



ANEXO 1

FORMATO PARA LA PRESENTACIÓN DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN
CON EL FINANCIAMIENTO DEL FEDU

1. Título del proyecto

Efecto de la aplicación de los ultrasonidos de alta intensidad en la calidad microbiológica durante la elaboración del Queso Tipo Paria

2. Área de Investigación

Área de investigación	Línea de Investigación	Disciplina OCDE
	DESARROLLO DE PROCESOS Y PRODUCTOS AGROINDUSTRIALES SOSTENIBLES Y EFICIENTES	

3. Duración del proyecto (meses)

12 meses

4. Tipo de proyecto

Individual	<input type="radio"/>
Multidisciplinario	<input type="radio"/>
Director de tesis pregrado	<input type="radio"/>

4. Datos de los integrantes del proyecto

Apellidos y Nombres	Argandoña Mamani Edwin Armando
Escuela Profesional	Ingeniería Agroindustrial
Celular	925362505
Correo Electrónico	edu_fast31@hotmail.com

Apellidos y Nombres	Alvarado Mamani Ulises
Escuela Profesional	Ingeniería Agroindustrial
Celular	993370388
Correo Electrónico	ualvarado@unap.edu.pe

- I. Título (El proyecto de tesis debe llevar un título que exprese en forma sintética su contenido, haciendo referencia en lo posible, al resultado final que se pretende lograr. Máx. palabras 25)

Efecto de la aplicación de los ultrasonidos de alta intensidad en la calidad microbiológica durante la elaboración del Queso Tipo Paria



- II. Resumen del Proyecto de Tesis (Debe ser suficientemente informativo, presentando -igual que un trabajo científico- una descripción de los principales puntos que se abordarán, objetivos, metodología y resultados que se esperan)

La producción de queso tipo paria es la principal actividad de la industria láctea en la región de Puno. Sin embargo, en la mayoría de las plantas queseras la leche cruda no es sometida a tratamiento térmico por lo que no garantiza una calidad microbiológica en su producción. Es por este motivo que, el objetivo de este trabajo de investigación es, evaluar la calidad microbiológica en la aplicación de los ultrasonidos en la elaboración del queso tipo paria. La metodología de estudio consistirá en la aplicación de la potencia de ultrasonidos (20, 40, y 80 KHz) y el tiempo de exposición (5, 10 y 15 min) a una temperatura de 42 °C, calentamiento que se somete habitualmente a la leche cruda durante el proceso de elaboración del queso en estudio. Las variables de respuesta será la evaluación microbiológica (mesófilos aerobios viables, coliformes totales, Echerichia coli y Estaphylococcus aureus) en los quesos tipo paria. Los datos se analizarán mediante un diseño completamente al azar con un arreglo factorial (3x3) y la comparación de Duncan si es significativo. Con la aplicación de esta tecnología emergente podría ser una alternativa viable para obtener quesos tipo paria con alta calidad microbiana, con la finalidad de garantizar la inocuidad y seguridad alimentaria.

- III. Palabras claves (Keywords) (Colocadas en orden de importancia. Máx. palabras: cinco)

Ultrasonidos, queso tipo paria, Mesófilos aerobios, Coliformes totales, Echerichia coli

- IV. Justificación del proyecto (Describa el problema y su relevancia como objeto de investigación. Es importante una clara definición y delimitación del problema que abordará la investigación, ya que temas cuya definición es difusa o amplísima son difíciles de evaluar y desarrollar)

El propósito de este proyecto de investigación es reducir la carga microbiana de agentes patógenos durante la producción de queso tipo paria. Dado que, durante su producción y/o elaboración de este producto, la leche solo se somete a un previo calentamiento (max 42°C) con la finalidad de que las características organolépticas tales como aroma, sabor y textura sean muchos más intensas. Por otro lado, esta práctica tradicional puede traer consecuencias negativas en la seguridad alimentaria y pérdidas económicas en la industria láctea. Para garantizar la seguridad e inocuidad alimentaria, es necesario aprovechar nuevas tecnologías emergentes para reducir o inactivar a los microorganismos. Una de



las tecnologías emergentes es la aplicación de los ultrasonidos. Según la revista ScienceDirect en los últimos 5 años se han publicado aproximadamente 28310 artículos científicos, relacionado a dicha tecnología como pueden ser: leche (Abesinghe et al., 2020), carne (Alarcon-rojo, Carrillo-lopez, Reyes-villagrana, Huerta-jiménez, & Garcia-galicia, 2019), jugos de fruta (Dolas, Saravanan, & Kaur, 2019), pescado (Shi et al., 2019), vino (Fu, Zhang, Zhang, & Liu, 2018), entre otros. En la actualidad, esta técnica aún es muy promisorio debido a las grandes ventajas que tiene, dentro de ellos destaca: el requerimiento de bajos niveles de energía e impactos favorables en la nutrición. Este último, probablemente debido a la inalteración de los componentes nutricionales en los alimentos. Por lo que, la industria láctea de la región de Puno debe garantizar la seguridad e inocuidad alimentaria. Ya, que esta última es un derecho innegociable, debido a que los consumidores deben tener acceso a alimentos inocuos en todo momento.

- V. Antecedentes del proyecto (Incluya el estado actual del conocimiento en el ámbito nacional e internacional. La revisión bibliográfica debe incluir en lo posible artículos científicos actuales, para evidenciar el conocimiento existente y el aporte de la Tesis propuesta. Esto es importante para el futuro artículo que resultará como producto de este trabajo)

Alarcon-rojo, Carrillo-lopez, Reyes-villagrana, Huerta-jiménez, & Garcia-galicia, (2019) indican que, en la carne, el ultrasonido se ha utilizado con éxito para mejorar procesos como la transferencia de masa y el marinado, el ablandamiento de la carne, la inactivación y reducción de microorganismos.

Dolas, Saravanan, & Kaur, (2019) mencionan de la importancia de la aplicación de la tecnología de los ultrasonidos y sus efectos funcionales en la industria de los jugos y bebidas de frutas. En dicha revisión bibliográfica afirma que influye positivamente en la inactivación microbiana y enzimática respecto a los diferentes atributos de calidad de los zumos de frutas.

Mustafa, Tuba, Mehmet, & Fatih, (2011) investigaron el efecto combinado de la energía acústica (ultrasonidos) aplicada simultáneamente y la irradiación ultravioleta (UV-C), llamada fotosonicación, sobre la reducción de la población de bacterias totales y coliformes en la leche cruda. Los resultados de este estudio indicaron que el tratamiento de fotosonicación tiene potencial para la inactivación de microorganismos en la leche en comparación con el tratamiento térmico y logró reducir la carga microbiana de la leche. En otras palabras, la emisión



simultánea de ultrasonido y luz ultravioleta se complementan y pueden inactivar eficazmente los microorganismos.

CAMPO, GELVEZ, & AYALA, (2018) mencionan que, en los últimos años el uso del ultrasonido en el procesamiento de los alimentos se ha incrementado debido a las ventajas que presenta sobre los procesos convencionales por la reducción de tiempos y temperatura, mezclado efectivo, aumento de la transferencia de masa y energía, la reducción de los gradientes térmicos y de concentración, extracción selectiva, una respuesta más rápida al control de procesos de extracción, aumento de la tasa de producción, eliminación de microorganismos y enzimas sin destruir los nutrientes de los alimentos.

Ramirez & Chávez, (2017) estudiaron la aplicación de ultrasonido aplicado a leche entera de vaca en la etapa de pasteurización, donde demostraron que aumenta el rendimiento en queso fresco. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del ultrasonido de alta intensidad (42kHz, 14W), aplicado a suero de leche bovina previo al calentamiento en la elaboración del requesón, sobre el rendimiento, humedad, cenizas, color y textura del mismo. El ultrasonido no mostró efecto en el rendimiento del requesón y los parámetros de humedad, cenizas, color y textura.

VI. Hipótesis del trabajo (Es el aporte proyectado de la investigación en la solución del problema)

La aplicación de los ultrasonidos de alta intensidad mejora la calidad microbiológica en la producción del Queso Tipo Paria.

VII. Objetivo general

Evaluar la calidad microbiológica de Queso Tipo Paria aplicado con ultrasonidos de alta intensidad durante su producción.

VIII. Objetivos específicos

- Determinar la carga de mesófilos aerobios viables en queso tipo paria aplicado con ultrasonidos
- Determinar la carga de los coliformes totales y Echerichia coli en queso tipo paria aplicado con ultrasonidos
- Determinar la carga de Estaphylococcus aereus en queso tipo paria aplicado con ultrasonidos

- IX. Metodología de investigación** (Describir el(los) método(s) científico(s) que se empleará(n) para alcanzar los objetivos específicos, en forma coherente a la hipótesis de la investigación. Sustentar, con base bibliográfica, la pertinencia del(los) método(s) en términos de la representatividad de la muestra y de los resultados que se esperan alcanzar. Incluir los análisis estadísticos a utilizar)

El presente proyecto de investigación es de carácter experimental, se realizará en el Programa de Estudios de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional del Altiplano.

9.1 Materia prima

Se trabajará con leche cruda que se expenden en el Mercado Unión y Dignidad de la ciudad de Puno.

9.2 Metodología experimental

La metodología experimental a utilizar en el presente trabajo de investigación se presenta en la Figura 1.

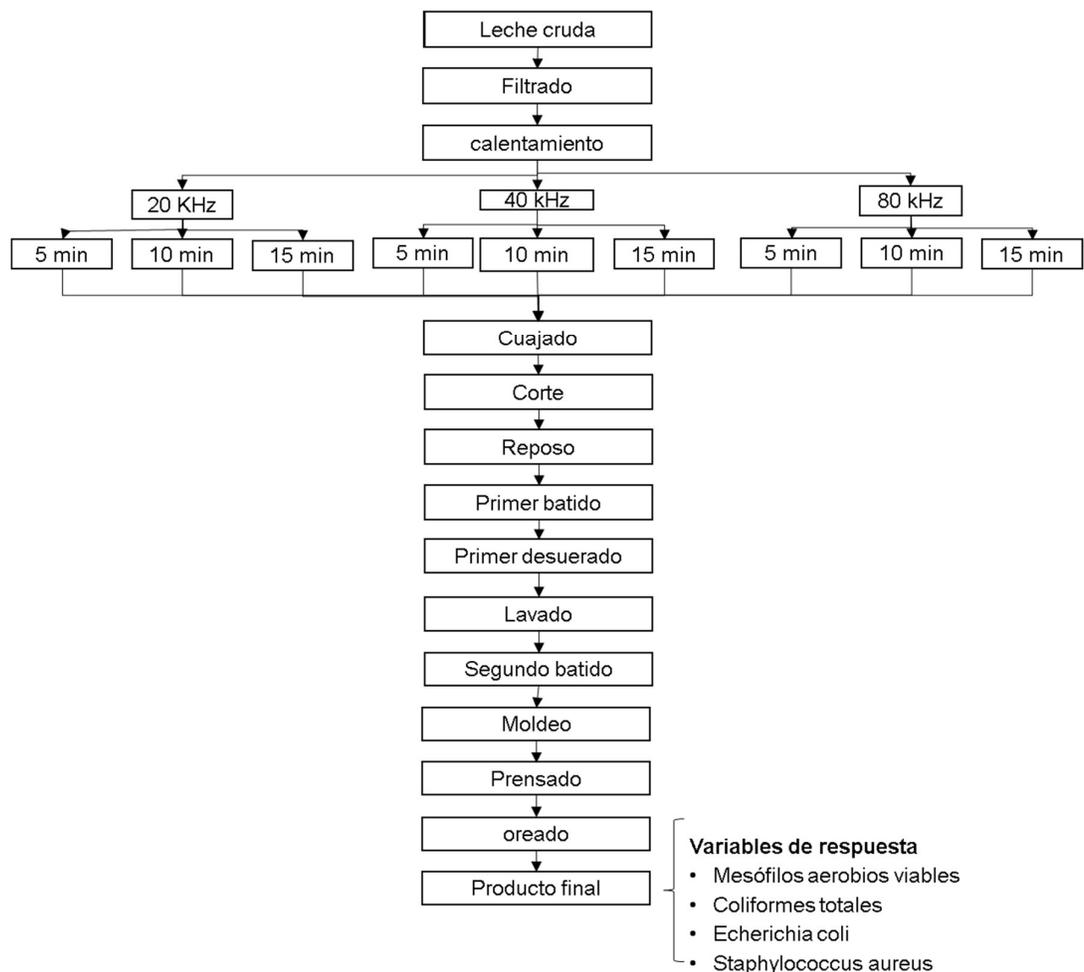


Figura 1. Plan para cumplir con los objetivos del proyecto de tesis

9.3 Metodología de análisis

Análisis microbiológico

Preparación de la muestra. La preparación de las muestras se realizará según la metodología de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAOOMS, 2008) y la Comisión Internacional para las Especificaciones Microbiológicas de los Alimentos (ICMSF, 2006).

- **Recuento de mesófilos viables.** Se pesarán 25 gramos de muestra de queso y se homogenizó con 225 ml de agua peptonada estéril (APE) 0.1. Se realizarán diluciones decimales hasta 10^{-3} en APE 0.1 y a partir de cada una se inocularán 0.1 ml por vaciado o agotamiento en placa por duplicado en recuento por placa de agar (PCA) luego se incubarán a 35°C por 48 h. A partir del número de colonias obtenidas, se calculará el número de microorganismos por gramo de muestra.
- **Determinación de coliformes y Escherichia coli.** La determinación del número más probable (NMP) de bacterias coliformes se realizará mediante la técnica de los tubos múltiples, en la cual volúmenes decrecientes de la muestra (diluciones decimales consecutivas) se inocularán en medio de cultivo adecuado. La combinación de los resultados positivos y negativos se usará en la determinación del NMP.

Prueba presuntiva. Se pesarán 25 gramos de muestra de queso y se homogenizará en 225 ml de APE 0.1. Se realizarán diluciones decimales hasta 10^{-3} en APE 0.1 y a partir de cada dilución se inoculará 1 ml en tubos conteniendo caldo lauril sulfato que se incubarán a $35^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ durante 24-48 horas en baño maría. En esta prueba presuntiva, la actividad metabólica de las bacterias es estimulada vigorosamente y ocurre una selección inicial de organismos que fermentan la lactosa con producción de gas. La formación de gas a $35^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ dentro las 24-48 horas, constituye una prueba presuntiva positiva para la presencia de bacterias del grupo coliformes.

Prueba confirmativa para coliformes totales. Consiste en transferir 2 asadas de cada tubo positivo de la prueba presuntiva a tubos conteniendo caldo lactosado verde brillante bilis 2% con campana de Durham, se agitará suavemente para su homogenización y se incubaron durante 24-48 horas a



35° C \pm 0.5°C en baño maría. Esta prueba reducirá la posibilidad de resultados falsos gas-positivos que pueden ocurrir por la actividad metabólica de los organismos formadores de esporas o por la producción sinérgica de gas debido a que algunas cepas de bacterias no pueden, individualmente, producirlo a partir de la fermentación de la lactosa.

El caldo lactosado verde brillante bilis contiene agentes inhibidores que suprimen el desarrollo de todos los microorganismos no coliformes. La producción de gas a 35°C después de las 24-48 horas constituye una prueba confirmativa positiva de coliformes totales, después del periodo de incubación se consultó la tabla del NMP para conocer el número más probable de coliformes totales/g de muestra.

Prueba confirmativa para coliformes fecales. Consiste en transferir 2 asadas de cada tubo positivo de la prueba presuntiva, a tubos con caldo E. coli, se agitarán suavemente para su homogenización, luego se incubará a 45°C \pm 0.5°C por 24-48 horas en baño maría, se registró como positivos todos los tubos donde se observó producción de gas después del periodo de incubación, posteriormente se consultó en la tabla del NMP para conocer el número más probable de coliformes fecales/g muestra. Prueba confirmativa para E. coli. Consistió en transferir 2 asadas de los tubos positivos de caldo E. coli a tubos con caldo triptona, luego se incubó a 35 °C \pm 0.5°C durante 24 \pm 2 horas, posteriormente se confirmó con 0.5 ml de reactivo de Kovacs. Se consideró positivo si la coloración fue rojo y negativo si fue amarillo. Otra prueba consistió en tomar 2 asadas de los tubos positivos de caldo E. coli y sembrados por estría en agar con eosina y azul de metileno, luego fueron incubadas a 35 °C \pm 0.5°C durante 24 \pm 2 horas. Se consideraron positivas las colonias negras típicas nucleadas con o sin brillo metálico.

- **Recuento de *Staphylococcus aureus*.**

Se pesarán 25 gramos de muestra de queso y se homogenizará en 225 ml de APE 0.1%. Se realizarán diluciones decimales hasta 10⁻³ en APE 0.1% y a partir de cada una se inocularon 0.1 ml en placas con agar Baird Parker por duplicado y se incubaran a 37°C por 48 horas. Se considerarán sospechosas las colonias que presentarán una coloración negra o gris con zonas parcialmente opacas. Para la prueba confirmativa se seleccionarán, dos colonias típicas; con este fin, se investigará la capacidad de la cepa en estudio para producir Coagulasa. La coagulasa es un enzima capaz de desnaturalizar la fibrina del plasma. La mayoría de las cepas de *Staphylococcus aureus* patógenas (enterotoxigénicas) producen esta enzima



(Ratto, 1982). Las colonias típicas seleccionadas se sembraron en caldo infusión cerebro-corazón, BHI (Brain Heart Infusion) contenido en tubos. Luego se incubarán a 37 °C durante 18-24 horas. Posteriormente se realizará la prueba de la coagulasa que consistirá en transferir en un tubo estéril 0.5 ml de caldo cerebro corazón del cultivo obtenido más 0.5 ml de plasma de conejo, luego se mezclará suavemente e incubarán a 37°C/24h. La reacción es positiva cuando el coágulo formado es firme. La reacción es negativa cuando no se coagula el plasma.

- a. Variables de estudio
 - Potencia (20, 40, 80 kHz)
 - Tiempo de exposición (5, 10, 15 min)
- b. Variables de respuesta
 - Mesófilos aerobios viables
 - Coliformes totales y Echerichia coli
 - Staphylococcus aureus

Potencia (kHz)	Tiempo de exposición (min)	R1	R2	R3	Variables de respuesta
20	5				<ul style="list-style-type: none"> • Mesófilos aerobios viables, • Coliformes totales y Echerichia coli, • Staphylococcus aureus
	10				
	15				
40	5				
	10				
	15				
80	5				
	10				
	15				

Fuente: elaboración propia

Para el análisis varianza (ANVA) se utilizará el diseño factorial completamente al azar de dos factores (tiempo de exposición y tiempo de incubación) 3x3x3 repeticiones. Si existe diferencia significativa se realizará las comparaciones de medias pro el método Duncan, todos los análisis estadísticos se realizará utilizando el software de análisis estadístico SPSS.

X. Referencias (Listar las citas bibliográficas con el estilo adecuado a su especialidad)

- Abesinghe, A. M. N. L., Vidanarachchi, J. K., Islam, N., Prakash, S., Silva, K. F. S. T., Bhandari, B., & Karim, M. A. (2020). Effects of ultrasonication on the physicochemical properties of milk fat globules of Bubalus bubalis (water buffalo) under processing conditions: A comparison with shear-homogenization. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 59(July 2019), 102237. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102237>
- Alarcon-rojo, A. D., Carrillo-lopez, L. M., Reyes-villagrana, R., Huerta-jiménez, M., & Garcia-galicia, I. A. (2019). Ultrasonics - Sonochemistry Ultrasound and meat quality : A review, 55(September 2018), 369–382. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.09.016>



- CAMPO, Y., GELVEZ, V., & AYALA, A. (2018). Ultrasonido en el procesamiento (homogenización, extracción y secado) de alimentos. *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 16(1), 102–113. [https://doi.org/10.18684/bsaa\(16\)102-113](https://doi.org/10.18684/bsaa(16)102-113)
- Dolas, R., Saravanan, C., & Kaur, B. P. (2019). Ultrasonics - Sonochemistry Emergence and era of ultrasonic 's in fruit juice preservation : A review. *Ultrasonics - Sonochemistry*, 58(January), 104609. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.05.026>
- Fu, X. Z., Zhang, Q. A., Zhang, B. S., & Liu, P. (2018). Effect of ultrasound on the production of xanthylum cation pigments in a model wine. *Food Chemistry*, 268(October 2017), 431–440. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.120>
- Mustafa, S., Tuba, E., Mehmet, B., & Fatih, E. (2011). Effect of photosonication treatment on inactivation of total and coliform bacteria in milk. *Food Control*, 22, 1803–1806. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.04.015>
- Ramirez, I., & Chávez, A. (2017). EFECTO DEL ULTRASONIDO APLICADO AL SUERO DE LECHE PREVIO AL CALENTAMIENTO EN LA ELABORACIÓN DE REQUESÓN. *Interciencia*, 42, 828–833.
- Shi, Z., Zhong, S., Yan, W., Liu, M., Yang, Z., & Qiao, X. (2019). The effects of ultrasonic treatment on the freezing rate, physicochemical quality, and microstructure of the back muscle of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Lwt*, 111(70), 301–308. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.04.071>

XI. Uso de los resultados y contribuciones del proyecto (Señalar el posible uso de los resultados y la contribución de los mismos)

Con el presente estudio se pretende comprender la aplicación de los ultrasonidos (en diferentes potencias y tiempos de exposición) durante de proceso de la elaboración del queso tipo paria y comparar los resultados con la producción convencional respecto a la calidad microbiológica; dichos resultados pueden ser un aporte a la utilización de esta tecnología emergente (ultrasonidos) ya que contribuiría a reducir costos de producción, garantizar la inocuidad alimentaria.

XII. Impactos esperados

i. Impactos en Ciencia y Tecnología

La aplicación de los ultrasonidos ofrece una alternativa a los métodos tradicionales de conservación de los alimentos. Además, se ha calificado como un método emergente con un gran potencial para controlar, mejorar y acelerar los procesos sin dañar la calidad de los alimentos.

ii. Impactos económicos

La técnica de los ultrasonidos, están especialmente diseñadas para la economía, la simplicidad y la eficiencia energética. Es decir, esta energía acústica es una forma de energía mecánica no ionizante. La gran ventaja es



la de ahorrar energía que traduce en economizar el costo de producción de un alimento.

iii. Impactos sociales

Esta técnica es utilizada con la finalidad de producir alimentos ecológicos, en donde hay investigaciones que afirman en garantizar la producción de alimentos seguros y de alta calidad, que indudablemente contribuiría con la seguridad alimentaria

iv. Impactos ambientales

Esta técnica es utilizada con la finalidad de producir alimentos ecológicos, en donde hay investigaciones que afirman en garantizar la producción de alimentos seguros y de alta calidad, que indudablemente contribuiría con la seguridad alimentaria

XIII. Recursos necesarios (Infraestructura, equipos y principales tecnologías en uso relacionadas con la temática del proyecto, señale medios y recursos para realizar el proyecto)

13.1 materia prima y reactivos

- Leche cruda

13.2 reactivos

- Sulfato de cobre
- Dicloroquinona y otros
- Agares (recuento en placa y bilis violeta)

13.3 equipos y materiales

- Termómetro
- Ph metro
- Liras de corte
- Pasteurizador Bach
- Sonicador (ultrasonidos)
- Bidones

13.4 infraestructura

- El desarrollo del proyecto de investigación se realizará en las infraestructuras del Programa Profesional de Ingeniera Agroindustrial de la Universidad Nacional del Altiplano.



XIV. Localización del proyecto (indicar donde se llevará a cabo el proyecto)

El presente trabajo de investigación se efectuará en los laboratorios del Programa de Estudios de Ingeniería Agroindustrial Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Altiplano Puno.

XV. Cronograma de actividades

Actividad	Trimestre 1				Trimestre 2				Trimestre 3				Trimestre 4			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Análisis de la idea a investigar	■															
Revisión bibliográfica	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Primera revisión del proyecto de investigación			■	■	■	■	■	■								
Corrección de observaciones							■	■								
Aprobación del proyecto de investigación								■	■							
Pruebas preliminares y poner a punto los análisis										■						
Ejecución del proyecto											■	■	■	■		
Obtención de datos												■	■			
Procesamiento e interpretación de datos													■			
Redacción del borrador de tesis											■	■	■	■		
Corrección de observaciones de borrador														■	■	
Presentación de tesis final															■	
Sustentación de tesis																■

XVI. Presupuesto

Descripción	Unidad de medida	Costo Unitario (S/.)	Cantidad	Costo total (S/.)
Materia prima e instrumentos				
Leche	Litros	3,00	10,00	30,00
Bidón para leche	unidad	10,00	5,00	50,00
Agua Peptonada estéril	Unidad	100	1	100
Recuento en agar placa	unidad	200	1	200
Agar de bilis violeta	unidad	150	1	150
Alquiler de equipo ultrasonido	mes	400	2	1000
CuSO ₄	Kilo	20	1	20
Dicloroquinona	gramos	50	5	250
Uso de laboratorio	muestra	10	48	580
Elaboración de perfil	global	400	1	500
Elaboración de borrador tesis	global	500	1	600
Pasajes y traslado	global	500	1	500
Otros	global	500	1	500
total				4500

