

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA**

**EFFECTO DE LA ENZIMA COAGULANTE FPC (*CHY Max M*) SOBRE EL  
RENDIMIENTO Y CARACTERÍSTICAS SENSORIALES DEL QUESO FRESCO**

**POR:**

**REINA FABIOLA MARADIAGA ACOSTA**

**TESIS**

**PRESENTADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA COMO  
REQUISITO PREVIO A LA OBTENCION DEL TITULO DE:**

**LICENCIADO EN TECNOLOGÍA ALIMENTARIA**



**CATACAMAS, OLANCHO**

**HONDURAS C.A**

**DICIEMBRE, 2012**

**EFFECTO DE LA ENZIMA COAGULANTE FPC (*CHY Max M*) SOBRE EL  
RENDIMIENTO Y CARACTERÍSTICAS SENSORIALES DEL QUESO FRESCO**

**POR**

**REINA FABIOLA MARADIAGA ACOSTA**

**ROSA ARELYS BETANCOUTH MS.c.**

**Asesor Principal**

**TESIS PRESENTADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA  
COMO REQUISITO PREVIO A LA OBTENCION DEL TITULO DE:**

**LICENCIADO EN TECNOLOGÍA ALIMENTARIA**

**CATACAMAS, OLANCHO**

**HONDURAS C.A**

**DICIEMBRE, 2012**

# **ACTA DE GRADUACIÓN**

## **DEDICATORIA**

### **A DIOS TODOPODEROSO**

Por permitirme llegar hasta aquí, por ser mi compañero en la adversidad, por darme sabiduría y fortaleza en cada momento de mi vida.

### **A mi madre**

Reina Acosta; Por hacer de mí una persona de bien, Por ser un modelo a seguir, Por la fuerza y valentía con la que enfrenta la vida y por las incontables cosas que ha sacrificado por mí

### **A mis Hermanos**

Luis, Ibeth, Omar y Lindsey Por estar siempre a mi lado, por llenarme de alegría, por su apoyo y cariño en el transcurso de mi vida

## **AGRADECIMIENTOS**

A la alma mater: **UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA** por darme la oportunidad de formar parte de esta gran familia, por formarme personal y profesionalmente, por permitirme realizar mi investigación en este centro educativo y por facilitarme equipo para la realización de este trabajo.

Al Ing. Alejandro Guerrero por su tiempo, por su apoyo y por la disposición que me brindo en la realización de esta investigación.

A mis Asesores MS.c Arelys Betancourth, Ing. Luis Castillo, Ing. Ledy Nájera por brindarme el apoyo técnico, paciencia y enseñanza a lo largo de la investigación y de mi carrera universitaria.

A Elvira Acosta y Judith López; Por recibirme con los brazos abiertos, por su aprecio y apoyo incondicional en el transcurso de mi vida universitaria.

A mis Colegas y amigas Julia, Gabriela, Cristy, Wendy, Fransheska y Ana por los momentos inolvidables, por ser mis acompañantes en este largo camino, por soportarme y animarme cada día.

## CONTENIDO

	Pag
ACTA DE GRADUACIÓN.....	i
DEDICATORIA .....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
LISTADO DE CUADROS.....	vi
LISTADO DE FIGURAS.....	vii
LISTADO DE ANEXOS .....	viii
RESUMEN.....	ix
I INTRODUCCIÓN .....	1
II OBJETIVOS .....	3
2.1 General.....	3
2.2 Específicos.....	3
III REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
3.1 Queso.....	4
3.1.1 Composición nutricional del queso fresco.....	4
3.2 La coagulación.....	7
3.2.1 Coagulación Enzimática.....	8
3.3 Tipos de Coagulantes.....	8
3.3.1 Cuajo Animal.....	10
3.3.2 Coagulante microbiano.....	10
3.3.3 Coagulante Vegetal.....	11
3.3.4 Quimosina Producida Por Fermentación (FPC).....	11
3.4.5 Aspectos moleculares de las enzimas coagulantes .....	13

3.4 Factores que afectan la caseína.....	15
3.5 Evaluación Sensorial de los quesos .....	15
3.5.1 Evaluación Sensorial del sabor.....	16
3.5.2 Evaluación sensorial de la textura .....	17
3.6 Vida anaquel del queso Fresco .....	18
IV MATERIALES Y METODO .....	20
4.1 Descripción del sitio .....	20
4.2 Materiales y equipo .....	20
4.3 Manejo del Experimento .....	21
4.4 Descripción de los tratamientos.....	23
4.5 Diseño Experimental .....	24
4.6 Modelo estadístico.....	25
4.7 Variables respuesta .....	25
V RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	26
5.1 Análisis Estadísticos .....	26
5.1.1 Tiempo de coagulación de leche.....	26
5.1.2 Rendimiento .....	28
5.1.3 Evaluaciones sensoriales .....	30
5.2 Vida de anaquel del queso en función del tiempo .....	33
VI CONCLUSIONES .....	34
VII RECOMENDACIONES.....	35
VIII BIBLIOGRAFIA .....	36

## LISTADO DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Coagulantes de uso común y sus enzimas componentes.....	9
<b>Cuadro 2.</b> Características y coagulantes Lácteos .....	12
<b>Cuadro 3.</b> Diferencia y similitudes entre quimosina A y quimosina B .....	14
<b>Cuadro 4.</b> Combinaciones de los factores y niveles.....	24
<b>Cuadro 5.</b> Descripción de los Tratamientos .....	24

## LISTADO DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Formas de proteína Caseína .....	6
<b>Figura 2.</b> Características de la <i>k- caseína</i> .....	7
<b>Figura 3.</b> Esquema de la proteólisis producidas por los coagulantes .....	17
<b>Figura 4.</b> Tiempo de Coagulación de los 9 tratamientos .....	27
<b>Figura 5.</b> T test LSD Fisher para temperatura .....	28
<b>Figura 6.</b> Rendimientos de los 9 tratamientos .....	29
<b>Figura 7.</b> T test LSD Fisher para la variable Rendimiento .....	30
<b>Figura 8.</b> Intensidad de firmeza .....	31
<b>Figura 9.</b> Intensidad de amargor .....	32
<b>Figura 10.</b> T test LSD para la variable Textura .....	32
<b>Figura 11.</b> Vida de anaquel a temperatura ambiente.....	33

## LISTADO DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Flujograma de proceso del queso fresco.....	41
<b>Anexo 2.</b> Formato de evaluación sensorial de la textura.....	42
<b>Anexo 3.</b> Formato hoja de calificación para la vida de anaquel.....	43
<b>Anexo 4.</b> Análisis de varianza.....	44

**Maradiaga Acosta, R.F. 2012.** Efecto de la enzima coagulante FPC (Chy Max M) sobre el rendimiento y características sensoriales del queso fresco. Tesis Lic. Tecnología. Alimentaria. Universidad Nacional de Agricultura. Catacamas Olancho, Honduras, C.A. 48 Pág.

## RESUMEN

El trabajo experimental se realizó en las instalaciones de la Planta Procesadora de Lácteos de la Universidad Nacional de Agricultura. Se evaluó el efecto de la enzima coagulante (quimosina producida por fermentación por el microorganismo *Aspersillus niger*) de la marca *CHY Max M* actualmente poco utilizado en la industria láctea hondureña, con el propósito de identificar los mejores rendimiento, tiempo de coagulación y características sensoriales: amargor y firmeza del queso; en comparación con dos enzimas coagulantes de origen fúngico por el microorganismo (*Rhizomucor miehei*) de las marcas Marshall y Tres muñecas. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial, se estudiaron los factores: tipo de coagulante y temperatura de coagulación de 32 °C, 38 °C y 44 °C. Los resultados obtenidos de las 27 unidades experimentales se corrieron en el software sistema de análisis estadístico (SAS) y se les realizó el análisis de varianza (ANAVA) para cada variable respuesta y se sometió comparación de medias mediante la prueba de Fisher para los factores que mostraron diferencias significancia. Se evaluó la vida de anaquel mediante valoración de las características sensoriales olor, color y sabor en el queso a temperaturas de refrigeración 4-5 °C y temperatura ambiente. Los tratamientos no mostraron diferencias significativas entre un coagulante a otro para ninguna variable respuesta ni para la interacción (temperatura\*tipo de coagulante). Estadísticamente los mejores rendimientos en los tratamientos se obtuvieron a temperaturas de coagulación de 32 °C, sin embargo los catadores lo calificaron como quesos con textura muy blanda y sabor ligeramente amargo, los mejores resultados obtenidos en las evaluaciones sensoriales fueron para el tratamiento elaborado con coagulante Chy Max M a temperaturas de 44 °C. La temperatura presentó altamente significancia para el tiempo de coagulación, rendimiento y la textura de los quesos, es decir que la temperatura de coagulación está directamente influenciada en la elaboración del queso fresco. La vida de anaquel no se observó diferencia en el uso de un coagulante a otro, todos los tratamientos presentaron las mismas características sensoriales en los primeros días, a medida pasaba el tiempo el color, sabor ácido y olor rancio aumenta, calificado como límite no comestible a los 6 días a temperatura ambiente y de 22 a 25 días a temperaturas de 4-6 °C.

**Palabras Claves:** Enzimas Coagulantes, Quimosina producida por fermentación, evaluación sensorial.

## I INTRODUCCIÓN

El queso es un alimento universal, que se produce en casi todas las regiones del mundo por diversas especies de mamíferos. Es uno de los alimentos más completos, no solamente por su alto valor nutritivo, sino también por las cualidades organolépticas extremadamente variadas que posee (Alais 2003).

Las estadísticas mostradas por Secretaria de Agricultura y Ganadería (SAG) en el 2011 indican que la producción de leche cruda en honduras es de 1,7 millones de litros diarios lo que genera unos 2,100 millones de lempiras al año tomando el costo de litro de 6 a 6,50 de lempiras. El continuo aumento de la demanda y ventas de los derivados de la leche inducen a pensar que la variedad de alimentos lácteos es realmente prospero. En este sentido se requiere el desarrollo y empleo de nuevos productos coagulantes que mejoren el rendimiento y características sensoriales de los quesos. El FPC es quimosina 100% producida por fermentación de un substrato por parte del microorganismo *Aspersillus Niger* (Ferrandini 2007 y Hansen 2003).

La investigación se llevó a cabo en las instalaciones de la planta de proceso de lácteos de la Universidad Nacional de Agricultura y se utilizó el diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial. El experimento consistió en comparar tres enzimas coagulantes de la leche; dos de origen microbiano (*Rhizomucor miehei*) y una FPC (quimosina producida por fermentación) del hongo (*Aspergillus Niger*). El propósito fue evaluar el coagulante enzimático FPC e identificar los mejores rendimientos en el queso, menor tiempo de cuajado de la leche y la influencia del tipo de coagulante en las características sensoriales y vida de anaquel del queso.

## II OBJETIVOS

### 2.1 General

Evaluar el efecto del coagulante enzimático FPC (*CHY Max M*) sobre el rendimiento y características sensoriales del queso fresco en comparación con los coagulantes microbianos (Marshall y tres muñecas).

### 2.2 Específicos

Evaluar sensorialmente la textura y sabor del queso fresco elaborado con las enzimas coagulantes Chy max M, Marshall y tres muñecas mediante método analítico con jueces semientrenados.

Evaluar la vida de anaquel del queso fresco mediante valoración de las características organolépticas.

Analizar la influencia de la temperatura y coagulante de la leche sobre el tiempo de coagulación, rendimiento, sabor y textura del queso fresco.

### **III REVISIÓN DE LITERATURA**

#### **3.1 Queso**

Según FAO y OMS define el queso como: producto blando, semiduro, duro y extra duro, madurado o no madurado, y que puede estar recubierto, en el que la proporción entre las proteínas de suero y la caseína no sea superior a la de la leche, obtenido mediante:

Coagulación total o parcial de la proteína de la leche, leche desnatada/ descremada, leche parcialmente desnatada/descremada, nata (crema), nata (crema) de suero o leche de mantequilla/manteca, o de cualquier combinación de estos materiales, por acción del cuajo u otros coagulantes idóneos, y por escurrimiento parcial del suero que se desprende como consecuencia de dicha coagulación, respetando el principio de que la elaboración del queso resulta en una concentración de proteína láctea (especialmente la porción de caseína) y que por consiguiente, el contenido de proteína del queso deberá ser evidentemente más alto que el de la mezcla de los materiales lácteos ya mencionados en base a la cual se elaboró el queso (FAO y OMS 2007).

##### **3.1.1 Composición nutricional del queso fresco**

El queso es una de las formas más antiguas de conservar los principales elementos nutritivos de la leche. Está compuesta por caseína, grasa, sales insolubles, agua y pequeñas cantidades de lactosa, albumina y sales solubles de la leche, que son concentradas por coagulación de la leche (Herrera 2003).

Dentro de la dieta los quesos forman parte esencial, aportan un gran valor nutritivo y se destacan por su contenido de proteínas de alto valor biológico y calcio de fácil asimilación, fósforo, magnesio, vitaminas del grupo B (especialmente, B2 o riboflavina, B12 y niacina) y vitaminas liposolubles A y D (Tomaello 2010).

Los contenidos de calcio (Ca) y de fósforo (P) son mucho más altos que en la leche y el zinc que también se encuentra en la leche mayoritariamente unido a las caseínas, se concentra en el queso fresco. Una parte de las vitaminas hidrosolubles (hasta un 90 %) pueden perderse en el suero (Hernández 1999).

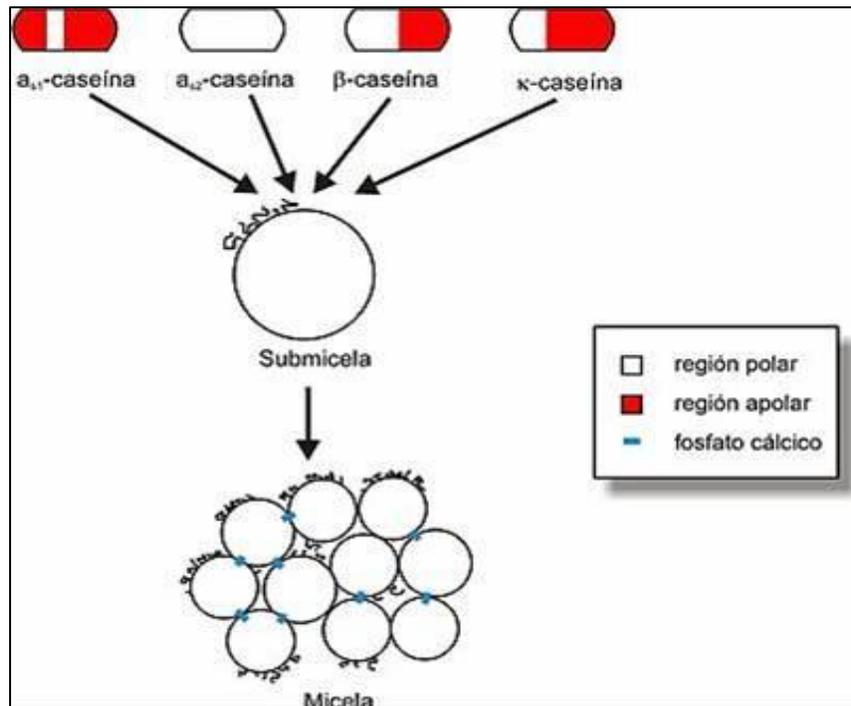
De forma concentrada contiene la mayoría de los nutrientes de la leche, con excepción de la lactosa. Esto se debe en gran parte a la pérdida de agua que se produce durante la elaboración del queso. Los procesos tecnológicos empleados en la elaboración del queso no alteran el valor nutritivo de la proteína de la leche (Hernández 2010).

Las proteínas constituyen la parte más compleja de la leche. Cerca del 95% del nitrógeno total es proteico, lo que supone unos 35 g. de proteína por kg de leche (Alais 2003).

Las proteínas de la leche pueden dividirse en dos grupos principales: las caseínas, que en su conjunto constituyen aproximadamente el 80% de la proteína total y que incluyen diversas formas ( $\alpha$ S1,  $\alpha$ S2,  $\beta$  y  $\kappa$  caseínas), y las proteínas del suero que representan el 20% restante ( $\beta$ -lactoglobulina,  $\alpha$ -lacto albúmina e inmonoglobulinas) Se distinguen 5 tipos de caseínas:  $\alpha$ S1-,  $\alpha$ S2-,  $\beta$ -,  $\kappa$ - y  $\gamma$ -caseína, que representan el 36%, 10%, 34%, 13% y 7% (Alais y Fennema citado por Benavides Castro 2003).

El contenido de  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\kappa$ - caseína está distribuido de forma heterogénea en las diferentes micelas. Las sales de calcio de  $\alpha$ - y  $\beta$ - caseína son casi insolubles en agua, mientras que las de  $\kappa$ - caseína son claramente solubles. Debido a la localización dominante de la  $\kappa$ - caseína

en la superficie de las micelas, la solubilidad del  $\kappa$ - caseinato cálcico prevalecerá sobre la insolubilidad de los otros dos tipos de sales en las micelas, y la micela completa será soluble como un coloide (Bylund 1996).

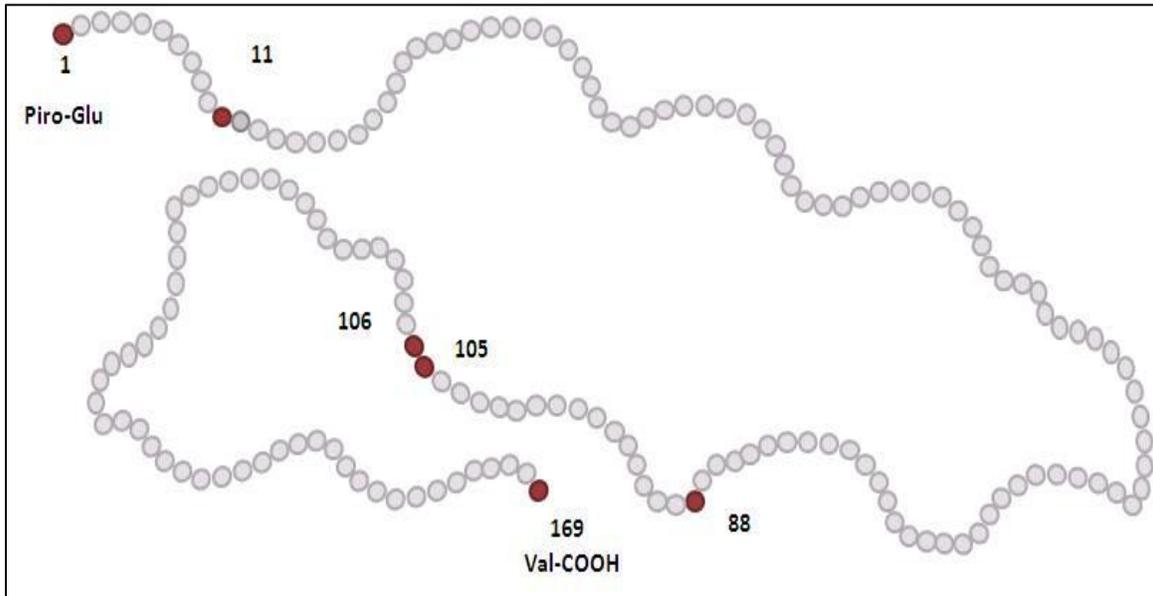


**Figura 1.** Formas de proteína Caseína  
Fuente: Ibarlucea y López 2008.

En la industria láctea, es muy importante kappa Caseín o  $\kappa$  caseína, que posee, entre otras, las siguientes características (Mercier *et al.* 2012).

- Los aminoácidos 11 y 12 son Cisteína muy reactivas
- La zona de aminoácidos 1 al 105 son hidrófobas
- El macropéptido que se encuentra de los aminoácidos 106 al 169 es una fosfoserína, es decir 10 carboxilos ionizados y un trisacárido (galactosa, galactosamina y ácido síalico)

- El enlace de fenilalanina y metionina (105 y 106) es hidrolizada por la renina y produce paracaseína y el macropéptido hidrófilo
- El paracaseinato es hidrófilo, por lo que se precipita en agua (Mercier *et al.* 2012).



**Figura 2.** Características de la *k*-caseína

Fuente: Mercier *et al.* 2012.

### 3.2 La coagulación

La coagulación se produce por la desestabilización de la solución coloidal de caseína que origina la aglomeración de las micelas libres y la formación de un gel en el que quedan atrapados el resto de los componentes de la leche (Alais citado por Benavides Castro 2003).

El cambio de estado líquido de la leche a formación de un gel poseerá diferentes características en base a la forma en que se obtuvo: coagulación Ácida (por acidificación provocada por las bacterias ácido lácticas hasta un pH 4.6), coagulación enzimática (por acción de una enzima proteolítica “cuajo” o coagulante), o mixta (debida a la acción conjunta del enzima y el ácido) (Chamorro y Losada 2002).

### 3.2.1 Coagulación Enzimática

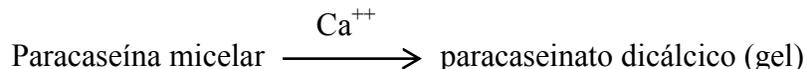
Existen muchas enzimas proteolíticas y empleadas para la coagulación de la leche en la elaboración de quesos, la más utilizada es la renina que tiene como principio activo la quimosina; esta coagulación se presenta en dos etapas:

1 etapa:



En esta etapa la quimosina rompe específicamente el enlace entre los aminoácidos fenilalanina (105) y metionina (106) de la k-caseína (AAPPA 2003).

2 etapa:



En esta etapa la paracaseína reacciona con los iones calcio formando un gel irreversible de consistencia gelatinosa y elástica, impermeable, de notable pero lenta contractibilidad (AAPPA 2003).

### 3.3 Tipos de Coagulantes

La Norma General de identidad y pureza para el cuajo y otras enzimas coagulantes de leche destinados al mercado interior, aprobada por Orden de 14 de enero de 1988 y posteriormente modificada en el BOE del 20 de Febrero de 1996, define al cuajo como el producto obtenido exclusivamente de los cuajares de rumiantes y cuyo componente activo está constituido por quimosina y pepsina. Dentro de esta Reglamentación también se define coagulante lácteo, a las preparaciones de proteasas de origen animal, vegetal o microbiano capaces de provocar la desestabilización de la micela de caseína con formación

de un gel lácteo, en las condiciones habituales empleadas durante la elaboración del queso (Ferrandini *et al.* 2007).

En el siguiente cuadro muestra los tipos de coagulantes utilizados predominantemente para la elaboración de quesos, como también sus componentes enzimáticos activos. En la actualidad la quimosina producida por fermentación (FPC) es la que tiene mayor participación de mercado en los últimos años (Industria Alimentaria 2010).

**Cuadro 1.** Coagulantes de uso común y sus enzimas componentes

<b>Fuente</b>	<b>Fuente</b>	<b>Ejemplo de nombres</b>	<b>Componente Enzimático activo</b>
Animal	Estomago Bovino	Cuajo bovino, cuajo de ternero, cuajo en pasta	Quimosina A y B, pepsina A y Gastricina
	Estomago ovino	Cuajo de cordero, oveja	Quimosina y pepsina
	Estomago Caprino	Cuajo de cabrito, cabra	Quimosina y pepsina
	Estomago porcino	Cuajo porcino	Pepsina A y B, gastrina
Microbiano	<i>Rhizomucor miehei</i>	Hannilase	Proteasa aspártica de R. miehei
	<i>Rhizomucor pusillus</i>	Coag. Pusillus	Proteasa aspártica de R. pusillus
	<i>Cryphonectria parasitica</i>	Coagulante de parasitica	Proteasa aspártica de C. Parasítica
FPC	<i>Aspergillus niger</i>	Chy Max	Quimosina B
	<i>Kluyveromyces lactis</i>	---	Quimosina B
Vegetal	<i>Cynara cardunculus</i>	Cardoon	Cyprosina 1,2 y 3 y/o cardosina A y B

**Fuente:** CHR Hansen (2003)

### **3.3.1 Cuajo Animal**

Es el producto obtenido exclusivamente por extracción de los cuajares de rumiante cuyo componente está constituido por quimosina pura o en mezcla de pepsina de rumiantes. (Mestres 2004).

En el grupo de coagulantes de origen animal, el cuajo de ternero se considera como el ideal para la elaboración de quesos por su alto contenido de quimosina, siendo esta la propia enzima natural para coagular leche bovina. En el abomaso y los extractos de otros tejidos, la proporción de dos enzimas, quimosina y pepsina, varía según la edad del animal y el tipo de alimentación (Andren citado por Hansen 2003).

Extractos provenientes de estómagos de terneros jóvenes tienen un alto contenido de quimosina, siendo su composición, normalmente 80-90% quimosina y 10-20% pepsina y los cuajos de bovinos adultos presentan un mayor contenido de pepsina, normalmente 80-90%, aunque se pueden observar contenidos de pepsina mayores, cercanos al 97%. El mayor contenido de pepsina de los cuajos de bovino adulto lo hacen más sensible al pH, y poseen en general una mayor actividad proteolítica (Hansen 2003).

### **3.3.2 Coagulante microbiano**

El coagulante microbiano puede presentar una variedad de limitaciones en rendimiento, sabor y funcionalidad. Según el foro de enzimas y coagulantes presentado por CHR Hansen durante el FELAPE (s.f.) Existen tres tipos de enzimas:

- La nativa, comúnmente denominada “Tipo L”, se caracteriza por tener una alta estabilidad térmica y más proteolítica que el cuajo de ternero.

- La enzima desestabilizada, denominada “Tipo TL”, elaborada por oxidación de la enzima nativa es termolábil, de mayor dependencia al pH y menos proteolítica que la tipo L.
- La extra termolábil, denominada “Tipo XL” elaborada mediante una mayor oxidación que la tipo TL. Caracterizada por ser extra termolábil, de mayor dependencia al pH y de marcada menor proteólisis que la tipo TL (Hansen *s.f*).

Todos los coagulantes microbianos conocidos utilizados en la elaboración de quesos son de origen fúngico siendo el más predominante el de *Rhizomucor miehei* (Industria alimentaria 2010).

### **3.3.3 Coagulante Vegetal**

Es el producto de origen vegetal cuyo componente activo tiene actividad coagulante y está constituido por una o varias proteínas, provenientes de la especie cardo (*cynara cardunculus*, *cynara humilis*) e higuera (*fius carica*) (Mestres 2004).

### **3.3.4 Quimosina Producida Por Fermentación (FPC)**

La quimosina Producida por fermentación conocida por sus siglas en ingles FPC; es quimosina 100% producida por fermentación de un substrato por parte de un microorganismo. La quimosina producida por fermentación tiene exactamente la misma secuencia de aminoácidos que la quimosina presente en el cuajo de ternero. La misma puede ser producida por distintos microorganismos, tales como *Aspergillus Níger*, *Kluyveromyces lactis* y *Escherischia coli*, siendo esta ultima la de menor presencia en el mercado. Coagulante FPC (quimosina): asegura un rendimiento máximo y consistente en la tina y una óptima calidad en el queso, sabor y producción en todas las variedades (Hansen 2003). El pH óptimo de actividad proteolítica de la quimosina es variable.; cuando el sustrato (la caseína, proteína de la vaca) se acerca a 4,0 (Alais 2003).

Harboe (1992) mostro las características y coagulantes lácteos, las ventajas y desventajas que poseen cada uno de ellos de las cuales se detallan a continuación:

**Cuadro 2.** Características y coagulantes Lácteos

<b>Coagulante</b>	<b>Ventajas</b>	<b>Desventajas</b>
Extracto de cuajo de ternero	-Enzima ideal y natural -Patrón tradicional -Rendimiento según dosis	-Escasez de estómagos y alto costo -No aprobado por la ley judía -No aceptado por vegetarianos
Cuajo de oveja y cabra	-Propia para la leche de oveja y cabra y es similar al de ternero	-Igual que para extracto de cuajo de ternero
Cuajo bovino	-Similar al cuajo de ternero pero diferente proporción enzimática (principalmente pepsina) -Se adapta a todo tipo de queso	-Sensible al pH y calcio
Cuajo Porcino	-Costo -Pepsina	-Sensible a pH y temperatura altos -Alta velocidad proteolítica, sabores amargos y bajo rendimiento
Pepsina de pollo	Aceptado por la ley judía	-alta actividad proteolítica -sabores y bajo rendimiento -Inactivación en suero
FPC	-Disponibilidad -Aceptada por la ley judía -Aceptada por veterinarios -Pureza y bajo costo	
<i>Mucor miehei</i>	-Costo -Suministro	-Bajo rendimiento -Inactivación en suero -Alta actividad proteolítica y sabores
<i>Mucor pusillus</i>	-Coste -Sumistro	-Calidad y bajo rendimiento -Alta actividad proteolítica y sabores -pH dependiente -Inactivación en suero
<i>Endothia parasitica</i>	-Coste y suministro -Baja dependencia con el pH	-Bajo rendimiento -Alta actividad proteolítica
<i>Cynara cardunculus</i>	-Producido localmente -Productos tradicionales	-Alta actividad proteolítica -Bajo rendimiento y sabores amargos

Fuente: Harboe 1992

### 3.4.5 Aspectos moleculares de las enzimas coagulantes

Todas las enzimas utilizadas en la elaboración de quesos provienen de la familia de las proteasas aspárticas (EC 3.4.23), las cuales son características por poseer el mismo mecanismo catalítico, con dos residuos de ácido aspártico en el sitio de catálisis (Foltmann 1993).

Según la Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular (IUBMB), las enzimas coagulantes de la leche han sido divididas en los siguientes grandes grupos:

- EC 3.4.23.1 Pepsina A, o solamente pepsina, es la proteasa gástrica predominante en mamíferos adultos, y característica por poseer baja especificidad y mayor dependencia al pH que la quimosina.
- EC 3.4.23.2 Pepsina B, es una proteasa menor encontrada en estómagos porcinos característica por poseer una baja capacidad coagulante de la leche y mayor actividad proteolítica.
- EC 3.4.23.3 Gastricina, es un tipo de proteasa aspártica que se denomina en formas diferentes como pepsina B, C, I, II, III, 6 o 7. Se encuentra en cantidades pequeñas en el abomaso bovino y en grandes cantidades en el librillo porcino.
- EC 3.4.23.4 Quimosina, proteasa neonatal encontrada en mamíferos. Se caracteriza por tener una alta especificidad para coagular la leche y generalmente una baja actividad proteolítica. La actividad coagulante de leche de las enzimas, parece ser más específica para las leches de su misma especie. Cada una de la quimosina encontrada posee una alta actividad específica en leches de la misma especie en la cual han sido sustraídas
- EC 3.4.23.23 Proteasa de *Rhizomucor miehei* y *pusillus*, son proteasa ácidas proveniente de hongos filamentosos. Estas enzimas son homologas, pero poseen diferente especificidad. Son características por tener un alto grado de actividad proteolítica y por ser estables al tratamiento térmico (Industria alimentaria 2010).

**Cuadro 3.** Diferencia y similitudes entre quimosina A y quimosina B

Quimosina A	Quimosina B
Acido aspártico aminoácido n° 244	Glicina como aminoácido n°244
Producida por aproximadamente la mitad de los animales bovinos	Producida por la otra mitad de los animales bovinos
Menos abundante en el cuajo natural	Predominante en el cuajo natural
Menos estable, fácilmente degradable, auto catalítico a quimosina C a valores bajos de pH	Mas estable, no es degradable a quimosina C
Cerca del 25% mas de actividad especifica: aproximadamente 290 IMCU/mg	Menor actividad especifica, aproximadamente 233 IMCU/mg
Todas las propiedades queseras igual que la quimosina B	Todas las propiedades queseras como al quimosina A

Fuente: Hansen 2003

La diferencia entre las dos quimosina A y B, en particular es en un aminoácido, le confiere en la quimosina “A” una mayor actividad coagulante, aproximadamente un 25% mas elevado, y la hace factible de auto degradarse por escisión de un tripéptido a quimosina C, que solo tiene un 25% de actividad remanente. Realizando un análisis, debido a la degradación parcial de la quimosina A, daría la impresión que la quimosina B es más eficiente, sin embargo en la naturaleza las quimosinas A y B probablemente estén presentes en la misma proporción, indicando que ambas son igualmente apropiadas para la elaboración de quesos, como ha sido confirmado por los estudios realizados. Las dos quimosinas presentan idéntica respuesta en la elaboración de quesos bajo los distintos parámetros, tales como pH y contenido de calcio (Hansen 2003).

### **3.4 Factores que afectan la caseína**

Según una investigación realizada por Khan (2010) los factores que afectan la coagulación son los siguientes:

- Dimensiones de la caseína: a mayor tamaño corresponde una mayor firmeza del coagulo y una mas rápida coagulación. Varían según raza animal, lactancia y tratamiento térmico
- Calidad de la leche en cuanto a células somáticas, presencia de leche mastíticas anormales: Afectan negativamente la fermentación y la calidad de coagulo
- Calcio: Es fundamental debe de haber el suficiente y estar disponible en estado iónico. Su falta puede deberse a leches pobres en calcio (vacas mal alimentadas) o a tratamientos previos (enfriamiento-pasteurización). Su escasez hace las cuajadas blandas.
- Fosfato de calcio coloidal: Su cantidad insuficiente hace las leches más “lentas”.
- Temperatura: Como toda enzima tiene una temperatura óptima (40-42° C) y un rango de temperaturas dentro las cuales actúa (15-50° C). Cuando más baja la temperatura más lenta es su acción hasta que se paraliza la reacción terciaria, a más de 50 se desnaturaliza. A medida que aumenta la temperatura (hasta 40° C) aumenta la consistencia del coágulo.
- Acidez ó pH: Tienen de acuerdo a la enzima de que se trate un PH óptimo y un rango de acción. Al pH normal de la leche trabajan bien y a medida que este desciende van mejorando su performance.

### **3.5 Evaluación Sensorial de los quesos**

El análisis sensorial de los quesos es el examen de las propiedades organolépticas del producto mediante los órganos de los sentidos, los medios que dispone el ser humano para

percibir y detectar el mundo que le rodea. En la cata de los quesos se utilizan todos. (Instituto canario de investigaciones agropecuarias 2007).

Las condiciones para el desarrollo y aplicación de las diferentes pruebas sensoriales, son los jueces, los cuales deben ser seleccionados y entrenados, además es necesario proporcionar las condiciones locativas básicas, para la sala catación o cabinas, para el sitio de preparaciones de la muestra (Hernández 2005)

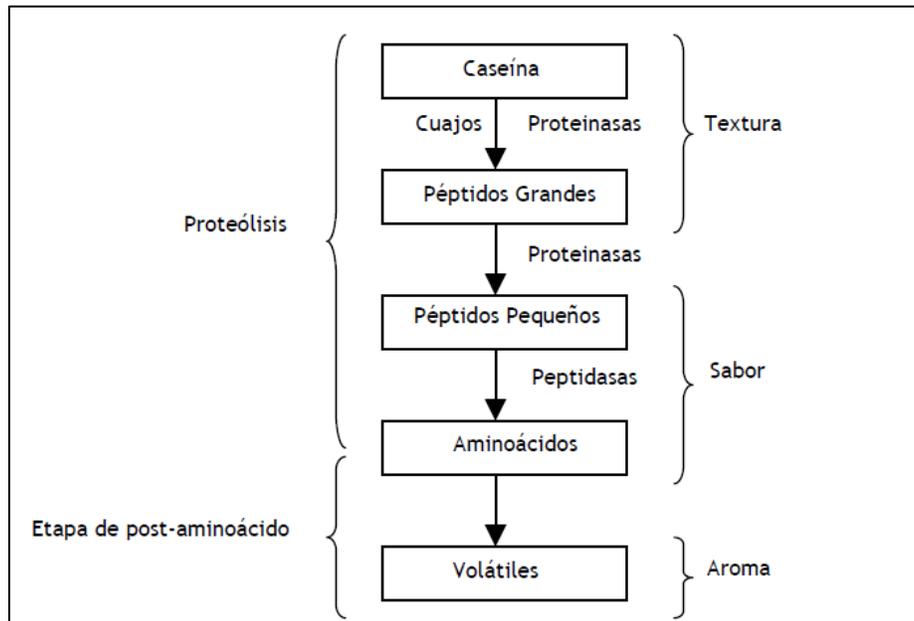
### **3.5.1 Evaluación Sensorial del sabor**

El sabor, son las sensaciones percibidas por el órgano del gusto, la lengua. Se aprecia cuando es estimulado por ciertas sustancias solubles. Tradicionalmente se definen cuatro sabores elementales: salado, dulce, ácido y amargo; aunque actualmente se incluye también un quinto sabor: el umami. La teoría clásica sitúa estos sabores en las papilas gustativas, en función de su ubicación en la lengua; de esta forma, el sabor amargo se detecta en la parte posterior, el salado en la intermedia, el dulce en la punta, mientras que el ácido se detecta en los bordes (Galván 2007).

Modernos estudios acerca de la percepción del gusto señalan que las papilas gustativas responden a alguno de los cuatro sabores elementales, con intensidad y sensibilidad diversa, estando desigualmente repartidos por toda la boca, por lo que es importante introducir un trozo de queso lo suficientemente grande para que se pueda pasar por toda la lengua (Galván 2007).

Según el especialista Fox y McSweany (1997) la participación de los coagulantes en el sabor es dado por la proporción de las enzimas que son retenidas sobreviven a los tratamientos recibidos durante la producción. La proteólisis secundaria inducida por los coagulantes es primariamente responsable de los cambios en la textura de la masa, hidrolizando la caseína en largas cadenas de péptidos que más tarde serán hidrolizadas por

las proteasas y peptídicas de las bacterias en péptidos menores y aminoácidos, los cuales contribuyen al desarrollo del sabor del queso.



**Figura 3.** Esquema de la proteólisis producidas por los coagulantes

La Figura 3 muestra el esquema de la proteólisis producida por los coagulantes, siendo estos responsables de la textura y la proteólisis por los microorganismos responsables del sabor y aroma (Fox y McSweany 1997).

### 3.5.2 Evaluación sensorial de la textura

Según Galván (2007) En el método de evaluación de la textura, deben considerarse las siguientes fases de degustación:

- Mirar la muestra; Tocarla, Morderla y Reducirla al estado de bolo alimenticio antes de tragarla.

Para evaluar la textura de los quesos, en la práctica se hace referencia a varios tipos de características:

- De superficie: visuales (cristales, ojos, aberturas y grietas) y táctiles (rugosidad y humedad en mano).
- Mecánicas (elasticidad, firmeza, friabilidad y adherencia) geométricas (micro estructura)
- Otras: solubilidad e impresión de humedad en la boca.

Según Aguilar *et al.* (1999) La apariencia, textura, el color, el olor y el sabor de los quesos no madurados, deberán ser los característicos para el tipo de queso que corresponda deberán estar libres de los defectos indicados a continuación:

- Defectos del sabor: Fermentado, rancio, agrio, quemado, o cualquier otro sabor anormal o extraño.
- Defectos en el olor: Fermentado, amoniacal, fétido, rancio, mohoso, o cualquier olor anormal o extraño.
- Defectos en el color: Anormal; no uniforme, manchado o moteado, provocado por crecimiento de mohos o microorganismos que no correspondan a las características del queso de que se trate.
- Defectos en la textura: No propia o con cristales grandes de lactosa con consistencia ligosa acompañada de olor desagradable
- Defectos en la apariencia No propia, con cristales grandes de lactosa, sucia o con desarrollo de mohos u otros hongos.

### **3.6 Vida anaquel del queso Fresco**

El tiempo que tarda un producto alimenticio para alcanzar una de estas condiciones de deterioro que se denomina generalmente el producto de su vida útil (Steele 2004).

Según Guamis (2009) Los productos frescos tienen una vida comercial muy reducida. Un queso fresco no es consumible 10 días después de su elaboración.

A nivel sensorial, la vida útil en estantería depende de la aceptación, al interactuar el alimento con el consumidor. Por ello los consumidores son la herramienta más apropiada para determinarla (Valencia 2008).

## **IV MATERIALES Y METODO**

### **4.1 Descripción del sitio**

El trabajo se realizó en las instalaciones de la planta de procesamiento de lácteos de la Universidad Nacional de Agricultura, localizada en el municipio de Catacamas, Olancho, a 6 km sobre la carretera que conduce al municipio Dulce nombre de Culmí.

### **4.2 Materiales y equipo**

Materiales y/o insumos utilizados fueron:

Insumos: Leche fresca de vaca, sal yodada (NaCl), Coagulante FPC CHY Max M (liquido), Coagulante microbiano Marshall (liquido), coagulante microbiano tres muñecas (en polvo), Galletas de soda, agua purificada.

Reactivo para acidez titulable: hidróxido de sodio (NaOH) al 0.1% Normal, fenolftaleína 1%.

Equipos utilizados:

Probeta 500 ml (PIREX), tubos de ensayo 10 ml (PIREX), pipeta 1 ml (PIREX), beaker 10 ml y 1000 ml (PIREX), balanza Granataria (OHAUS), mantas de hilo, cuchillos inoxidable, recipientes plásticos de 10 lts, moldes de tubos PVC 4 pulg, termómetro de mercurio cubierto de plástico, vasos y platos desechables, hojas de evaluación y palillos de madera

### 4.3 Manejo del Experimento

El Experimento consistió comparar 3 enzimas coagulantes de leche; dos de origen microbiano (*Rhizomucor miehei*) y una FPC (quimosina producida por fermentación) por el microorganismo (*Aspersillus niger*). Las unidades experimentales fueron sometidas a las mismas condiciones de elaboración para impedir la variabilidad en el resultado y una mejor precisión en el experimento.

**Recolección de materia prima:** Se recolectó la leche de vaca proveniente de la granja de la Universidad Nacional de Agricultura y se transportó en yogos de acero inoxidable de 50 litros y se recibió en la planta de proceso de Lácteos donde se le realizó las pruebas de calidad: antibiótico y acidez.

**Pruebas de Acidez:** Se tomó una muestra de 10 ml de leche y se le adicionó 3 gotas del indicador ácido-base (Fenolftaleína al 1%) y se agitó constantemente mientras se adicionaba gota a gota el reactivo (hidróxido de sodio al 0.1% de normal) hasta que tornó de blanco a rosa tenue. La acidez se determinará a partir de los mililitros de hidróxidos consumidos.

**Prueba de Antibiótico:** Se realizó una prueba rápida (betastar) para determinar la presencia o ausencia de los antibióticos: tetraciclina y betalactámicos. Se tomó una pequeña muestra (0.3 ml) de leche y se agregó al frasco betastar, se mezcló y se incubó a 45°C – 47°C por 3 minutos; habiendo pasado estos se insertó la banda lectora por 2 minutos y se prosiguió a interpretar los datos.

La banda lectora contiene 3 marcas: la del centro es una marca definida tintada de color rosa y la presencia de ésta indica que la banda está en buen estado. Por el contrario, las marcas de arriba y debajo se encuentran punteadas y cuando la marca es definida significa que hay presencia de los antibióticos mencionados anteriormente.

**Filtrado:** Para la eliminación de cualquier material ajeno a la leche recolectada; se filtró con mantas blancas de hilo y se dividió en recipientes (Pailas de plástico) lavados y desinfectados para la elaboración de las unidades experimentales.

**Coagulación:** Se hizo flocular la caseína adicionando el coágulo con la dosificación respectivamente indicada por el fabricante. La temperatura de la leche a coagular se manipulo sumergiendo la leche con coagulante a baño maría para mantener la temperatura del tratamiento y se identificó el tratamiento con el menor tiempo de cuajado de la leche.

**Desuerado y salado:** Se cortó la Cuajada en pequeños divisiones y de agitó por 5 min, se realizó un desuerado total y se adicionó Sal (efectuado en todos los quesos con el fin de regular el desarrollo microbiano y ayudar a las características sensoriales). Cada prueba fue llevada al cuarto frio de mantenimiento en su respetivo molde y se espero al siguiente día para sacarlos.

**Empaque y almacenamiento:** los quesos se sacaron de los moldes y se pesaron uno a uno los 9 tratamientos. Previamente se saco una pequeña muestra de queso de 5 gramos de cada tratamiento y se empaco aparte para medir la vida de anaquel a temperatura ambiente y temperatura de 4 a 5°C. Las muestras se empacaron en bolsas plásticas y se almacenaron en el cuarto frio de mantenimiento de la planta de proceso.

**Evaluación Sensorial:** Las muestras fueron sometidas a evaluaciones sensoriales a través de prueba discriminativa con jueces semientrenados con el fin de identificar las diferencias de un coagulante a otro evaluadas por los catadores.

El ambiente del laboratorio de análisis sensorial, presento uná iluminación constante y uniforme; libre de olores extraños y de ruidos, en condiciones adecuadas de temperatura y humedad para que los catadores puedan sentirse cómodos y de esta manera obtener resultados más confiables.

**Vida de anaquel:** Se determinó por medio de monitoreo de análisis sensorial, las muestras previamente empacadas en bolsas plásticas fueron almacenadas a temperaturas de 4 °C (Cuarto Frio) y 25-29 °C (Temperatura Ambiente). Los cambios producidos en las características sensoriales fueron supervisados diariamente hasta que el producto presentó el límite no comestible para el consumidor, para determinar la existencia de la influencia sobre el factor de estudio tipo de coagulante.

Los resultados obtenidos del experimento se corrieron en el software sistema de análisis estadístico llamado por sus siglas en ingles (SAS); se realizo análisis de varianza a los factores y prueba de media t test LSD Fisher para los factores que presentaron significancia.

#### **4.4 Descripción de los tratamientos**

Se estudiaron dos factores: Tipo de coagulante y Temperatura de coagulación con los siguientes niveles para cada factor de estudio.

Tipo de cuajo

A<sub>1</sub> = Coagulante Microbiano Marshall (liquido)

A<sub>2</sub> = Coagulante FPC CHY Max M (liquido)

A<sub>3</sub> = Coagulante microbiano tres muñecas (en polvo)

Temperatura de coagulación

B<sub>1</sub> = 32 °C

B<sub>2</sub> = 38 °C

B<sub>3</sub> = 44 °C

**Cuadro 4.** Combinaciones de los factores y niveles

Factor A	Factor B		
	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>
A <sub>1</sub>	A <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	A <sub>1</sub> B <sub>2</sub>	A <sub>1</sub> B <sub>3</sub>
A <sub>2</sub>	A <sub>2</sub> B <sub>1</sub>	A <sub>2</sub> B <sub>2</sub>	A <sub>2</sub> B <sub>3</sub>
A <sub>3</sub>	A <sub>3</sub> B <sub>1</sub>	A <sub>3</sub> B <sub>2</sub>	A <sub>3</sub> B <sub>3</sub>

Las combinaciones de los factores tipo de coagulante (A) y temperatura (B) dieron como resultado 9 tratamientos, de los cuales se describen a continuación.

**Cuadro 5.** Descripción de los Tratamientos

Tratamiento	Descripción
T <sub>1</sub>	Coagulante Marshall a 32 ° C
T <sub>2</sub>	Coagulante Marshall a 38 ° C
T <sub>3</sub>	Coagulante Marshall 44 ° C
T <sub>4</sub>	Coagulante Chy Max M a 32 ° C
T <sub>5</sub>	Coagulante Chy Max M a 38 ° C
T <sub>6</sub>	Coagulante Chy Max M a 44 ° C
T <sub>7</sub>	Coagulate 3 muñecas 32 ° C
T <sub>8</sub>	Coagulate 3 muñecas a 38 ° C
T <sub>9</sub>	Coagulante 3 muñecas a 44°C

#### 4.5 Diseño Experimental

El diseño experimental que se utilizó fue un modelo completamente al azar con arreglo bifactorial y se utilizarán tres repeticiones por cada tratamiento haciendo un total de 27 unidades experimentales.

#### 4.6 Modelo estadístico

$$Y_{ij} = \mu + C_i + D_j + C_i D_j + \epsilon_{ijk}$$

#### Dónde:

$Y_{ij}$  = variable respuesta correspondiente al efecto  $i$ -ésimo factor A y el  $j$ -ésimo factor B

$\mu$  = Media general de las observaciones

$C_i$  = Efecto del  $i$ -ésimo nivel del factor cuajo.

$D_j$  = Efecto de la  $j$ -ésimo nivel del factor temperatura.

$C_i D_j$  = Interacción entre el  $i$ -ésimo nivel del factor cuajo y el  $j$ -ésimo factor temperatura.

$\epsilon_{ijk}$  = Error experimental.

#### 4.7 Variables respuesta

Las variables respuestas que se estudiaron fueron: Tiempo de coagulación de la leche, Rendimiento y las características sensoriales (intensidad de textura y sabor).

Tiempo de coagulación: Se evaluó el tiempo de coagulación de los tratamientos en cada repetición y se sometió a un análisis de varianza para observar la significancia de los factores y la interacción, donde posteriormente se sometió a pruebas LSD Fisher con 0.05% de significancia. El Rendimiento se determinó pesando el producto terminado un día después de su elaboración.

Evaluación Sensorial: Las 27 unidades experimentales se sometieron a análisis sensorial con 30 jueces semientrenados, se realizó una prueba discriminativa, de diferenciación llamada prueba escalar de control donde se evaluó la existencia de diferencias producidas por los tipos de coagulantes entre uno o más muestras con respecto a otra.

## V RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El trabajo investigativo se realizó en las fechas comprendidas de 4 de julio al 12 de noviembre. Se realizaron pruebas preliminares para disminuir el error y adaptar el experimento al proceso estandarizado. La elaboración de queso se realizó con muestras de 5 litros de leche por cada unidad experimental, 45 g de sal (NaCl) y el coagulante se utilizó según el tratamiento y la dosificación del fabricante para las marcas comerciales: Chy max M (0.2 ml), Marshall (0.4 ml) y para tres muñecas (0.1 g).

### 5.1 Análisis Estadísticos

Los resultados obtenidos de los factores de estudio (temperatura y tipo de coagulante) para las variables respuesta (tiempo de coagulación, rendimiento y características sensoriales) se detallan a continuación mediante análisis estadísticos de: ANAVA y t test LSD Fisher para la comparación de medias de los factores altamente significativos.

#### 5.1.1 Tiempo de coagulación de leche

Según el análisis de varianza ANAVA (Anexo 4) se muestra que los factores de estudio tipo de coagulante y temperatura se ajustan al modelo con un  $R^2 = 0.84$ ; es decir que en un 84% los factores de estudio explican la variable tiempo de coagulación y en 16% se explica por otros factores que no fueron tomados en cuenta para la realización de este experimento.

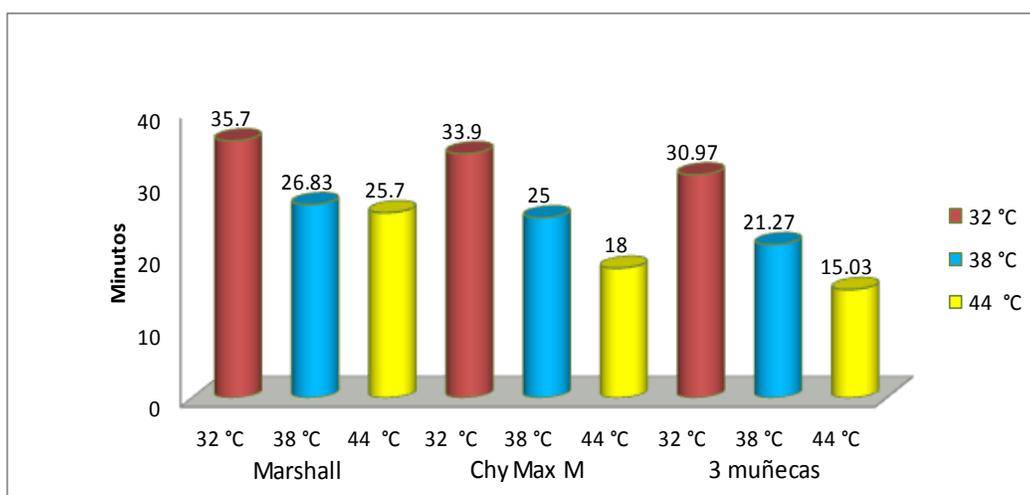
La variable tiempo de coagulación presentó un coeficiente de variación de 24.63 lo que significa que los datos obtenidos están muy dispersos y no hay confiabilidad en la toma de los datos para la variable respuesta. Esto se debió a que el método utilizado para medir el

tiempo de coagulación no fue el mejor porque presento mucha variabilidad en los resultados.

El factor coagulante y la interacción (Temperatura\*tipo de coagulante) estadísticamente no presentan significancia ( $P < 0.05$ ), lo que significa que el coagulante no tiene efecto sobre la variable respuesta tiempo de coagulación. En el factor temperatura presento diferencias altamente significativa para p-valor ( $P < 0.01$ ) de manera que la variable respuesta tiempo de coagulación esta influenciada directamente por el factor de estudio temperatura.

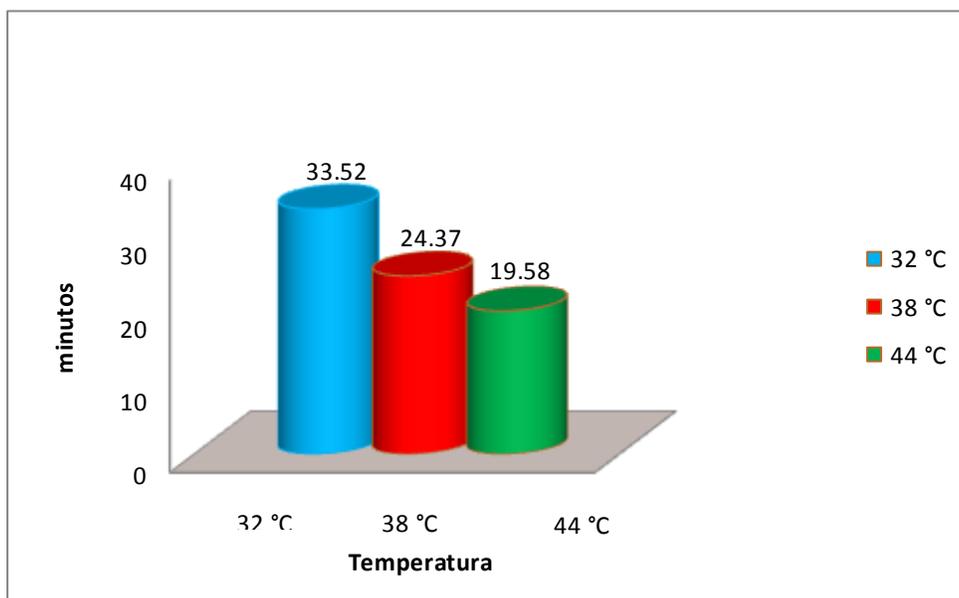
Se representan gráficamente las tendencias de los coagulantes; Marshall, Chy max M y tres muñecas, a las temperaturas de 32, 38 y 44 °C sobre la variable respuesta tiempo de coagulación.

En la figura 4 se observa el comportamiento de los coagulantes a las diferentes temperaturas de coagulación. 15.03 minutos y por el contrario asciende a 33.9 minutos cuando la temperatura es igual a 32 °C. El menor tiempo de coagulación se obtuvo con el tratamiento número 9 representado por el coagulante 3 muñecas a temperaturas de 44°C.



**Figura 4.** Tiempo de Coagulación a diferentes temperaturas

El tiempo de coagulación es inversamente proporcional a la temperatura, esto refiere que a mayor temperatura menor tiempo de coagulación y viceversa. En la Figura 5 se muestra gráficamente el comportamiento del tiempo de coagulación en función de la temperatura representado con un 33.52 minutos el tiempo de mayor coagulación a temperaturas de 32 °C y 19.58 minutos a temperaturas de coagulación de 44 °C.



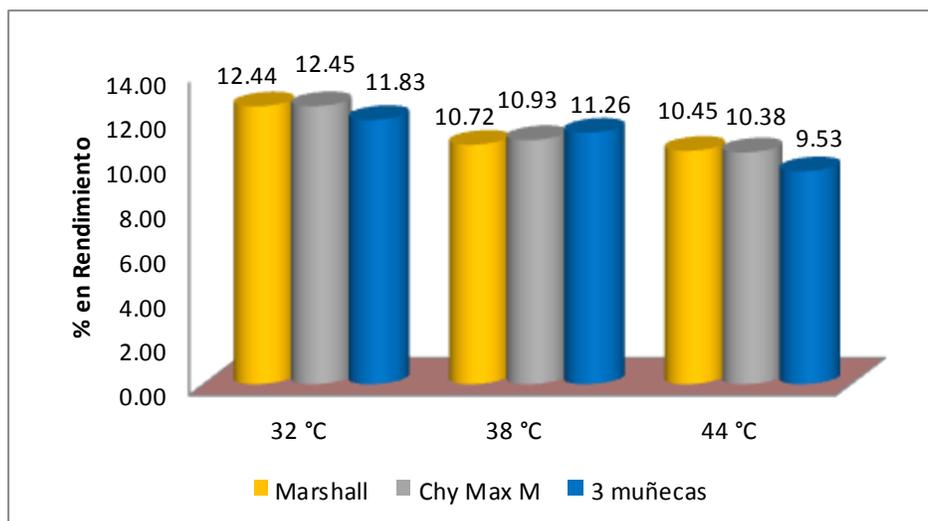
**Figura 5.** T test LSD Fisher para temperatura

### 5.1.2 Rendimiento

El análisis de varianza ANAVA (Anexo 4) para la variable rendimiento muestra un  $R^2=0.43$ ; es decir que los factores que se tomaron en cuenta explican en un 43% este experimento y el otro 57% es explicados por factores que no se incluyeron en el modelo, como ser composición de la leche, practicas de elaboración, presencia de mastitis en leche, entre otras. Se obtuvo un coeficiente de variación de 13.91 lo que significa que los datos obtenidos se encuentran en el rango admisible de confiabilidad.

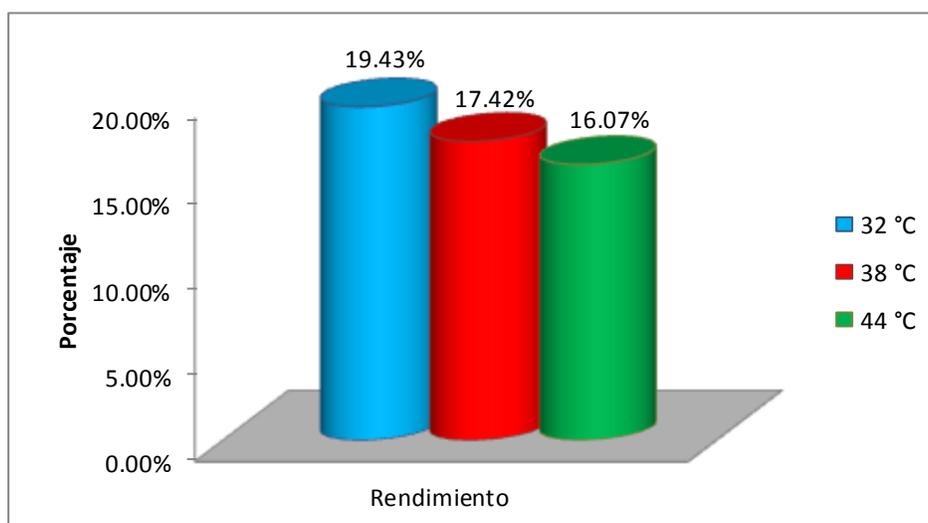
El factor coagulante y la interacción temperatura\*coagulante; estadísticamente no presentan significancia ( $P < 0.05$ ), lo que significa que el coagulante no tiene efecto sobre la variable respuesta rendimiento. El factor temperatura presentó diferencias altamente significativa para p-valor ( $P < 0.01$ ) de manera que la variable respuesta está influenciada en la temperatura de coagulación.

En la Figura 6 se observan los mejores rendimientos a temperaturas de 32 °C con los coagulantes Marshall y Chy max y el menor rendimiento obtenido se obtuvo con el coagulante tres muñecas a temperaturas de 44 °C. Estadísticamente no se encuentran diferencias entre un coagulante a otro, es decir que usar cualquier coagulante tiene el mismo efecto en el rendimiento o este puede estar influenciada por otros factores que no se tomaron en cuenta en la realización de este experimento.



**Figura 6.** Rendimientos de los 9 tratamientos

El Rendimiento es inversamente proporcional a la temperatura, observándose que a mayor temperatura menor tiempo de coagulación y viceversa. En la Figura 7 se muestra gráficamente el promedio de los rendimientos en función de la temperatura representado con un 19.43% minutos el tiempo de mayor coagulación a temperaturas de 32 °C y 16.07% a temperaturas de coagulación de 44 °C.



**Figura 7.** T test LSD Fisher para la variable Rendimiento

### 5.1.3 Evaluaciones sensoriales

Los resultados de análisis sensoriales obtenidos se considerando las siguientes características organolépticas de lo quesos: intensidad de textura e intensidad de amargor.

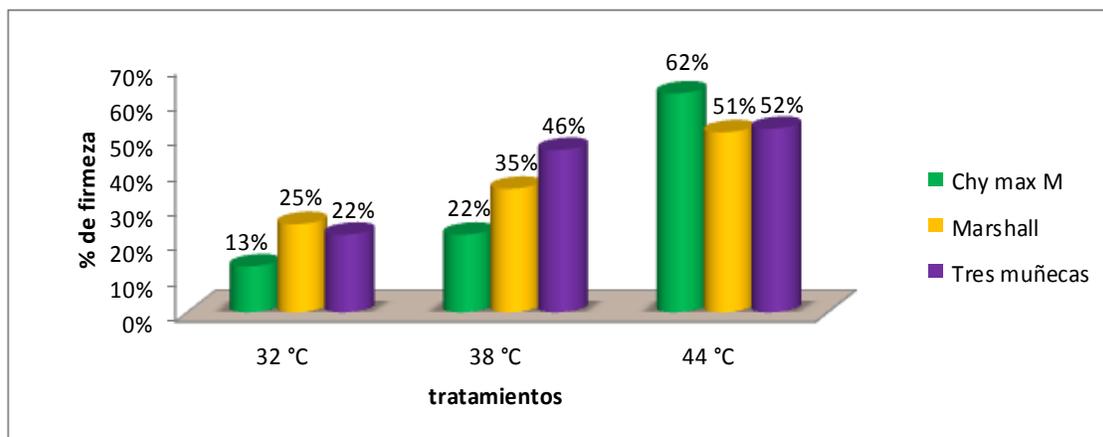
En el ANAVA (Anexo 5) realizado para la intensidad de sabor y textura indica que solo en un 25% se ajustan los factores tipo de coagulante y temperatura a la variable respuesta intensidad de amargor en el queso y un 89% de la variable intensidad de textura.

Se presenta un coeficiente de variación para la intensidad de textura de 69.98, esta variabilidad indica que los catadores no supieron identificar el amargor de los quesos, o

bien que los quesos no presentaban amargor detectable por los catadores y los resultados obtenidos lo hicieron fue al azar. Y un coeficiente de variación de 19.76 encontrado en el rango de confiabilidad de los datos obtenidos.

El factor coagulante, temperatura y la interacción (Coagulante\*Temperatura) estadísticamente no presentaron significancia ( $P < 0.05$ ), es decir, que ninguno de los factores tomados explican la variable intensidad de amargor del queso. Y para la variable intensidad de textura se encontró diferencia altamente significativo solo para la el factor de estudio a la temperatura y para el factor coagulante, interacción (Coagulante\*Temperatura) estadísticamente no presentaron diferencias significativas para p-valor ( $p < 0.05$ ).

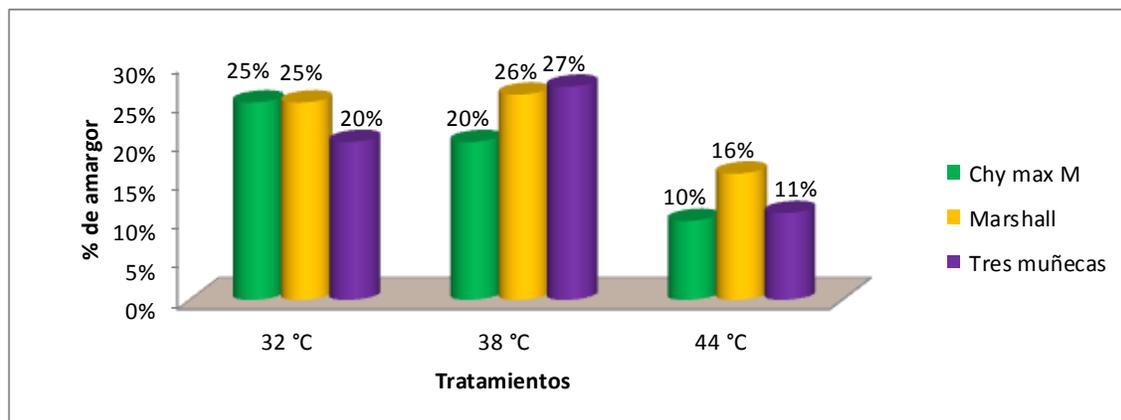
La Figura 8 se presenta tres diferentes tipos de coagulantes sometidos a evaluaciones sensoriales con jueces semientrenados. Según los resultados obtenidos por los catadores calificaron al tratamiento Chy max M a temperaturas de 44 °C como el queso que presentaba mejor textura en un 62 %.



**Figura 8.** Intensidad de firmeza

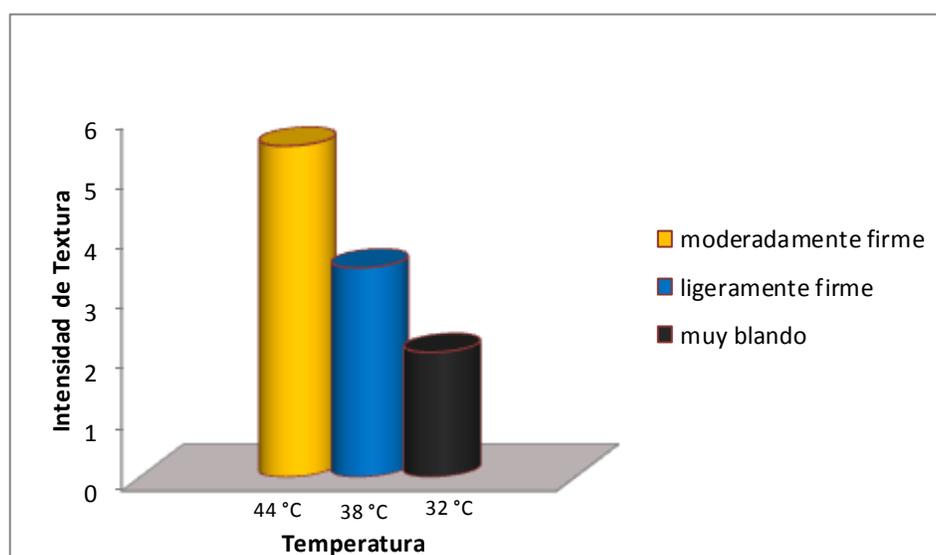
Con respecto a la calificación del sabor se observa en la Figura 9 en el gráfico de intensidad de amargor los quesos mas amargos se obtuvieron a temperaturas de 38 y 32 °C según los

catadores y el menor porcentaje de amargor calificado por los catadores fue el tratamiento 44 °C con el coagulante Chy más M con un 10%.



**Figura 9.** Intensidad de amargor

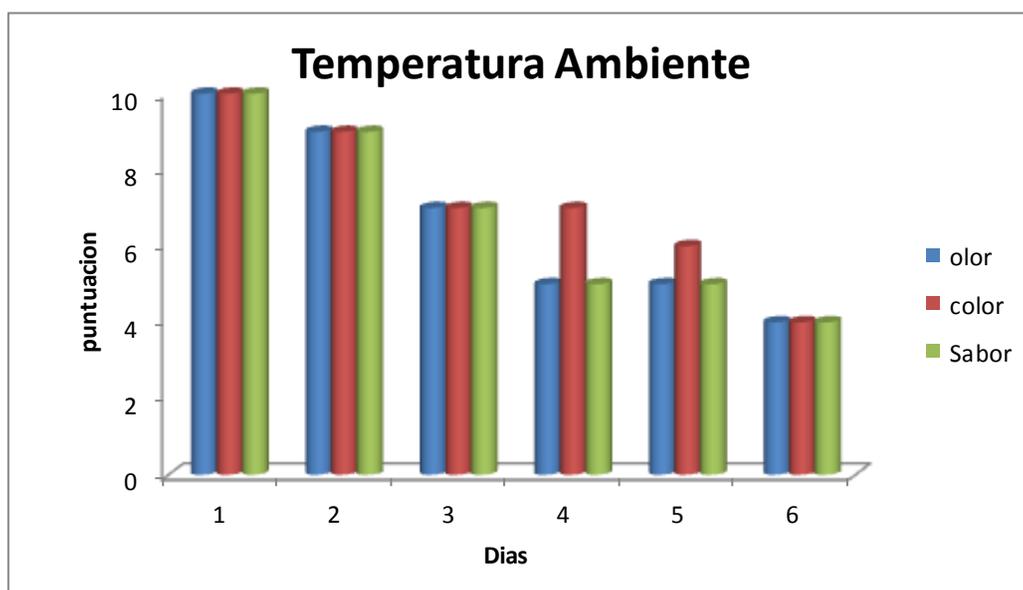
Con respecto a la intensidad de textura Figura 10 se presenta una comparación de medias para las temperaturas de 44, 38 y 32 °C, indicando que a la mayoría de las personas calificaron que los quesos más firmes se obtienen a temperatura de coagulación de 44°C y por lo contrario muy blandos a 32 °C.



**Figura 10.** T test LSD para la variable Textura

## 5.2 Vida de anaquel del queso en función del tiempo

La vida de anaquel no se observó diferencia en el uso de un coagulante a otro, es decir que la vida de anaquel está directamente relacionada de las temperaturas de almacenamiento y de las condiciones de medio ambiente a las que se someta.



**Figura 11.** Vida de anaquel a temperatura ambiente

Descripción de Calidad	Escala o puntuación
Excelente	10
Muy buena	8 – 9
Buena	6 – 7
Regular	5
Limite no comestible	4

Las 27 unidades experimentales presentaron las mismas características sensoriales en los primeros días, a medida pasaba el tiempo el color de los quesos aumento la intensidad de color crema a un amarillo mas notable, el sabor a acido y el olor a putrefacto. Teniendo una calificación de limite no comestible a los 6 días a temperatura ambiente y de 22 a 25 días a temperaturas de 4-6 °C.

## VI CONCLUSIONES

Los quesos no mostraron diferencias significativas entre el uso de un coagulante a otro para el tiempo de coagulación, Rendimiento, características sensoriales (Sabor y textura) ni para vida de anaquel.

La temperatura presentó altamente significancia el tiempo de coagulación, rendimiento, la textura de los quesos, es decir que la temperatura de coagulación está directamente influenciada la elaboración del queso fresco.

Estadísticamente los mejores rendimientos se obtuvieron a temperaturas de coagulación de 32 °C, sin embargo la gente lo calificó con quesos con textura muy blanda y sabor ligeramente amargo.

El uso del coagulante FPC Chy max M a temperatura de coagulación de 44°C según los catadores fue el queso que más les gusto porque no encontraron amargor en el queso y la textura presento buena firmeza.

La vida de anaquel del queso fresco no difiere en el uso de un coagulante a otro, es decir que todos los coagulantes estadísticamente tienen el mismo efecto sobre la vida útil del producto y que estas esta influencia directamente por las temperaturas de almacenamiento.

## **VII RECOMENDACIONES**

Evaluar el poder de los coagulantes antes de comenzar el proceso de elaboración de queso, para tener confiabilidad en los datos de los resultados.

Realizar análisis físico-químicos y nutricionales a la leche para disminuir las desviaciones en los resultados a obtener en el tiempo de coagulación y rendimiento.

Evaluar el coagulante Chy Max M a escala de industria si se quiere obtener un cálculo real de los beneficios que presenta.

Trabajar con leche fresca, no mastíticas y libre de residuo de antibiótico, porque está influenciada directamente en la coagulación de la leche

## VIII BIBLIOGRAFIA

AAPPA (Academia de área planta piloto de alimentos).2003. Introducción a la tecnología alimentaria. Segunda edición. México, Distrito Federal. Limusa. P 36-37.

Aguilar, R; Arena, A; Bermúdez, M; Mendoza, M; Rivera, R; Solano, N; Batres, R; Solís, G; Pérez, E; Saballos, L; Mercado, J; Miranda, U; Rivera, J; Méndez, P; Escobar, N; Granja, N. 1999. Norma de quesos frescos no madurados. (En Línea) Nicaragua. Consultado 05 de noviembre del 2012. Disponible en: <http://www.oirsa.org/aplicaciones/subidoarchivos/MarcoLegalCRIA/NTON0302299NILEche.htm>

Alais, C; Lacasa Godina, A. 2003. Ciencia de la leche: principales técnicas lecheras. Reverté. Cuarta edición. España. P 618-873.

Benavidez Castro, TA. 2003. Efecto de las Variantes Genéticas A y B de  $\kappa$ -Caseína y  $\beta$ -lactoglobulina sobre las propiedades de coagulación de la leche. Tesis Lic. Universidad Astral de Chile. P 10-12

Bylund, G. 1996. Manual de industria láctea. Trad. A, López Gómez y A, Madrid Vicente. Editorial Tetra pak Iberia. España. Pag 24.

Chamorro, C; Losada, M. 2002. El análisis sensorial de los quesos. Editorial Mundi-prensa libros. España. P 26.

Ferrandini, E; López, MB; Laencina, J; Castillo, M; Roca, JD; López, C; Rodríguez, M. 2007. Cuajos en pastas naturales en la industria láctea. Informe técnico. Universidad de Munguía, España; Universidad de Kentucky, Lexington, USA. No. 3:27-32. P 2.

Foltmann, B.F. 1993. General and molecular aspects of rennet, in Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology Ed.PF fox. London, Glasgow, New York, Melbourne y Madras. Vol 1. Pag 37-38.

Fox, P.F; McSweeney, P.L.H. 1997. Rennet: their role in milk coagulation and cheese ripening, in Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk. Ed 2. London. pag. 1-49.

Fundación Ahdonay. 2007. Análisis de queso (En línea). Argentina. Pag 1. Consultado 27 de mayo del 2012. disponible en: [http://alimencion.org.ar/index.php?option=com\\_content&view=article&id=1117:analisis-sensorial-de-quesos&catid=38:publicaciones-especializadas&Itemid=56](http://alimencion.org.ar/index.php?option=com_content&view=article&id=1117:analisis-sensorial-de-quesos&catid=38:publicaciones-especializadas&Itemid=56)

Guamis López, B. 2009. Queso de cabra de larga vida útil. *SI*. P 1.

Hansen, C. 2003. Foro: Enzimas coagulantes (en línea). P 2-4. Consultado el 16 mayo del 2012 Disponible en: <http://secnetpro.com/fepale/foro2/enzimas%20coagulantes%201.doc>

Hansen, C. *s.f.* Cuajos. (En línea). México. P 1. Consultado el 01 de junio del 2012. Disponible en: [www.plm-alimentario.com/src/productos/19\\_cuajos.html](http://www.plm-alimentario.com/src/productos/19_cuajos.html)

Harboe, M. Budtz, P. 2003. Producción, Acción y aplicación de cuajo y coagulantes. Buenos Aires, Argentina. P 4.

Harboe, M. K.; Horsholm, DK. 1992. Coagulants of different origin. European Dairy Magazine. pág 6-15.

Hernández Alarcón, E. 2005. Evaluación Sensorial. Bogotá, Colombia. P 30.

Herrera R, CH; Bolaños V, N; Lutz C, G. 2003. Química de los alimentos. Editorial de la universidad de Costa Rica. Primera edición. Pág 98.

Hernández Gil, A. 2010. Tratado de nutrición. Segunda edición, Tomo II: composición y calidad nutritiva de los alimentos. Medica panamericana. Madrid, España. Pág 23.

Hernández Rodríguez, M; Sastre Gallego, A. 1999. Tratado de nutrición. Editor Díaz de Santos. España. P 385.

Ibarlucea, I; López, G. 2008. Enzimas del cuajo para la producción de quesos. (En línea) *sl*. Consultado el 24 de septiembre del 2012. Disponible en: <http://www.theindustrialenzymologist.blogspot.com/2008/11/enzimas-del-cuajo-para-la-produccn-de.html>

IDEAL (Ingeniería y desarrollo alimentario). *S.f*. Generalidades de los cuajos. Boletín informativo. D, F. P 4-5.

Industria Alimentaria. 2010. Enzimas coagulantes (En línea). Art. P 1. Consultado 29 de mayo del 2012. Disponible en: [http://www.industriaalimenticia.com/Archives\\_Davinci?article=1464](http://www.industriaalimenticia.com/Archives_Davinci?article=1464)

Instituto canario de investigaciones agropecuarias. 2007. Características sensoriales: Quesos DOP. Islas Canarias. P 7.

Mercier, J.C; Ribadeau-Dumas, B.Y; Groscaulade, S. 2012. Amino-acid composition and sequence of bovine k-casein. (En línea). (SI) Consultado 29 de agosto del 2012. Disponible en: [http://www.wikipedia.orange.es/wiki/leche#cite\\_note-46](http://www.wikipedia.orange.es/wiki/leche#cite_note-46).

Mestres Lagarrita, J; Roser Romero, S. 2004. Productos lácteos tecnología. Editor Univ. Politèc. de Catalunya. Barcelona, España. P 156.

Pérez Yuset, JP. 2004. Extracción de proteasas de *Ulex europaeus* L. y su potencial utilización como sustituto de cuajo. Tesis Lic. Universidad Austral de Chile. P 14-15.

Secretaria de agricultura y ganadería. 2011. Honduras: producción de leche. (en Línea) Honduras. Consultado 16 de junio del 2012. Disponible en: <http://www.revistasumma.com/negocios/15804-honduras-produccion-de-leche-llega-a-los-650-millones-de-litros.html>

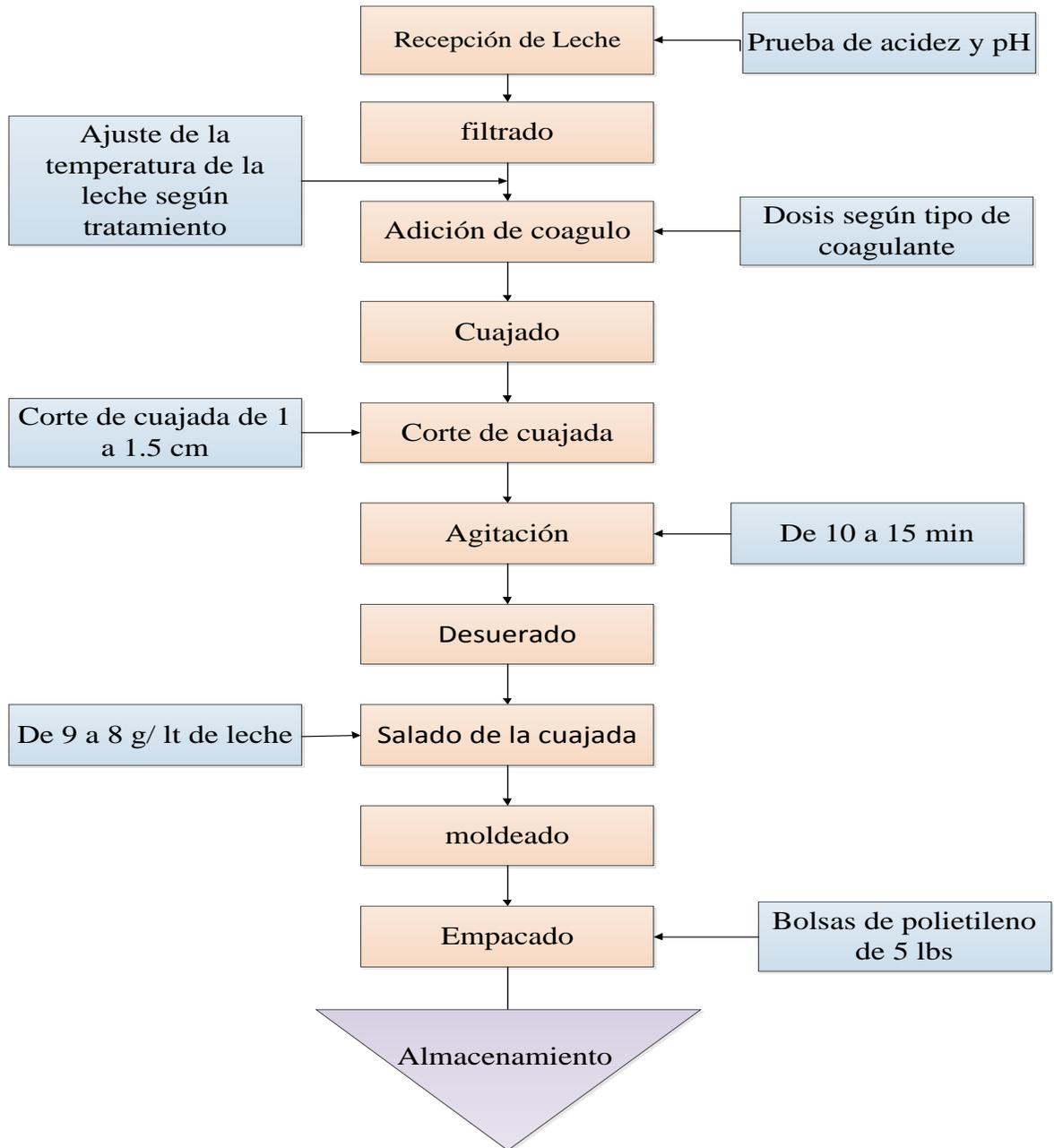
Steele, R. 2004. Understanding and measuring the shelf-life of food. Woodhead publishing limited. Primera edición. Inglaterra. P 15.

Tomaello, F. 2010. El valor nutritivo del queso. (En línea) Pergamino virtual. Nro. 1.847.110. Consultado el 31 de mayo del 2012. Disponible en: <http://pergaminovirtual.com.ar/diario/empresas/4082.html>

Valencia Garcia, FE; Millan Cardona, LJ; Jaramillo Garcés, Y. 2008. Estimación de la vida fisicoquímica sensorial e instrumental de queso crema bajo en calorías. (En línea) Revista de investigación universitaria lasallista. Consultado el 12 de junio del 2012. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S1794-44492008000100005&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S1794-44492008000100005&script=sci_arttext)

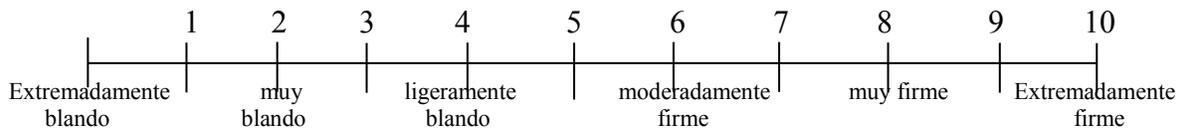
# ANEXOS

**Anexo 1.** Flujograma de proceso del queso fresco



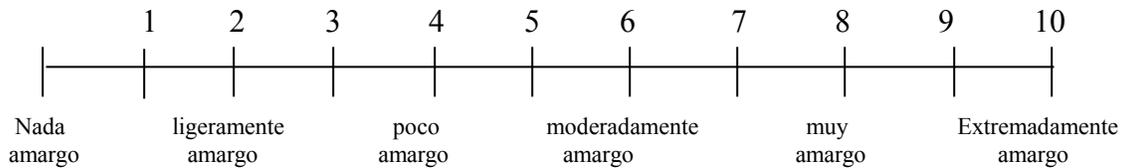
**Anexo 2.** Formato de evaluación sensorial de la textura

**Instrucciones:** Frente a usted tiene 5 muestras codificadas de queso, las cuales debe probar una a la vez y evaluarlas de acuerdo al grado de intensidad de textura y sabor de la muestra. Enjuáguese la boca y pruebe la siguiente muestra utilizando el mismo procedimiento.



Código de la Muestra

Intensidad de textura    \_\_\_\_\_



Código de la Muestra

Intensidad de sabor    \_\_\_\_\_

Comentarios \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**GRACIAS POR SU COLABORACIÓN!!!**

### Anexo 3. Formato hoja de calificación para la vida de anaquel

**Tipo:** Valoración de puntaje compuesto

**Método:** De puntaje compuesto

**Producto:** Queso fresco

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

Por favor disguste las muestras que se presentan y califíquelas de acuerdo al siguiente puntaje.

<b>Descripción de Calidad</b>	<b>Escala</b>
Excelente	10
Muy buena	8 – 9
Buena	6 – 7
Regular	5
Limite no comestible	4

### Resultados

Tratamientos	Características Sensoriales		
	Olor	Color	Sabor
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			

#### Anexo 4. Análisis de varianza

ANAVA para la variable tiempo de coagulación

$$R^2 = 0.84$$

$$CV = 24.63$$

<b>F.V</b>	<b>GI</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>FC</b>	<b>Pr&gt;F</b>
Coagulante	2	220.28	110.14	2.72	0.0960
Temperatura	2	903.62	451.81	11.17	0.0009
Coagulante*Temperatura	4	44.12	11.03	0.27	0.8913
Repetición	2	2295.02	1147.51	28.37	<0.0001
Error	16	647.23	40.45		
<b>TOTAL</b>	<b>26</b>	<b>4110.27</b>			

ANAVA para la variable Rendimiento

$$R^2 = 0.40298$$

$$CV = 13.925$$

<b>F.V</b>	<b>GI</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>FC</b>	<b>Pr&gt;F</b>
Rep	2	16407.57	8203.78	0.54	0.5911
Coagulante	2	4800.40	2400.20	0.16	0.8543
Temperatura	2	129069.31	64534.66	4.28	0.0325
Coagulante*Temperatura	4	12730.80	3182.70	0.21	0.9289
Error	16	241503.49	15093.97		
<b>TOTAL</b>	<b>26</b>	<b>404511.56</b>			

ANAVA para Sabor de queso fresco

$R^2 = 0.25$

CV = 69.68

<b>F.V</b>	<b>GI</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>FC</b>	<b>Pr&gt;F</b>
Repetición	2	3.58	1.79	0.77	0.4789
Coagulante	2	1.77	0.88	0.38	0.6894
Temperatura	2	3.37	1.68	0.73	0.4995
tratamiento	4	3.34	0.84	0.36	0.8336
Error	16	37.16	2.32		
<b>TOTAL</b>	26	49.23			

ANAVA para textura de queso fresco

$R^2 = 0.89$

CV = 19.76

<b>F.V</b>	<b>GI</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>FC</b>	<b>Pr&gt;F</b>
Repetición	2	1.09	0.54	1.03	0.3790
Coagulante	2	2.57	1.29	2.44	0.1189
Temperatura	2	53.28	26.64	50.55	<0.0001
tratamiento	4	9.92	2.48	4.70	0.0106
Error	16	8.43	0.53		
<b>TOTAL</b>	26	75.29			