



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS, RECURSOS NATURALES Y
DEL AMBIENTE**

CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

**Trabajo de Titulación Previo a la Obtención del Título de Ingeniero Agroindustrial,
Otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar a través de la Facultad de Ciencias
Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, Escuela de Ingeniería
Agroindustrial**

TEMA:

**UTILIZACIÓN DE LA ENZIMA FICINA EXTRAIDA DEL HIGO PARA LA
ELABORACIÓN DEL QUESO ANDINO**

AUTOR:

JARRIN ALBÁN JULIO ADRIAN

DIRECTORA:

ING. MARÍA BERNARDA RUILOVA PHD

GUARANDA - ECUADOR

2016

**UTILIZACIÓN DE LA ENZIMA FICINA EXTRAIDA DEL HIGO PARA LA
ELABORACIÓN DE QUESO ANDINO**

REVISADO Y APROBADO POR:

.....
ING. BERNARDA RUILOVA, Ph. D
DIRECTORA

.....
ING. PATRICIA IZA, M Sc
BIOMETRÍSTA

.....
ING. MARCELO GARCÍA, M Sc
ÁREA DE REDACCIÓN TÉCNICA

CERTIFICACIÓN DE AUTORÍA

Yo, Julio Adrián Jarrín Albán, con número de cédula de ciudadanía 0201580560, declaro que el trabajo y los resultados presentados en este informe no han sido previamente presentados para ningún grado o calificación profesional; y que las referencias bibliográficas que se incluyen han sido consultadas y citadas con su respectivo(s) autor(es).

La Universidad Estatal de Bolívar puede hacer uso de los derechos de publicación correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, su Reglamentación y la Normativa Institucional vigente.

.....
JULIO ADRIÁN JARRÍN ALBÁN

CI: 0201580560

.....
ING. BERNARDA RUILOVA, Ph. D

DIRECTORA

.....
ING. MARCELO GARCÍA, M Sc

ÁREA DE REDACCIÓN TÉCNICA

DEDICATORIA

Dedico este trabajo con todo mi corazón a los seres que me dieron la vida mis padres, abuelitos, familiares y de manera especial a mi madre Anita Albán y mi padre Lenin Jarrín, que con su amor, confianza, cariño, ejemplo y sabiduría han contribuido para alcanzar todos los objetivos que me he propuesto en la vida.

JULIO

AGRADECIMIENTO

Faltarían hojas para agradecer de la forma que realmente se merecen a las personas que me ayudaron a concluir este trabajo, lógicamente a mis padres, la razón, fuerza y motor que me impulsa a cada paso de mi vida.

A la Universidad Estatal de Bolívar, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, Escuela de Ingeniería Agroindustrial por haberme recibido en su seno y permitirme fortalecer los conocimientos, a los docentes y facilitadores académicos que aportaron en mi formación.

Como no podría ser de otra manera a mi directora Dra. María Bernarda Ruilova, Ing. Patricia Iza, biometrista e Ing. Marcelo García, área de redacción técnica, por entregarme sus conocimientos impartidos que me han permitido terminar con éxito esta investigación.

JULIO

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CONTENIDO	PÁG.
I. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.....	1
II. PROBLEMA.....	3
III. MARCO TEORICO.....	5
3.1. El higo.....	5
3.1.1 EL látex de higo.....	6
3.1.2 Propiedades y función.....	6
3.1.3 Proteasas de látex del higo.....	6
3.2 Enzimas.....	7
3.2.1 Perspectiva histórica.....	8
3.2.2 Funciones de las enzimas.....	10
3.2.3 Sustratos.....	10
3.2.4 Propiedades de la enzimas.....	11
3.3 Enzimas presentes en el higo.....	11
3.3.1 Las enzimas proteasas o proteolíticas.....	12
3.4 Hidrolasas vegetales.....	13
3.4.1 Aplicaciones industriales de la ficina.....	14
3.4.2 Características de la acción enzimática.....	15
3.5 Las enzimas en la cadena agroalimentaria.....	15
3.5.1 Productos lácteos.....	15
3.5.2 Coagulantes vegetales.....	16
3.5.3 Función del cuajo vegetal.....	17
3.5.4 Origen del cuajo vegetal.....	17
3.5.5 Ventajas del uso del cuajo vegetal.....	19
3.5.6 Propiedades de coagulación.....	19
3.6 Uso de la ficina para la producción de queso.....	20
3.6.1 La ficina.....	21
3.7 Determinación del índice de madurez en frutas.....	21

3.7.1	Firmeza de la pulpa o presión.....	22
3.7.2	Sólidos solubles.....	22
3.7.3	Escalas colorimétricas.....	23
3.7.4	Determinación del índice de madurez (escala colorimétrica) en el higo.....	23
3.8	La leche.....	24
3.8.1	Clasificación de los quesos.....	25
3.8.2	El queso andino.....	26
IV.	MARCO METODOLÓGICO.....	27
4.1	Materiales.....	27
4.1.1	Localización de la investigación.....	27
4.1.2	Situación geográfica y climática.....	25
4.1.3	Zona de vida.....	28
4.1.4	Material experimental.....	28
4.1.5	Materiales de campo.....	28
4.1.6	Materiales de oficina.....	29
4.2	Métodos.....	29
4.2.1	Factores en estudio.....	29
4.2.2	Tratamientos.....	30
4.2.3	Tipo de diseño experimental.....	31
4.2.4	Procedimiento.....	31
4.2.5	Tipo de análisis.....	32
4.2.6	Métodos de evaluación y datos a tomarse.....	32
4.3	Manejo del experimento.....	36
4.4	Elaboración del queso andino.....	38
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	42
5.1	Análisis físico químico en la materia prima.....	42
5.1.1	Análisis físico, determinación de índice de madurez.....	42
5.1.2	Análisis químicos, determinación de pH, Acidez y Grados Brix en el higo.....	42
5.1.3	Análisis de pH, acidez y grados Brix en el látex del higo.....	43
5.1.4	Porcentaje de enzima aislada mediante el peso.....	44

5.1.5	Actividad proteolítica.....	45
5.2	Análisis en el producto terminado.....	46
5.2.1	Determinación de pH.....	46
5.2.2	Determinación de acidez (g/ 100 g de ácido láctico).....	50
5.2.3	Determinación del análisis sensorial del queso andino elaborado con la enzima ficina. (Cataciones).....	54
5.2.4	Realización de análisis microbiológicos para mohos y levaduras realizados al queso elaborado con la enzima ficina.....	61
5.2.5	Análisis microbiológicos para mohos y levaduras realizados al queso elaborado con la enzima ficina.....	61
VI.	COMPROBACIÓN DE LA HIPOTESIS.....	63
6.1	Hipótesis nula.....	63
6.2	Hipótesis alternativa.....	63
6.3	Decisión.....	64
VII.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	65
7.1	Conclusiones.....	65
7.2	Recomendaciones.....	67
	BIBLIOGRAFÍA.....	68
	ANEXOS.....	73

ÍNDICE DE GRÁFICOS

CONTENIDO	PÁG.
Grafico 1 Escala colorimétrica establecida para el higo.....	23
Grafico 2 Perfil de Tukey para el pH del queso elaborado con la enzima ficina.....	49
Grafico 3 Perfil de Tukey para la acidez del queso elaborado con la enzima ficina...	53

ÍNDICE DE TABLAS

CONTENIDO	PÁG.
Tabla 1 Composición nutricional por cada 100 g de higo.....	5
Tabla 2 Plantas con extractos coagulantes de la leche.....	18
Tabla 3 Indicadores del índice de madures del fruto de higo.....	24
Tabla 4 Datos de la localización de la investigación.....	27
Tabla 5 Datos de la situación geográfica y climática.....	27
Tabla 6 Factores en estudio de la investigación.....	28
Tabla 7 Tratamientos realizados en la investigación.....	31
Tabla 8 Grados de libertad de diseño experimental propuesto.....	32
Tabla 9 Valores de pH, acidez y grados Brix realizados al fruto de higo.....	43
Tabla 10 Valores de pH, acidez y grados Brix realizados al látex de higo.....	44
Tabla 11 Porcentaje de enzima asilada de los higos en sus diferentes estados de madurez..	45
Tabla 12 Valores de tiempo (minutos) de actividad proteolítica.....	45
Tabla 13 Valores de pH obtenidos en la elaboración del queso andino con la utilización de la enzima ficina.....	46
Tabla 14 Análisis de varianza (ADEVA) para la respuesta experimental pH evaluada al queso andino elaborado con la enzima ficina.....	47
Tabla 15 Tabla de medias para el pH a un intervalo de confianza del 95%.....	48
Tabla 16 Rangos ordenados del perfil de Tukey para el pH del queso elaborado con la enzima ficina.....	48
Tabla 17 Valores de acidez (g/100 g de ácido láctico) obtenidos en la elaboración del queso andino con la utilización de la enzima ficina.....	50

Tabla 18	Análisis de varianza (ADEVA) para la respuesta experimental acidez (g/100 g de ácido láctico) evaluada al queso andino elaborado con la enzima ficina.....	51
Tabla 19	Tabla de medias para el pH a un intervalo de confianza del 95%.....	52
Tabla 20	Rangos ordenados del perfil de Tukey para la acidez del queso elaborado con la enzima ficina.....	52
Tabla 21	Resultados de los promedios obtenidos de la evaluación sensorial del queso elaborado con la enzima ficina.....	55
Tabla 22	Resultados de los promedios obtenidos de la evaluación sensorial del queso elaborado con la enzima ficina.....	55
Tabla 23	Análisis de varianza para el color del queso andino obtenido.....	56
Tabla 24	Prueba de Tukey para el color del queso andino obtenido.....	57
Tabla 25	Análisis de varianza para el olor del queso andino obtenido.....	57
Tabla 26	Prueba de Tukey para el olor del queso andino obtenido.....	58
Tabla 27	Análisis de varianza para el sabor del queso andino obtenido.....	58
Tabla 28	Prueba de Tukey para el sabor del queso andino obtenido.....	59
Tabla 29	Análisis de varianza para la textura del queso andino obtenido.....	59
Tabla 30	Prueba de Tukey para la textura del queso andino obtenido.....	60
Tabla 31	Análisis de varianza para la aceptabilidad del queso andino obtenido.....	60
Tabla 32	Prueba de Tukey para la textura del queso andino obtenido.....	61
Tabla 33	Análisis de mohos y levaduras realizados a los tratamientos de elaboración de queso andino con enzima ficina.....	62
Tabla 34	Verificación de la hipótesis considerando la evaluación sensorial del producto final.....	63

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Mapa de ubicación de la investigación

Anexo 2 Resultados de análisis físico químicos

Anexo 3 Base de datos

Anexo 4 Formato de fichas de recolección de datos

Anexo 5 Fotografías

Anexo 6 Glosario de términos

RESUMEN Y SUMMARY

RESUMEN

El proyecto de investigación titulado “utilización de la enzima ficina extraída del higo para la elaboración de queso andino” se desarrolló en la Universidad Estatal de Bolívar, Complejo Agroindustrial de la Carrera de Ingeniería Agroindustrial.

Uno de los problemas que genera la producción de quesos, es la utilización de leches tratadas con antibióticos, pues inhiben la acción del cuajo comercial (renina) que se degrada con facilidad, lo que no sucede con el cuajo vegetal (ficina) que es más resistente y de mayor efecto. Se plantearon siguientes objetivos: Utilizar la enzima ficina extraída del higo para la elaboración del queso andino; Determinar el índice de madurez del higo para la obtención de la enzima ficina; Extraer la enzima ficina del higo; Utilizar la enzima ficina extraída del higo para la elaboración de queso andino y Evaluar sensorialmente el queso andino obtenido.

Se plantearon dos factores de estudio, factor A “índice de madurez”, con los niveles $A_1 = 25\%$ de índice de madurez y $A_2 = 50\%$ de índice de madurez; factor B “porcentaje de enzima ficina” con los niveles $B_1 = 0.25\%$; $B_2 = 0.50\%$ y $B_3 = 0.75\%$: estos factores fueron evaluados para el análisis estadístico utilizando el programa Statgraphics, mediante la tabla de análisis de varianza ADEVA para los 12 tratamientos propuestos, evaluando las respuestas experimentales de pH y acidez para el queso andino elaborado con la enzima ficina. Se obtuvo como resultado que el tratamiento A_1B_2 conformado por: índice de madurez 25% + 0.50% de enzima ficina fue el mejor tratamiento por presentar valores de pH y acidez comprendidos dentro de la norma técnica ecuatoriana NTE INEN 2620:2012.

El presente trabajo se constituye en un referente para que en investigaciones posteriores con mayor profundidad científica se perfeccione el método para la industrialización y comercialización de este tipo de cuajo vegetal.

SUMMARY

The research project entitled "use of the enzyme ficin extracted from fig for the development of Andean cheese" was developed in the, Complejo Agroindustrial Bolivar State University Career of Agroindustrial Engineering.

One of the problems generated by the production of cheese, is the use of milk treated with antibiotics, since they inhibit the action of commercial rennet (renin) that degrades easily, which does not happen with vegetable rennet (ficin) is more resistant and greater effect. They were raised following objectives: Use the ficina enzyme extracted from fig for the development of Andean cheese; Determine the maturity index fig for obtaining the enzyme ficin; Ficina enzyme extract the fig; Using the enzyme ficin extracted from fig for the production of cheese and evaluate sensorially Andean Andean cheese obtained.

study two factors, factor A "maturity index" with levels A1 = 25% maturity index and A2 = 50% maturity index were raised; factor B "percentage of enzyme ficin" to levels B1 = 0.25%; B2 = 0.50% and B3 = 0.75%: these factors were evaluated for statistical analysis using the Statgraphics program, using the table of analysis of variance ANOVA for the 12 proposed treatments, evaluating the experimental responses pH and acidity for the Andean cheese made with enzyme ficin. Was obtained as a result A1B2 treatment consists of: 25% maturity index + 0.50% enzyme ficin was the best treatment because of pH and acidity values fall within the Ecuadorian technical standard NTE INEN 2620: 2012.

This work constitutes a reference for further research in more depth the scientific method for the industrialization and commercialization of this type of vegetable rennet is perfect.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

De una parte del mundo, la técnica de elaboración del queso y su consumo varían radicalmente, según factores históricos, geográficos y económicos. Se afirma que la producción de queso es la más antigua del mundo por tratarse de la forma más primitiva de conservación de un alimento perecedero tan utilizado en toda época como es la leche. (Medina y Aragundi, 2009)

El queso se popularizó mucho en Grecia y Roma. Los romanos lo incluían en su dieta condimentándolo con tomillo, pimienta y otros frutos secos; cuando sus soldados se asentaban en un campamento, elaboraban queso. Con el paso de los años la elaboración y consumo del queso se expandió por toda Europa siendo los principales creadores y productores de nuevas variedades de quesos países como España, Francia, Italia, Dinamarca, Alemania entre otros. (Gavilanes y Salazar, 2003)

El queso andino es un queso firme/semiduro, el cuerpo presenta un color que varía de casi blanco o marfil al amarillo claro o amarillo, tiene una textura firme (al presionarse con el dedo pulgar) que se puede cortar, y se lo puede consumir inmediatamente después de ser elaborado, tiene forma de un cilindro plano y es madurado en ambientes fríos (4 °C aproximadamente) y que al transcurrir del tiempo adquieren sabores y aromas agradables provenientes del fermento lácteo utilizado.

En Sudamérica los principales países ganaderos, Argentina y Brasil han desarrollado fuertemente la industria del queso. En el continente africano se produce el queso principalmente con leche de Camello. Y en el continente asiático, se consume mucho el Tofu que es un queso chino fabricado con leche de Yak. El queso se trata de un producto lácteo con una diversidad bastante amplia en cuanto a maneras de preparar y consumir. (Cerezo y Córdova, 2009)

De estas industrias el 90% se encuentran ubicadas en el callejón interandino con una fuerte concentración en las provincias del centro norte de la sierra (Pichincha, Cotopaxi, Imbabura, Carchi) y se dedican principalmente a la producción de leche pasteurizada, quesos, crema de leche y otros derivados en menor proporción. (MAGAP, 2013)

En la provincia de Bolívar, en las comunidades rurales elaboran queso en forma artesanal, utilizando cuajo natural en precarias condiciones de higiene, luego el producto es comercializado en el mercado local sin ningún tipo de control sanitario

En esta investigación se planteó el objetivo general:

Utilizar la enzima ficina extraída del higo (*Opuntia Ficus Indica*) para la elaboración del queso andino.

Además se plantearon los siguientes objetivos específicos:

1. Determinar el índice de madurez del higo para la obtención de la enzima ficina.
2. Extraer la enzima ficina del higo (*Opuntia Ficus Indica*).
3. Utilizar la enzima ficina extraída del higo para la elaboración de queso andino
4. Evaluar sensorialmente el queso andino obtenido.

CAPÍTULO II

PROBLEMA

En la industria de productos lácteos, específicamente de elaboración de quesos frescos, se utiliza cuajo comercial, que es un aislado de origen animal (enzima renina) proveniente del estómago de los rumiantes, de esta manera se ve limitada al uso exclusivo de esta.

Uno de los problemas que habitualmente se genera en el sector lechero y específicamente en la producción de quesos es la utilización de leches tratadas con antibióticos, las mismas que en el proceso de coagulación de la proteína tiene muchos problemas en vista que los residuos de antibiótico inhiben el desarrollo de la renina (cuajo de procedencia animal) que se degrada con facilidad, lo que no sucede con el cuajo vegetal como es el caso de la ficina que es mucho más resistente y de mayor efecto que la renina. (FAO, 2013)

Otros de los inconvenientes del cuajo comercial es que los fabricantes recomiendan guardar el cuajo en un lugar oscuro, lejos de la luz solar directa y en un lugar fresco y seco, incluso obligatoriamente mantenerlo en refrigeración ya que pierde fuerza o actividad y su vida de anaquel fenece rápidamente, ocasionando que el producto a elaborar (queso) tenga problemas de calidad y estabilidad. (FAO, 2013)

Además hoy en día el consumidor de queso requiere de productos que satisfagan sus necesidades, esto es que se varíe la gama de quesos, los mismos que no pueden ser conseguidos con el cuajo comercial, pues el cuajo de procedencia vegetal crea y genera productos con mayores bondades sensoriales.(MAGAP, 2013)

Debido a los cambios en los gustos del consumidor los requerimientos del mercado todos los años han cambiado en el uso de aditivos, coagulantes, fermentos, empaques. La fabricación del queso y su consumo todavía difieren en la “calidad” desde el queso realizado algunos años atrás, con relación al actual. (MAGAP, 2013)

Las ventajas del uso de cuajos vegetales se deben a un alto contenido de enzimas del tipo de las proteinasas, las mismas que son capaces de coagular las caseínas, producen una cuajada más suave y cremosa que el de procedencia animal, es un cuajo muy proteolítico, lo que significa que produce una transformación más rápida e intensa de las proteínas presentes en la leche. (Hanzen, 2016)

La investigación es de interés porque aporta conocimiento acerca del uso de cuajos vegetales en la elaboración de queso, que dejaron de emplearse por criterios comerciales, por la gran variedad de enzimas industriales existentes en el mercado y además el queso es la modalidad más antigua de transformación industrial de la leche, proporciona proteínas ricas en aminoácidos esenciales no sintetizables por el organismo. La ficina, enzima presente en el látex de las plantas del género ficus, es una proteasa capaz de reemplazar el uso de la renina, dando resultados favorables desde el punto de vista organoléptico y microbiológico. (Hanzen, 2016)

CAPÍTULO III

MARCO TEORICO

3.1 EL HIGO

El higo árbol perteneciente a la familia de las Moráceas. Su tronco, que contiene un látex, mide de tres a nueve metros de alto y tiene un diámetro aproximado de 17.5 cm., del cual se extienden numerosas ramas a su alrededor. Sus hojas son palmeadas de color verde oscuro y áspero al tacto. Es una especie dioica, con flores pequeñas y propias de la época de lluvias. (FAO, 2013).

Tabla 1: Composición nutricional por cada 100 g de higo.

NUTRIENTE	POR CADA 100g
Agua	80
Proteínas	0,75
Lípidos	0,3
Ceniza	0,6
Hidratos de Carbono	12-16

Fuente: (<http://sotelo-ficus.blogspot.com/p/valor-nutricional-del-higo-100gr.html>)

La higuera es originaria de Asia y fue traída por los monjes franciscanos en la colonia a América. El fruto de higuera es el higo y este presenta diversas formas y colores. El higo presenta una concentración alta de calcio, proteína y fibra. El higo se consume como fruto de mesa en estado maduro, pero las pérdidas son muy grandes, ya que los pájaros se comen la mayor cantidad en el estado maduro. Las enzimas proteolíticas presente en el látex de la higuera, han sido extensamente estudiadas y son las denominadas "ficinas", comparando su actividad con la bromelaína y la papaína. Sin embargo, en el fruto de la higuera, el higo, no se han reportado estudios sobre la actividad proteolítica y coagulante que estos presentan. (Cruz y col 2010)

3.1.1. EL látex de higo

El látex es un fluido lechoso compuesto por un suero líquido que contiene en suspensión o en solución, una mezcla compleja de componentes. Los botánicos designan el látex como el citoplasma de los laticíferos (las células vivas especializadas que lo contienen) y por lo tanto, éste presenta una variedad de organelas celulares, como núcleos, mitocondrias, ribosomas, plastidios, vacuolas, aparato de Golgi y retículo endoplasmático y moléculas orgánicas como enzimas, terpenos, alcaloides, vitaminas, carbohidratos, lípidos y aminoácidos libres. Los laticíferos se encuentran bajo presión positiva, por lo cual, una incisión sobre éstos, resulta en una rápida emisión del látex hacia el exterior. (Morcelle, *et al*, 2004)

3.1.2. Propiedades y función

Los principios activos del látex, responsable de su valor en muchas aplicaciones industriales, son las enzimas proteolíticas ficina. Se ha demostrado que la conversión de la forma inactiva a la activa, ocurre cuando el látex es expelido y alcanza un máximo de actividad proteolítica en menos de dos minutos, después del corte o pinchazo en la superficie del fruto. Paralelamente a este proceso, se hacen visibles los síntomas de coagulación del látex, lo que evidencia que este elemento es un factor de primera línea de defensa en plantas, pues los coágulos de látex sellan las heridas y evitan el ingreso de patógenos. (Gómez, 2008)

3.1.3. Proteasas de látex de higo

En el curso de su desarrollo todas las células recambian proteínas y por lo tanto contienen enzimas proteolíticas para cumplir dicha función. Generalmente estas proteasas se encuentran en cantidades relativamente bajas y son frecuentemente difíciles de detectar si no se emplean sustratos muy sensibles. Sin embargo, algunas especies de plantas poseen gran concentración de proteasas en ciertos tejidos. Un ejemplo de ello es el látex obtenido a partir de plantas de diversas familias en el que las enzimas proteolíticas superan el 50% de las proteínas totales. En estos casos la

actividad proteolítica es por lo menos superior en dos órdenes de magnitud a la encontrada en otros tejidos. La abundancia de estas proteasas por sobre los requerimientos para el crecimiento y el desarrollo celular indican que podrían actuar como "aleloquímicos" (Kono y col., 2004).

3.2 ENZIMAS

Las enzimas son unas sustancias (la mayoría proteicas) que actúan como catalizadores o sea facilitan y aceleran muchísimas reacciones químicas que se producen en nuestro organismo sin que ellas mismas sean cambiadas o destruidas durante esa acción. Se encuentran en todos los tejidos de nuestro organismo. Las reacciones químicas se realizan en los seres vivos a gran velocidad, en condiciones muy moderadas de temperatura, pH, presión, etc., gracias a la existencia de catalizadores denominados enzimas. Las enzimas se caracterizan por su notable eficiencia y su extraordinaria especificidad. (Wiseman, 2010)

Químicamente las enzimas son proteínas que actúan como potentes y eficaces catalizadores. Un catalizador es una sustancia que acelera una reacción química, hasta hacerla instantánea o casi instantánea al disminuir la energía de activación. Actúan en pequeña cantidad y se recuperan indefinidamente. No llevan a cabo reacciones que sean energéticamente desfavorables, ni tampoco modifican el sentido de los equilibrios químicos, sino que aceleran su consecución. (Schmidt H y Pennacchiotti I, 2011).

Las enzimas son proteínas, polímeros formados por aminoácidos covalentemente unidos entre sí, que catalizan en los organismos una gran variedad de reacciones químicas. La actividad catalítica de las enzimas depende de que mantengan su plegamiento, es decir, su estructura tridimensional. En esta estructura tridimensional se forman cavidades, llamadas "sitio activo", las cuales muestran afinidad por las moléculas específicas (sustratos) que se convertirán en productos. La combinación de grupos funcionales químicos presentes en estas cavidades genera un conjunto de

interacciones covalentes y no covalentes entre la proteína y el sustrato, que hacen que la conversión de éste en un producto se vea favorecida. (Ramírez J, Ayala M., 2010).

Como cualquier catalizador, al finalizar la transformación del sustrato y liberarse el producto del sitio activo, la enzima regresa a su estado original y puede involucrarse en un nuevo ciclo de catálisis. Las enzimas pueden utilizarse también fuera de las células: desde hace milenios el ser humano las ha aprovechado. Sus aplicaciones más antiguas tienen que ver con la alimentación, por ejemplo, la producción de pan y queso. En este artículo explicaremos qué tan eficientes son las enzimas como catalizadores y cómo es que funcionan. También hablaremos sobre la historia de su descubrimiento y los avances científicos que permitieron el desarrollo de la biocatálisis como una de las biotecnologías más relevantes en la época moderna. (Ramírez J, Ayala M., 2010).

3.2.1 Perspectiva histórica.

Los orígenes históricos de la tecnología enzimática se remontan al período de 1800-1900, en 1878 se introduce por primera vez el término “enzima” y posteriormente se registran los primeros intentos para establecer una nomenclatura sistemática, las cuales condujeron a utilizar el sufijo “asa” añadido al nombre del sustrato. Durante esta etapa de investigación se introdujeron también conceptos de especificidad, requerimiento de coenzimas y existencia de enzimas en sistemas libres de células. Estos hallazgos prepararon el camino tanto para para la descripción cinética, realizada por Michaelis y Menten en 1913, como para la preparación, por primera vez, de una enzima pura de forma cristalizada (ureasa), obtenida por Summer en 1926. El significado de estos catalizadores muy específicos y altamente purificados tuvo su manifestación más evidente en el campo de los análisis clínicos y, así, en los años 1930-1940, se asiste a la descripción de una serie de técnicas basadas en ensayos enzimáticos. (Whithaker J, 2009).

Hace apenas un siglo, los científicos descubrieron que las enzimas eran proteínas y comenzaron a entender cómo funcionaban; sin embargo, es desde hace cientos o miles de años que tenemos contacto con ellas y las aprovechamos en nuestro beneficio. Uno de los ejemplos más ilustrativos es la quimosina, que se encuentra en los estómagos de ciertos rumiantes. Ésta es una proteasa, es decir, una enzima que cataliza la degradación de otras proteínas mediante el rompimiento del enlace que une a los residuos de aminoácidos que las conforman. (Ramírez J, Ayala M., 2010).

Según la historia, en el Egipto de hace más de dos mil años se sabía que al almacenar leche en vísceras o estómagos secos de animales se formaba un sólido blanquecino o cuajo, que al prensarse para eliminar el suero daba lugar al queso fresco. La enzima responsable de esta transformación es la quimosina, la cual rompe o hidroliza un enlace particular dentro de la caseína, una proteína que constituye el 80% de las que se encuentran en la leche de vaca. Al sufrir esta hidrólisis, tanto la proteína como otros componentes de la leche se tornan insolubles y se precipitan, lo que forma el cuajo. (Ramírez J, Ayala M., 2010).

Se conocía tan bien este proceso, tan reproducible, seguro y bien aceptado por los consumidores, que a finales del siglo XIX, Christian Hansen, un farmacéutico danés, fundó la primera compañía biotecnológica para vender un producto llamado renina. El producto se basaba en extractos estandarizados de la mucosa interna de estómagos de ternera. Se vendía bastante bien, a pesar de que no se sabía a ciencia cierta qué contenía el producto, ni porqué funcionaba. Por cierto, la compañía Chr. Hansen sigue haciendo negocios en la actualidad, aunque ahora vende también otras enzimas, ya no provenientes de estómagos de animales, sino producidas a partir de cultivos microbianos de hongos y bacterias mediante el uso de herramientas biotecnológicas modernas. La primera patente sobre un proceso enzimático es de esta misma época: en 1894, Takamine patentó una enzima a la que llamó “diastasa”, producida por un hongo y que actualmente sigue en el mercado. Ésta pertenece al grupo de las amilasas, que

pueden catalizar la degradación de carbohidratos complejos (como el almidón) en azúcares más simples o pequeños. (Ramírez J, Ayala M., 2010).

La historia del estudio de las enzimas a nivel molecular es bastante reciente. En la época de Hansen, los científicos ya intuían que había “algo” dentro de las células que jugaba un papel importante en las transformaciones químicas que allí se producían. Los estudiosos llamaron “fermentos” a estas sustancias. Inclusive Berzelius, químico sueco, propuso en 1835 que los fermentos tenían un papel catalítico. Sin embargo, se pensaba que estos únicamente funcionaban debido a la presencia de células vivas, las cuales les conferían una “fuerza vital” que los hacía activos. No fue sino hasta 1897, que se demostró concluyentemente que los fermentos o extractos celulares, en ausencia de células vivas, catalizaban reacciones. Este descubrimiento se lo debemos a Eduard Buchner, un científico alemán, quien fue galardonado con el Premio Nobel de Química en 1907 por demostrar que los extractos de levadura, sin células, pueden catalizar una fermentación alcohólica, esto es, la transformación de azúcares en alcohol. Buchner sugirió que los fermentos debían ser de naturaleza proteica. (Ramírez J, Ayala M., 2010).

3.2.2 Función de las enzimas.

Las enzimas son proteínas que catalizan todas las reacciones bioquímicas. Además de su importancia como catalizadores biológicos, tienen muchos usos médicos, comerciales e industriales. La mayoría de las reacciones de los sistemas vivos son reversibles, es decir, que en ellas se establece el equilibrio químico. Por lo tanto, las enzimas aceleran la formación de equilibrio químico, pero no afectan las concentraciones finales del equilibrio. (Schmidt H y Pennacchiotti I, 2011).

3.2.3 Sustratos de las enzimas.

Constituyen las sustancias que son transformadas específicamente por las enzimas. Se usan para medir la actividad catalítica de las enzimas y, secundariamente, también para

determinar el carácter específico de una acción enzimática. Para que una sustancia sea apropiada como sustrato de una enzima debe reunir los siguientes requisitos:

- Que experimente una transformación bien definida por la acción catalítica de la enzima;
- Que sea específica para la enzima respectiva o el grupo muy restringido de enzimas. Ej.: el almidón para las alfa- y beta-amilasas;
- Que según las condiciones del ensayo, previamente fijadas, no sufra una descomposición espontánea o produzca otras reacciones no catalizadas por la enzima;
- Que la transformación del sustrato que es catalizada por la enzima. Sea fácilmente medible. (Schmidt H y Pennacchiotti I, 2011)

3.2.4 Propiedades de las enzimas.

Los distintos grupos de enzimas muestran variaciones considerables en su grado de especificidad. Algunas de ellas muestran requerimientos estrictos tanto para el sustrato (o los sustratos si se trata de reacciones bimoleculares) como para el tipo de unión química sobre el que van a actuar; pequeños cambios en cualquiera de ellos bastan para inactivar la reacción; tal es el caso de la mayoría de las enzimas. (Goldstein, 2006)

3.3 ENZIMA PRESENTE EN EL HIGO

Es una cisteín proteasa como la papaína. Se obtiene del latex de las plantas del género *Ficus*. Presenta hidrólisis preferencial por los aminoácidos aromáticos. El pH óptimo varía con el sustrato y se encuentra en el rango 5-8. La temperatura óptima está alrededor de 60 °C, inactivándose completamente a 80 °C. (Barbosa, *et al*, 2005)

La ficina de látex de diversas especies de *Ficus* (familia moreáceas) al igual que la papaína obtenida del fruto inmaduro de la papaya (familia caricácea) es una enzima proteolítica. Hidroliza péptidos, amidas y ésteres, y ha sido también denominada “pepsina vegetal”. A diferencia de la pepsina, actúa tanto en medio ácido como en

medio neutro o alcalino. Se ha utilizado en la digestión de proteínas, para el ablandamiento de carnes y en la fabricación de quesos. Perteneció al grupo de las tiol proteasas (grupo 3.4.4), ya que en el sitio activo se encuentra un grupo sulfhidrilo (-SH). La actividad de esta enzima depende de la edad de la planta, así como también de la época del año en que se realiza la extracción del mismo. En invierno la extracción de látex es muy limitada. (Bertoluzzo y Rigatuso, 2000)

3.3.1 Las enzimas proteasas o proteolíticas

Esta clase de enzimas actúan normalmente sobre las grandes moléculas del protoplasma, como son las de glucógeno, las grasas y las proteínas. La acción catalítica se expresa en la escisión de los enlaces entre átomos de carbono y nitrógeno (C-N) o carbono oxígeno (C-O); Simultáneamente se obtiene la hidrólisis (reacción de un compuesto con el agua) de una molécula de agua. (Schmidt H y Pennacchiotti I, 2011)

El hidrógeno y el oxidrilo resultantes de la hidrólisis se unen respectivamente a las dos moléculas obtenidas por la ruptura de los mencionados enlaces. La clasificación de estas enzimas se realiza en función del tipo de enlace químico sobre el que actúan. A este grupo pertenecen proteínas muy conocidas: la pepsina, presente en el jugo gástrico, y la tripsina y la quimiotripsina, segregada por el páncreas. Desempeñan un papel esencial en los procesos digestivos, puesto que hidrolizan enlaces pépticos, estéricos y glucosídicos. (Schmidt H y Pennacchiotti I, 2011)

Se conoce como proteasas a las enzimas que catalizan la degradación de las proteínas (proteólisis) mediante la adición de una molécula de agua en los enlaces peptídicos. Aunque el Comité de Nomenclatura de la Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular (NC-IUBMB) ha recomendado usar el término peptidasa para referirse a estas enzimas, en trabajos recientes se siguen utilizando alternativamente las denominaciones proteasa, enzima proteolítica o proteinasa. (Errasti, 2013)

Las enzimas proteolíticas catalizan la hidrólisis de enlaces peptídicos de péptidos y proteínas. Su síntesis se realiza en forma de zimógeno, de mayor peso molecular, que posteriormente es activado por proteólisis. (García, 2013)

Se pueden clasificar en 2 grandes grupos: peptidasas (exopeptidasas) y proteinasas (endopeptidasas). Las peptidasas actúan sobre los enlaces peptídicos de los extremos de la cadena y pueden ser aminopeptidasas o carboxipeptidasas. Las proteinasas actúan en el interior de la cadena y se clasifican de acuerdo con la identidad del residuo catalítico primario. Así pueden ser: serinproteinasas, cisteinil-proteinasas, aspartilproteinasas y metalo-proteinasas. (García, 2013)

Dentro las enzimas hidrolasas, las enzimas proteolíticas también denominadas proteasas, proteinasas o peptidasas integran la subclase 3.4 y representan alrededor del 2% de todos los productos génicos (Barrett y col., 2004).

Estas enzimas se caracterizan porque catalizan específicamente la hidrólisis del enlace peptídico. Se han utilizado desde tiempos muy antiguos en un gran número de procesos biotecnológicos. Entre los más conocidos pueden citarse: la tiernización de carnes, la elaboración de cerveza, la panificación, la elaboración de quesos y la obtención de proteínas modificadas en la industria alimentaria. También se utilizan como aditivos en polvos detergentes, en el tratamiento de efluentes industriales, en el proceso de manufactura de cueros, en la industria textil y más recientemente en la síntesis de péptidos en medios no convencionales (Guzmán y col., 2007).

Las proteasas hidrolizan las proteínas a péptidos y aminoácidos, se clasifican de acuerdo a su sitio catalítico en serinas, cisteínas o metalo proteasas. (Mazorra y col., 2013)

3.4 HIDROLASAS VEGETALES

En los vegetales las hidrolasas están involucradas en procesos metabólicos vitales para el crecimiento, desarrollo y mantenimiento de los mismos. Muchas de estas enzimas,

entre ellas proteasas, pectinasas, xilanasas, esterases, poligalacturonidasas, celulasas, son de gran interés industrial por la variedad de procesos en que pueden ser aplicadas. La mayoría de estas enzimas se encuentran presentes en el látex de muchas especies. El látex es una de las características más salientes de las familias Asclepiadaceae, Apocynaceae, Euphorbiaceae y Moraceae (Rajesh y col, 2005).

El látex es el fluido lechoso contenido en la o las células de los tubos laticíferos. Está compuesto por una suspensión/solución de una mezcla compleja de diferentes sustancias: enzimas, terpenos, alcaloides, vitaminas, glúcidos, lípidos y aminoácidos libres y se han detectado componentes subcelulares, tales como núcleo, mitocondrias, ribosomas y vacuolas. La presencia de látex ha sido reportada en al menos 12000 especies de plantas pertenecientes a 900 géneros diferentes. Las enzimas detectadas en látex, tales como proteasas y quitinasas, sugieren un rol en el mecanismo de defensa de las plantas contra patógenos, parásitos y herbívoros (Freitas y col, 2007).

Probablemente las hidrolasas de mayor interés estén representadas por las enzimas proteolíticas, que representan casi las dos terceras partes de las enzimas que se comercializan en el mercado mundial. Se estima que en el mundo las industrias que aplican enzimas para sus productos invierten anualmente cerca de un billón de dólares en su comercialización, de las cuales el 75% son enzimas hidrolíticas; de este porcentaje, las proteasas representan el 60% de total de las ventas mundiales. (Barrett y col, 2004).

3.4.1 Aplicaciones industriales de la ficina

Hidroliza péptidos, amidas y ésteres, y ha sido también denominada “pepsina vegetal”. A diferencia de la pepsina, actúa tanto en medio ácido como en medio neutro o alcalino. Se ha utilizado en la digestión de proteínas, para el ablandamiento de carnes y en la fabricación de quesos. (Barbosa, *et al*, 2005)

3.4. 2 Características de la acción enzimática

La característica más sobresaliente de las enzimas es su elevada especificidad, que no permite que se formen subproductos y que se manifiesta como especificidad de sustrato y especificidad de acción.

- **Especificidad de sustrato.** El sustrato (S) es la molécula sobre la que la enzima ejerce su acción catalítica.
- **Especificidad de acción.** Cada reacción está catalizada por una enzima específica.

La acción enzimática se caracteriza por la formación de un complejo que representa el estado de transición:



Donde E representa la enzima, S el sustrato, ES el complejo transitorio enzima-sustrato y P los productos de la reacción. (Schmidt H y Pennacchiotti I, 2011).

3.5 LAS ENZIMAS EN LA CADENA AGROALIMENTARIA.

Las enzimas se utilizan en la producción de muchos alimentos como el queso o yogur. Su función es transformar sustancias para dar productos atractivos desde el punto de vista gustativo o visual, o para aumentar su conservación. Bien sea en calidad de aditivo para modificar alguna propiedad funcional de un producto o bien como catalizador de un proceso para fabricar un producto derivado de la acción enzimática sobre una cierta materia prima. (Schmidt H y Pennacchiotti I, 2011)

3.5.1. Productos lácteos.

La aplicación de enzimas en el procesamiento de leche está bien establecida, por el uso del cuajo (quimosina) en la producción de queso, que tal vez representa el empleo más

antiguo de enzimas en alimentos. Otras enzimas que participan en la producción de quesos son las lipasas presentes en la leche, las cuales hidrolizan el componente graso, proporcionando cambios característicos en el sabor. Para algunos quesos se pueden aumentar las lipasas naturales, añadiendo enzima extra. Por otra parte, también se recomienda agregar enzimas exógenas de tipo proteolítico para acelerar el proceso de maduración de algunos quesos. (Carrera, 2006).

3.5.2. Coagulantes vegetales

Un gran número de enzimas vegetales han sido utilizadas como coagulantes de la leche, se trata de un extracto de *Cynara cardunculus* (L.), que es especialmente popular, dado que es utilizado para la elaboración de quesos artesanales y principalmente en Portugal para la elaboración de quesos Serra y Serpa. Cardoon contiene una mezcla de enzimas, las cuales parecen ser proteasas aspárticas, algunas de ellas para cortar la Kapa Caseína en forma más específica que la quimosina. (Hanzen, 2016).

La búsqueda de nuevas fuentes de proteasas es un área de investigación de gran actividad por su uso potencial en procesos biotecnológicos en áreas de la medicina, alimentos e industria de los detergentes. En alimentos, las proteasas extraídas de plantas han sido consideradas sustitutos adecuados del cuajo natural para la elaboración de quesos, así como en la producción de hidrolizados, ablandadores de carne, agentes digestivos, etc. El presente estudio tiene como objetivo evaluar la actividad de extractos de flores de naranja agrio para coagular la leche y su acción sobre distintos sustratos proteicos, como hemoglobina, albumina y caseína. La actividad proteolítica que presentaron estos extractos en un amplio rango de pH, indican la presencia de diferentes tipos de proteasas (e.g., aspárticas, serinas y cisteínas). La actividad proteolítica en condiciones ácidas y el patrón de degradación de caseínas, sugieren la presencia de proteasas tipo quimosina y ofrece una fuente de enzimas coagulante. La alta actividad proteolítica en un amplio rango de temperatura y pH, hacen de las flores de cítricos una nueva fuente de proteasas con uso potencial en distintos procesos biotecnológicos (e.g., producción de quesos). (Mazorra y col., 2013)

Se extrae de las plantas que poseen enzimas proteolíticas y ayuda a la precipitación de la caseína, se inicia la formación de un gel que atrapa la mayoría de los componentes sólidos de la leche; este gel se contrae poco a poco, y al contraerse va expulsando suero. Al cortar el gel en cubitos, se logra separar entre un 50 y un 90% del contenido inicial del suero de la leche. La efectividad del cuajo es función de la temperatura, la concentración del sustrato (la leche), concentración de calcio y la acidez. Las temperaturas usuales de coagulación pueden variar entre los 35 °C y los 40 °C, aunque lo más usual es una temperatura de 38 °C. (Nolivos, 2011).

3.5.3. Función del cuajo vegetal

La función del cuajo vegetal es separar la caseína (el 80% aproximadamente del total de proteínas) de su fase líquida (agua, proteínas del lactosuero y carbohidratos), llamado suero. Por acción del cuajo la caseína pierde una parte de su molécula y como consecuencia sus sales de calcio se vuelven insolubles. (Nolivos, 2011).

El uso del cuajo vegetal produce la precipitación de la caseína y el calcio disuelto en la leche para formar paracaseinato de calcio, comúnmente llamado cuajo. (Robinson R, Wilbey R, 2002)

Las partículas de caseína se unen para formar un gel sólido, lo que se puede denominar cuajada, ya que anula los segmentos de carga negativa (k-caseína) que hace que las partículas de caseína se repelan. El suero también contiene proteínas, pero éstas tienen otras funciones y se mantienen suspendidas en el líquido. (Nolivos, 2011).

3.5.4. Obtención del cuajo vegetal

El cuajo vegetal es obtenido a partir de plantas, las más utilizadas son enzimas de flores (ej. cardo) o del látex (ej. higuera). Se pueden obtener de las fuentes naturales, es decir, de las hojas y los higos verdes que contienen un látex (líquido lechoso) con una mezcla de enzimas llamadas (Esterasa, ficina, fucomarina) que tiene la capacidad de destruir las proteínas de la leche. (Herrera, 2009)

Muchos extractos de fuentes vegetales coagulan la leche, pero algunos son demasiado proteolíticos por ejemplo, papaína de la papaya, bromelina de la piña y el ricino del aceite de las semillas. (Robinson R, Wilbey R, 2002)

Algunos extractos obtenidos en bruto, parecen producir una acción combinada de ácido y enzima coagulante, que se emplean fundamentalmente para los quesos de cuajada más blanda. (Nolivos, 2011).

Tabla 2: Plantas con extractos coagulantes de la leche

Planta con extractos coagulantes	Nombre Científico
Cardo	<i>Cynaria cardunculus</i>
Bardana	<i>Articum minus</i>
Dulcamara	<i>Solanum dalcamara</i>
Malva	<i>Malva sylvestris</i>
Cardo borriquero	<i>Cirsium y Carlina spp</i>
Higuera	<i>Ficus carica</i>
Lampaza	<i>Herculeum spondylum</i>
Garbanzón	<i>Centurea spp.</i>
Hierba cuajadera	<i>Galum verum</i>
Ortiga	<i>Urtica diocia</i>
Hierba de Santiago	<i>Senecio jacobea</i>
Hierba de la flámula	<i>Ranunculus spp.</i>
Euforbio	<i>Euphorbia lathyrus</i>
Dipsacáceas	<i>Dipsacus sylvestris</i>
Alcanfor	<i>Achillea millefolium</i>
Baya “withiana”	<i>Withiana coagulans</i>

Fuente: Robinson R., Wilbey R. (2002)

Para extraer el látex se realiza cortes horizontales en la parte superior del fruto que va unida a la rama de 1 a 2 mm de espacio; se recoge en frascos previamente esterilizados y el látex se congela para su conservación. En la cosecha del higo se debe evitar desprender los frutos verdes arrancándolos, para la cual se utilizan implementos como tijeras o alicates realizando cortes en el pedúnculo. (Nolivos, 2011).

3.5.5 Ventajas de uso del cuajo vegetal

El cuajo vegetal posee la propiedad de cuajar la leche, gracias a las enzimas naturales proteolíticas. (Robinson R, Wilbey R, 2002)

Produce una cuajada más suave y cremosa que el de procedencia animal, si bien es cierto que el coágulo resulta más delicado a la hora de trabajar el queso. Es un cuajo muy proteolítico, lo que significa que produce una transformación más rápida e intensa de las proteínas presentes en la leche. Es un cuajo muy bueno para quesos frescos y tiernos, aunque da excelentes resultados también en queso duros. No conviene, sin embargo, para las coagulaciones lácticas, ya que provoca unas cuajadas muy blandas y difíciles de escurrir. El coagulante vegetal se considera adecuado para dietas vegetarianas en las que no se quiera consumir ningún producto derivado del sacrificio de animales. (Nolivos, 2011).

3.5.6. Propiedades de coagulación

La coagulación enzimática consiste en la adición de cuajo para lograr la coagulación de las caseínas. La actividad enzimática del cuajo provoca que la leche coagule y pase a formar un gel irreversible (cuajada). El principio activo del cuajo es la quimosina (Bedolla, 2004)

Este proceso consiste en una serie de modificaciones fisicoquímicas de la caseína (proteína de la leche), que conducen a la formación de un coágulo. Tiene lugar debido a la actividad del cuajo (coagulación enzimática). El gel formado incluye a las grasas y a la fase líquida de la leche. La coagulación se logra por una proteólisis parcial (catalizada por el cuajo) y las condiciones en que la coagulación enzimática se verifica tienen efecto directo sobre las características fisicoquímicas del gel resultante, tales como su firmeza, su capacidad de retención de grasas, etc. (Nolivos, 2011).

La caseína representa el 80% de la proteína total de la leche. Se encuentra en forma de micelas, formadas por fracciones proteicas, compuestos salinos (calcio y fósforo),

citrato y una fracción glucosídica. Las caseínas tienen gran afinidad por el calcio. La caseína k es sensible a la acción hidrolítica de la quimosina (López et al, 2002).

El cuajo convierte la caseína en paracaseína al hidrolizar la caseína k, que es la que estabiliza la micela. Al estar fraccionada, una parte se queda en la micela y la otra se va al suero. La micela precipita en forma de agregados pequeños. Con el tiempo van formando una red con poros, dentro de la cual se van acomodando los glóbulos grasos. (Nolivos, 2011).

El coágulo se va haciendo más firme por la continua formación de enlaces entre las micelas. El gel formado expulsa el suero y el coágulo se concentra, este proceso se llama sinéresis. El proceso depende de la temperatura óptima de acción del cuajo que está alrededor de los 40°C pero se utiliza menores para evitar la dureza del coagulo. El tiempo de precipitación disminuye y la dureza del gel aumenta a medida que disminuye el pH. A pH menores de 6 la dureza disminuye por la desmineralización de la caseína, por acidificación. . (Nolivos, 2011).

La propiedad coagulante de los cuajos vegetales es uno de los puntos clave de la quesería, el uso de cuajo vegetal permite la solidificación de la leche por encima a los 35 °C. La cuajada tiene la apariencia de una gelatina de color blanco y se forma al cabo de 30 minutos, los coágulos que se forman regulan parcialmente el proceso del desuerado y como consecuencia el contenido de humedad de los quesos. (Nolivos, 2011).

3.6. USO DE FICINA PARA LA PRODUCCIÓN DE QUESO

La elaboración del queso fresco consiste esencialmente en la obtención de la cuajada, que es la coagulación de la proteína de la leche (caseína) por la acción del cuajo vegetal. Esta operación se da en dos etapas: La formación del gel de la caseína y el desuerado. Mediante la adición de 8 ml de cuajo vegetal por litro de leche a una temperatura de 35

a 40°C, se logró la precipitación de la caseína por la presencia de enzimas como la esterasa, ficina y fucomarina que son un medio precipitante. (Nolivos, 2011).

3.6.1. Ficina

La ficina es una enzima proteolítica proveniente del látex de *Ficus carica* (higuera). Su actividad proteolítica se manifiesta al desnaturalizar sus proteínas sustrato mediante la ruptura de los enlaces disulfuro generados por aminoácidos sulfurados (cisteína). Pertenece al grupo de las tiol proteasas y es muy similar a la papaína que se extrae del látex de papaya. (Bertoluzzo M., y col. 2010)

La ficina de látex de diversas especies de *Ficus* (familia moreáceas) al igual que la papaína obtenida del fruto inmaduro de la papaya (familia caricácea) es una enzima proteolítica. Hidroliza péptidos, amidas y ésteres, y ha sido también denominada “pepsina vegetal”. A diferencia de la pepsina, actúa tanto en medio ácido como en medio neutro o alcalino. Se ha utilizado en la digestión de proteínas, para el ablandamiento de carnes y en la fabricación de quesos. Pertenece al grupo de las tiol proteasas (grupo 3.4.4), ya que en el sitio activo se encuentra un grupo sulfhidrido (-SH). La actividad de esta enzima depende de la edad de la planta, así como también de la época del año en que se realiza la extracción del mismo. (Bertoluzzo M., y col. 2010)

3.7. DETERMINACIÓN DE ÍNDICE DE MADUREZ EN FRUTAS

El color es un buen índice de madurez en la mayoría de frutas. Existen dos tipos de color: el color de cubrimiento y el color de fondo. El color de fondo (verde, amarillo, naranja) está más bien relacionado con la evolución de la madurez del producto, en cambio el color de cubrimiento (rojo, azul) está más relacionado con la calidad y presentación del producto. En el caso de las manzanas rojas, comienzan a tomar este color durante el desarrollo; pero esto no indica precisamente que haya alcanzado la madurez para su consumo. (Berger, 2004).

La dureza o presión de pulpa es un índice usado para fijar normas de madurez de cosecha y para determinar condición. La textura disminuye desde el extremo pedúncular hasta el estilar y desde la sutura hasta las mejillas. Otro índice de madurez usado para separar frutos en líneas de selección, ha sido el aspecto externo (tamaño, forma y terminación superficial), determinado por un método óptico, que está siendo exitosamente aplicado a máquinas seleccionadoras junto al color. Es importante resaltar que la madurez de cosecha es un factor preponderante en la calidad de la fruta. Es así, como la calidad de consumo es aquella con atributos de atracción (tamaño, color, firmeza, frescura y aroma) y de degustación (aroma, gusto, jugosidad, textura o dureza, ausencia de alteraciones). (Flores, 2011).

3.7.1 Firmeza de la pulpa o "presión"

Expresa la resistencia del fruto a ser perforado por una punta de acero de 5/16 pulgadas (8 mm) y constituye el índice más adecuado por estar bien correlacionado a la maduración, por ser simple de medir a campo con un instrumento de bolsillo (penetrómetro o presiónmetro), y porque resulta un método objetivo al expresarse a través de valores de presión. (Fedefruta, 2010)

3.7.2. Sólidos solubles

El porcentaje de sólidos solubles se mide en laboratorio con un refractómetro previamente calibrado, usando el jugo extraído de la misma muestra. La lectura más exacta de sólidos solubles se obtiene moliendo la pulpa de cada fruto y mezclándolos. El jugo obtenido se aplica al refractómetro usando un papel o algodón que remueve la mayoría de la fibra. Ahora, cuando la prueba es de campo, a menudo el jugo de cada ciruela es extraído separadamente por estrujamiento directamente sobre el refractómetro, y las lecturas son promedios. Idealmente para una buena medición, el refractómetro debe lavarse con agua destilada y secarse entre mediciones con un papel limpio. (Fedefruta, 2010)

3.7.3. Escalas colorimétricas

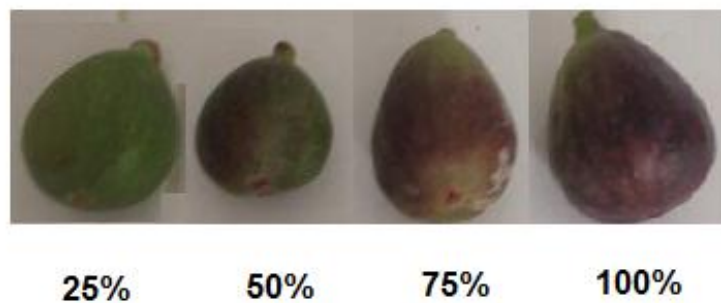
Otro índice de madurez de las frutas es el color, el momento de la cosecha lo indica el cambio de color de la fruta, la cual se empieza a tornar más clara y algunas emiten un aroma característico. El uso de colorímetros o cartas colorimétricas podrían entregar de mejor forma el índice de maduración en cuanto al color interno y externo de la fruta, por lo que pudieren complementar y/o corroborar su determinación. (Fedefruta, 2010)

3.7.4. Determinación del índice de madurez (escala colorimétrica) en el higo

Los cambios físicos relacionados al color del higo se hacen más palpables durante sus diferentes etapas dentro del proceso de maduración, estos cambios son el resultado de una serie de procesos metabólicos que se desencadenan al interior del fruto o que originan que la fisiología del higo presente una diferencia en cuanto a su textura, tamaño, color de la corteza, color de la pulpa y brillantes. (Berger, 2004).

Los índices más utilizados para establecer o medir la madurez de un fruto son el color de su corteza, por tal efecto en los higos que se utilizaron para extraer la enzima ficina se estableció la siguiente escala colorimétrica:

Grafico 1: Escala colorimétrica establecida para el higo



Fuente: (Jarrín, 2016)

De esta escala colorimétrica se desprenden las principales características que se pudo extraer de los frutos de higo utilizados para la investigación, estas características se detallan en la tabla que se presenta a continuación:

Tabla 3: Indicadores del índice de madures del fruto de higo.

PORCENTAJE DE MADUREZ	COLOR DE LA CORTEZA	AROMA	SABOR
25%	Verde	Muy fuerte	Muy Amargo
50%	Verde con manchas moradas	Fuerte	Amargo
75%	Morado verdoso	Poco fuerte	Poco amargo
100%	Morado	Sin olor	Dulce

Fuente: (Jarrín, 2016)

3.8 LA LECHE

La leche es la secreción mamaria normal de animales lecheros obtenidos mediante uno o más ordeños sin ningún tipo de adición o extracción, destinados al consumo en forma de leche líquida o a elaboración ulterior (OMS,FAO, 2011)

La leche cruda, es el producto de la secreción normal de las glándulas mamarias obtenido a partir del ordeño integro e higiénico de vacas sanas, sin adicción ni sustracción alguna y exento de calostro, destinado al consumo en su forma natural o a elaboración ulterior. (NTE INEN, 2003).

La leche es el único material biológico que ha evolucionado con el propósito de proveer nutrientes para el bienestar de los mamíferos en crecimiento. La supervivencia de la progenie ha impuesto una fuerte presión de selección sobre el proceso de la lactancia, y la mayoría de las moléculas que se producen en el epitelio de la glándula mamaria tienen la función de mejorar el estado de salud del neonato. (Giovambattista y Peral, 2011)

3.8.1 Tipos de quesos

El queso es el producto obtenido mediante coagulación de la leche y eliminación del suero. Puede ser hecho de diferentes tipos de leche y diferentes tipos de técnicas, según la clase de queso que se desee obtener. Por definición, el queso es un producto fresco o madurado, obtenido por coagulación y desuerado, a partir de la leche entera, estandarizada, descremada o crema proveniente de algunos mamíferos. (Revilla, 2006),

El queso es un alimento concentrado que contiene prácticamente todos los nutrientes esenciales presentes en la leche cruda. Puede ser fresco o haber pasado por un proceso de maduración. Para elaborarlo se coagula la leche y se retira el suero. La coagulación puede llevarse a cabo por diversos métodos. De éstos, el más común es añadir la cuajada, una enzima natural que se encuentra en el cuarto estómago de un rumiante. En algunos casos, la leche se coagula agregándole un ácido, como el vinagre o los extractos de enzimas vegetales. (FAO, 2013)

Los quesos pueden clasificarse desde el punto de vista del mercado y se basa sobre el contenido de grasa en quesos grasos (mayor en 42% en grasa), quesos semigrasos (del 20 al 42% en grasa) y quesos magros (menor del 20% en grasa). (Alais, 2010).

Hay 18 tipos de quesos y más de 400 nombres que los aplican a estos, pero pueden clasificarse en dos grupos: los duros y los blandos: entre los duros se tienen los muy duros que se clasifican con la presencia o no de ojos (Parmesano y Emmental), los semiduros se clasifican, por el tipo de fermento utilizado para la maduración, con bacterias (Andino y Tilsit) y hongos (Roquefort); en tanto que los quesos blandos se clasifican en: madurados por bacterias y hongos y los no madurados. También se clasifican desde varios puntos de vista: por el tipo de leche (vaca, oveja, cabra, etc.), por el tipo de coagulación (cuajo, acidez y mixto), por el porcentaje de agua en duros con 38%, semiduros con 40% y blandos con 50% de humedad; por el porcentaje de grasa en: grasos, semigrasos y magros. (Bustamante, 2012).

3.8.2 Queso Andino

El Queso Andino es un queso semiduro, el cuerpo presenta un color que varía de marfil a amarillo claro o amarillo y tiene una textura firme (al presionarse con el dedo pulgar) que se puede cortar.

La característica más típica de este queso es una corteza firme con una textura dura y correosa. Características: Para conseguir la textura dura se corta la cuajada muy fina (que recuerda al queso casero grumoso) y se prensa durante horas, e incluso días para extraer el suero y la humedad. Tradicionalmente, muchos de los quesos se envolvían en tela, pero hoy la mayoría se maduran. El proceso puede llevar algunos días lo que les permite desarrollar una textura dura que incluso puede hacer que algunos se desmoronen al cortarlos. (NTE INEN 2607, 2012)

CAPITULO IV

MARCO METODOLÓGICO

4.1. MATERIALES.

La investigación se desarrolló en la Universidad Estatal de Bolívar, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, instalaciones del Complejo Agroindustrial de la Carrera de Ingeniería Agroindustrial.

4.1.1 Localización de la investigación.

Tabla 4: Datos de la localización de la investigación.

UBICACIÓN	LOCALIDAD
Provincia	Bolívar
Cantón	Guaranda
Sector	Laguacoto II
Dirección	Vía Guaranda – San Simón Km 1 ½

4.1.2 Situación geográfica y climática.

Tabla 5: Datos de la situación geográfica y climática.

PARAMETRO	VALOR
Altitud	2800 msnm
Latitud	01°34'15" sur
Longitud	79°0'02" oeste
Temperatura mínima	8°C
Temperatura media anual	13°C
Temperatura máxima	18°C
Humedad	75%

Fuente: (Estación Meteorológica de la Universidad Estatal de Bolívar. Laguacoto II, 2016).

4.1.3 Zona de vida.

La localización donde se desarrolló la investigación, corresponde a la formación: Bosque Húmedo Montano Bajo (BHMB), según lo establece el botánico climatólogo estado anídense Leslie Holdridge (1947)

4.1.4. Material Experimental.

- Higos (*Ficus carica*)
- Enzima ficina, proveniente del higo (*Ficus carica*)

4.1.5 Materiales y Equipos

- Bidones de aluminio para recepción de leche
- Lienzo para filtración
- Tinas de acero inoxidable
- Termómetros
- pH metros
- Acidómetro
- Baldes de aluminio
- Jarras plásticas
- Lira de corte
- Mesa de moldeo
- Mallas plásticas
- Moldes de PVC para queso
- Cuarto de maduración
- Prensas para queso
- Tina de acero inoxidable para coagulación de la leche
- Cuarto frío
- Paleta de madera
- Vasos de precipitación
- Matraces aforados

- Probetas graduadas
- Pipetas de 5 y 10 ml
- Laminas Petri film para mohos y levaduras
- Acidómetro
- pH metro
- Brixómetro
- Centrífuga
- Hidróxido de sodio 0,1 N; para determinación de acidez
- Reactivos buffer (pH 7) para calibración de pH metro
- Agua destilada

4.1.6 Materiales de oficina.

- Libreta de apuntes
- Computadora
- Memory stick
- Impresora
- Papel bond
- Esferográficos
- Cámara fotográfica digital

4.2. MÉTODOS

4.2.1 Factores en estudio

Para el desarrollo de la investigación se propuso realizar el siguiente diseño experimental que relaciona el efecto que producen los factores en estudio, las interacciones y réplicas, como se detalla a continuación:

Tabla N° 6: Factores en estudio de la investigación.

FACTOR	CÓDIGO	NIVELES
ÍNDICE DE MADUREZ	A	A ₁ = 25 % A ₂ = 50%
PORCENTAJE DE ENZIMA FICINA	B	B ₁ = 0.25 % B ₂ = 0.50 % B ₃ = 0.75 %

Los factores en estudio planteados presentan las siguientes características:

- Unidad experimental = 10 litros (leche)
- Factores de estudio = 2
- Tratamientos= 6
- Repeticiones= 2
- Unidades experimentales = 12

4.2.2 Tratamientos

De la interacción del factor de estudio A (índice de madurez) y el factor B (porcentaje de enzima ficina) arrojaron los siguientes tratamientos:

Tabla 7: Tratamientos realizados en la investigación

Tratamientos	Detalle
A1B1	25 % de índice de madurez + 0.25% de enzima ficina
A1B2	25 % de índice de madurez + 0.50% de enzima ficina
A1B3	25 % de índice de madurez + 0.75% de enzima ficina
A2B1	50 % de índice de madurez + 0.25% de enzima ficina
A2B2	50 % de índice de madurez + 0.50% de enzima ficina
A2B3	50 % de índice de madurez + 0.75% de enzima ficina

4.2.3 Tipo de diseño experimental.

En la investigación se aplicó un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA) en arreglo factorial A * B con 2 repeticiones; el mismo que se rigió en base al siguiente modelo matemático.

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + R_k + \epsilon_{ij}$$

Donde:

μ = Efecto global

A_i = efecto del i ésimo nivel del factor A; $i = 1, \dots, a$

B_j = efecto del j ésimo nivel del factor B; $j = 1, \dots, b$

$(AB)_{ij}$ = efecto de la interacción entre los factores A y B

R_k = efecto de las repeticiones, $K = 1, \dots, r$

ϵ_{ij} = Residuo o error experimental

4.2.4 Procedimiento

Para establecer las diferencias entre los promedios de cada tratamiento, se aplicó el análisis de varianza (ADEVA), en base a los grados de libertad que se detalla a continuación:

Tabla 8: Grados de libertad del diseño experimental propuesto.

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD (GL)
Total	11
Réplicas	1
Factor A	1
Factor B	2
AxB	2
Error	5

- Esquema del análisis de varianza
- Prueba de Tukey al 5% para comparar promedios de tratamientos A, B y la interacción A x B.
- Análisis económico en la relación costo/ beneficio.

4.2.5 Tipos de análisis

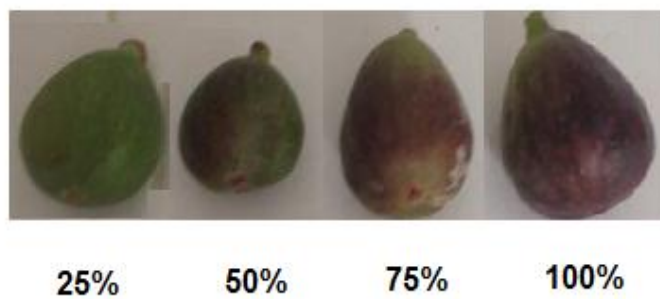
Se realizaron análisis a la materia prima, al producto terminado, fueron al mejor tratamiento; estos análisis fueron de tipo físico, químico, microbiológico y sensorial, los mismos que se detallan a continuación:

4.2.6 Métodos de evaluación y datos a tomarse

4.2.6.1 En la materia prima (higo)

- **Índice de madurez**

El grado de coloración del higo nos mostró color externo del mismo, se lo realizó mediante la observación visual directa, la misma que fue contrastada mediante la utilización de una escala colorimétrica, proceso que nos ayudó a identificar el estado de madurez en el que se encontró el producto. Esta escala se presenta en la imagen a continuación:



Fuente: (Jarrín, 2016)

4.2.6.2 En el látex del higo

- **Potencial de hidrógeno**

La medición del potencial hidrogeno determinó el nivel de acidez (pH) del látex a diferentes índices de madurez, siguiendo el protocolo establecido en la norma técnica ecuatoriana NTE INEN 0389:86

- **Acidez titulable**

La determinación de la acidez titulable se realizó mediante el procedimiento de titulación; en la que se utilizó una solución estandarizada de hidróxido de sodio 0.1 N, utilizando una solución el alcohol de fenolftaleína como indicador, según lo establecido en la norma técnica ecuatoriana INEN 381.

- **Grados Brix**

La medición de los sólidos solubles o grados Brix, se determinó por el método del refractómetro, en el que se empleó un refractómetro (Brixómetro) de Abbe, en el que los valores que se obtuvieron de la lectura se expresaron en % ° Brix (sólidos solubles), la metodología se rigió tomando en consideración la norma técnica ecuatoriana INEN 0389:86.

- **Rendimiento (Porcentaje de enzima aislada)**

Se realizó este proceso para establecer la cantidad de enzima que se aisló, mediante la utilización de la siguiente expresión:

$\% \text{ enzima aislada} = \text{volumen del látex precipitado de la enzima ficina (ml)} / \text{volumen del látex extraído del higo (ml)} \cdot 100$ (Bertoluzzo M., y col. 2010)

Para este efecto se desarrolló la siguiente metodología:

- Se pesó un vaso de precipitación de 25 ml, este es el peso 1 (P1)
- Se recolectó el látex de los higos en el vaso de precipitación previamente pesado
- Se pesó el vaso de precipitación + el látex de higo, este se considera el peso 2.
- Por diferencia de pesos se obtuvo el peso del látex recogido.
- Se procedió a centrifugar el látex recogido en una centrifuga a razón de 2600 rpm por 1 minuto.
- Con la utilización de una pipeta se extrajo la enzima precipitada.
- Se procedió a pesar esta enzima centrifugada obtenida.
- Mediante la aplicación de la ecuación anterior se determinó el porcentaje de enzima aislada.

- **Actividad proteolítica (actividad enzimática)**

Para determinar la actividad proteolítica, se evaluó el tiempo que tardó en actuar la enzima ficina en la coagulación de la leche

El protocolo que se utilizó para determinar la actividad proteolítica de la enzima extraída, en el sustrato leche, fue medir el tiempo que tardó en coagular la caseína de la leche a la temperatura de incubación 36°C. Este procedimiento se lo realizó para comprobar la presencia de la enzima ficina y su efectividad. Para este caso se procedió

mediante el protocolo de coagulación de la leche propuesta por (Balls and Hoover, 1998), que se detalla a continuación:

- Esterilizar los materiales a utilizar, en el autoclave por 45 minutos
- Se toma una muestra de 10 ml de leche.
- Calentar la leche en un baño maría hasta alcanzar una temperatura de 36 °C.
- Adicionar el porcentaje de látex enzimático según los tratamientos establecidos.
- Homogenizar el contenido
- Controlar determinar el tiempo que demora para detectar la coagulación de la leche (formación de coágulos)

4.2.6.3 Métodos de evaluación y datos a tomarse en el producto terminado

- **Potencial de hidrógeno**

La medición del potencial hidrogeno determinó el nivel de acidez (pH) de los productos evaluados, para este procedimiento se estableció el protocolo establecido en la norma técnica ecuatoriana INEN 0389:86

- **Acidez titulable**

La determinación de la acidez titulable se realizó mediante el procedimiento de titulación; en la que se utilizó una solución estandarizada de hidróxido de sodio 0.1 N, utilizando una solución el alcohol de fenolftaleína como indicador, según lo establecido en la norma técnica ecuatoriana INEN 381. La acidez de la leche se mide en un lactodensímetro y se expresa en gramos de ácido láctico.

- **Mohos y levaduras (en el mejor tratamiento)**

Este análisis microbiológico se lo realizó en el laboratorio de Bromatología de la Universidad Estatal de Bolívar, con la finalidad de establecer la presencia de estos microorganismos debido a que el queso andino es un producto semi madurado con

menos agua que el queso fresco. Se realizó siguiendo la metodología establecida en la norma técnica ecuatoriana NTE INEN 1529:10

- **Análisis organolépticos**

Se realizaron análisis organolépticos al queso andino elaborado, para lo cual se evaluó mediante un panel de 12 catadores no entrenados, los mismos que evaluaron el color, olor, sabor y textura del queso mediante la utilización de una ficha de evaluación sensorial con 2 muestras de mejor tratamiento y 2 muestras de un testigo; además se proporcionó una ficha para la determinación del amargor de las muestras suministradas.

4.3. MANEJO DEL EXPERIMENTO

4.3.1. Recepción

Se recibió los higos en diferentes estados de madurez, se tomó una muestra proveniente de 3 plantas de higo, obteniendo aproximadamente 50 frutos de higo.

4.3.2. Inspección

Se realizó una inspección visual de la materia prima, controlando que se encuentre en el índice de madurez apropiada, esto es entre el 25 y 50%. Además se controló que la materia prima se encuentre limpia, entera, sin daños físicos y biológicos.

4.3.3. Selección

Se seleccionó los higos en un estado de madurez adecuado, en este caso los higos que se encontraban en un 25% y 50% de madurez, con la finalidad de trabajar con frutas en estado homogéneo de madurez.

4.3.4. Lavado

Se procedió a lavar con un chorro constante de agua potable, con el fin de eliminar impurezas presentes, posteriormente se sumergió los higos en una solución de cloro de 200 ppm por 10 minutos. La finalidad de este proceso es para retirar el suero lácteo que se encuentra en el granulo de cuajada y así evitar que la misma gane acidez y pueda alterar la calidad del queso andino.

4.3.5 Extracción

Con la ayuda de un bisturí y utilizando tubos de ensayos para la recolección, se procedió a realizar una serie de cortes de aproximadamente 5cm a lo largo de los higos, una vez hechos estos cortes, se presionó ligeramente el higo a intervalos de 10 minutos y se recolectó el látex en tubos de ensayo hasta que ya no se pudo recoger más.

4.3.6. Análisis

Una vez extraído el látex de los higos se proceden a tomar las precauciones de inocuidad utilizando mascarillas y guantes de látex. Se tomaron muestras para proceder a realizar los análisis de pH, acidez y grados Brix.

4.3.7. Reposo

Se dejó reposar el látex por un tiempo de aproximadamente 24 horas. Esto se lo realizó para proceder a centrifugar y separar el precipitado, el proceso se repitió dos veces para asegurar la máxima extracción de la enzima.

4.3.8. Almacenamiento

El látex extraído se almacenó en refrigeración (aproximadamente 4 °C) en tubos de ensayo correctamente cerrados.

4.4. ELABORACIÓN DEL QUESO ANDINO

Se elaboró el queso andino siguiendo todos los lineamientos establecidos para este efecto, reemplazando el cuajo comercial por la enzima ficina obtenida. A este se contrastó con un blanco para comprobar el efecto.

4.4.1 Recepción

Se recibió la leche de vaca proveniente del ordeño, la misma que tuvo buenas características de acidez y pH.

4.4.2 Filtrado

Con la utilización de un lienzo se filtró la leche para retener impurezas que pudieran afectar la calidad del producto final.

4.4.3. Pasteurizado

EL pasteurizado de la leche se lo realizó utilizando una tina de acero inoxidable, se elevó la temperatura a 65 °C por 30 minutos, manteniendo la temperatura constante.

4.4.4. Enfriado

Después del proceso de pasteurización, le leche se enfrió hasta llegar a unos 40 °C aproximadamente, ya que a esta temperatura actúan los cultivos lácteos.

4.4.5. Inoculado

Se añadieron cultivo para queso andino, se utilizó cultivos de *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus lactis* en una proporción del 1%.

4.4.6. Incubado

Se dejó reposar por un tiempo aproximado de 45 minutos, con la finalidad de dejar actuar los cultivos lácticos.

4.4.7. Adición de Cloruro de Calcio

Se añadió el Cloruro de Calcio en un porcentaje del 0.02%

4.4.8. Adicionado de la Enzima

Se adicionó la enzima proteolítica según los porcentajes establecidos para la investigación: 0.25%, 0.50%, 0.75%. Agitando por un tiempo aproximado de 5 minutos para lograr una buena distribución.

4.4.9. Coagulado

Se dejó reposar la leche durante un tiempo de 30 minutos para lograr la acción de la enzima.

4.4.10. Cortado y batido

Con la finalidad de un mejor desuerado, la cuajada se cortó en cubitos pequeños, seguido de un batido suave y lento por un tiempo de 10 minutos, y de un batido fuerte de 5 minutos.

4.4.11. Desuerado

Utilizando un lienzo se extrajo el suero liberado del proceso de cortado y batido.

4.4.12. Moldeado

Se colocó la cuajada en los moldes, en los cuales se suelta parte del suero sobrante logrado obtener la forma y corteza característica de queso andino.

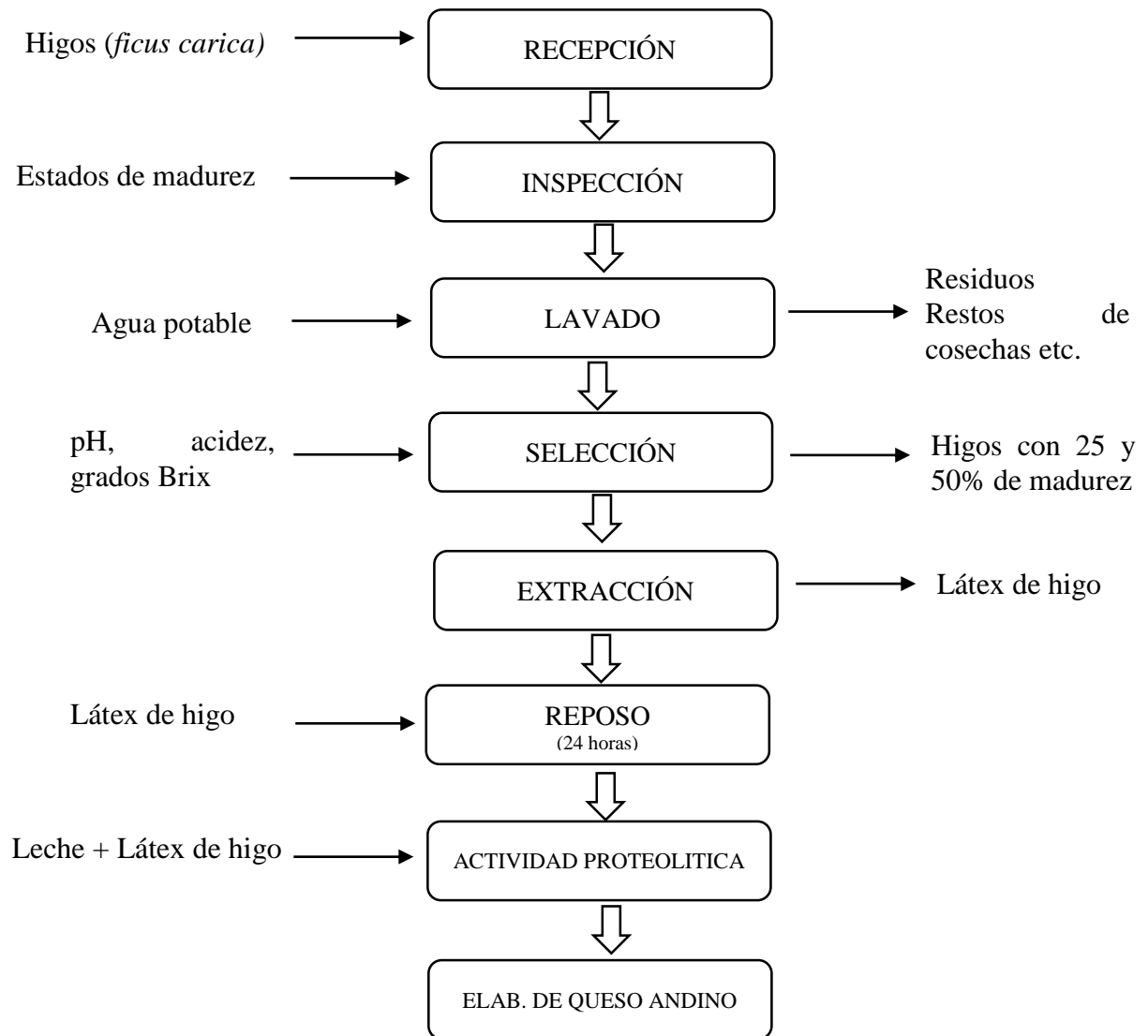
4.4.13. Prensado

Se prensó con una presión de 6 libras por cada libra de queso, por un tiempo de 12 horas

4.4.14 Madurado

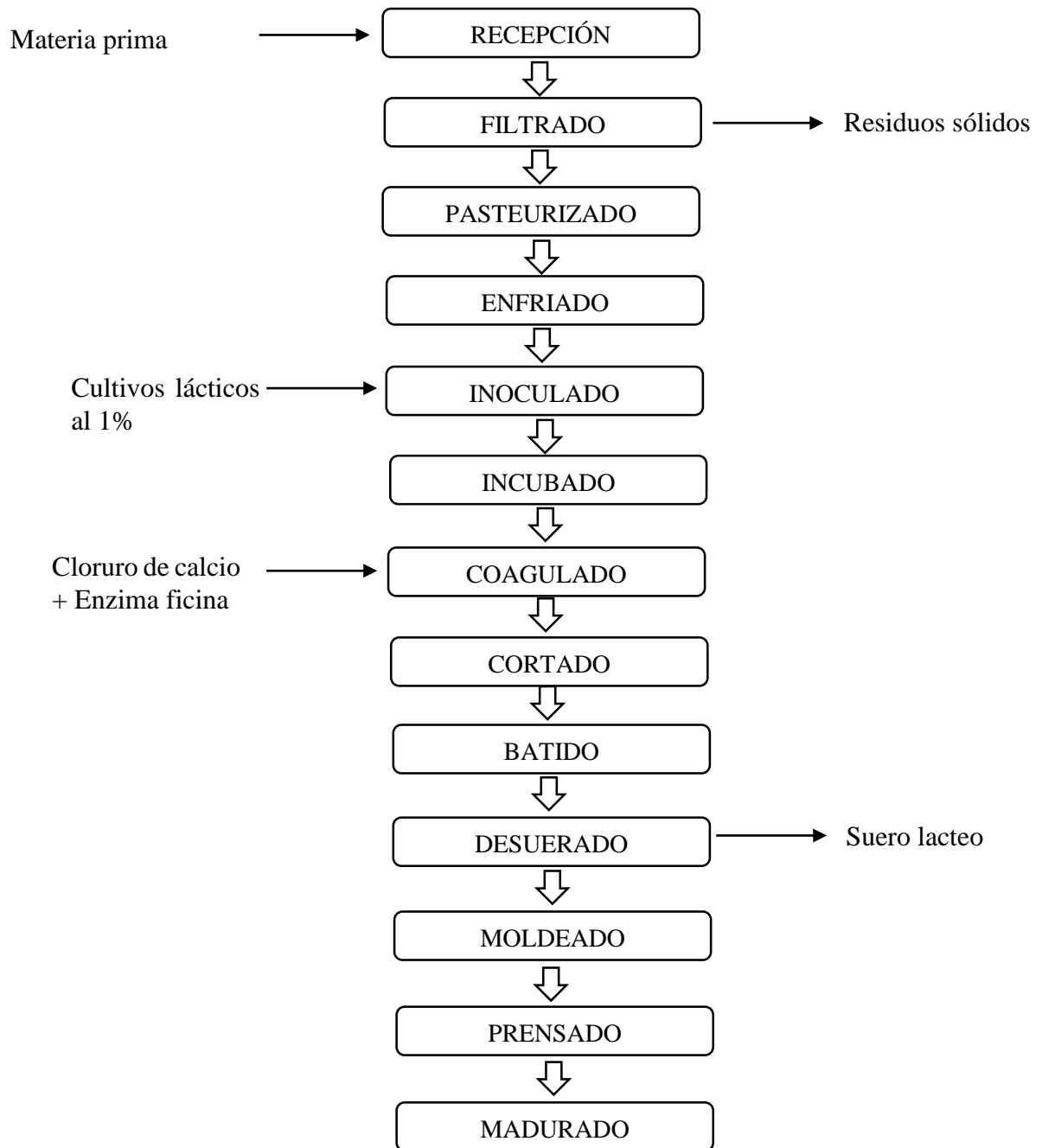
Se dejó el queso elaborado en maduración durante 15 días a una temperatura de 8 °C.

4.3.10. Flujograma del proceso para la obtención de la enzima ficina.



Fuente: (Jarrín, 2016)

4.3.11. Flujograma de proceso de la elaboración de queso andino



Fuente: (Jarrín, 2016)

CAPITULO V

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO EN LA MATERIA PRIMA

El desarrollo de los análisis físicos químicos en la materia prima (higo y látex) es uno de los factores determinantes de la calidad del queso andino. Estos análisis cumplen un papel muy importante en la determinación de los parámetros mínimos de calidad que debe tener el producto final, así como la verificación del cumplimiento de los parámetros mínimos exigidos por los organismos de control en base a sus normativas vigentes; también sirven como un sustento para controlar los cambios o inconvenientes que puedan causar durante su etapa de elaboración. Los diferentes análisis químicos y físicos que se realizaron al higo y látex se detallan a continuación:

5.1.1 Análisis físico, determinación de índice de madurez (escala colorimétrica)

Los cambios físicos relacionados al color del higo se hacen más palpables durante sus diferentes etapas dentro del proceso de maduración, estos cambios son el resultado de una serie de procesos metabólicos que se desencadenan al interior del fruto o que originan que la fisiología del higo presente una diferencia en cuanto a su textura, tamaño, color de la corteza, color de la pulpa y brillantes. Los índices más utilizados para establecer o medir la madurez de un fruto son el color de su corteza, por tal efecto en los higos que se utilizaron para extraer la enzima ficina se clasificaron según su estado de madurez, mediante la escala establecida en el gráfico 1.

5.1.2 Análisis de pH, acidez y grados Brix en el fruto de higo

Los diferentes frutos de higo recolectados en los alrededores de la ciudad de Guaranda, fueron sometidos a análisis químicos de pH, acidez y grados Brix, en el laboratorio de Bromatología de la Universidad Estatal de Bolívar, con la finalidad de caracterizar la materia prima con las que se elaborará el queso andino. Los análisis de índice de madurez, pH, acidez y grados Brix realizados al fruto de higo se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 9: Valores de pH, acidez y grados Brix realizados en el fruto de higo.

Índice de Madurez	R1	R2	Desviación estándar	Acidez titulable (g/100 ácido málico)	° Brix (%)
25 %	5.539	5.498	0.37979654	0.006	3.30
50 %	5.442	5.432		0.007	3.50
75 %	6.000	5.996		0.008	4.10
100 %	6.300	6.310		0.009	4.70

Los valores presentados en la tabla anterior muestran las características que presentó el higo, los mismos que cumplen con los parámetros mínimos establecidos para este tipo de producto, los mismos señalan que el pH debe encontrarse entre un rango de 5.5 a 6.6, la acidez de 0.001 a 0,010 g/100g de ácido málico.

Los grados Brix deben ser mayores a 3, según lo establecido por (Nolivos, 2011). Por tanto los valores obtenidos se encuentran dentro de los parámetros normales.

5.1.3 Análisis de pH, acidez y grados Brix en el látex del higo.

Los diferentes frutos de higo recolectados en los alrededores de la ciudad de Guaranda, fueron extraídos su componente lechoso (látex), el mismo que fue sometido a los análisis de pH, acidez y grados Brix en el laboratorio de Bromatología de la Universidad Estatal de Bolívar, con la finalidad de caracterizar este componente que fue utilizado para elaborar el queso andino.

Los análisis químicos realizados al látex se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 10: Valores de pH, acidez y grados Brix realizados al látex de higo.

Índice de Madurez	R1	R2	Desviación estándar	Acidez titulable (%)	° Brix
25 %	5.432	5.429	0.469603	0.059	12.40
50 %	5.654	5.648		0.063	12.90
75 %	6.012	6.010		0.077	14.70
100 %	6.593	6.591		0.089	15.30

Los valores presentados en la tabla anterior muestran las características que presentó el látex del higo, estos cumplen con los parámetros mínimos establecidos para este tipo de producto, el pH debe encontrarse en un rango de 5.5 a 6.6, la acidez de 0.010 a 0,10 g/100g de ácido málico y los grados Brix deben ser mayores a 3, según lo establecido por (Nolivos, 2011). Por tanto los valores obtenidos se encuentran dentro de los parámetros normales.

5.1.4 Porcentaje de enzima aislada mediante el rendimiento.

Se determinó mediante la utilización de la siguiente expresión:

$$\% \text{ enzima aislada} = \frac{\text{volumen del látex precipitado de la enzima ficina (ml)}}{\text{volumen del látex extraído del higo (ml)}} \cdot 100$$
 (Bertoluzzo M., y col. 2010)

En este caso procedimos a extraer el látex de los higos en sus diferentes estados de madurez, luego se procedió a centrifugar el látex recolectado a un razón de 2600 revoluciones en una centrifuga eléctrica por 3 minutos, una vez que se extrajo, se retiró el sobrenadante y el precipitado se considera la enzima aislada. Los valores obtenidos en los diferentes estados de madurez del higo se presentan a continuación:

Tabla 11: Porcentaje (%) de enzima asilada de los higos en sus diferentes estados de madurez.

Índice de madurez	Volumen de enzima precipitada (ml)	Volumen total del látex extraído (ml)	Enzima aislada (%)
25 %	19	180	10.55
50%	20	200	10.00

Los valores presentados indican que trabajar con higos en un índice de madurez del 25% y 50% permite obtener una cantidad adecuada de látex.

5.1.5 Actividad proteolítica

La determinación de la actividad proteolítica de la enzima ficina permitió medir el tiempo que tardó la enzima en actuar sobre las proteínas de la leche hasta coagularlas y formar el granulo de cuajada que se utilizó para la elaboración del queso andino, de esta forma se comprobó la presencia de la enzima ficina y su efectividad actuando sobre 10 ml de leche a 36 °C, los resultados de estas mediciones se presentan en la tabla a continuación:

Tabla 12: Valores de tiempo (minutos) de actividad proteolítica.

Estado de madurez	Cantidad de enzima/10 ml leche	Tiempo de coagulación
25%	0.025 ml	12.60
50%	0.05 ml	14.25

Como podemos observar en la tabla anterior la presencia de la enzima en la coagulación de la leche muestra que es muy eficiente puesto que los tiempos en los que actúa son extremadamente cortos en relación a la coagulación de la proteína del queso con la utilización de enzima comercial que es de 30 minutos, esto deriva en que utilizar enzima ficina en porcentajes más altos coagula más rápido la leche y sobre todo al final

se obtiene una cuajada firme que facilita el moldeo del queso. Recomendando utilizar la enzima al 25% de estado de madurez.

5.2 ANÁLISIS EN EL PRODUCTO TERMINADO

5.2.1 Determinación de pH

La medición del pH en el queso andino establece la medida de la acidez, la misma que actúa en forma inversa al pH. Esta es una de las mediciones que se hacen frecuentemente a los alimentos y es un indicador del estado general del producto, en vista que tiene influencia en múltiples procesos de alteración y estabilidad de los alimentos, así como en la proliferación de microorganismos. Esta medición se realizó mediante la utilización de un potenciómetro siguiendo el procedimiento establecido en la norma NTE INEN 0389:86; los resultados obtenidos de esta medición se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 13: Valores de pH obtenidos en la elaboración del queso andino con la utilización de la enzima ficina.

N°	Tratamiento	pH
1	A ₁ B ₁ R1	5.293
2	A ₁ B ₂ R1	5.340
3	A ₁ B ₃ R1	5.473
4	A ₂ B ₁ R1	5.299
5	A ₂ B ₂ R1	5.339
6	A ₂ B ₃ R1	5.482
7	A ₁ B ₁ R2	5.326
8	A ₁ B ₂ R2	5.342
9	A ₁ B ₃ R2	5.494
10	A ₂ B ₁ R2	5.227
11	A ₂ B ₂ R2	5.338
12	A ₂ B ₃ R2	5.491

La tabla anterior muestra en detalle cada uno de los valores obtenidos de la medición de pH del queso andino elaborado a partir de la enzima ficina, los mismos que al ser contrastados con la norma técnica ecuatoriana NTE INEN 2620:2012; podemos establecer que los valores medidos se encuentran dentro de los rangos permitidos por esta normas puesto que el rango de pH del queso andino debe ser: mínimo 5.3 y máximo 5.9; por lo tanto los valores se encuentran dentro de los rangos reportados en bibliografía. Los valores obtenidos de la medición de pH son evaluados mediante la elaboración de la tabla de análisis de varianza (ADEVA), la misma que fue diseñada con el programa estadístico STATGRAPHICS como se presenta a continuación:

Tabla 14: Análisis de varianza (ADEVA) para la respuesta experimental pH evaluada al queso andino elaborado con la enzima ficina.

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrados Medios	Razón-F	Valor-P
Factor A:Índice de madurez	0.0007053	1	0.0007053	1.04	0.3548
Factor B: Porcentaje de enzima	0.0846152	2	0.0423076	62.31	0.0003**
Réplicas	0.0000053	1	0.0000053	0.01	0.9328
Interacción AB	0.0014722	2	0.0007361	1.08	0.4063
RESIDUO (Error)	0.0033947	5	0.0006789		
TOTAL	0.0901927	11			
** Altamente significativo				CV: 2.79%	

La tabla ADEVA anterior muestra la variabilidad del pH debido al efecto de los factores A, B, interacción y replicas. Los valores “P” obtenidos prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que el valor “P” correspondiente al factor B, porcentaje de enzima ficina es menor que 0.05, este factor tiene un efecto altamente significativo sobre pH con un 95.0% de nivel de confianza.

Para establecer cuál de los tres niveles ($B_1 = 0.25\%$, $B_2 = 0.50\%$ y $B_3 = 0.75\%$) que componen el factor B inciden en la variación del pH, se presenta la siguiente tabla de medias que muestran esta variabilidad:

Tabla 15: Tabla de medias para el pH a un intervalo de confianza del 95%

Factor B (Nivel)	Media	Grupos Homogéneos
3	5.485	A
2	5.338	A
1	5.286	B

La tabla anterior muestra que el nivel B₁ del factor B es el que incide para que exista diferencia estadística significativa, pues este nivel tiene un valor de pH = 5.286, el mismo que se encuentra por debajo de lo que establece la norma NTE INEN 2620:2012; pH del queso andino mínimo 5.3 y máximo 5.9. Para determinar el mejor tratamiento relacionado a la determinación pH, procedemos a realizar la prueba de Tukey al 5% para comparar los promedios de los tratamientos, como se presenta a continuación:

Tabla 16: Rangos ordenados del perfil de Tukey para el pH del queso elaborado con la enzima ficina

N°	Tratamiento	Rangos Ordenados
2	A ₁ B ₂	5.40
5	A ₂ B ₂	5.32
1	A ₁ B ₁	5.31
4	A ₂ B ₁	5.26
6	A ₂ B ₃	5.49
3	A ₁ B ₃	5.48

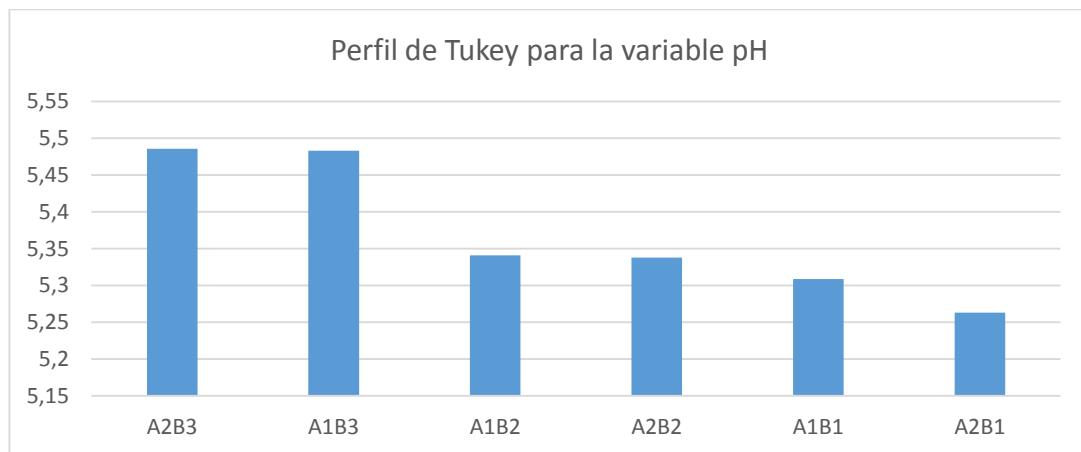
De la tabla anterior se desprende que el mejor tratamiento es el número 2, pH = 5.40; correspondiente a la codificación A₁B₂ (índice de madurez 25% + 0.50 % de enzima ficina) en vista que este valor se encuentra mejor ubicado dentro del rango establecido

en la norma NTE INEN 2620:2012; pH del queso andino mínimo 5.3 y máximo 5.9 y por ser el pH óptimo (5.40) recomendado para este tipo de quesos.

Se debe mencionar que el pH de queso se ve afectado por la temperatura ya que a temperaturas altas provocan la evaporación del agua y esta se ubica en la superficie del queso y tiende a incrementar su acidez; además se ve afectada por la humedad relativa en vista que un ambiente con alta humedad tiende a la condensación de la misma en la superficie y por ende el desarrollo de microorganismos que incrementan la acidez del queso.

A continuación se presenta el grafico del perfil de Tukey para la variable respuesta pH, el mismo que muestra la tendencia que tiene cada uno de los valores medidos en base a los diferentes tratamientos evaluados.

Grafico 2: Perfil de Tukey para el pH del queso elaborado con la enzima ficina



El grafico anterior muestra el predominio del tratamiento A_2B_1 en cuanto a las mediciones de pH realizadas a los tratamientos, lo que confirma que este tratamiento está determinado como el mejor por encontrarse en el pH óptimo para este tipo de queso que es de 5.40.

5.2.2 Determinación de acidez (g/ 100 g de ácido láctico)

La determinación de la acidez en el queso andino expresa el contenido de ácido láctico presente, la acidez actúa en forma inversa el pH, es una de las mediciones que se hacen frecuentemente a los alimentos y es un indicador del estado general del producto ya que tiene influencia en múltiples procesos de alteración y estabilidad de los alimentos, así como en la proliferación de microorganismos.

Esta medición se realizó mediante titulación valorando con hidróxido de sodio 0.1 N, siguiendo el procedimiento establecido en la norma NTE INEN 0381:86; los resultados obtenidos de esta medición se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 17: Valores de acidez (g/100 g de ácido láctico) obtenidos en la elaboración del queso andino con la utilización de la enzima ficina.

N°	Tratamiento	Acidez
1	A ₁ B ₁ R1	0.124
2	A ₁ B ₂ R1	0.132
3	A ₁ B ₃ R1	0.150
4	A ₂ B ₁ R1	0.125
5	A ₂ B ₂ R1	0.136
6	A ₂ B ₃ R1	0.158
7	A ₁ B ₁ R2	0.125
8	A ₁ B ₂ R2	0.135
9	A ₁ B ₃ R2	0.161
10	A ₂ B ₁ R2	0.126
11	A ₂ B ₂ R2	0.135
12	A ₂ B ₃ R2	0.166

La tabla muestra los valores obtenidos de la medición de acidez (g/100g de ácido láctico) al queso andino elaborado a partir de la enzima ficina, al ser contrastados con

la norma técnica ecuatoriana NTE INEN 2620:2012; se establece que los valores medidos se encuentran dentro de los rangos permitidos por esta norma puesto que la acidez del queso andino debe estar entre 0.13 y 0.17 (g/100g de ácido láctico); por lo tanto los valores se encuentran dentro de los rangos permitidos.

Los datos obtenidos de la medición de acidez son evaluados mediante la elaboración de la tabla de análisis de varianza (ADEVA), la misma que fue obtenida con el programa estadístico STATGRAPHICS, como se presenta en la tabla a continuación:

Tabla 18: Análisis de varianza (ADEVA) para la respuesta experimental acidez (g/100 g de ácido láctico) evaluada al queso andino elaborado con la enzima ficina.

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrados Medios	Razón-F	Valor-P
Factor A: Índice de madurez	0.00003008	1	0.00003008	2.76	0.1573
Factor B: Porcentaje de enzima	0.00242317	2	0.00121158	111.32	0.0011**
Réplicas	0.00004408	1	0.00004408	4.05	0.1003
Interacción AB	0.00001717	2	0.00000858	0.79	0.5038
RESIDUO (Error)	0.00005442	5	0.00001088		
TOTAL	0.00256892	11			
** Altamente significativa				CV: 2.47%	

La tabla ADEVA anterior muestra la variabilidad de la acidez, debida al efecto de los factores A, B, interacción y replicas. Los valores “P” obtenidos prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que el valor “P” correspondiente al factor B, porcentaje de enzima ficina es menor que 0.05, este factor tiene una diferencia altamente significativa sobre la acidez con un 95.0% de nivel de confianza. Para establecer cuál de los tres niveles ($B_1 = 0.25\%$, $B_2 = 0.50\%$ y $B_3 = 0.75\%$) que componen el factor B inciden en la variación de la acidez, se presenta la siguiente tabla de medias que muestran esta variabilidad:

Tabla 19: Tabla de medias para la acidez a un intervalo de confianza del 95%

Factor B (Nivel)	Media	Grupos Homogéneos
3	0.124	A
2	0.134	A
1	0.158	B

La tabla anterior muestra que el nivel B₁ del factor B es el que incide para que exista diferencia estadística altamente significativa, pues este nivel tiene un valor de acidez de 0.158 g/100 g de ácido láctico, el mismo que se encuentra por debajo de lo que establece la norma NTE INEN 2620:2012; acidez del queso andino mínimo 0.13 y máximo 0.16 g/100 g de ácido láctico). Para determinar el mejor tratamiento relacionado a la acidez, se realiza la prueba de Tukey al 5% para comparar los promedios de los tratamientos, como se presenta en la tabla a continuación:

Tabla 20: Rangos ordenados del perfil de Tukey para la acidez del queso elaborado con la enzima ficina

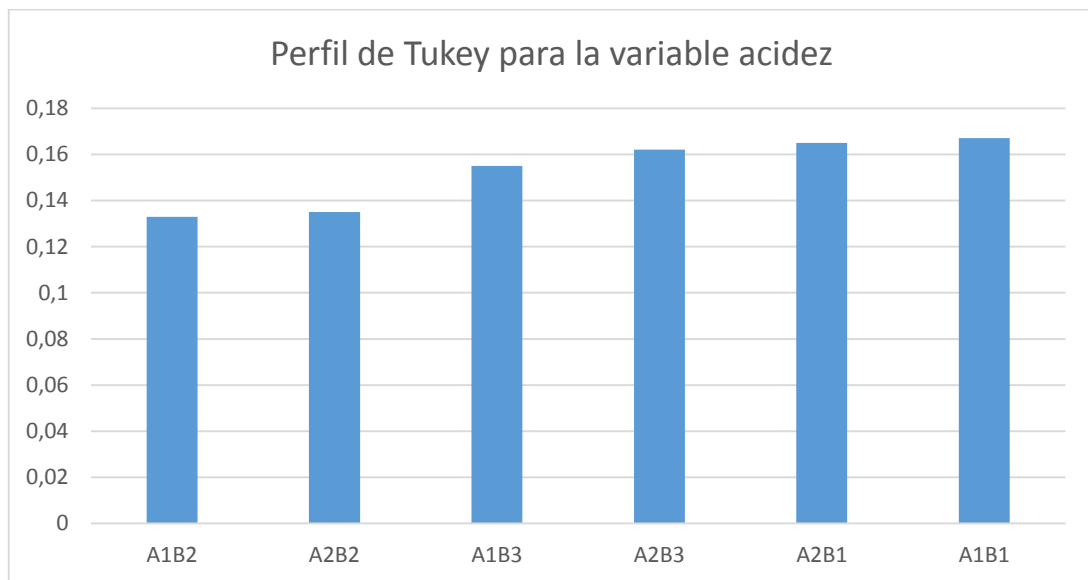
N°	Tratamiento	Media	Rangos Ordenados
2	A ₁ B ₂	0.133	A
5	A ₂ B ₂	0.135	A
3	A ₁ B ₃	0.155	A
6	A ₂ B ₃	0.162	B
4	A ₂ B ₁	0.165	B
1	A ₁ B ₁	0.167	B

La tabla anterior muestra que el mejor tratamiento es el número 2, acidez = 0.133 g/100g de ácido láctico; correspondiente a la codificación A₁B₂ (índice de madurez 25% + 0.50% de enzima ficina) en vista que este valor se encuentra mejor ubicado

dentro del rango establecido en la norma NTE INEN 2620:2012; acidez del queso andino mínimo 0.13 y máximo 0.17 g/100g de ácido láctico y porque además el pH óptimo para este tipo de queso es de 0.130 g/ 100g ácido actico)

A continuación se presenta el grafico del perfil de Tukey para la variable respuesta acidez, el mismo que muestra la tendencia que tiene cada uno de los valores medidos en base a los diferentes tratamientos evaluados.

Grafico 3: Perfil de Tukey para la acidez del queso elaborado con la enzima ficina



El grafico anterior muestra el predominio del tratamiento A_1B_2 en cuanto a las mediciones de acidez realizadas a los tratamientos, lo que confirma que este tratamiento está determinado como el mejor.

5.2.3. Determinación del análisis sensorial del queso andino elaborado con la enzima ficina. (Cataciones)

Las evaluaciones sensoriales (cataciones) representan una alternativa viable para la determinación e identificación de diferentes características de un alimento en relación a los atributos de color, olor, sabor, textura y la aceptabilidad, pues son una medida del nivel de aceptación que tiene el queso andino elaborado entre los catadores.

Para la determinación de la evaluación sensorial se utilizó un panel de 12 catadores no entrenados que con la utilización de fichas y hojas de evaluación sensorial procedieron a estimar los atributos color, olor, sabor, textura y aceptabilidad del queso andino elaborado con la enzima ficina y también la catación de un testigo elaborado de la forma tradicional, este procesamiento se lo realizó mediante la siguiente metodología:

- Se dio lectura a la ficha de evaluación en la que se expusieron los diferentes atributos a evaluar con su correspondiente escala.
- Se suministraron 4 muestras con su correspondiente codificación, siendo 2 muestras del mejor tratamiento y 2 muestras de un testigo
- Se solicitó que se aprecien el color, olor, sabor, textura y aceptabilidad del queso.
- Para el caso del sabor se pidió que para la degustación de muestra a muestra se realice un enjuague con agua para evitar inferencia de sabores.
- Se pidió que marquen con una X la escala que sea la más acercada a la apreciación obtenida.

Tabla 21: Resultados de los promedios obtenidos de la evaluación sensorial del queso elaborado con la enzima ficina.

PARÁMETROS	MUESTRA 244	MUESTRA 488
COLOR	3.42	3.08
OLOR	3.25	3.25
SABOR	2.08	2.83
TEXTURA	4.00	3.83
ACEPTABILIDAD	2.82	2.92

Los resultados obtenidos de la tabla anterior muestra que los parámetros evaluados al queso andino elaborado con la enzima ficina en las dos muestras proporcionadas (244 y 488) se encuentra dentro de los parámetros normales, a excepción del sabor puesto que los valores de 2.83 y 2.02 corresponden a “desagrada” pues esto puede deberse a que el látex de la enzima ficina proporcionó al queso un sabor amargo. En este sentido se suministró una ficha de evaluación en la que se solicitó se señale la muestra más amarga, estos resultados se presentan en la tabla a continuación:

Tabla 22: Resultados de los promedios obtenidos de la evaluación sensorial del queso elaborado con la enzima ficina.

Muestras	Amargo
244	8
360	3
488	1
512	0

La tabla anterior comprueba lo manifestado pues se indica que la muestra 244 presenta el mayor amargor ya que esta proviene del mejor tratamiento que es el A₁B₂ (25% de índice de madurez + 0.50% de enzima), entonces este porcentaje de enzima (0.50%) incide para que se acentúe el amargor del queso.

En este caso se establece que el amargor no es propio de los quesos andinos pues en este caso al utilizar la enzima proveniente del látex del higo le trasfiere componentes que provocan que el producto adquiera un amargor atípico debido a la presencia del ácido fítico en el higo. Por tal motivo se debe utilizar procesos de purificación de la enzima para evitar este efecto.

Tabla 23: Análisis de varianza para el color del queso andino obtenido

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Catadores	3.41667	5	0.683333	2.41	0.1780
Muestras	2.08333	1	2.083330	7.35	0.0422*
Residuo	1.41667	5	0.283333		
Total	6.91667	11			
* Diferencia significativa				CV: 1.14%	

La tabla de análisis de varianza muestra la variabilidad de los datos emitidos por la evaluación sensorial de los catadores en relación al color de queso andino elaborado. Los valores P obtenidos prueban la significancia estadística de cada una de las fuentes de variación.

El valor P 0.0422 correspondiente a las muestras es menor que 0.05, por tanto un efecto estadísticamente significativo sobre COLOR con un 95.0% de nivel de confianza. Es decir que las dos muestras sometidas a evaluación sensorial presentan características diferentes en relación al color y que los evaluadores claramente la identifican. Para establecer cuál es la mejor muestra se presenta la siguiente tabla de Tukey.

Tabla 24: Prueba de Tukey para el color del queso andino obtenido

MUESTRAS	CÓDIGO	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
1	244	3.42	A
2	488	3.08	B

La tabla anterior se determina que la muestra con el código 244 correspondiente al mejor tratamiento que es el A₁B₂ (25% de índice de madurez + 0.50% de enzima), presenta un mayor valor correspondiente a la evaluación sensorial y que es cercano al 4 que corresponde a color “intenso” por tanto esta muestra es la mejor puntuada por los evaluadores.

Tabla 25: Análisis de varianza para el olor del queso andino obtenido

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Catadores	0,00000	1	0,0000	0.00	1.0000
Muestras	22.3333	11	2.0303	7.44	0.0012**
Residuo	3.00000	11	0.2727		
Total	25.3333	23			
** Altamente significativo				CV: 1.37%	

La tabla de análisis de varianza muestra la variabilidad obtenida en la evaluación experimental relacionada al olor del queso andino elaborado. Los valores P obtenidos prueban la significancia estadística de las fuentes de variación en torno a esta respuesta experimental. EL valor P 0.0012 correspondiente a las muestras es menor que 0.05 y 0.01, por tanto existe un efecto estadístico altamente significativo sobre el olor con un 95.0% de nivel de confianza. Las dos muestras evaluadas presentan características

diferentes en relación al olor y que los evaluadores claramente la identifican. Para establecer cuál es la mejor muestra se presenta la siguiente tabla de Tukey.

Tabla 26: Prueba de Tukey para el olor del queso andino obtenido

MUESTRAS	CÓDIGO	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
1	244	3.25	A
2	488	3.08	B

La tabla de Tukey presentada señala que la muestra con el código 244 correspondiente al mejor tratamiento que es el A₁B₂ (25% de índice de madurez + 0.50% de enzima), presenta un valor alto correspondiente a la evaluación sensorial y que es cercano al 4 que corresponde a “agrada poco” por tanto esta muestra es la mejor puntuada por los evaluadores en relación a la muestra codificada con 488 que está cerca a la escala 3 que corresponde a “Ni agrada ni desagrada”.

Tabla 27: Análisis de varianza para el sabor del queso andino obtenido

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Catadores	4.75000	5	0.95000	3.35	0.1052
Muestras	2.08333	1	2.08333	7.35	0.0422*
Residuo	1.41667	5	0.283333		
Total	8.25000	11			
* Diferencia significativa				CV: 3.87%	

La tabla de análisis de varianza presentada indica la variabilidad que se obtiene de la evaluación experimental sabor del queso andino elaborado. Los valores P obtenidos prueban la significancia estadística de las fuentes de variación en torno a esta respuesta experimental. EL valor P 0.042 correspondiente a las muestras es menor que 0.05 por

tanto existe un efecto estadístico significativo sobre la variable sabor con un 95.0% de nivel de confianza. Las dos muestras evaluadas presentan características diferentes en relación al sabor y los evaluadores claramente la identifican. Para establecer cuál es la mejor muestra se presenta la tabla Tukey.

Tabla 28: Prueba de Tukey para el sabor del queso andino obtenido

MUESTRAS	CÓDIGO	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
1	244	2.08	A
2	488	2.83	B

La tabla de Tukey presentada señala que la muestra con el código 244 correspondiente al mejor tratamiento que es el A₁B₂ (25% de índice de madurez + 0.50% de enzima), presenta el valor más bajo correspondiente a la evaluación sensorial del sabor, el mismo que es cercano a la escala 2, que corresponde a “desagrada”. La muestra codificada con 488 que está cerca a la escala 3 que corresponde a “Ni agrada ni desagrada” por tanto esta muestra es la mejor.

Tabla 29: Análisis de varianza para la textura del queso andino obtenido

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Catadores	3.0	5	0.6	1.00	0.5000
Muestras	0.0	1	0.0	0.00	1.0000
Residuo	3.0	5	0.6		
Total	6.0	11			
					CV: 2.28%

La tabla de análisis de varianza presentada, muestra la relación que existe entre las fuentes de variación y la variable textura del queso andino elaborado. Los valores P obtenidos prueban la significancia estadística de las fuentes de variación en torno a esta

respuesta experimental. Ninguno de los valores P obtenidos es menor que 0.05 por tanto no existe un efecto estadístico significativo sobre la variable textura con un 95.0% de nivel de confianza. Las dos muestras evaluadas presentan características similares en relación a la textura. A continuación se presenta la tabla Tukey.

Tabla 30: Prueba de Tukey para la textura del queso andino obtenido

MUESTRAS	CÓDIGO	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
1	244	2.82	A
2	488	2.92	A

La tabla Tukey muestra que existe homogeneidad entre las muestras evaluadas con el código 244 y 488, a pesar de existir diferencia numérica, estadísticamente no hay variación. Estos valores obtenidos son cercanos a la escala 4 que corresponde a “consistente”. Lo que señala que el queso andino elaborado en relación a la textura presenta tiene una característica adecuada para este tipo de queso.

Tabla 31: Análisis de varianza para la aceptabilidad del queso andino obtenido

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Catadores	5.41667	5	1.08333	1.59	0.3127
Muestras	2.08333	1	2.08333	3.05	0.1412
Residuo	3.41667	5	0.68333		
Total	10.9167	11			
					CV: 1.49%

La tabla de análisis de varianza presentada muestra la relación que existe entre las fuentes de variación y la aceptabilidad del queso andino elaborado. Los valores P obtenidos prueban la significancia estadística de las fuentes de variación en torno a esta

respuesta experimental. Ninguno de los valores P obtenidos es menor que 0.05 por tanto no existe un efecto estadístico significativo sobre la aceptabilidad con un 95.0% de nivel de confianza. Las dos muestras evaluadas presentan características similares en relación a la aceptabilidad. A continuación se presenta la tabla Tukey.

Tabla 32: Prueba de Tukey para la aceptabilidad del queso andino obtenido

MUESTRAS	CÓDIGO	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
1	244	4,00	A
2	488	3.83	A

La tabla Tukey muestra que existe homogeneidad entre las muestras evaluadas con el código 244 y 488, a pesar de existir diferencia numérica, estadísticamente no hay variación. Estos valores obtenidos son cercanos a la escala 3 que corresponde a “aceptable”. Lo que señala que el queso andino elaborado a partir de la enzima ficina proveniente del higo si es aceptable por los catadores.

5.2.4. Determinación del mejor tratamiento.

En base a las cataciones realizadas al panel de catadores y según los valores obtenidos en los atributos color, olor, sabor, textura y aceptabilidad se determina que el mejor tratamiento es el tratamiento dos T2 correspondiente al código A₁B₂ (25% de índice de madurez + 0.50% de enzima).

5.2.5. Análisis microbiológicos para mohos y levaduras realizados al queso elaborado con la enzima ficina.

Los análisis microbiológicos realizados a un alimento no mejoran la calidad del mismo, sino que permite valorar la carga microbiana que posee, señalando los posibles puntos o riesgos de contaminación y propagación microbiana, lo que garantiza la seguridad

higiénica y las operaciones adecuadas de producción. En este caso se desarrolló la ejecución del análisis de mohos y levaduras pues se trata de un alimento alto en humedad, para lo cual se procedió a seguir el procedimiento establecido en la norma técnica ecuatoriana NTE INEN 1529-8. Los datos obtenidos se presentan en la tabla a continuación:

Tabla 33: Análisis de mohos y levaduras realizados a los tratamientos de elaboración de queso andino con enzima ficina.

TRATAMIENTOS	CÓDIGOS	UNIDAD	RANGO	RESULTADO
1	A ₁ B ₁	ufc/g	2X10 ²	Incontable
2	A ₁ B ₂	ufc/g		0
3	A ₁ B ₃	ufc/g		Incontable
4	A ₂ B ₁	ufc/g		Incontable
5	A ₂ B ₂	ufc/g		Incontable

La tabla anterior muestra que el mejor tratamiento obtenido A₁B₂ con un valor de ufc/g de 0, indica que el procesamiento y la maduración del queso fue la más adecuada y no provocó que haya alteraciones. Por ende cumple con los parámetros establecidos por la norma NTE INEN 1529-8.

CAPITULO VI

COMPROBACIÓN DE LA HIPOTESIS

En este proyecto de investigación se plantearon las hipótesis que se detallan a continuación:

6.1. Hipótesis Nula (H_0)

La extracción de la enzima ficina proveniente del higo (*Opuntia Ficus Indica*) coagulará la proteína de la leche para la elaboración de queso andino.

6.2. Hipótesis Alternativa (H_a)

La extracción de la enzima ficina proveniente del higo (*Opuntia Ficus Indica*) no coagulará la proteína de la leche para la elaboración de queso andino

Del planteamiento de estas hipótesis se procede a verificar las mismas, para este efecto se toma en cuenta los valores de F de la distribución Fisher calculados en las tablas ADEVA correspondientes a pH y acidez, en vista que estas dos mediciones son parámetros exigidos por la norma técnica ecuatoriana NTE INEN 2620:2012. Los valores se presentan en la tabla a continuación:

Tabla 34: verificación de la hipótesis considerando la evaluación sensorial del producto final.

CARACTERISTICAS	F CALCULADO	F TABULADO
pH	1.04	4.301
Acidez	2.76	4.301

6.2 Decisión

Para poder establecer si se acepta o rechaza la hipótesis se plantea las circunstancias en las que se procedería a tomar esta decisión, esto se lo realiza planteando una regla de decisión, la misas que se detalla a continuación:

“La hipótesis nula H_0 es rechazada si el valor estadístico de F calculado en la tabla ADEVA es mayor que el valor estadístico F teórico calculado mediante la utilización de tablas de distribución F de Fischer.

En este caso los valores F calculados en la tabla ADEVA de pH y acidez son respectivamente 1.04 y 2.76; que al ser comparados con el F obtenido de tablas y en base a la decisión planteada se tiene que:

$$F_c < F_t$$

$$1.04 < 4.301 \text{ y } 2.76 < 4.301$$

Por tanto los valores de F calculados son menores que los F teóricos por tanto se acepta la hipótesis nula H_0 ; entonces La extracción de la enzima ficina proveniente del higo (*Opuntia Ficus Indica*) si coagula la proteína de la leche para la elaboración de queso andino.

CAPITULO VII

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

EL desarrollo del trabajo de investigación planteado desprende las siguientes conclusiones y recomendaciones como se detalla a continuación:

7.1. CONCLUSIONES

Se utilizó la enzima ficina extraída a partir del látex de higo (*Opuntia ficus Indica*) para la elaboración del queso andino. En este caso se utilizó enzima en tres porcentajes 0.25%, 0.50% y 0.75% los cuales fueron previamente establecidos mediante pruebas preliminares, mencionado que los tiempos de coagulación fueron extremadamente cortos, tiempos que iban de 3 a 15 minutos hasta la coagulación de la leche, con lo que se confirma que esta enzima vegetal tiene un alto efecto de coagulación. Cabe recalcar que si se puede elaborar queso andino mediante la coagulación de enzima ficina el mimos que fue sometido a 30 días de maduración y presentaba características parecidas al queso andino elaborado de la manera tradicional con cuajo comercial.

El índice de madurez fue determinado mediante una escala colorimétrica diseñada para el efecto, además fue respaldada por los análisis de laboratorio de pH, acidez y grados Brix, los mismos que confirman la composición química de estas evaluaciones según la madurez fisiológica del higo, encontrándose que los valores disminuyen a medida que la madurez es más alta (75% y 100% de índice de madurez).

Se extrajo la enzima ficina del látex del higo mediante un proceso de centrifugación en la que se retira el sobre nadante y queda la enzima a ser utilizada, cabe mencionar que el porcentaje de enzima extraída es muy baja, puesto que de aproximadamente 100 gramos de higo se obtiene 1ml de enzima representado el 1%.

La enzima ficina extraída del higo se la utilizó para elaborar queso andino en porcentajes del 0.25; 0.50 y 0.75% respectivamente según los índices de madurez del 25 y 50%, mencionando que no trabajamos con los higos con índices de madurez de 75% y 100% en vista que al presentar un alto grado de madurez ya no se podía extraer látex y se imposibilitaba obtener enzima. Los quesos elaborados mediante esta enzima presentaron diferentes características, los mismos que después de someterle al análisis de varianza arrojaron que el tratamiento A₁B₂ (25% de índice de madurez + 0.50% de enzima) puesto que este cumple con los parámetros mínimos establecidos en la norma NTE INEN 2620:2012

El queso andino obtenido mediante el mejor tratamiento fue evaluado por un panel de 12 catadores no entrenados, los mismos que evaluaron el color, olor, sabor, textura y aceptabilidad así como el amargor y la preferencia del queso. Encontrándose que el queso presenta buenas calificaciones en cuanto al color con una calificación de 3.42 y 3.08 respectivamente para cada muestra evaluada encontrándose en “característico” ósea que es muy similar al queso tradicional; pero los catadores en el atributo sabor calificaron con puntajes bajos de 2.08 y 2.83 esto debido a que al utilizar al 0.50% de enzima le propinó un amargor propio de la enzima al queso. En general los evaluadores aceptan el producto pero con las variantes del amargor que tuvo el queso.

7.2. RECOMENDACIONES

Utilizar enzima ficina extraída del látex del higo (*opuntia ficus indica*) para elaborar queso puesto que reduce los tiempos de coagulación de la proteína de la leche hasta aproximadamente la mitad que si lo hiciéramos con la utilización del cuajo comercial.

Determinar apropiadamente el índice de madurez del higo puesto que solo debemos trabajar con higos que se encuentren en índices de madurez comprendidos entre el 25 y 50% ya que a mayor madurez menos contenido de látex se obtiene y por ende menor cantidad de enzima se puede obtener lo que dificulta en gran medida la elaboración del queso andino.

Utilizar la enzima extraída del queso pero con procesos de purificación puesto que utilizar la enzima directamente extraída del látex provoca que le enzima adquiera un amargor característico y que este amargor sea transferido al queso andino elaborado y por ende este va a tener un sabor no agradable al consumidor haciendo que el queso no sea aceptado totalmente.

BIBLIOGRAFÍA

ALAIS, P. 2010. Ciencia de la Leche. Principios de Técnica Lechera. 2a, ed. Editorial Reverte S.A. Barcelona-España.pp 25-30

BALLS, HOOVER. 1998. Método de coagulación de la leche.

BARBOSA CMS, MORAIS HA, DELVIVO FM, MANSUR HS, OLIVEIRA MC, SILVESTRE MPC, (2005), “Papain hydrolysates of casein:molecular weight profile and encapsulation in lipospheres” J. Sci, Food Agric, Estados Unidos. 84 p.

BÁRBARA E. GARCÍA TRIANA; AGUSTÍN VICEDO TOMEY; JOSÉ C. GARCÍA PIÑEIRO; ALBERTO SALDAÑA BERNABEU. (2013). Enzimas proteolíticas relacionadas con la enfermedad periodontal inflamatoria. Facultad de Estomatología. Instituto Superior de Ciencias Médicas de La Habana

BARRETT, A., N. RAWLINGS, J. WOESSNER (2004) Introduction. En: Handbook of Proteolytic Enzymes (A. Barrett, N. Rawlings & J. Woessner, eds.). London: Academic Press.

BEDOLLA S., DUEÑAS C., (2004). “Introducción a la Tecnología de Alimentos”, Segunda Edición, Editorial Limusa, México.

BERGER, H. (2004). Cosecha, índice de madurez y manejo de frutas y hortalizas. Departamento de Producción Agrícola. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Universidad de Chile.

BERTOLUZZO M., BERTOLUZZO S, RIGATUSO R. (2011). Estudio cinético de la actividad proteolítica de la enzima ficina. Universidad Nacional de Rosario. Argentina.

BUSTAMANTE M. 2012. Efecto de la utilización de culantro, orégano, y ají en la elaboración de queso mozzarella. Escuela Superior Politécnica del Chimborazo. Riobamba – Ecuador.

CARRERA J. (2006) “Enzimas Industriales, Biorreactores, Variables de Control, Guías de Laboratorio y Biotecnología Agrícola y Vegetal” Módulos de Biotecnología, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad del Cauca, Colombia.

CEREZO A, CÓRDOVA L, MEJÍA M, 2009, “Proyecto para la industrialización del queso manabita - Chone para consumo interno. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Guayaquil. Ecuador.

CRUZ M., PALMA G., ANAYA I. (2010). DETERMINACION DE ENZIMAS PROTEOLITICAS EN HIGO (*Ficus carica*). México

ERRASTI, MARIA EUGENIA. (2013). Estudio de posibles aplicaciones farmacológicas de extractos de especies de bromeliáceas y su comparación con bromelina. Universidad de la Plata. Departamento de Ciencias Biológicas. La Plata – Argentina.

FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION (FAO). 2013. “Ficha técnica higo (*Ficus carica*).”

FEDEFRUTA, (2010) Manual de Calidad en los Procesos de Cosecha y Secado a sol para Ciruelas Secas de Chile. Chile.

FLORES J. (2011). Tesis, “Determinación de los Índices de Madurez Para la Comercialización de Durazno (*Prunus Persicae*) Variedad Conservero Amarillo en dos Tipos de Ambientes para Mercados de la Zona Central del País”. Universidad Técnica de Ambato. Ecuador

FREITAS, D., OLIVEIRA J., MIRANDA M., MACEDO M., SALES P., VILLAS-BOAS L, RAMOS M. (2007) “Enzymatic activities and protein profile of latex from *Calotropis procera*” *Plant Physiology and Biochemistry*. England

GARCÍA M, 2013. Extracción e Inmovilización de enzimas Proteolíticas de Tres Tipos de Frutas Mediante dos métodos y su aplicación en la Industria Alimentaria. Universidad Estatal de Bolívar. Guaranda – Ecuador.

GIOVAMBATTISTA Y PERAL. 2011. Genética de los animales domésticos. Buenos Aires: Inter -Médica S.A.I.C.I

GOLDSTEIN L. (2006) “Kinetic behaviour of immobilized enzyme systems”. *Methods Enzymol*, Estados Unidos. 397-443 p.

GÓMEZ, C. (2008). “Identificación de la actividad proteolítica en especies vegetales comunes presentes en las provincias de Loja y Pastaza” (Proyecto de Graduación, Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria, Escuela Politécnica Nacional. Quito – Ecuador

GUZMÁN F., BARBERIS S., ILLANES A. (2007) “Peptide synthesis: chemical or enzymatic” *Electronic Journal of Biotechnology*.

HANZEN CHR. (2016). *Enzimas Coagulantes*. Industrial Alimenticia. FEPALE.

HERRERA A. (2009). *El cuajo vegetal*. Zaragoza España.

KONNO, K., HIRAYAMA C, NAKAMURA M, TATEISHI K, TAMURA Y, HATTORI M, KDINO K. (2004). “Papain protects papaya trees from herbivorous insects: role of cysteine proteases in latex.” *The Plant Journal*

JARRÍN J. 2016. Utilización de la Enzima Ficina Extraída del Higo para la Elaboración de Queso Andino. Proyecto de Investigación. Universidad Estatal de Bolívar. Guaranda – Ecuador.

LÓPEZ A., GARCÍA M., QUINTERO R., (2002), “Biotecnología Alimentaria”, Editorial Limusa, México.

MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANADERIA, ACUACULTURA Y PESCA (MAGAP). 2013. Las industrias de la producción de queso.

MEDINA, M. Y ARAGUNDI, E. 2007. Determinación de los costos de calidad en el proceso productivo del queso. Tesis de Grado. Facultad de Ciencias Humanísticas y Económicas, Escuela Superior Politécnica del Litoral. Guayaquil. Ecuador.

MAZORRA M., y col. (2013) Hidrólisis De Proteínas Por Un Extracto Enzimático De Flor De Naranja Agrio (Citrus AURANTIUM) Y Su Potencial Coagulante Para Producción De Quesos. Universidad de Sonora. México.

MORCELLE S; CAFFINI N.; PRIOLO N. 2004. Propiedades proteolíticas del *Funastrum clausum latex*”. Fitoterapia. Pág.75: 480-493

NOLIVOS M. (2011). Tesis “USO DE CUAJO VEGETAL (Leche De Higo Verde - *Ficus Carica Linnaeus*) PARA LA ELABORACIÓN DE QUESO FRESCO”. Universidad Técnica de Ambato. Ecuador.

NORMA TÉCNICA ECUATORIANA INEN 2607. 2012. Queso Andino Madurado. Requisitos. Quito – Ecuador.

OMS, FAO. 2011. Codex Alimentario. Obtenido de Organización Mundial de la Salud -Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura.

RAJESH, R., RAGHAVENDRA G, NATARAJA, B., DHANANJAVA, K, KEMPARAJU, S. VISHWANATH S, (2005). "Procoagulant activity of Calotropis gigantea latex associated with fibrin(ogen)olytic activity". Toxicon. England.

RAMÍREZ J., AYALA M. (2010). ENZIMAS: ¿QUÉ SON Y CÓMO FUNCIONAN?, Instituto de Biotecnología, UNAM. México.

REVILLA M .2006. Tecnología de la Leche. Procesamiento, manufactura y análisis. Editorial Herrero hermanos. México D.F. pp 28-34.

ROBINSON R., WILBEY R., 2002, "Fabricación de Queso", Segunda Edición, Editorial Acribia, S. A., Zaragoza – España.

SCHMIDT H Y PENNACCHIOTTI I, (2011) "Las enzimas en los alimentos, su importancia en la química y la tecnología de los alimentos", Colombia. 55p.

WISEMAN A. (2010) "Handbook of enzyme biotechnology", 2da edición, England.

WHITHAKER JR. (2009) "Effect of substrate concentration on rates of enzyme catalyzed reaction In: Principles of enzymology for the food science", Marcel Dekker, California.

<http://sotelo-ficus.blogspot.com/p/valor-nutricional-del-higo-100gr.html>

ANEXOS

ANEXO 1

MAPA DE UBICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN




ANEXO 2

RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICOS

	UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA					
Dir. Avenida Ernesto Che-Guevara s/n y Gabriel Secaira		www.ueb.edu.ec				
CERTIFICADO DE ANÁLISIS DE LABORATORIO						
CERTIFICADO No: 01016						
Información del solicitante:						
Solicitante: Egdo. Julio Jarrín		Teléfono: 0993922067				
Dirección: Cdla. Las Colinas		Ciudad: Guaranda				
Descripción de las muestras:						
Producto: Queso crema, queso maduro		Peso: Aproximadamente 100 g				
Tipo de envase: Fuente desechable		No de muestras: 5				
Conservación:	Ambiente (X) Refrigeración Congelación	Fecha de recepción: 16 de Mayo del 2016 19 de Mayo del 2016				
Cierres de Seguridad:	Ninguno: (X) Intacto: Otros:	Fecha de entrega: 19 de Mayo del 2016				
RESULTADOS OBTENIDOS						
Muestras	Código laboratorio	Código solicitante	Ensayos solicitados	Métodos Utilizados	Unidades	Resultados
1	3013164	T1	Mohos y Levaduras	Petrifilm	Ufc/g	Incontable
2	3013165	T2	Mohos y Levaduras	Petrifilm	Ufc/g	0
3	3013166	T3	Mohos y Levaduras	Petrifilm	Ufc/g	Incontable
4	301367	T4	Mohos y Levaduras	Petrifilm	Ufc/g	Incontable
5	3013168	T5	Mohos y Levaduras	Petrifilm	Ufc/g	Incontable

Nota: Los resultados son de uso exclusivo del solicitante.



Ing. Darwin Pomagualli

DIRECTOR DEPARTAMENTO INVESTIGACIÓN



Ing. Paola Wilcaso

TÉCNICO DOCENTE

		UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR				
		DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN				
		LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA				
		Dir. Avenida Ernesto Che-Guevara s/n y Gabriel Secaira			www.ueb.edu.ec	
CERTIFICADO DE ANÁLISIS DE LABORATORIO						
CERTIFICADO No: 01016						
Información del solicitante:						
Solicitante: Egdo. Julio Jarrín				Teléfono: 0993922067		
Dirección: Cdla. Las Colinas				Ciudad: Guaranda		
Descripción de las muestras:						
Producto: Queso crema, queso maduro				Peso: Aproximadamente 100 g		
Tipo de envase: Fuente desechable				No de muestras: 5		
Conservación:	Ambiente (X)	Refrigeración	Congelación	Fecha de recepción: 16 de Mayo del 2016 19 de Mayo del 2016		
Cierres de Seguridad:	Ninguno: (X)	Intacto:	Otros:	Fecha de entrega: 19 de Mayo del 2016		
RESULTADOS OBTENIDOS						
Muestras	Código laboratorio	Código solicitante	Ensayos solicitados	Métodos Utilizados	Unidades	Resultados
1	3013164	T1	Mohos y Levaduras	Petrifilm	Ufc/g	Incontable
2	3013165	T2	Mohos y Levaduras	Petrifilm	Ufc/g	0
3	3013166	T3	Mohos y Levaduras	Petrifilm	Ufc/g	Incontable
4	301367	T4	Mohos y Levaduras	Petrifilm	Ufc/g	Incontable
5	3013168	T5	Mohos y Levaduras	Petrifilm	Ufc/g	Incontable

Nota: Los resultados son de uso exclusivo del solicitante.


Ing. Darwin Pomagualli

DIRECTOR DEPARTAMENTO INVESTIGACIÓN


Ing. Paola Wilcaso

TÉCNICO DOCENTE

ANEXO 3

BASES DE DATOS

Valores de pH obtenidos en la elaboración del queso andino con la utilización de la enzima ficina.

N°	Tratamiento	pH
1	A ₁ B ₁ R1	5.293
2	A ₁ B ₂ R1	5.340
3	A ₁ B ₃ R1	5.473
4	A ₂ B ₁ R1	5.299
5	A ₂ B ₂ R1	5.339
6	A ₂ B ₃ R1	5.482
7	A ₁ B ₁ R2	5.326
8	A ₁ B ₂ R2	5.342
9	A ₁ B ₃ R2	5.494
10	A ₂ B ₁ R2	5.227
11	A ₂ B ₂ R2	5.338
12	A ₂ B ₃ R2	5.491

Valores de acidez (g/100 g de ácido láctico) obtenidos en la elaboración del queso andino con la utilización de la enzima ficina.

N°	Tratamiento	Acidez
1	A ₁ B ₁ R1	0.124
2	A ₁ B ₂ R1	0.132
3	A ₁ B ₃ R1	0.150
4	A ₂ B ₁ R1	0.125
5	A ₂ B ₂ R1	0.136
6	A ₂ B ₃ R1	0.158
7	A ₁ B ₁ R2	0.125
8	A ₁ B ₂ R2	0.135
9	A ₁ B ₃ R2	0.161
10	A ₂ B ₁ R2	0.126
11	A ₂ B ₂ R2	0.135
12	A ₂ B ₃ R2	0.166

ANEXO 4

FORMATO DE FICHAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Marque con una X el casillero que corresponda su evaluación sensorial a las diferentes muestras de queso andino presentadas.

PARÁMETROS		244	360	488	512
COLOR					
Muy intenso	5				
Intenso	4				
Característico	3				
Opaco	2				
Muy opaco	1				
OLOR					
5. Agrada mucho	5				
4. Agrada poco	4				
3. Ni agrada ni desagrada	3				
2. Desagrada	2				
1. Desagrada mucho	1				
SABOR					
5. Agrada mucho	5				
4. Agrada poco	4				
3. Ni agrada ni desagrada	3				
2. Desagrada	2				
1. Desagrada mucho	1				
TEXTURA					
5. Muy consistente	5				
4. Consistente	4				
3. Ni consistente ni blando	3				
2. Blando	2				
1. Muy blando	1				
ACEPTABILIDAD					
5. Muy aceptable	5				
4. Poco aceptable	4				
3. Aceptable	3				
2. Inaceptable	2				
1. Muy inaceptable	1				

COMENTARIO:.....

¡Gracias por su colaboración!

FICHAS DE REOCLECCIÓN DE DATOS - AMARGOR

Nombre: _____

Fecha: _____

UD. ha recibido cuatro muestras codificadas como 244, 360, 488 y 512, pruébelas de izquierda a derecha y marque con una (X) la muestra que considere más amarga. Enjuáguese la boca entre cada par.

Muestras:

244 _____ 360 _____ 488 _____ 512 _____

OBSERVACIONES: _____

Nombre: _____

Fecha: _____

UD. ha recibido dos muestras codificadas como 244, 360, 488 y 512, pruébelas de izquierda a derecha y marque con una (X) la muestra que considere más amarga. Enjuáguese la boca entre cada par.

Muestras:

244 _____ 360 _____ 488 _____ 512 _____

OBSERVACIONES: _____

Nombre: _____

Fecha: _____

Indique con una (X) cuál de las cuatro muestras prefiere.

Muestras	Preferencia
244	_____
360	_____
488	_____
512	_____

SUGERENCIAS: _____

Nombre: _____

Fecha: _____

Indique con una (X) cuál de las cuatro muestras prefiere.

Muestras	Preferencia
244	_____
360	_____
488	_____
512	_____

SUGERENCIAS: _____

ANEXO 5

FOTOGRAFÍAS DEL PROCESO INVESTIGATIVO

RECEPCIÓN



FILTRADO



PASTEURIZADO



ENFRIADO



INCOLUADO



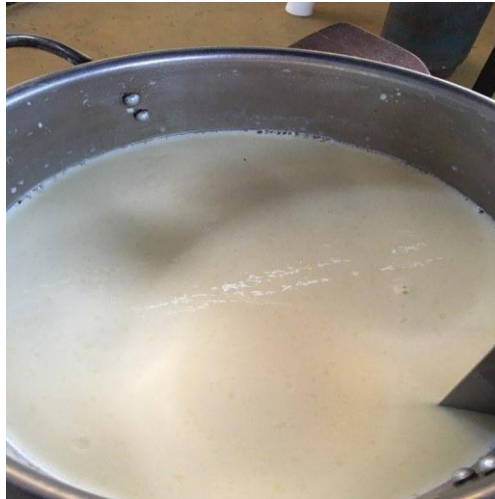
INCUBADO



ADICIONADO



COAGULADO



CORTADO



BATIDO



DESUERADO



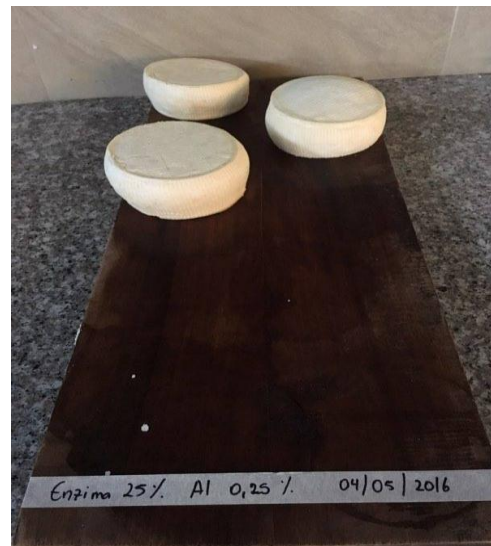
MOLDEADO



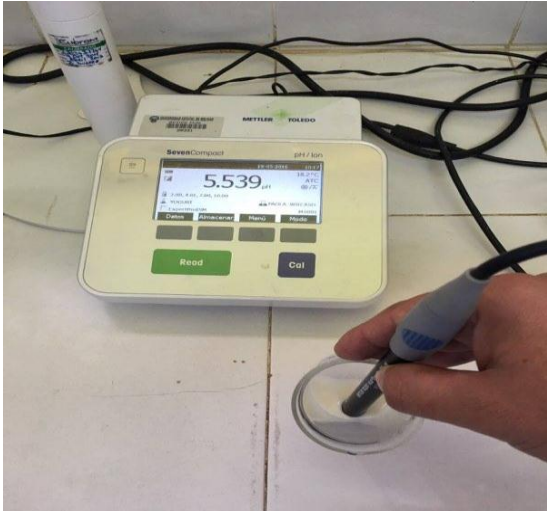
DESMOLDEADO



MADURACIÓN



ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS



ANEXO 6

GLOSARIO DE TERMINOS

Actividad proteolítica: Capacidad que tienen las enzimas para romper enlaces de proteínas, caso de la caseína de la leche.

Fruto: baya oblonga. Durante el desarrollo del fruto éstos se doblan geotrópicamente

Ficina: es una enzima proteolítica proveniente del látex del higo

Higroscópico es decir, absorbe los olores del medio donde se almacena.

Índice de madurez: Corresponde al estado de madurez que poseen los productos vegetales, frutas y hortalizas al ser cosechados, es específicamente importante para su manejo, transportación y comercialización.

Materias extrañas - hojas o porciones de planta de arándanos y otras materias vegetales inocuas semejantes.

Residuo agroindustrial: son los restos o material no utilizado por las industrias procesadoras de productos alimentarios y no alimentarios.

Tratamiento: Un tratamiento es la combinación de niveles del o los factores aplicados a las unidades experimentales, para poder observar el efecto que estos producen o no sobre la respuesta experimental, un factor es igual a un tratamiento si el factor solo posee un nivel.