a realizar una media aritmética de los resultados obtenidos.

$$\text{Límite de fiabilidad al } 95\% \rightarrow \bar{x} \pm \frac{1,96\sqrt{n * \bar{x}}}{n}$$

$\bar{x}$  : Media aritmética de las colonias contadas en las placas de la misma dilución

$n$  : Número de placas contadas de la misma dilución

Todos los recuentos microbiológicos se realizaron por duplicado siendo el intervalo obtenido en todos los casos inferior al 10%, valor que se considera aceptable en microbiología.

## **6. Resultados y discusión**

Antes de comenzar con la descripción e interpretación de los resultados, cabe señalar que, debido a limitaciones presupuestarias, el número de muestras obtenidas en el marco de la asignatura Practicum Planta Piloto fue reducido, y por tanto solo se dispuso de un lote y de una muestra del producto para cada día de análisis lo que supuso una limitación en lo relativo a:

- la interpretación de los resultados de los análisis microbiológicos realizados teniendo en cuenta los criterios microbiológicos recogidos en la legislación, los cuales se realizan en base a un número determinado de muestras, el cual varía dependiendo del microorganismo y del alimento;
- la realización de los análisis sensoriales, para los que se tuvo que contar con un número reducido de participantes, 4 personas por sesión, cuando en la práctica se suele recomendar la utilización de al menos 50 catadores;
- la aplicación del modelo de Gompertz en la estimación la vida útil de estos productos debido al escaso número de recuentos microbiológicos obtenidos y su proximidad al límite máximo de recuento microbiológico permitido.

A pesar del escaso número de muestras disponible, hemos podido abarcar todos los objetivos que inicialmente habíamos previsto.

### **6.1. Control de calidad**

Como se ha mencionado anteriormente en el apartado de “Metodología”, este proyecto engloba el planteamiento teórico de un control de calidad completo de cada materia prima, productos intermedios y producto finalmente elaborado, así como la realización de parte de esos análisis en los laboratorios de la Planta Piloto.

#### **6.1.1. Leche**

A continuación se establece el control de calidad tanto de la leche cruda como de la pasterizada.

##### **6.1.1.1. Leche cruda**

La leche es un producto muy perecedero. A continuación se describen los resultados de la búsqueda bibliográfica y legal. En el Reglamento (CE) nº 1662/2006<sup>(13)</sup>, modificación del Reglamento (CE) 853/2004<sup>(14)</sup>, se establecen normas específicas de higiene de la leche y productos lácteos. Según esta normativa, en la recepción de la leche cruda se debe tener en

cuenta: la temperatura de llegada de la leche y la concentración de **gérmenes a 30ºC** ( $\leq 300000$  ufc/ml).

Además, el Real Decreto nº 1728/2007<sup>(15)</sup> recoge una serie de análisis que deben realizarse a la llegada de la leche a la industria, algunos de los cuales coinciden con los mencionados en párrafos anteriores:

- **inspección del color, olor, aspecto y contaminación macroscópica.** El color, olor y aspecto deben ser normales y no debe contener contaminación macroscópica.
- control de la **temperatura.** Debe ser  $> 0^{\circ}\text{C}$  y  $\leq 10^{\circ}\text{C}$ .
- control de las **condiciones de limpieza de la cisterna que la transporta.** La cisterna se comprueba visualmente que esté limpia y se comprueban los registros de lavado.
- determinación de la **acidez o estabilidad al alcohol.** Los valores normales se consideran  $< 18^{\circ}\text{D}$  o estable al alcohol.

Además, en la leche debe analizarse el contenido de **plomo, aflatoxinas M1, dioxinas y PCBs** según el Reglamento (CE) nº 1881/2006<sup>(16)</sup> por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios y posteriores modificaciones, Reglamento (EU) nº 165/2010<sup>(17)</sup> y Reglamento (UE) nº 1259/2011<sup>(18)</sup> (*Tabla 1*).

<b>Plomo</b>	< 0,020 mg/kg de peso fresco
<b>Aflatoxinas M1</b>	0,050 µg/kg
<b>Dioxinas</b>	2,5 pg/g de grasa
<b>Dioxinas y PCBs similares a las dioxinas</b>	5,5 pg/g de grasa
<b>PCB28, PCB52, PCB101, PCB138</b>	
<b>PCB153 y PCB180</b>	40 ng/g de grasa

*Tabla 1. Límites máximos de contaminantes abióticos en leche cruda.*

La leche cruda no debe contener residuos de **antibióticos**, no solo para evitar la creación de antibioresistencias, sino por los problemas tecnológicos que éstos pueden ocasionar durante la fermentación del queso. En el Reglamento (CE) nº 1662/2006<sup>(13)</sup> se hace referencia a la prohibición de venta de leche cruda que contenga antibióticos. Además, el Reglamento (CEE) nº 2377/90<sup>(19)</sup> y sus posteriores modificaciones, establecen los límites máximos de residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos de origen animal y los límites máximos de residuos de sustancias farmacológicamente activas en alimentos de origen animal.

En el Reglamento (CE) nº 149/2008<sup>(20)</sup> se establecen los límites máximos de **plaguicidas**.

A continuación se muestran los resultados de los análisis realizados (*Tabla 2*).

Color, olor y aspecto	Contaminación macroscópica	Temperatura de recepción	Gérmenes a 30°C
<b>Leche cruda</b>	Normales	Inexistente	6,2°C 8,31 x 10 <sup>5</sup> ufc/ml

*Tabla 2. Resultados de los análisis realizados a la leche cruda.*

Antes de la interpretación de estos resultados cabe resaltar que, anteriormente a la elaboración del producto con leche cruda como materia prima, se investigó la posibilidad de recibir directamente leche pasterizada para su posterior transformación. Para ello, se realizaron análisis de Enterobacteriáceas y gérmenes a 30°C y un control de la temperatura a la llegada de la leche pasterizada a la Planta Piloto. El primer problema con el que nos encontramos, fue que la leche se recibía a una temperatura de 19°C, temperatura muy superior a los 10°C especificados en la legislación vigente<sup>(13)</sup>. En segundo lugar, los recuentos de Enterobacteriáceas obtenidos eran muy superiores a los límites legales: 1,6 x 10<sup>3</sup> ufc/ml, mientras que el criterio microbiológico es 1 x 10 ufc/ml<sup>(21)</sup>. Por el contrario, el recuento para gérmenes a 30°C fue ligeramente inferior (6,7 x 10<sup>4</sup> ufc/ml) al establecido ( $\leq 100000$  ufc/ml<sup>(22)</sup>). Como se ha mencionado anteriormente, no fue posible transportar la leche en contenedores higiénicos, por lo que se dedujo que ésta era la principal causa del incremento en la contaminación de la leche pasterizada. Además, el desarrollo de microorganismos se vería favorecido por la elevada temperatura de transporte y recepción de la leche. Por lo tanto, se rechazó la idea de recibir leche pasterizada al no poder solucionar los problemas de transporte, optándose por la higienización del producto mediante el tratamiento de pasteurización. No obstante, para intentar solventar el problema de la temperatura, la leche cruda se fue a buscar a la empresa proveedora con un vehículo propio, reduciendo el tiempo de transporte, aunque sin disponer de refrigeración por el vehículo del que se trataba. De esta manera se consiguió que la temperatura de la leche a su llegada a la sala de procesado de la Planta Piloto fuera de 6,2°C, temperatura por debajo del límite establecido por la legislación<sup>(13)</sup>. Además, se sometió inmediatamente a un tratamiento térmico, con lo que no fue necesario su almacenamiento a <6°C.

En la *Tabla 2*, los parámetros de color, olor y aspecto se consideraron normales, lo que cumple con lo establecido en la legislación (Real Decreto nº 1728/2007<sup>(15)</sup>), al igual que la contaminación macroscópica.

Como se ha mencionado anteriormente, según el Reglamento (CE) nº 1662/2006<sup>(13)</sup>, se debe analizar la concentración de gérmenes a 30°C, pero existe una modificación posterior, el Reglamento (CE) nº 1020/2008<sup>(22)</sup>, en el que se modifica el límite establecido para este criterio. Se establece que para leche cruda que va a ser utilizada para la fabricación de productos lácteos este valor debe ser  $\leq 300000$  ufc/ml. En la *Tabla 2* se observa que el resultado obtenido en el análisis es ligeramente superior al límite legal. Por ello, decidimos investigar si la elevada contaminación provenía de la empresa que nos suministraba la leche o de las condiciones en la que ésta era transportada a la Planta Piloto. Así, se solicitó dicha información a la empresa, confirmándose que la leche cruda que se nos estaba suministrando cumplía con la legislación vigente ( $\leq 300000$  ufc/ml). Esto nos hizo llegar a la conclusión de que el no disponer de contenedores higiénicos para su transporte influía en que el recuento de gérmenes a 30°C superara ligeramente el límite. Dado que durante el periodo de realización de este proyecto no fue posible contar con otro medio de transporte, y que la leche no iba a ser utilizada directamente en la elaboración del queso, sino que se iba a someter a un tratamiento térmico, se decidió continuar con la investigación y esperar a establecer su aptitud en función de los resultados del análisis microbiológico de la leche una vez pasterizada. Por otra parte, cabe señalar que este proyecto ha puesto de manifiesto la necesidad de que la Planta Piloto cuente en un futuro con un sistema de transporte de leche más adecuado (recipientes de acero inoxidable y transporte refrigerado).

#### **6.1.1.2. Leche pasterizada**

En el Reglamento (CE) nº 1020/2008<sup>(22)</sup> se recoge que en la leche tratada térmicamente destinada a la fabricación de productos lácteos debe analizarse la concentración de **gérmenes a 30°C**. Además existe un criterio microbiológico recogido en el Reglamento (UE) nº 365/2010<sup>(21)</sup> que modifica al Reglamento (CE) nº 2073/2005<sup>(8)</sup> en los criterios de higiene de los procesos, que obliga a analizar **Enterobacteriáceas**. Dado el interés de los resultados de ambos análisis para un mejor conocimiento de las condiciones higiénicas de procesado seguido en la Planta Piloto, así como para el establecimiento de las condiciones de tratamiento más adecuadas se procedió a su determinación.

Gérmenes a 30°C	Enterobacteriáceas	Prueba fosfatasa alcalina
Leche pasterizada	3,7 x 10 <sup>3</sup> ufc/ml	1 x 10 ufc/ml

Tabla 3. Resultados de los análisis realizados a la leche pasterizada.

El recuento de gérmenes a 30°C en leche de vaca tratada térmicamente utilizada para preparar productos lácteos debe ser  $\leq 100000$  ufc/ml<sup>(13)</sup>. El resultado obtenido es dos unidades logarítmicas inferior a este valor por lo que la leche era apta al cumplir con la legislación vigente.

En el caso de Enterobacteriáceas, también se cumple con el límite legal, el cual se establece en 1 x 10 ufc/ml<sup>(21)</sup>.

La prueba de la fosfatasa alcalina se realizó tras la pasterización de la leche con objeto de verificar que el tratamiento térmico había superado la intensidad mínima requerida. Esta prueba fue clave para determinar la calidad higiénica de la leche ya que el tratamiento térmico de la leche no pudo realizarse en el equipo diseñado para ello, el Pasteurizador de la Planta Piloto (Suministros químicos Arroyo, S.A. Santander, España), debido a que los litros mínimos necesarios para su funcionamiento son 60 L, por lo que hubo que procesar la leche en el equipo Multifunción (Himel. Suministros químicos Arroyo, S.A), equipo en el cuál el control de la temperatura no puede realizarse de manera tan controlada.

#### 6.1.2. Sal

Según lo establecido en el Real Decreto 1424/1983<sup>(23)</sup> y sus modificaciones posteriores, la sal debe tener una serie de características para tener la calidad necesaria para ser comercializable:

- Su **residuo insoluble en agua** no será mayor de 5 g por kg de sal,
- El contenido de **cloruro sódico** no debe ser inferior al 97% de la materia seca, con exclusión de los aditivos.
- Se tolera la presencia de **sales magnésicas**, calculadas en óxido de magnesio, hasta el 2% sobre el producto seco, cuando el producto vaya destinado a la salazón.
- El **contenido de nitritos, nitratos y sales amónicas** no excederá, expresado en nitrógeno, de 20 mg/ kg de sal, excepto en el caso de la sal nitritada.
- Se admiten las siguientes tolerancias de residuos de **metales pesados**: 2 mg/kg de cobre, 2 mg/kg de plomo, 1 mg/kg de arsénico, 0,5 mg/kg de cadmio y 0,1 mg/kg de mercurio.

### **6.1.3. Cuajo animal**

Según el Real Decreto 1113/2006<sup>(24)</sup> está permitido el uso de cuajo en la elaboración de queso, considerándose un ingrediente esencial del mismo, siempre y cuando cumpla con la Orden de 14 de enero de 1988<sup>(25)</sup>.

### **6.1.4. Fermentos lácticos**

De acuerdo con el Real Decreto 1113/2006<sup>(24)</sup>, está permitida la utilización de estos fermentos en la elaboración de quesos en dosis máxima de uso determinada por la buena práctica de fabricación.

### **6.1.5. Cloruro cálcico**

El cloruro cálcico se considera un aditivo recogido en el Reglamento (UE) nº 1129/2011<sup>(26)</sup> en el grupo I de aditivos con el número E 509. La dosis máxima en el queso es quantum satis, es decir, no hay un límite máximo establecido, por lo que se puede utilizar la dosis que se desee de acuerdo con buenas prácticas de higiene.

### **6.1.6. Fresas**

Para la preparación de la mermelada de fresa se utilizó fruta fresca de acuerdo con la Norma de Calidad para mermeladas y confituras (Real Decreto 863/2003<sup>(27)</sup>). Además, la fruta debe estar sana, sin ninguna alteración, con todos sus componentes esenciales y en el grado de madurez apropiada, después de lavada, pulida y despuntada.

En las fresas debe controlarse el contenido máximo de **plomo y cadmio**, siendo el límite máximo, respectivamente, de 0,20 mg/kg de peso fresco, en la categoría de “bayas y frutas pequeñas”, y 0,050 mg/kg de peso fresco, en la categoría de “hortalizas y frutas, excluidas las hortalizas de hoja, las hierbas frescas, las setas, los tallos jóvenes, los piñones, las hortalizas de raíz y las patatas”, según el Reglamento (CE) nº 1881/2006<sup>(16)</sup>. En ambos casos el contenido máximo se aplica después de lavar las frutas o las hortalizas y separar la parte comestible.

Además en este tipo de alimentos hay que tener en cuenta los límites máximos de residuos de **plaguicidas** en alimentos y piensos de origen vegetal y animal, Reglamento (CE) nº 149/2008<sup>(20)</sup> que modifica al Reglamento (CE) nº 396/2005<sup>(28)</sup>.

### **6.1.7. Pectinas de alto metoxilo**

Las pectinas se consideran un aditivo recogido en el Reglamento (UE) nº 1129/2011<sup>(26)</sup>, en el grupo I, con número E 440. La dosis máxima permitida para este aditivo en confituras, jaleas, mermeladas y crema de castañas es “quantum satis”.

#### 6.1.8. Azúcar

Según el Real Decreto 863/2003<sup>(27)</sup> se autoriza la utilización de aquellos azúcares definidos en la normativa aplicable en vigor, Real Decreto 1052/2003<sup>(29)</sup>. En este caso se utiliza azúcar blanco, que está recogido en esta norma y por tanto su utilización está permitida para la elaboración de mermeladas.

En la Reglamentación técnico-sanitaria sobre determinados azúcares destinados a la alimentación humana, Real Decreto 1052/2003<sup>(29)</sup> y modificaciones posteriores, el azúcar blanco debe responder a las características siguientes:

- a) **Polarización**, no menos de 99,7° Z.
- b) Contenido de **azúcar invertido**, no más del 0,04% en peso.
- c) **Pérdida en el secado**, no más del 0,06% en peso.
- d) Tipo de **color**, no más de 9 puntos, determinados de acuerdo con el apartado 3.a) (en lo que se refiere al tipo de color, a 0,5 unidades, determinadas según el método del Instituto de Tecnología Agrícola e Industria Azucarera de Brunswick).

#### 6.1.9. Mermelada

En el caso de la mermelada existe una Norma de Calidad (Real Decreto 863/2003<sup>(27)</sup>), como ya se ha visto en apartados anteriores, que recoge dos parámetros a tener en cuenta para determinar la calidad de este producto:

- La **cantidad de pulpa o puré** utilizada para la elaboración de 1000 g de producto acabado no será inferior a 350 g en general;
- El **contenido de materia seca soluble**, determinado por refractómetro, deberá ser igual o superior al 60%.

De entre todos estos análisis, se procedió a determinar los valores de pH, aw y ° Brix por su implicación en la conservación y vida útil del producto finalmente elaborado.

Materia seca soluble (°Brix)	pH	$a_w$
<b>Mermelada</b>	63,5	3,5

Tabla 4. Resultados de los análisis realizados a la mermelada.

Como se ha especificado anteriormente, para que un producto pueda denominarse “mermelada”, entre otras cosas debe contener  $\geq 60\%$  de materia seca soluble, con lo que el producto intermedio elaborado, cumplió este criterio para considerarse “mermelada”. El pH normal de la mermelada es de 3,0- 3,4 y la  $a_w$  de 0,75-0,8<sup>(30)</sup>. En este caso, aunque los valores fueron ligeramente superiores a los normales, se consideran aceptables.

#### 6.1.10. Queso fresco

Para el queso fresco existen una serie de criterios microbiológicos recogidos en la legislación vigente. En el Reglamento (CE) nº 1441/2007<sup>(31)</sup> se establece en los criterios de higiene del proceso en la categoría “Quesos a base de leche o suero sometido a tratamiento térmico” un criterio para *E. coli* (n=5, c=2, m=100 y M=1000 ufc/g) que debe cumplirse en el momento del proceso de fabricación en el que se prevea que el recuento de *E. coli* será el máximo. También se establece un criterio para *Staphylococcus coagulasa +* (n=5, c=2, m=10 y M=100 ufc/g) y **enterotoxinas estafilocócicas** (n=5, c=0, m y M= no detectado en 25g) en la categoría “Quesos blandos no madurados (quesos frescos) a base de leche o suero sometido a pasteurización o un tratamiento térmico más fuerte”. Las enterotoxinas estafilocócicas solo deben analizarse en el caso de que se detecten valores  $> 10^5$  ufc/g de *Staphylococcus coagulasa +*. Para la mermelada no existen criterios microbiológicos establecidos.

Dada la proporción que este alimento supone con respecto al producto final, mayor al 60%, se consideró importante la realización de estos análisis microbiológicos al producto una vez ensamblado con la mermelada y envasado. Por tanto, los resultados de estos análisis se muestran en el apartado “Producto final”.

Además, para este alimento está establecido en la legislación vigente<sup>(16)</sup> el contenido máximo de **dioxinas, PCBs similares a las dioxinas y PCBs no similares a las dioxinas**, establecidos en 2,5 pg/g de grasa, 5,5 pg/g de grasa y 40 ng/g de grasa, respectivamente.

En el Reglamento (CE) nº 149/2008<sup>(20)</sup> se recogen los límites máximos de **plaguicidas** para queso y en el Reglamento (CEE) nº 2377/90<sup>(19)</sup> y sus posteriores modificaciones, se establecen los límites máximos de residuos de **medicamentos veterinarios** en los alimentos de origen animal y los límites máximos de residuos de **sustancias farmacológicamente activas**.

#### 6.1.11. Producto final

Según los criterios microbiológicos recogidos en el Reglamento (CE) nº 1441/2007<sup>(31)</sup>, este producto, mezcla de mermelada y queso fresco, como alimento listo para el consumo que

puede favorecer el desarrollo de microorganismos, debe verificarse que cumple el criterio establecido para *Listeria monocytogenes* ( $n=5$ ,  $c=0$ ,  $m$  y  $M=$  ausencia/25 g).

A este producto se le realizaron análisis microbiológicos: *Listeria monocytogenes*, *E. coli*, *Staphylococcus coagulasa +* y *Salmonella spp.*; y análisis fisicoquímicos: pH y  $a_w$ .

En la *Tabla 5* se muestran los resultados de los análisis realizados al producto final tanto envasado en atmósfera modificada como en aire.

	<i>E. coli</i>	<i>Staphylococcus coagulasa +</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Salmonella spp.</i>	pH	$a_w$
Atmósfera modificada	< 1 x 10 ufc/g	< 1 x 10 ufc/g	Ausencia/25g	Ausencia/25g	6,06	0,962
Aire	< 1 x 10 ufc/g	< 1 x 10 ufc/g	Ausencia/25g	Ausencia/25g	6,02	0,966

*Tabla 5. Resultados de los análisis realizados al queso con mermelada envasado en atmósfera modificada y en aire.*

En relación al pH y  $a_w$  no existen datos publicados con los que comparar los valores obtenidos, por tratarse de un alimento nuevo que no se encuentra en el mercado. No obstante, los resultados de estos análisis nos permiten determinar los microorganismos patógenos que son capaces de desarrollarse en este producto y, por tanto, determinar aquellos que deben analizarse.

Como se ha señalado anteriormente, existen límites establecidos para *E. coli* y *Staphylococcus coagulasa +* en queso fresco y para *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo recogidos en la legislación vigente.

En el caso de *E. coli* el criterio microbiológico es el siguiente:  $n=5$ ,  $c=2$ ,  $m=100$  y  $M=1000$  ufc/g<sup>(31)</sup>; es decir, que se permite la presencia de *E. coli* en 2 muestras con recuentos entre 100 y 1000 ufc/g y en el resto debe ser < 100 ufc/g. Como se ha comentado anteriormente, solo se analizó una muestra de cada uno de los envases, las cuales presentaban recuentos < 100 ufc/g, por lo que previsiblemente se cumpliría con la legislación.

El criterio microbiológico para *S. coagulasa +* es  $n=5$ ,  $c=2$ ,  $m=10$  y  $M=100$ <sup>(31)</sup>. El resultado obtenido en ambos envasados fue < 1 x 10 ufc/g, con lo que igualmente se cumpliría con la legislación.

Para *Listeria monocytogenes* existen dos criterios dentro de la categoría de alimentos listos para el consumo que pueden favorecer su desarrollo, uno de los criterios debe cumplirse a lo largo de la vida útil y otro antes de que el alimento haya dejado el control inmediato del

explotador de la empresa alimentaria que lo ha producido. La legislación permite elegir cuál de los dos criterios desea la empresa o es capaz de cumplir. Se optó por cumplir el segundo de ellos, en el cual se exige ausencia en 25 g de *L. monocytogenes*, por tratarse de un control de calidad del producto final en el momento anterior a que el producto abandone la empresa<sup>(31)</sup>. Este criterio se cumple como se observa en la *Tabla 5*.

Para *Salmonella spp.* no existe un criterio legal establecido en la legislación vigente, pero en la Orden de 29 de noviembre de 1985 que aprueba la Norma de Calidad para Quesos y Quesos fundidos<sup>(32)</sup>, la cual se encuentra derogada, se recogía un criterio microbiológico para *Salmonella spp.* en queso fresco, en el que el alimento debía presentar ausencia en 25 g. Se decidió analizar este microorganismo por ser un patógeno que puede desarrollarse teniendo en cuenta las características fisicoquímicas del producto, comprobándose que se cumplía este criterio.

Tras la realización de los analizados mencionados y como se ha comentado anteriormente, el producto final cumplía con los criterios mínimos establecidos por la legislación, considerándose así un alimento de calidad aceptable para ser comercializado.

Una vez aceptada la calidad del producto, se procedió a la realización de un estudio de vida útil sobre el producto envasado al aire y en atmósfera protectora.

## **6.2. Envasado en atmósfera protectora y estudio de vida útil**

El segundo objetivo fijado de este proyecto era determinar el papel de las atmósferas protectoras como método de prolongación de la vida útil de este nuevo alimento y estimar su vida útil en comparación con este mismo producto envasado al aire. Para su realización se envasó la mitad de las muestras en una atmósfera con un 30% de CO<sub>2</sub> y 70% de N<sub>2</sub>, se almacenaron ambos productos en refrigeración, a una temperatura de 3-4°C, y se realizaron análisis microbiológicos, fisicoquímicos y sensoriales a los días 0, 1, 4, 8 y 11.

En la *Figura 2* se muestra la composición de gases de la atmósfera en ambas muestras y su evolución a lo largo del almacenamiento bajo refrigeración.

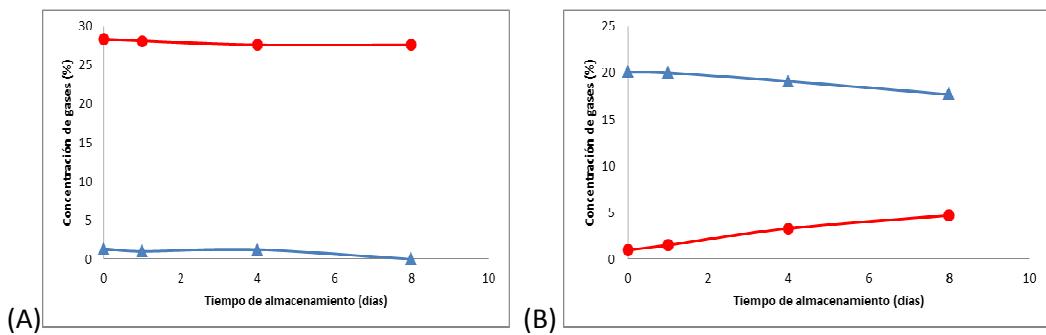


Figura 2. Evolución de la concentración de O<sub>2</sub> (▲) y CO<sub>2</sub> (●) en la atmósfera del alimento envasado con 30% CO<sub>2</sub> y 70% N<sub>2</sub> (A) y en aire (B).

Como se puede observar, en la atmósfera de aire el O<sub>2</sub> disminuyó paulatinamente y el CO<sub>2</sub> aumentó. En el caso de la atmósfera modificada, tanto el O<sub>2</sub> como el CO<sub>2</sub> disminuyeron. Las modificaciones en la composición de la atmósfera del envase se pudieron producir debido al metabolismo del alimento o a los microorganismos que crecieron en él<sup>(5)</sup>. En el caso del aire, al ser una atmósfera aerobia, los microorganismos habrían consumido el O<sub>2</sub> y excretado CO<sub>2</sub>. En el caso de la atmósfera modificada, al haber cierto porcentaje de O<sub>2</sub> los microorganismos habrían consumido el O<sub>2</sub>. El CO<sub>2</sub> es soluble en agua y grasas, aumentando su solubilidad a bajas temperaturas. Este gas habría podido pasar al alimento como ácido carbónico, aportando acidez y cierto sabor extraño<sup>(5)</sup>.

En las Tablas 6 y 7 aparecen los resultados obtenidos en los análisis microbiológicos y fisicoquímicos del producto envasado al aire en atmósfera modificada, respectivamente.

Producto envasado en aire	Enterobacteriáceas (ufc/g)	Coliformes totales (ufc/g)	Coliformes termotolerantes (ufc/g)	pH	a <sub>w</sub>
Día 0	5,45 x 10 <sup>3</sup>	2,80 x 10 <sup>3</sup>	< 1 x 10	6,02	0,966
Día 1	6,65 x 10 <sup>3</sup>	2,18 x 10 <sup>3</sup>	< 1 x 10	5,76	0,961
Día 4	5,60 x 10 <sup>3</sup>	8,00 x 10 <sup>3</sup>	< 1 x 10	5,69	0,982
Día 8	2,46 x 10 <sup>4</sup>	2,37 x 10 <sup>4</sup>	< 1 x 10	5,68	0,982
Día 11	1,11 x 10 <sup>5</sup>	8,40 x 10 <sup>4</sup>	< 1 x 10	5,18	0,985

Tabla 6. Resultados de los análisis realizados al producto final envasado en aire.

<b>Producto envasado en atmósfera modificada</b>	<b>Enterobacteriáceas (ufc/g)</b>	<b>Coliformes totales (ufc/g)</b>	<b>Coliformes termotolerantes (ufc/g)</b>	<b>pH</b>	<b>a<sub>w</sub></b>
Día 0	7,30 x 10 <sup>3</sup>	8,05 x 10 <sup>3</sup>	< 1 x 10	6,06	0,962
Día 1	2,10 x 10 <sup>3</sup>	2,56 x 10 <sup>3</sup>	< 1 x 10	5,95	0,967
Día 4	4,25 x 10 <sup>3</sup>	4,30 x 10 <sup>3</sup>	< 1 x 10	6,01	0,974
Día 8	1,00 x 10 <sup>3</sup>	1,45 x 10 <sup>3</sup>	< 1 x 10	5,79	0,984
Día 11	5,70 x 10 <sup>3</sup>	4,10 x 10 <sup>3</sup>	< 1 x 10	5,64	0,975

*Tabla 7. Resultados de los análisis realizados al producto final envasado en atmósfera modificada (30% CO<sub>2</sub>, 70% N<sub>2</sub>).*

Para poder valorar la aceptabilidad o no de los resultados, se fijaron límites microbiológicos para los tres microorganismos estudiados: Enterobacteriáceas, coliformes totales y coliformes fecales.

Para **Enterobacteriáceas** no existe ningún criterio microbiológico establecido en la legislación vigente, pero es un grupo de microorganismos importante a analizar por ser un indicador de higiene y de la seguridad del producto. Por ello se estableció como límite 1 x 10<sup>4</sup> ufc/g, tomando como referencia la Orden de 29 de noviembre de 1985<sup>(32)</sup>, la cual se encuentra derogada pero es una buena fuente de información. Este criterio, en el caso del **alimento envasado en aire, se sobrepasa tras 8 días** de almacenamiento, como se observa en la *Tabla 5*, mientras que en el alimento envasado **en atmósfera modificada este límite no se sobrepasa durante los 11 días de estudio.**

Por otra parte, cabe destacar el aumento producido en el recuento de Enterobacteriáceas desde la materia prima, leche pasterizada, que presentaba un recuento de 1 x 10 ufc/ml hasta el producto final elaborado (día 0), que presentaba un recuento de 7,3 x 10<sup>3</sup> ufc/g. Este aumento se debe probablemente a una posible contaminación durante el procesado, agudizado por el **abuso continuado de temperaturas elevadas durante el proceso de elaboración del alimento, y la existencia de ciertas carencias tecnológicas** en el equipamiento de la Planta Piloto que contribuyeron a ralentizar el proceso de producción del producto: la cuba de cuajado requiere una adaptación que facilite la etapa de desuerado, y se ha de complementar la dotación de moldes de la prensa neumática de modo que puedan procesarse mayor número de muestras y de menor tamaño.

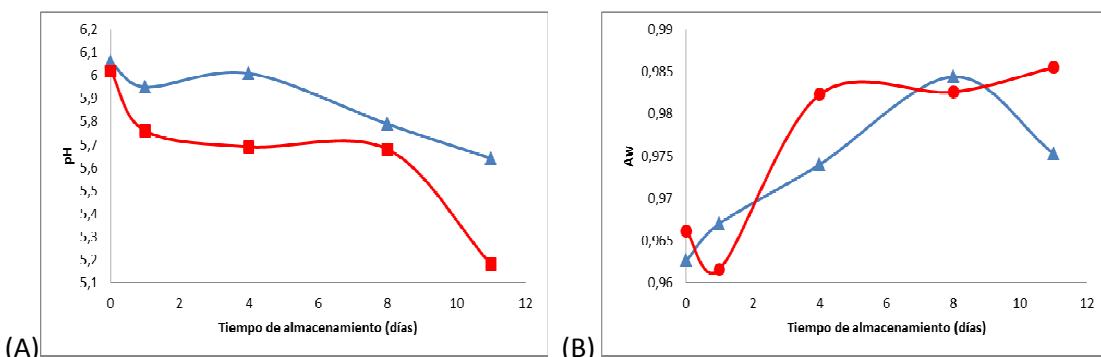
En el caso de los **coliformes totales** el límite establecido fue 1 x 10<sup>4</sup>, basándose en una revisión bibliográfica realizada<sup>(33)</sup>. Se observa que en ambos envasados los recuentos

obtenidos son muy similares a los recuentos de Enterobacteriáceas. Esto indica que la mayoría de las Enterobacteriáceas eran coliformes totales, ya que estos últimos pertenecen al género *Enterobacteriaceae*.

En el caso de los **coliformes termotolerantes** se estableció un criterio propio,  $1 \times 10^2$  ufc/g. Este criterio se basó en que el microorganismo predominante de este grupo es *E. coli*<sup>(34)</sup> y para este microorganismo sí que existe un criterio microbiológico en la legislación vigente,  $n=5$ ,  $c=2$ ,  $m= 100$  y  $M= 1000$  ufc/g<sup>(31)</sup>. Por tanto el criterio propio fijado se correspondía con el criterio mencionado de *E. coli*. Como se observa en las *Tablas 6 y 7*, el recuento en todos los casos fue  $< 1 \times 10$  ufc/g, no detectándose crecimiento de estos microorganismos, que por tanto no contribuyeron a la alteración del producto.

Por lo tanto, **desde un punto de vista microbiológico, la utilización de una atmósfera modificada con 30% CO<sub>2</sub> y 70% N<sub>2</sub> permitiría alargar la vida útil de este nuevo alimentodurante al menos 3 días bajo refrigeración**. Como se ha comentado anteriormente, la escasez de muestras con las que se contaba al inicio del estudio ha supuesto una limitación importante, no pudiendo establecerse el fin de la vida útil, desde un punto de vista microbiológico del producto envasado en atmósfera protectora.

En la *Figura 3* se muestra la evolución del pH y la  $a_w$  de ambos productos.



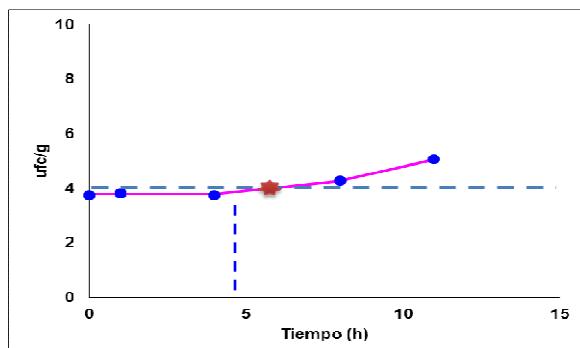
*Figura 3. Evolución del pH (A) y de la actividad de agua (B) en el alimento envasado en aire (●) y en atmósfera modificada (▲).*

El incremento en la  $a_w$  favorecería el crecimiento microbiano en ambos casos, pero se observa que en el envasado con aire el aumento de la  $a_w$  es más rápido que en el envasado en atmósfera modificada. Además, en el alimento envasado en aire el pH también disminuyó más rápidamente probablemente debido a la mayor proliferación microbiana.

El análisis de los recuentos microbiológicos mostraba, por tanto, la existencia de cierta diferencia entre la vida útil del producto envasado en aire, 8 días, y del producto envasado en

atmósfera modificada, 11 días o más. Sin embargo, para aportar mayor exactitud y validez a este resultado, se optó por el empleo de la **microbiología predictiva**. Esta herramienta permite calcular el tiempo exacto en el que un recuento microbiano supera un límite establecido a partir de la evolución de los recuentos microbianos a lo largo del tiempo de almacenamiento. Debido al limitado número de muestras con el que contamos, los resultados obtenidos resultaron insuficientes para utilizar correctamente esta herramienta. No obstante, se decidió ensayar el procedimiento empleando el modelo de Gompertz<sup>(11)</sup> en la modelización de los recuentos de Enterobacteriáceas en el producto envasado en aire. En el caso del envasado en atmósfera modificada al no superarse, durante el tiempo de estudio, el límite microbiológico establecido, no pudo aplicarse el modelo matemático.

En la *Gráfica 5* se observa el modelo obtenido al aplicar esta herramienta.



*Gráfica 5. Modelización matemática de la curva de crecimiento de Enterobacteriaceas en el alimento envasado en aire.*

A partir de esta modelización se obtienen los valores de C, B, M y A, los cuales se necesitan para estimar el tiempo al que se alcanza el límite establecido, de la ecuación de Gompertz.

$$L(t) = A + C * e^{(-e^{-B * (t-M)})}$$

No	3,769
C	1,542
B	0,600
M	8,177

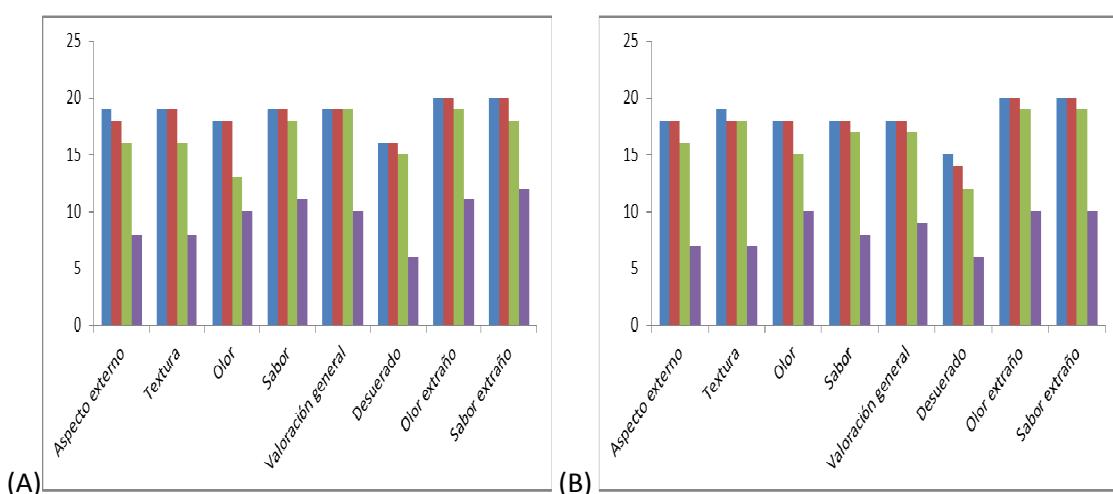
De esta manera, se determinó que el tiempo de **vida útil del alimento envasado con aire** era de **7,1 días** de almacenamiento a 3-4°C.

En un estudio de vida útil, además de los criterios microbiológicos que se establecen para que un alimento sea seguro y que son de obligado cumplimiento, se debe tener en cuenta la **aceptabilidad sensorial del producto**, la cual puede establecerse mediante un análisis

sensorial. En este estudio de vida útil se realizaron análisis sensoriales a los días 0, 1, 4, 8 y 11 en los que participaron 4 catadores en cada sesión. En la práctica, el número de catadores recomendado es mayor ( $>50$  catadores), pero en esta investigación el número de muestras no permitió la realización de más análisis por lo que los resultados obtenidos deben considerarse como preliminares.

Para el análisis estadístico de los datos obtenidos en las catas realizadas, se asignaron valores del 1 al 5 dependiendo del grado de aceptabilidad del producto por parte del catador y se realizó la suma de los resultados obtenidos por los cuatro catadores para una misma característica, obteniéndose así valores comprendidos entre 4 y 20. Aquel alimento con un valor inferior a 10 en cualquiera de sus características, se consideró inaceptable para su comercialización.

A continuación se muestra una gráfica con la evolución de las distintas características a lo largo del tiempo de almacenamiento.



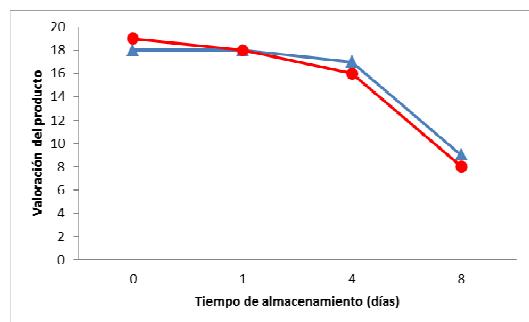
*Figura 4. Evolución de las características sensoriales del producto envasado en aire (A) y en atmósfera modificada (B) durante el tiempo de almacenamiento a día 0 (■), 1 (■), 4 (■■) y 8 (■■■).*

Atendiendo a estas gráficas, se puede estimar que el producto al comienzo del estudio, es decir, a día 0, tenía una valoración muy positiva para ambos envasados, alcanzando para algunas características, la máxima puntuación.

También se puede apreciar que el alimento envasado en aire a día 8 presentaba valores por debajo de 10, tanto de aspecto externo, como de textura y grado de desuerado, por lo que en ese momento el alimento se consideró inaceptable. En el alimento envasado en atmósfera modificada, a los 8 días también se consideró el producto inaceptable, porque además del

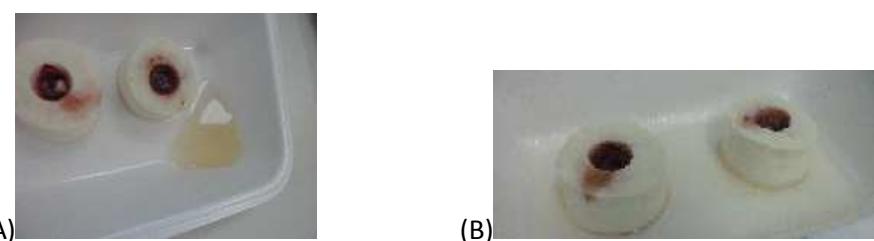
aspecto externo, la textura y el grado de desuerado, el sabor también presentaba un valor inferior a 10.

Además, se observa que la aceptabilidad y apetecibilidad del producto disminuyó considerablemente desde el día 0 hasta el día 8, sufriendo un notable descenso a partir del día 4. En la *Figura 5* se muestra la evolución de la valoración general del producto durante el tiempo de almacenamiento.



*Figura 5. Evolución de la valoración sensorial del producto envasado en aire (●) y envasado en atmósfera modificada (▲) durante el tiempo de almacenamiento.*

Cabe destacar que a partir del día 8 en el producto almacenado en AM se detectó un sabor ácido, valorado negativamente por los consumidores. Este hecho puede deberse a la solubilización del CO<sub>2</sub> en el alimento, transformándose en ácido carbónico, aportando así cierto sabor ácido<sup>(5)</sup>. No obstante, los catadores señalaron que el producto envasado en aire había perdido sabor, siendo incluso su sabor neutro. En la *Figura 6* se observa el grado de desuerado del alimento envasado en atmósfera modificada. El desuerado es un problema que no fuimos capaces de resolver durante la realización del Practicum a pesar de que se intentó mediante la adición de aditivos gelificantes y la modificación del tiempo de prensado.



*Figura 6. Desuerado del producto envasado en atmósfera modificada tras 8 días de almacenamiento.*

La alteración sensorial del producto, en el caso del envasado en aire, se podría asociar al crecimiento de *Pseudomonas*, ya que éstas son capaces de crecer en refrigeración y aerobiosis. Por el contrario, en el alimento envasado en atmósfera modificada en ausencia de oxígeno se debería haber producido un cambio drástico en la flora mayoritaria ya que las *Pseudomonas* son aerobios estrictos y no pueden crecer en ausencia de O<sub>2</sub>. Además, concentraciones de CO<sub>2</sub> superiores al 20% ejercen también un efecto antimicrobiano sobre estas mismas especies. En este contexto, se presenta una oportunidad para el crecimiento de la flora acidoláctica, aunque debido a su metabolismo fermentativo, que es más lento, permitió alargar la vida útil de estos productos<sup>(5)</sup>. No obstante, en el caso del alimento envasado en atmósfera modificada, la alteración, como se ha mencionado anteriormente, fue debida al CO<sub>2</sub> que aporto acidez al producto.

Por tanto, teniendo en cuenta la aceptabilidad microbiológica y sensorial del producto, y dado que no se analizaron otras muestras entre los días 4 y 8 de almacenamiento, la vida útil en ambos casos se establecería en 4 días. Este es un periodo de tiempo que consideramos insuficiente por lo que se requerirían nuevos estudios centrados tanto en la mejora de las condiciones higiénicas del proceso de elaboración como en la investigación sobre otras condiciones de envasado y/o otros métodos de conservación alternativos o adicionales.

Como resumen, este trabajo refleja las bases para poder realizar un control de calidad y un estudio de vida útil de un alimento, además de evaluar las posibilidades de las atmósferas protectoras como alternativa para prolongar la vida útil de los alimentos. No obstante, las conclusiones de este trabajo deben considerarse preliminares como consecuencia de las dificultades metodológicas anteriormente expuestas, que, por otra parte, han contribuido probablemente a mejorar la formación que con este trabajo he podido adquirir.

## 7. Conclusiones

### 7.1 Conclusiones

1. Con este proyecto se ha logrado presentar una **propuesta** para llevar a cabo el **control de calidad de un nuevo alimento**, “queso fresco relleno de mermelada de fresa”, previamente elaborado en el marco de la asignatura Practicum Planta Piloto del Grado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Con los medios disponibles en la Planta Piloto adquiridos ha sido factible realizar parte de los análisis propuestos.
2. Mediante la realización de aquellos análisis que se consideraron claves, **se determinó que las materias primas, producto intermedio y producto final analizados tenían una calidad aceptable** para su empleo en la elaboración del producto final o, en el caso de éste, para su comercialización. Mediante estos análisis también se pudo evidenciar **la importancia de las medidas de higiene durante el proceso de elaboración**. Se ha conseguido reducir los recuentos microbianos evitando la rotura de la cadena del frío durante el procesado, utilizando materiales limpios y desinfectados (superficies de trabajo, gasas para la prensa estériles), y evitando cruces de manipuladores durante el proceso. Sin embargo, es importante destacar que en la realización del proyecto nos hemos encontrado con dificultades que impedían la correcta aplicación de las medidas de higiene, como **carencias tecnológicas** en la cuba de cuajado y la prensa neumática, **elevada temperatura de la sala de procesado o imposibilidad de mantener la cadena de frío durante el transporte de las materias primas**.
3. Este trabajo demuestra la utilidad de los **estudios de durabilidad y de la microbiología predictiva** como herramienta para estimar la vida útil de alimentos almacenados bajo refrigeración.
4. De modo preliminar, se puede concluir que **la atmósfera modificada ensayada (30% CO<sub>2</sub> y 70% N<sub>2</sub>) no permitiría prolongar la vida útil del queso fresco relleno de mermelada**. Si bien la atmósfera protectora permitió controlar el crecimiento de la flora microbiana contaminante y así, prolongar la vida útil del producto de 7,1 días hasta al menos 11 días, es decir, 4 días más, desde un punto de vista sensorial los alimentos, elaborados y envasados o no en atmósfera protectora, no se consideraron aptos para su consumo más allá de los 8 días de almacenamiento bajo refrigeración. Cabe señalar que en el producto envasado en atmósfera protectora se detectó un ligero sabor ácido probablemente como consecuencia de la solubilización del CO<sub>2</sub>.

## **7.2. Conclusions**

1. With this work we have been able to manage to carry out a proposal to perform the quality control of a new food, "cream cheese with strawberry jam ", previously developed in the context of the subject Practicum Pilot Plant of the Food Science and Technology Degree. With the resources available in the Pilot Plant has been feasible to carry out part of the proposed analysis.
2. By conducting those analyzes that were considered important, it was determined that the raw materials, intermediate and final products tested had acceptable quality for being used in the preparation of the final product or, in the case of the latter, for marketing. These analyzes also showed the importance of hygiene during the production process. Microbial counts have been reduced by avoiding breaking down temperature during processing, using clean and hygienic materials (work surfaces, sterile gauze to the press), and avoiding manipulative crossings during the process. However, it is important to note that we have found difficulties that prevented the correct application of hygiene measures, such as technological gaps on some machines, high temperature processing room or failure to maintain the cold chain during transportation of raw materials.
3. This paper demonstrated the utility of the studied of durability and predictive microbiology as a tool to estimate the shelf life of food stored under refrigeration.
4. Preliminarily, it may be concluded that the tested modified atmosphere (30% CO<sub>2</sub> and 70% N<sub>2</sub>) would not extend the shelf life of fresh cheese with strawberry jam. While the protective atmosphere allowed controlling the growth of the microbial contaminants, and thus prolonging the product life of 7.1 days until at least 11 days, ie 4 days, from a sensory point of view, processed and packaged food in a protective or no protective atmosphere, were not considered suitable for consumption beyond 4 days of refrigerated storage. Note that in the packaged product in the protective atmosphere a slightly acidic flavor was detected, probably due to the solubilization of CO<sub>2</sub>.

## **8. Aportaciones**

La realización de este proyecto me ha permitido profundizar en la adquisición y desarrollo de algunas competencias transversales, las cuales considero útiles para mi formación y posterior salida al mercado laboral como son:

- **Capacidad de trabajo de manera autónoma en el laboratorio.** Durante el Grado, en la mayoría de las prácticas se parte del material necesario para cada sesión colocado en cada poyata, y siguiendo un protocolo aportado por el profesor. En cambio, cuando se realiza un trabajo de este tipo, uno mismo debe conocer y buscar el material que va a necesitar, así como aprender a trabajar de manera autónoma sin la supervisión de otra persona. En mi caso, los análisis se realizaron en el Laboratorio de Microbiología de la Planta Piloto, donde tenía que preparar por mi cuenta tanto los medios de cultivo necesarios, como el material, como la realización de siembras, etc. Además también realicé un trabajo autónomo en la búsqueda de información, que ha sido la base para la realización e interpretación de los análisis.
- **Capacidad de realización y planificación de una propuesta científica.** Antes de comenzar con la parte práctica de este trabajo, tuve que diseñar una propuesta para el control de calidad de materias primas, producto intermedio y producto final y para el estudio de vida útil, lo que requería decidir qué análisis realizar y justificarlo, planificar los días de análisis, diseñar fichas de catas, etc., es decir, una serie de tareas que mejoran tu **capacidad de organización** y que no había llevado a cabo durante el transcurso de los estudios.
- **Capacidad de interpretación de resultados.** Esta es una de las competencias que sí había trabajado de modo más intenso en alguna asignatura del plan de estudios, pero que en este caso resulta imprescindible para sacarle el mayor partido posible a los resultados. Por otra parte, a la hora de realizar la interpretación de unos resultados, uno mismo es capaz de autoevaluarse y comprobar los conocimientos que posee acerca del tema en concreto.

Del mismo modo, este trabajo me ha dado la oportunidad de profundizar en la adquisición de algunas de las competencias específicas de los 6 perfiles profesionales de la titulación<sup>(35)</sup>:

### **1. Gestión y control de calidad de productos en el ámbito alimentario:**

- Analizar alimentos, materias primas, ingredientes, aditivos, etc., valorar los resultados y, en su caso, proponer acciones de mejora.
- Organizar y dirigir el control de calidad de todo tipo de industria alimentaria.

## **2. Procesado de alimentos:**

- Identificar y valorar los problemas asociados a los diferentes alimentos y a su procesado y proponer aquellas medidas necesarias para solventarlos.
- Conocer e interpretar los fundamentos de los procesos de la industria alimentaria, así como los aspectos técnicos más novedosos de cada proceso y/o producto, relacionados con su composición, funcionalidad, procesado, etc.
- Elaborar, transformar, higienizar y conservar alimentos.

## **3. Seguridad alimentaria:**

- Identificar los agentes de peligro que pueden intervenir en cualquiera de las fases de la cadena alimentaria y los sistemas de prevención y control. Analizar, evaluar y gestionar los riesgos sanitarios en la cadena alimentaria.

## **4. Desarrollo e innovación de procesos y productos en el ámbito alimentario:**

- Diseñar y elaborar nuevos procesos y productos para satisfacer necesidades y demandas sociales.
- Evaluar el grado de aceptación de los productos alimenticios en el mercado.
- Conocer los aspectos científicos y técnicos más novedosos de cada producto, relacionados con su composición, valor nutritivo y propiedades saludables, funcionalidad, procesado, seguridad, vida útil, etc.

## **5. Asesoría legal, científica y técnica en el ámbito alimentario:**

- Elaborar y emitir informes científicos y técnicos relacionados con la industria alimentaria.
- Conocer la legislación vigente y estar capacitado para su búsqueda e interpretación.

## **6. Docencia e investigación en el ámbito alimentario:**

- Recopilar y analizar información, elaborar hipótesis, diseñar y llevar a cabo experimentos, interpretar los resultados y elaborar conclusiones.

Considero esta asignatura una de las más importas del Grado porque en ella se adquieren muchos conocimientos específicos sobre el tema del que se trata en el trabajo y porque te ayuda a evaluar las habilidades y cualidades que se necesitan para encaminarse al mercado laboral.

## **9. Evaluación y sugerencias de mejora**

Como se ha mencionado, el proyecto realizado está relacionado con otra asignatura del plan de estudios del Grado de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, la asignatura “Practicum Planta Piloto”. Este hecho ha supuesto un inconveniente como consecuencia de las fechas en las que se ha impartido la asignatura Practicum Planta Piloto, durante el mes de mayo. En mi caso, la elaboración del alimento objeto de estudio de este proyecto se llevó a cabo durante el Practicum, y por tanto, los análisis sobre el producto final no se pudieron realizar hasta una vez finalizada la asignatura. Esto dificulta la posibilidad de exponer el Trabajo Fin de Grado (TFG) en julio, ya que el depósito del trabajo debe realizarse a finales de junio. Por ello, en aquellos casos en los que el TFG vaya ligado al Practicum, se recomienda el establecimiento de un plan de trabajo pautado desde el primer día y acordado entre el tutor y el estudiante, de modo que se pueda avanzar en todos los aspectos más teóricos del trabajo y sea posible su exposición en la primera convocatoria oficial.

También cabe destacar las recomendaciones que a lo largo de esta memoria se han recogido en relación a las prestaciones de la sala de procesado de la Planta Piloto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos de la Facultad de Veterinaria. Entre las acciones de mejora propuestas, cabe destacar la falta de un sistema de transporte adecuado para aquellas materias primas, como la leche cruda, que requiere refrigeración y condiciones higiénicas; evitar la presencia de numerosos alumnos en la sala de procesado, ya que eso incide en posibles contaminaciones cruzadas; también es necesario reducir en lo posible la temperatura de la sala de procesado, así como los tiempos de procesado, condicionados por algunas limitaciones tecnológicas, como la las dificultades que ofrece la cuba de cuajado para desuerar, o la prensa neumática para producciones pequeñas de quesos (ver Resultados y Discusión).

Por otro lado, considerando una de las limitaciones más importantes de este estudio, el presupuesto, creo que contando con presupuestos más amplios podrían lograrse proyectos más ambiciosos.

No obstante, en este estudio se plantearon dos objetivos ambiciosos relacionados con perfiles profesionales concretos de la titulación, que, a pesar de las dificultades, se han logrado completar.

## 10.Bibliografía

1. Reglamento (CE) nº 852/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, relativo a la higiene de los productos alimenticios. DOUE L139. 30 de abril de 2004.
2. Serra Belenguer, J.A., Fernández Segovia, I. 2010. *Calidad y seguridad en el sector agroalimentario*. Editorial Universitat politècnica de valència.
3. Dirección General de Ordenación e Inspección. Consejería de Sanidad de la Comunidad de Madrid. 2012. *Guía de estudios de vida útil para Listeria monocytogenes en alimentos listos para el consumo*.
4. García, E., Gago, L., Fernández, J. L. *Tecnologías de envasado en atmósfera protectora*. Informe de vigilancia tecnológica.
5. Rodríguez, F. et al. 2002. *Ingeniería de la industria alimentaria. Volumen III. Operaciones de conservación de alimentos*. Editorial Sintesis.
6. Forsythe, S.J., Hayes, P.R. 2002. *Higiene de los alimentos: Microbiología y HACCP*. Editorial Acribia, S.A.
7. Man, D. 2002. *Caducidad de los alimentos*. Editorial Acribia, S.A.
8. Reglamento (CE) nº 2073/2005 de la Comisión de 15 de noviembre de 2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. DOUE L338. 22 de diciembre de 2005.
9. Reglamento (UE) nº 1169/2011 del Parlamento Europeo y del Consejo de 25 de octubre de 2011 sobre la información alimentaria facilitada al consumidor y por el que se modifican los Reglamentos (CE) nº 1924/2006 y (CE) nº 1925/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, y por el que se derogan la Directiva 87/250/CEE de la Comisión, la Directiva 90/496/CEE del Consejo, la Directiva 1999/10/CE de la Comisión, la Directiva 2000/13/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, las Directivas 2002/67/CE, y 2008/5/CE de la Comisión, y el Reglamento (CE) nº 608/2004 de la Comisión. DOUE L304. 22 de noviembre de 2011.
10. Boletín Oficial del Estado: <http://www.boe.es/>
11. Baranyi, J. y Roberts, T. A. 1994. «A dynamic approach to predicting bacterial growth in food». *Int. J. Food Microbiol.* 23, 277-294.
12. ICMSF: <http://www.icmsf.org/>
13. Reglamento (CE) nº 1662/2006 de la comisión de 6 de noviembre de 2006 que modifica el Reglamento (CE) nº 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal. DOUE L320. 18 de noviembre de 2006.
14. Reglamento (CE) nº 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo de 29 de abril de 2004 por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal. DOUE L139. 30 de abril de 2004.
15. Real Decreto 1728/2007, de 21 de diciembre, por el que se establece la normativa básica de control que deben cumplir los operadores del sector lácteo y se modifica el Real Decreto 217/2004, de 6 de febrero, por el que se regulan la identificación y registro de los agentes, establecimientos y contenedores que intervienen en el sector lácteo, y el registro de los movimientos de la leche. BOE nº 15. 17 de enero de 2008.

16. Reglamento (CE) nº 1881/2006 de la Comisión de 19 de diciembre de 2006 por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. DOUE L364. 20 de diciembre de 2006.
17. Reglamento (EU) nº 165/2010 de la Comisión de 26 de febrero de 2010 que modifica, en lo que respecta a las aflatoxinas, el Reglamento (CE) nº 1881/2006 por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. DOUE L50. 27 de febrero de 2010.
18. Reglamento (UE) nº 1259/2011 de la Comisión de 2 de diciembre de 2011 por el que se modifica el Reglamento (CE) nº 1881/2006 en lo relativo a los contenidos máximos de dioxinas, PCB similares a las dioxinas y PCB no similares a las dioxinas en los productos alimenticios. DOUE L320. 3 de diciembre de 2011.
19. Reglamento (CEE) nº 2377/90 del Consejo, de 26 de junio de 2990, por el que se establece un procedimiento comunitario de fijación de los límites máximos de residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos de origen animal. DOUE L224. 18 de agosto de 1990.
20. Reglamento (CE) nº 149/2008 de la Comisión de 29 de enero de 2008 por el que se modifica el Reglamento (CE) nº 396/2005 del Parlamento Europeo y del Consejo mediante el establecimiento de los anexos II, III y IV que estipulan límites máximos de residuos para los productos que figuran en el anexo I de dicho Reglamento. DOUE L58. 1 de marzo de 2008.
21. Reglamento (UE) nº 365/2010 de la Comisión de 28 de abril de 2010 por el que se modifica el Reglamento (CE) nº 2073/2005, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios, en lo que respecta a las Enterobacteriáceas en la leche pasteurizada y otros productos lácteos líquidos pasteurizados y a Listeria monocytogenes en la sal de cocina. DOUE L107. 29 de abril de 2010.
22. Reglamento (CE) nº 1020/2008 de la Comisión de 17 de octubre de 2008 por el que se modifican los anexos II y III del Reglamento (CE) nº 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal, así como el Reglamento (CE) nº 2076/2005 en lo relativo al marcado de identificación, la leche cruda y los productos lácteos, los huevos y ovoproductos y determinados productos de la pesca. DOUE L277. 18 de octubre de 2008.
23. Real Decreto 1424/1983, de 27 de abril, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria para la obtención, circulación y venta de la sal y salmueras comestibles. BOE nº 130. 1 de junio de 1983.
24. Real Decreto 1113/2006, de 29 de septiembre, por el que se aprueban las normas de calidad para quesos y quesos fundidos. BOE nº 239. 6 de octubre de 2006.
25. Orden de 14 de enero de 1988 por la que se aprueba la norma general de identidad y pureza para el cuajo y otras enzimas coagulantes de leche destinados al mercado interior. BOE nº 17. 20 de enero de 1988.
26. Reglamento (UE) nº 1129/2011 de la Comisión de 11 de noviembre de 2011 por el que se modifica el anexo II del Reglamento (CE) nº 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo para establecer una lista de aditivos alimentarios de la Unión. DOUE L295. 12 de noviembre de 2011.
27. Real Decreto 863/2003, de 4 de julio, por el que se aprueba la Norma de calidad para la elaboración, comercialización y venta de confituras, jaleas, «marmalades» de frutas y crema de castañas. BOE nº 160. 5 de julio de 2003.

28. Reglamento (CE) nº 396/2005 del Parlamento Europeo y del Consejo de 23 de febrero de 2005 relativo a los límites máximos de residuos de plaguicidas en alimentos y piensos de origen vegetal y animal y que modifica la Directiva 91/414/CEE del Consejo. DOUE L70. 16 de marzo de 2005.
29. Real Decreto 1052/2003, de 1 de agosto, por el que se aprueba la Reglamentación técnico-sanitaria sobre determinados azúcares destinados a la alimentación humana. BOE nº 184. 2 de agosto de 2003.
30. Rauch, G. 1986. *Fabricación de mermelada*. Editorial Acribia, S.A.
31. Reglamento (CE) nº 1441/2007 de la Comisión, de 5 de diciembre de 2007, que modifica el Reglamento (CE) nº 2073/2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. DOUE L322. 7 de diciembre de 2007.
32. Orden de 29 de noviembre de 1985 por la que se aprueban las Normas de Calidad para Quesos y Quesos fundidos destinados al mercado interior. BOE nº 292. 6 de diciembre de 1985.
33. Ellner, R. 2000. *Microbiología de la leche y de los productos lácteos: preguntas y respuestas*. Ediciones Díaz de Santos.
34. Jeantet, R., Croguennec, T., Schuck, P., Brulé, G. *Ciencia de los alimentos: Bioquímica, Microbiología, Procesos, Productos. Volumen 1. Estabilización biológica y fisicoquímica*. 2006. Editorial Acribia, S.A.
35. Competencias específicas de la titulación: [html://titulaciones.unizar.es](http://titulaciones.unizar.es)