



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE INGENIERÍA
CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

**“Trabajo de grado previo a la obtención del Título de Ingeniero
Agroindustrial”**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

Título del proyecto

**EVALUACIÓN DEL GRADO DE DESNATURALIZACIÓN DE LA
PROTEÍNA, CALCIO Y FÓSFORO DE LA LECHE DURANTE EL
CALENTAMIENTO UTILIZANDO UN NÚMERO DE COMBINACIONES
DE TIEMPO/ TEMPERATURA Y SU INFLUENCIA EN LA CALIDAD Y
RENDIMIENTO DEL QUESO FRESCO ELABORADO.**

Autores:

Isabel Mariana Azán Pinta
Carla Vanessa Rodas Heredia

Director:

Ing. Msc. Sonia Rodas

Riobamba – Ecuador

AÑO

2016

Los miembros del Tribunal de Graduación del proyecto de investigación de título: **EVALUACIÓN DEL GRADO DE DESNATURALIZACIÓN DE LA PROTEÍNA, CALCIO Y FÓSFORO DE LA LECHE DURANTE EL CALENTAMIENTO UTILIZANDO UN NÚMERO DE COMBINACIONES DE TIEMPO/TEMPERATURA Y SU INFLUENCIA EN LA CALIDAD Y RENDIMIENTO DEL QUESO FRESCO ELABORADO** presentado por: ISABEL MARIANA AZÀN PINTA, CARLA VANESSA RODAS HEREDIA y dirigida por: INGENIERA SONIA RODAS.

Una vez escuchada la defensa oral y revisado el informe final del proyecto de investigación con fines de graduación escrito en la cual se ha constatado el cumplimiento de las observaciones realizadas, remite la presente para uso y custodia en la biblioteca de la Facultad de Ingeniería de la UNACH.

Para constancia de lo expuesto firman:

Dr. Mario Salazar
Presidente del Tribunal



Firma

Ing. Sonia Rodas
Directora del Proyecto



Firma

Dra. Ana Mejía López
Miembro del Tribunal



Firma

AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

“La responsabilidad del contenido de este Proyecto de Graduación, corresponde exclusivamente a: Isabel Mariana Azán Pinta, Carla Vanessa Rodas Heredia y del Director del Proyecto; Ing. Msc. Sonia Rodas y el patrimonio intelectual de la misma a la Universidad Nacional de Chimborazo”.



Isabel Mariana Azán Pinta

C.I 060584239-2



Carla Vanessa Rodas Heredia

C.I 060433865-7

AGRADECIMIENTO

Nuestro profundo agradecimiento a la Universidad Nacional de Chimborazo, a la Facultad de Ingeniería, a la Carrera de Ingeniería Agroindustrial, por su contribución en nuestra formación académica. A todas las autoridades y docentes que han impartido sus conocimientos contribuyendo a nuestra formación académica y profesional, en especial a la Dra. Anita Mejía López y Ing. Msc, Sonia Rodas que han sido la guía para la elaboración de este proyecto, a nuestra familia por todo el apoyo brindado para cumplir nuestros anhelos, a todos los amigos, compañeros y personas que nos apoyaron de una u otra manera para culminar con éxito una etapa de nuestra vida.

Un agradecimiento profundo a la empresa de Lácteos “San Salvador” que nos han brindado su apoyo y colaboración incondicional en la realización y culminación de la presente tesis de grado.

Isabel Azán
Carla Rodas

DEDICATORIA

El presente trabajo va dedicado al Todopoderoso por darnos la vida y sabiduría, a nuestros padres, familia y docentes de la prestigiosa Carrera de Ingeniería Agroindustrial, quienes fueron pilares fundamentales en nuestra preparación profesional, por su comprensión, afecto, cariño y apoyo moral, para dar fiel cumplimiento de nuestras tareas emprendidas, y concretar nuestras aspiraciones.

Isabel Azán
Carla Rodas

ÍNDICE GENERAL.

Índice de tablas.....	vii
Índices de ilustraciones	viii
Resumen.....	ix
Abstract	¡Error! Marcador no definido.
Introducción	x

CAPÍTULO I

1.	FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	1
1.1.	Leche	1
1.1.1.	Producción lechera en el Ecuador.	1
1.1.2.	Características generales de la leche	2
1.1.3.	Propiedades físicas	2
1.1.4.	Propiedades Químicas	4
1.1.5.	Composición de la leche.....	4
1.2.	Pasteurización.....	14
1.2.1.	Leche Pasteurizada	14
1.2.2.	Tipos de pasteurización	15
1.2.3.	Efectos provocados a la leche por tratamientos térmicos.....	17
1.3.	Queso fresco	19
1.3.1.	Valor nutritivo del queso	20
1.3.2.	Elaboración del queso fresco.....	21
1.3.3.	Factores que influyen en la elaboración del queso fresco.	22
1.4.	Estructura de las proteínas.....	25
1.4.1.	Proteínas de la leche	26
1.5.	Curvas de desnaturalización	30
1.6.	Rendimiento	32

CAPÍTULO II

2.	METODOLOGÍA	34
2.1.	Tipo de estudio	34
2.2.	Población y muestra	34
2.3.	Operacionalización de variables.....	35
2.4.	Procedimientos	36
2.5.	Procesamiento y análisis	37
2.5.1.	Actividad 1. Control de calidad de la materia prima.....	37
2.5.2.	Actividad 2. Pasteurización de la muestra.....	40

2.5.3.	Actividad 3. Elaboración del queso fresco	41
2.5.4.	Actividad 4. Análisis físicos- químicos y microbiológicos del queso.....	42
CAPÍTULO III		
3.	RESULTADOS	43
3.1.	Análisis de la leche cruda	43
3.2.	Determinación del porcentaje de desnaturalización de la proteína, calcio y fósforo en la leche a diferentes temperaturas.	44
3.3.	Análisis del queso fresco a diferentes temperaturas.....	46
3.4.	Rendimiento del queso fresco	48
CAPÍTULO IV		
4.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	49
CAPÍTULO V		
5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	58
5.1.	Conclusiones	58
5.2.	Recomendaciones	60
CAPÍTULO VI		
6.	PROPUESTA	61
6.1.	Título de la propuesta.	61
6.2.	Introducción.....	61
6.3.	Objetivos.	62
6.4.	Fundamentación científico- teórico.	62
6.5.	Descripción de la propuesta.....	65
6.5.1.	Elaboración de queso fresco pasteurizado a punto de ebullición	65
6.5.2.	Elaboración del queso pasteurizado a 72°C	68
6.5.3.	Comparación de las características del queso propuesto con el queso elaborado en la empresa	72
6.5.4.	Determinación y comparación del rendimiento	72
6.5.5.	Capacitación al personal.....	72
6.6.	Diseño Organizacional.	79
6.7.	Monitoreo y Evaluación de la propuesta	80
	BILIOGRAFÍA	81
	ANEXOS	85
	Anexo 1. Análisis de la leche	85
	Anexo 2. Elaboración del queso fresco.....	88
	Anexo 4. Determinaciones analíticas del queso fresco.....	91

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Principales proteínas presentes en la leche de vaca, porcentaje aproximado.....	8
Tabla 2. Concentración de las proteínas en la leche.	9
Tabla 3. Composición y energía de la leche de diferentes especies (g/L).	14
Tabla 4. Composición media de diferentes leches (g/100 g).	17
Tabla 5. Requisitos queso fresco.....	19
Tabla 6. Requisitos microbiológicos del queso fresco.....	20
Tabla 7. Variables independiente y dependiente.....	35
Tabla 8 Primera repetición, leche cruda.....	43
Tabla 9. Desnaturalización de proteína en la leche y porcentaje de calcio y fósforo.	44
Tabla 10. Mediana y Desviación Estándar de la leche.....	45
Tabla 11. Análisis del queso en diferentes temperaturas.	46
Tabla 12 Mediana y Desviación Estándar del queso fresco.....	47
Tabla 13. Factores para determinar el rendimiento del queso fresco.....	48
Tabla 14. Rendimiento del queso fresco.....	48
Tabla 15 Resultados de las determinaciones.....	49
Tabla 16 Rendimiento del queso a punto de ebullición y a 72 ^a C x 15s.	72

ÍNDICES DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Contribución regional a la producción de leche	1
Ilustración 2. Estructura de la Lactosa	11
Ilustración 3. Queso fresco	19
Ilustración 4. Diagrama de elaboración del queso fresco	21
Ilustración 5. Estructura de las proteínas.....	26
Ilustración 6 Esquema del modelo de estructura de las micelas de caseína	27
Ilustración 7 Esquema del modelo de estructura de las micelas de caseína	28
Ilustración 8. Curvas de desnaturalización	30
Ilustración 9. Actividades.....	36
Ilustración 10. Control de calidad	37
Ilustración 11 Pasteurización de la leche.....	40
Ilustración 13 Análisis realizados en el queso.....	42
Ilustración 14 Porcentaje de Proteína	50
Ilustración 15 Porcentaje de desnaturalización	51
Ilustración 16 Porcentaje de Fósforo	52
Ilustración 17. Porcentaje de Calcio	53
Ilustración 18 Porcentaje de humedad en el queso.....	54
Ilustración 19 Porcentaje de proteína del queso	55
Ilustración 20. Porcentaje de Fósforo del queso.....	56
Ilustración 21 Porcentaje de calcio del queso.....	56
Ilustración 22 Rendimiento	57
Ilustración 23 Papel del Ca y el fosfato en la estabilización de las micelas de caseína .	63
Ilustración 24 Diagrama de elaboración del queso a punto de ebullición	65
Ilustración 25 Diagrama de elaboración de queso fresco pasteurizado a 72°C.....	68
Ilustración 26 Diagrama Organizacional de la empresa "San Salvador"	79

RESUMEN

Este proyecto de investigación se fundamentó en la realización de análisis en la leche para la determinación de la desnaturalización de las proteínas y la incidencia de los minerales tales como el Calcio y Fósforo al ser sometida a diferentes tiempos y temperaturas de pasteurización, como consecuencia de esto la afección en la elaboración del queso fresco.

La metodología empleada para determinar el porcentaje de desnaturalización de las proteínas se basó en un estudio realizado por (Manji B, Kakuda Y, 1987). Se efectuó ensayos en muestras de leche, cruda y pasteurizada a diferentes tiempos/temperaturas obteniéndose los siguientes resultados: a 63°Cx15 min 5.32%; a 72°Cx15s 8.31 % y a punto de ebullición por 2s 13.45% y en el contenido de minerales como el fósforo de 0,13%; 0,10%; 0,09%; 0,12% y en calcio 0,39%; 0.31% ; 0,39%; 0,35% respectivamente.

En el queso fresco elaborado se obtuvo valores en proteína de 11,66% en leche cruda, y de 13,95%; 15,74%; 17,01% a las temperaturas/tiempos antes mencionados, en el contenido de calcio y fósforo no se encontró diferencias significativas en los tratamientos; con respecto al porcentaje de humedad se determinó un aumento considerable en la pasteurización a punto de ebullición en relación a los demás tratamientos.

Mediante estos resultados se evidencio la desnaturalización de las proteínas que se produce en la leche al incrementar la temperatura, al mismo tiempo que el calcio y el fósforo no se ven afectado, sin embargo, en referencia al queso fresco se comprobó la incidencia de la temperatura en un incremento en el rendimiento, en el contenido de proteína y en la humedad proporcionando una cuajada débil.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
CENTRO DE IDIOMAS INSTITUCIONAL

Lic. Eduardo Heredia

10 de Agosto de 2016

ABSTRACT

This research project was based on the analysis in the milk for the determination of protein denaturation and the incidence of minerals such as Calcium and Phosphorus when subjected to different times and temperatures of pasteurization, as a result of this the condition in the production of fresh cheese.

The employed methodology to determine the percentage of protein denaturation was based on a study conducted by (Manji B, Kakuda Y, 1987). It was performed trials in milk samples, raw and pasteurized at different times/ temperatures with the following results: to 63°Cx15 min (5.32%); 72°Cx15 s(8.31 %) and boiling point for 2 s (13.45%) and in the content of minerals such as phosphorus of 0,13%; 0,10%; 0,09%; 0,12% and calcium 0,39% ; 0,31% ; 0,39%; 0,35% respectively.

In the fresh cheese, it was obtained values of 11.66% protein in raw milk, and 13.95%; 15.74%; 17.01% at temperatures / aforementioned times, in calcium and phosphorus content significant differences were not found in treatments; with respect to moisture percentage it was determined a considerable increase in the pasteurization to boiling point in relation to other treatments .

Through these results denaturation of proteins produced in the milk was evidenced by increasing the temperature was shown, at the same time that calcium and phosphorus are not affected. In reference to fresh cheese the incidence of temperature on yield and the content of the protein was checked.



INTRODUCCIÓN

La leche es uno de los alimentos más consumidos por los seres humanos debido a que posee una composición equilibrada de nutrientes tales como: proteínas, azúcares, grasas, vitaminas y minerales como el Calcio y Fosforo.

En la actualidad la leche es sometida a una serie de tratamientos que garantizan al consumidor la inocuidad del producto, entre éstos encontramos la pasteurización que tiene como finalidad la neutralización de la carga microbiana patógena que ocasiona el deterioro de la calidad física y química. Louis Pasteur pionero en el tratamiento de pasteurización establece tres tipos de procesos: **VAT** o lenta que consiste en la elevación de la temperatura a 63°C con 30 minutos de retención, **HTST**, trabaja con una temperatura de 72°C con 15s y la **UHT**, dónde se eleva la temperatura a 138°C con 2s. Éste tratamiento conlleva a una serie de cambios en la composición de la leche ya que según (Romero R. y Mestres J., 2004). La pasteurización a (72°C x 15s) da lugar a la desnaturalización de aproximadamente del 7% de las proteínas solubles de la leche, un tratamiento a 80°C durante 20 s desnaturaliza aproximadamente, el 25%, el proceso de UHT determina la desnaturalización del 50- 75% o 70-90% y los procesos de esterilización convencional (115°C x 10s) determinan la desnaturalización en su totalidad de las proteínas solubles.

Por lo descrito anteriormente se pretendió conocer datos relevantes y reales sobre los cambios que se producen en la leche al ser sometida a diferentes tiempos y temperaturas, centrados específicamente en el grado de desnaturalización de la proteína, calcio y fósforo, lo que permitirá identificar los efectos que se producen en la leche por el proceso de pasteurización y si estos factores modifican su composición o alteran sus propiedades tanto en la materia prima como en el producto terminado mediante análisis ya establecidos.

El desarrollo de la investigación consta de 5 capítulos:

CAPÍTULO I: Contiene la fundamentación teórica sobre las características de la leche, propiedades físicas y químicas, componentes la pasteurización, queso estructura de las proteínas.

CAPÍTULO II: Se expone la metodología aplicada en la investigación detallando los métodos y procedimientos para conseguir los resultados finales.

Capítulo III y IV: Se evidencian los resultados obtenidos y la discusión de cada uno de ellos en la investigación.

Finalmente, en el **CAPITULO V:** Se detallan las conclusiones y recomendaciones a las cuales se llegaron luego del desarrollo del proyecto de investigación.

CAPÍTULO I

1. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

1.1. Leche

Producto de la secreción mamaria normal de animales bovinos lecheros sanos, obtenida mediante uno o más ordeños diarios, higiénicos, completos e ininterrumpidos, sin ningún tipo de adición o extracción, destinada a un tratamiento posterior previo a su consumo. (NTE INEN 2074, 2012)

1.1.1. Producción lechera en el Ecuador.

La producción lechera es uno de los sectores más influyentes en la generación de empleo agrícola y en la economía ecuatoriana especialmente en la zona interandina. Según datos proporcionados por la Asociación de Ganaderos de la Sierra y el Oriente (AGSO 2010), en el Ecuador se producen alrededor de 5100.000 litros de leche diarios distribuidos de la siguiente manera la Sierra con un 72.80%, en la Costa con una producción del 18.40% y la Amazonia con un 8.20% aproximadamente el 60% de la producción total de la leche se destina a la elaboración de quesos tanto en pequeñas como en grandes industrias lácteas.



Ilustración 1. Contribución regional a la producción de leche
Fuente: Banco Central del Ecuador SICA, 2010

1.1.2. Características generales de la leche

La leche fresca de vaca deberá presentar aspecto normal, estará limpia y libre de calostro, preservadores, antibióticos, colorantes, materias extrañas y sabores u olores objetables o extraños. La leche se obtendrá de vacas acreditadas como sanas, es decir libres de toda enfermedad infectocontagiosa tales como tuberculosis, brucelosis y mastitis. A partir del momento de obtención de la leche se someterá a filtración y enfriamiento inmediato a 4 C, en el momento de a entrega podrá estar a una temperatura no mayor de 10°C. (Abril.A, Pilco.V, 2013)

1.1.3. Propiedades físicas

Densidad

Según Celis.M & Juarez.D., (2009). La densidad de la leche puede fluctuar entre 1.028 a 1.034 g/cm³ a una temperatura de 15°C; su variación con la temperatura es 0.0002 g/cm³ por cada grado de temperatura. La densidad de la leche varía entre los valores dados según sea la composición de la leche, pues depende de la combinación de densidades de sus componentes, que son los siguientes:

- Agua: 1.000 g/cm³
- Grasa: 0.931 g/cm³
- Proteínas: 1.346 g/cm³
- Lactosa: 1.666 g/cm³
- Minerales: 5.500 g/cm³

La densidad mencionada (entre 1.028 y 1.034 g/cm³) es para una leche entera, pues la leche descremada está por encima de esos valores (alrededor de 1.036 g/cm³), mientras que una leche aguada tendrá valores menores de 1.028 g/cm³. (Celis.M & Juarez.D., 2009)

pH.

La leche es de característica cercana a la neutra. Su pH puede variar entre 6.5 y 6.65. Valores distintos de pH se producen por deficiente estado sanitario de la glándula mamaria, por la cantidad de CO₂ disuelto; por el desarrollo de microorganismos, que desdoblán o convierten la lactosa en ácido láctico; o por la acción de microorganismos alcalinizantes. (Celis.M & Juarez.D., 2009).

Acidez

Una leche fresca posee una acidez de 0.15 a 0.18%. Esta acidez se debe en un 40% a la anfoterica, otro 40% al aporte de la acidez de las sustancias minerales, CO₂ disuelto y ácidos orgánicos; el 20% restante se debe a las reacciones secundarias de los fosfatos presentes. Una acidez menor al 0.15% puede ser debido a la mastitis, al aguado de la leche o bien por la alteración provocada con algún producto alcatinizante. Una acidez superior al 0.18% es producida por la acción de contaminantes microbiológicos. (La acidez de la leche puede determinarse por titulación con NaOH 0.1N). (Celis.M & Juarez.D., 2009)

Viscosidad

La leche natural, fresca, es más viscosa que el agua, tiene valores entre 1.7 a 2.2 centipoise para la leche entera, mientras que una leche descremada tiene una viscosidad de alrededor de 1.2 cp. La viscosidad disminuye con el aumento de la temperatura hasta alrededor de los 70°C, por encima de esta temperatura aumenta su valor. (Celis.M & Juarez.D., 2009)

Punto de congelación

El valor promedio es de -0.54°C (varía entre -0.513 y -0.565°C). Como se precia es menor a la del agua, y es consecuencia de la presencia de las sales minerales y de la lactosa. (Celis.M & Juarez.D., 2009)

1.1.4. Propiedades Químicas

Según Celis.M,(2009). La leche es un líquido de composición compleja, el agua es el soporte de los componentes sólidos de la leche y se encuentra presente en dos estados:

- Agua libre que es la mayor parte (intersticial) y como
- Agua adsorbida en la superficie de los componentes.

Según Celis.M, (2009). En lo que se refiere a los sólidos o materia seca la composición porcentual más comúnmente hallada es la siguiente:

- Materia grasa (lípidos): 3.5% a 4.0%
- Lactosa: 4.7% (aprox.)
- Sustancias nitrogenadas: 3.5% (proteínas entre ellos)
- Minerales: 0.8% A pesar de estos porcentajes en la composición de la leche se acepta como los más comunes, no es fácil precisar con certeza los mismos, pues dependen de una serie de factores.

1.1.5. Composición de la leche

En la composición de la leche, encontramos proteínas, lactosa, grasas, vitaminas, minerales y enzimas. Estos constituyentes difieren entre sí por el tamaño molecular y por su solubilidad, tornando a la leche en un complicado sistema físico-químico: las moléculas menores representadas por las sales, lactosa y vitaminas hidrosolubles se presentan en un estado de solución verdadera. Las moléculas mayores, lípidos, proteínas y encimas, aparecen en estado coloidal. (Zela.J, 2005)

Proteínas

La composición de la proteína es un factor de gran importancia dentro de la industrialización láctea, ya que influye de manera directa sobre el rendimiento y la

aptitud tecnológica de la leche. Así p. ej., el contenido de caseína juega un rol importante en la producción de quesos (Èejna V.,Chládek., 2009)En este proceso, el tratamiento de la leche con la enzima quimosina del cuajo de terneros lactantes, produce la desestabilización de la micela proteica, ya que la κ -caseína (κ -CN) pierde por proteólisis su región hidrofílica en el segmento caseinoma cropéptido, facilitando la agregación del fragmento para- κ -CN (Kumar,A; Grover,S; Sharma,J.and Batish,V., 2010).Al ser este componente proteico fundamentalmente hidrofóbico, el contenido de caseína influye directamente en el tiempo de coagulación de todos los quesos y por ende en su calidad y rendimiento (Sorensen J, Palmer D, Schiott B., 2013). Según (Swaisgood, 2003). La leche de vaca presenta un contenido proteico que oscila entre el 3 y el 4 %, distinguiendo tres categorías para el nitrógeno proteico:

- 1) Las caseínas
- 2) Las proteínas del lactosuero (β -lactoglobulina (β -LG) con cerca de 10% y α -lactoalbúmina con 4% de toda la proteína láctea (Hinrichs et al., 2004), además, contiene otras proteínas como, lactoferrina, lactoperoxidasa, inmunoglobulinas, y glicomacropéptidos (Baro et al., 2001).
- 3) Las proteínas de la membrana del glóbulo graso.

Las caseínas constituyen alrededor del 78 % de las proteínas lácteas, se precipitan cuando se acidifica la leche a un pH de 4.6, y se encuentran unidas principalmente con fosfato de calcio $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ en una estructura sólida y esponjosa llamada micela (Farrel.Jr; Ferrandini.E., 2006). Esta información concuerda con la reportada por (McMahon, D., 2008) quien, mediante microscopía electrónica de transmisión, obtuvieron imágenes de la micela de caseína en alta resolución. Dichos autores reportan la presencia de cadenas lineales y ramificadas de dos a cinco proteínas de largo, entrelazadas por nanoclusters de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ estabilizados por fosfoserina. Por su parte, las proteínas del lactosuero constituyen el 20 % del nitrógeno proteico total, contienen sulfuro en vez de fósforo, y permanecen en la solución láctea a un pH de 4.6 (Swaisgood, 2003). Por último, las proteínas de la membrana del glóbulo graso, que fueron adheridas durante la secreción apócrina a través de la membrana

celular del lactocito, sólo representan alrededor del 2 % de las proteínas lácteas (Reinhardt. T, Lippolis. J, 2006).

Las caseínas de la leche se clasifican en función de su movilidad electroforética como: α S1-caseína (α S1-CN), α S2-caseína (α S2CN), β -caseína (β -CN), κ -CN, y γ -caseína (γ CN) (Farrel.Jr; Ferrandini.E., 2006). Estas caseínas tienen una notable capacidad para estabilizar la fracción proteica de la leche, es decir, para inhibir la agregación y precipitación de las proteínas por cualquier tipo de estrés. Esta actividad es comparable a la observada en las chaperonas moleculares de la familia de proteínas de choque térmico (Thorn. D ; Meehan. S; Sunde. M; Rekas. A, 2005). La α S1-CN es el nitrógeno proteico de mayor concentración en la leche de vaca, tiene 17 restos de prolina distribuidos a lo largo de toda su cadena, 199 aminoácidos (AA) con ocho o nueve grupos fosfato para interactuar con calcio, tres regiones no polares o hidrofóbicas, y una zona polar o hidrofílica de carga neta negativa, en la que se encuentran la mayoría de los grupos fosfato proporcionando a la leche un pH de 6.6 (Farrell. Jr; Jimenez. F; Bleck. G; Swaisgood. H, 2004)

La α S2-CN está formada por 207 AA con 13 grupos fosfato para interactuar con calcio, muy pocos restos de prolina, y un enlace disulfuro entre las cisteínas (Farrell. Jr; Jimenez. F; Bleck. G; Swaisgood. H, 2004). La α S2-CN es más hidrofílica que la α S1-CN ya que tiene tres zonas polares y sólo una región no polar con AA hidrofóbicos y carga neta positiva (Swaisgood, 2003). La β -CN consta de 209 AA, con cinco grupos fosfato para interactuar con calcio, no presenta cisteína, pero es la caseína con el mayor número de residuos de prolina (Farrell. Jr; Jimenez. F; Bleck. G; Swaisgood. H, 2004). Esta caseína tiene una división clara entre su región polar y su zona no polar, constituida por una gran cantidad de AA hidrofóbicos (Swaisgood, 2003). La β -CN presenta actividad de tipo chaperón cuando forma la micela de caseína. Esta actividad es causada por el elevado número de residuos de prolina presentes en su estructura, y por sus superficies hidrófobas expuestas. (Thorn. D ; Meehan. S; Sunde. M; Rekas. A, 2005), confirmaron lo anterior al reportar la actividad de las α S1-CN, α S2-CN, y β -CN como potentes inhibidores de la formación de κ -CN fibrilar. Estos autores propusieron que la actividad de tipo

chaperón observada en estas caseínas, puede jugar un papel profiláctico en el desarrollo de depósitos de amiloide en el tejido mamario. La β -CN sufre una hidrólisis enzimática en la leche, producida por una proteinasa de origen sanguíneo, lo que origina fragmentos proteicos llamados γ -CN, y fragmentos todavía más pequeños que reciben el nombre de fracción proteosa-peptona (PP). La κ -CN está formada por 169 AA, y presenta una glucosilación con los residuos de serina en varios segmentos de su molécula (Swaisgood, 2003). Presenta únicamente un grupo fosfato, generando una interacción con el calcio mucho menor en comparación con las otras caseínas (Farrel.Jr; Ferrandini.E., 2006). Esta información fue respaldada por (Muller-Buschbaum. P; Gebhardt, R; , 2007), al estudiar el efecto de la concentración de calcio sobre la estructura de las micelas mediante espectroscopía de dispersión de rayos X y microscopía de fuerza atómica. Estos autores observaron que al aumentar el calcio, el tamaño de los agregados se incrementaba, mientras que el tamaño de las micelas disminuía, concluyendo que la κ CN estabiliza la circunferencia de las micelas, evitando la precipitación de la α S1-CN, α S2CN y β -CN por acción del calcio. Dentro de la industrialización láctea, las proteínas del lactosuero se utilizan principalmente en la fabricación de preparaciones alimenticias, fórmulas lácteas infantiles, y como hidrogeles para la encapsulación y liberación controlada de compuestos bioactivos El nitrógeno proteico del lactosuero incluye a la β -lactoglobulina (β LG), α -lactoalbúmina (α -LA), la PP, inmunoglobulinas, albúmina de suero (AS), y otros compuestos nitrogenados minoritarios como la lactoferrina (LF) (Swaisgood, 2003).

La β -LG, es una importante fuente de péptidos biológicamente activos, su estructura está formada por 162 AA con dos enlaces disulfuro, y posee un grupo tiol libre en Cys-121, formado por un átomo de azufre y uno de hidrógeno (Hernández-Ledesma, B, 2008). Es precisamente este tiol libre, el que le otorga a la β -LG su capacidad antioxidante (Liu, H, 2007). Estos autores provocaron la reticulación de este tiol libre calentando la leche a 100 °C durante dos minutos, lo que promueve la formación de una red tridimensional de cadenas poliméricas homogéneas en el Cys-121, y una pérdida sustancial de la actividad antioxidante. Se concluye que para mantener el carácter protector de la β -LG hacia los radicales libres, los

productos lácteos que se consumen regularmente, no deberían calentarse en exceso. La estructura de la α -LA, consta de 123 AA, organizados en una estructura terciaria globular, mantenida por cuatro enlaces disulfuro. (Swaisgood, 2003). La α -LA, también posee un sitio de fuerte fijación con el calcio, y desde el punto de vista nutricional, esta proteína del lactosuero es muy importante en la preparación de fórmulas lácteas, debido a su elevado contenido en AA esenciales, particularmente triptófano. La AS está formada por 528 AA, y es la misma proteína que se encuentra en la sangre (Livney, Y, 2010). Por su parte, la LF es una glucoproteína fijadora de hierro presente en la leche, con una amplia gama de funciones fisiológicas, tales como actividades antibacterianas, antivirales, inmunomoduladoras, y antioxidantes (Wakabayashi, H, 2006). La LF bovina se obtiene de productos lácteos, y debido a la utilidad industrial de esta glucoproteína la Food and Drug Administration, en Estados Unidos, aprobó la aplicación de LF recombinante humana (BioPharming) y de LF bovina en spray (Ventures LLC) como nutracéutico y antibacteriano en carne de res cruda, respectivamente (Swaisgood, 2003).

Tabla 1. Principales proteínas presentes en la leche de vaca, porcentaje aproximado.

	<i>Abreviatura</i>	<i>g/L</i>	<i>%</i>
Caseínas		28,0	78
α_{s1} -Caseína	α_{s1} -CN	12,4	34,7
α_{s2} -Caseína	α_{s2} -CN	3,0	8,3
β -Caseína	β -CN	7,0	19
K-Caseína	K--CN	4,2	12
γ -Caseína	γ -CN	1,4	4
Proteínas del lactosuero	7,2	20	
β Lactoglobulina	β -LG	4,2	11,7
α -Lactoalbúmina	α -LA	1,1	3
Fracción proteosa-peptona	PP	0,8	2,2
Inmunoglobulina G	IgG	0,6	1,7
Inmunoglobulina M	IgM	0,09	0,25
Inmunoglobulina A	IgA	0,01	0,027

Albumina del suero	AS	0,3	0,83
Lactoferrina	LF	0,1	0,27
Proteínas de la membrana del glóbulo graso		0,7	2

Asumiendo 36g /L de proteína y 78% de caseína

Fuente: Información sintetizada de (Swaisgood, 2003; Farrell Jr. et al., 2006; Barbosa et al., 2012)

Tabla 2. Concentración de las proteínas en la leche.

Proteína	Concentración en la leche (g/kg)	% de la proteína total (p/p)
Proteína total	33.0	100.0
Caseínas	26.0	79.5
α_{s1} -CN	10.0	30.6
α_{s2} -CN	2.6	8.0
β -CN	9.3	28.4
κ -CN	3.3	10.1
γ -CN	0.8	2.4
Proteínas de suero	6.3	19.3
β -Lactoglobulina	3.2	9.8
α -Lactoalbúmina	1.2	3.7
Inmunoglobulinas	0.7	2.1
Seroalbúmina	0.4	1.2
Varias	0.8	2.4
Proteínas de la membrana del glóbulo graso	0.4	1.2

Fuente: Walstra y Jenness, 1984

Proteínas del suero de leche

Las proteínas no constituyen la reacción más abundante en el suero de la leche representa aproximadamente el 18%-20% de las proteínas totales de la leche (Parra 2009). Esta fracción contiene cuatro proteínas principales β Lactoglobulina (β -LG), α -lactoalbúmina (α -LA) albumina de suero sanguíneo (BSA) e inmunoglobulina (IgG). Los componentes menores de esta fracción son la Lactoferrina y la fracción proteasa peptona. (Zela.J, 2005)

Grasa

El contenido de grasa en los productos lácteos (tenor butirométrico) es de gran importancia económica y nutricional.

Las vacas Guersey producen leche con más tenor graso que las vacas Holstein. Los productos lácteos descremados tienen menores valores de Sólidos Totales, Grasa y energía. El contenido de grasa del queso depende del contenido original de grasa de la leche del cual se partió. (Zela.J, 2005)

La Grasa, en la leche se encuentra en estado de suspensión, formando miles de glóbulos de tres a cuatro micras de diámetro por término medio, variando de 1 a 25 micras. (Zela.J, 2005)

Cuando se deja la leche en reposo, estos glóbulos ascienden formando una capa de nata. Estos glóbulos están protegidos por membranas, evitando así ataques enzimáticos. Por centrifugación se separa también la grasa de la leche, con lo que obtenemos dos productos: la leche descremada y la crema. Un centímetro cúbico de leche puede contener cerca de 3,000 a 4,000 millones de glóbulos de grasa. Cuando no se quiere que asciendan a la superficie, se recurre a la homogenización de la leche, la que consiste en dividir a un décimo del normal estos glóbulos de forma que queden más tiempo en suspensión. (Zela.J, 2005)

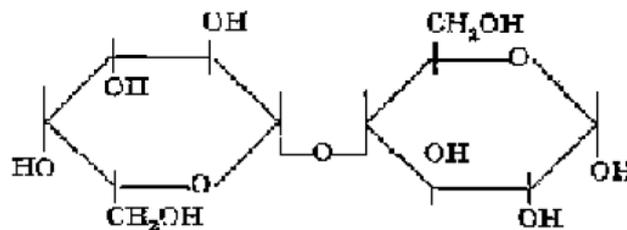
Hidratos de carbono

En la práctica, la lactosa es el único azúcar de la leche, aunque en ella existen también en pequeña proporción poliosidos libres y glúcidos combinados. (Zela.J, 2005)

Lactosa.

El hidrato de carbono de la leche es la lactosa (azúcar de leche), un disacárido constituido por glucosa y galactosa. Está formada por la acción conjunta de la N-galactosiltransferasa y la α -lactalbúmina (lactosasintetasa) para formar la unión glucosa-galactosa; la glucosa llega a la ubre por la sangre. La lactosa es el principal agente osmótico de la leche, con lo que permite el transporte de agua desde la sangre. (Zela.J, 2005)

Reduce el licor de Fehling y es hidrolizada por la emulsina y por la enzima lactasa que es una β -glucosidasa. La fórmula estructural de la lactosa es la siguiente: (Zela.J, 2005)



Lactosa: 4-D-glucosa- β -D-galactopiranosido

Ilustración 2. Estructura de la Lactosa
Fuente: Zela.J, (2005)

Vitamina

La leche contiene todas las vitaminas conocidas necesarias al hombre. Es preponderantemente rica en riboflavina. Es una buena fuente de Vit. A y tiamina, sin embargo, es pobre en niacina y ácido ascórbico. En la leche, los niveles de Vit. A y el de su precursor, el caroteno, están propensos a ser más elevados en el verano, cuando la vaca lo consume abundantemente debido a su alimentación más verde que en el invierno. Las diferentes razas varían en su capacidad para transformar el caroteno en Vit. A. Como la Vit. A es liposoluble, se presenta en los productos lácteos en razón a su tenor de grasa. La leche contiene más Vit. D en verano que en invierno, debido a la mayor alimentación verde y al incremento de luz solar. Estas

variaciones estacionales son corregidas en algunos países por la adición de vitamina D. (Zela.J, 2005)

Minerales, cenizas y sales

Prácticamente todos los minerales del suelo, de donde se ha alimentado la vaca, están presentes en la leche. De los minerales presentes en la leche, el calcio es el más significativo desde el punto de vista nutricional. Está presente en forma abundante y fácilmente asimilable por el organismo. Estudios dietéticos han mostrado que las deficiencias de calcio en nuestras dietas son debidas al bajo consumo de leche. Se torna difícil planear una dieta adecuada sin el concurso de productos lácteos. El tenor de fósforo también es considerable en la leche, pero de menor importancia nutritiva que el calcio ya que puede ser proveído por otras fuentes alimentarias comunes. La leche es relativamente pobre en fierro y cobre. (Zela.J, 2005)

Fósforo

El fósforo, además de su papel de soporte, interviene en distintas reacciones metabólicas, principalmente como acumulador de energía o como activador enzimático. Es también uno de los componentes esenciales de los ácidos nucleicos y de los nucleótidos. La leche aporta el 37% de las necesidades diarias de fósforo. (Zela.J, 2005)

Cenizas y sales de la leche no son términos sinónimos. Las primeras son el residuo blanco que permanece después de la incineración de la leche a 600 °C y están compuestas por óxidos de sodio, potasio, calcio, fierro, fósforo y azufre, más algo de cloruro. El azufre y fracciones de fósforo y fierro, proceden de las proteínas. Las sales de la leche son fosfatos, cloruros y citratos de potasio, sodio, calcio y magnesio. Los cloruros de sodio y los de potasio están totalmente ionizados, mientras que los fosfatos de calcio, magnesio y citrato están, una parte en forma

soluble y otra en forma de complejos coloidales en equilibrio, muy débil, con el complejo caseína. (Zela.J, 2005)

Aproximadamente dos tercios del contenido total de calcio de la leche adoptan una configuración coloidal dispersa y solo un décimo de él se haya ionizado. El estado de equilibrio entre el calcio iónico y las formas ligadas o en complejos desempeña un papel importante en la estabilidad física de los productos lácteos elaborados. Por acidificación, se ioniza más calcio y ello contribuye a la desestabilización de la caseína. (Zela.J, 2005)

Por diálisis, se disocia el complejo calcio-fosfato y libera las unidades micelares. Las elevadas temperaturas desplazan el equilibrio hacia la formación de complejos, con lo que se disminuye la concentración de las especies iónicas y aumenta la estabilidad del sistema caseína. (Zela.J, 2005)

Además de las sales mayoritarias, la leche contiene trazas de otros muchos elementos, que reflejan en cierto grado, las características del alimento consumido. Algunos de estos elementos, como molibdeno y hierro, forman parte de las enzimas. (Zela.J, 2005)

Enzimas

Son catalizadores biológicos de naturaleza proteica (provista o no de una parte no proteica llamada coenzima o grupo prostético). Las enzimas se encuentran presentes como proteínas simples o como apoproteínas en los complejos lipoprotéicos. Las enzimas de la leche se encuentran repartidas en todo el sistema, sobre la superficie del glóbulo graso, asociado a las micelas de la caseína y en forma simple en suspensión coloidal. A pesar del gran número de enzimas presentes en la leche unos pocos revisten especial interés para el bromatólogo. Las más importantes son: Fosfatasa alcalina que sirve como indicador de la deficiente pasteurización, Lipasa, Proteasa y Xantinaoxidasa (Zela.J, 2005)

Composición y energía de la leche de diferentes especies (g/l)

Tabla 3. Composición y energía de la leche de diferentes especies (g/L).

	Agua	Proteínas	Lípidos	Glúcidos	Minerales
Mujer	87	1.1	4.5	7.6	0.3
Vaca	88	3.2	3.4	4.7	0.7
Búfala	82	4	7.5	4.8	0.8
Oveja	82	5.5	7	4.3	0.9
Cabra	86	3.8	4.3	4.6	0.8
Burra	90	1.6	1.1	6.5	0.5
Yegua	89	2.1	1.7	6.1	0.4
Camella	87	3.4	4.1	3.8	0.7

Fuente: O. Moreiras, A. Carbajal, L. Cabrera, C. Cuadrado (2003)

1.2. Pasteurización

La pasteurización es un proceso tecnológico que se lleva a cabo mediante el uso de calor. Es un tratamiento térmico suave, aspecto que lo diferencia de la esterilización, mucho más intenso. Su principal objetivo es la eliminación de patógenos en los alimentos para alargar su vida útil. La pasteurización emplea temperaturas bajas pero que aseguran la eliminación de patógenos, aunque algunos puedan aguantarlas y resistirlas. El valor nutricional de los alimentos y sus características organolépticas no se ven tan alteradas (Eroski Consumer, 2012).

1.2.1. Leche Pasteurizada

Es la leche cruda homogenizada o no, que ha sido sometida a un proceso térmico que garantice la destrucción total de los microorganismos patógenos y la casi totalidad de los microorganismos banales (saprofitos) sin alterar sensiblemente las características fisicoquímicas, nutricionales y organolépticas de la misma (INEN, 2012).

1.2.2. Tipos de pasteurización

Los tratamientos térmicos de la leche conllevan una disminución del calcio soluble al provocar la migración de los iones Ca^{+2} hacia las micelas de caseína. Como consecuencia de ello, en las leches que han sido tratadas térmicamente se observa un aumento del tiempo de coagulación, aumento del tiempo de endurecimiento, disminución de la rigidez final del coágulo y disminución del desuerado espontáneo. (La Anunciata Ikastetxea, 2010)

Según La Anunciata Ikastetxea, (2010). Si el tratamiento térmico ha sido suave (pasterización) el efecto negativo del calentamiento puede revertirse añadiendo a la leche cloruro cálcico en proporciones variables (en torno a 0,2 g/litro de leche) que restituye el Ca^{+2} soluble. La reversibilidad de los efectos es muy difícil en el caso de tratamientos térmicos más severos (esterilización) y la leche así tratada se convierte en inservible para la elaboración de queso.

Existen tres tipos de procesos bien diferenciados:

- a) Pasteurización VAT o lenta.
 - b) Pasteurización a altas temperaturas durante un breve periodo de tiempo (HTST - High Temperature/Short Time).
 - c) El proceso a ultra-altas temperaturas (UHT - Ultra-High Temperature)
- **Proceso VAT.**

Fue el primer método de pasteurización, aunque la industria alimenticia lo ha ido renovando por otros sistemas más eficaces. El proceso consiste en calentar grandes volúmenes de leche en un recipiente estanco a 63 °C durante 30 minutos, para luego dejar enfriar lentamente. Debe pasar mucho tiempo para continuar con el proceso de envasado del producto, a veces más de 24 horas. (La Anunciata Ikastetxea, 2010).

- **Proceso HTST.**

Según La Anunciata Ikastetxea, (2010). Este método es el empleado en los líquidos a granel, como la leche, los zumos de fruta, la cerveza, etc. Por regla general, es el más conveniente, ya que expone al alimento a altas temperaturas durante un período breve y además se necesita poco equipamiento industrial para poder realizarlo, reduciendo de esta manera los costes de mantenimiento de equipos. Entre las desventajas del proceso está la necesidad de contar con personal altamente cualificado para la realización de este trabajo, que necesita controles estrictos durante todo el proceso de producción.

Existen dos métodos distintos bajo la categoría de pasteurización:

- **HTST:** En “batch” (o lotes) y en “flujo continuo”. Para ambos métodos la temperatura es la misma (72°C durante 15 segundos).

En el proceso “batch” “una gran cantidad de leche se calienta en un recipiente estanco (autoclave). Es un método empleado hoy en día, sobre todo por los pequeños productores debido a que es un proceso más sencillo. (La Anunciata Ikastetxea, 2010)

En el proceso de “flujo continuo”, el alimento se mantiene entre dos placas de metal, también denominadas intercambiador de calor de placas (PHE) o bien un intercambiador de calor de forma tubular. Este método es el más aplicado por la industria alimenticia a gran escala, ya que permite realizar la pasteurización de grandes cantidades de alimento en relativamente poco tiempo. (La Anunciata Ikastetxea, 2010)

- **Proceso UHT.**

El proceso UHT es de flujo continuo y mantiene la leche a una temperatura superior más alta que la empleada en el proceso HTST, y puede rondar los 138 °C durante un período de al menos dos segundos. Debido a este periodo de exposición, aunque

breve, se produce una mínima degradación del alimento. La leche cuando se etiqueta como “pasteurizada” generalmente se ha tratado con el proceso HTST, mientras que para la leche etiquetada como “ultrapasteurizada” o simplemente “UHT”, se debe entender que ha sido tratada por el método UHT.

(La Anunciata Ikastetxea, 2010)

Tabla 4. Composición media de diferentes leches (g/100 g).

	Energía (Kcal.)	Agua gr.	Proteínas gr.	Lípidos gr.				Glúcidos gr.	Vitaminas µg.		Minerales	
				AGS	AGM	AGP	Colesterol (mg)		A	D	Ca	Mg
Leche entera, pasteurizada	62	88.6	3.2	2.02	1.06	0.13	13	4.7	42	0.03	122	11
Leche entera, UHT	63	88.0	3.1	2.20	1.05	0.12	14	4.7	42	tr	113	11
Leche semi-desnatada, UHT	47	91.6	3.4	1.04	0.47	tr	7	4.6	20	tr	120	11
Leche desnatada, UHT	36	91.4	3.9	0.04	tr	tr	2	4.6	0	tr	116	20

Fuente: O. Moreiras, A. Carbajal, L. Cabrera, C. Cuadrado (2003)

1.2.3. Efectos provocados a la leche por tratamientos térmicos

Cuando la leche es sometida a diferentes temperaturas sus componentes termolábiles como las proteínas y el estado fisicoquímico de sus sales sufren cambios de acuerdo a la intensidad de los tratamientos térmicos afectando su estabilidad, pH, poder de oxidorreducción, características organolépticas y nutritivas. (Pilamonta D., 2015)

El tratamiento térmico de la leche, en el cual, dependiendo de la temperatura a la que se somete, se presentarán alteraciones físico-químicas, desnaturalización, coagulación y la reacción de Maillard, conocida como caramelización de la leche. (Pilamonta D., 2015)

Esta desnaturalización provoca la modificación de la conformación globular de la proteína, causando el desdoblamiento de la cadena peptídica hacia formas lineales.

Así aparecen nuevos enlaces que permiten que las proteínas químicamente sean más reactivas. (Pilamonta D., 2015)

De las proteínas de la leche, la caseína es la mayor estabilidad ante el proceso térmico; sin embargo, las proteínas del suero son las más afectadas, sobre todo la β - lactoglobulina. (Pilamonta D., 2015)

La β -lactoglobulina es el principal portador de grupos sulfhidrilos, que son modificados o separados en el curso de la desnaturalización y que intervienen en la formación del “gusto o ácido” de la leche tratada térmicamente. El calentamiento de la leche a temperaturas de esterilización provoca un aumento considerable del contenido de materias nitrogenadas no proteicas, como consecuencia de la degradación de las proteínas. (Pilamonta D., 2015)

La desnaturalización de las proteínas del suero por calor es un proceso de dos fases: inicia con un desdoblamiento reversible de la proteína que involucra la ruptura de los puentes de hidrógeno y enlaces hidrofóbicos, seguido de una desnaturalización irreversible y la agregación de las moléculas que se da a temperaturas más altas. Las reacciones irreversibles son de intercambio tio-disulfuro. Se ha sugerido una tercera fase, que depende la de interacción del calcio y resulta en la formación de un agregado proteico mayor, La gelificación de las proteínas del suero puedes escribirse como la manifestación física de la desnaturalización inducida por el calentamiento de las proteínas cuando hay una alta concentración de las mismas. (Pilamonta D., 2015)

Se ha mostrado que la liberación de los grupos sulfhidrilo de la leche contribuye de manera importante en el desarrollo de estos sabores, además también se le han relacionado con la desestabilización de las proteínas de la leche. (Pilamonta D., 2015)

1.3. Queso fresco



Ilustración 3. Queso fresco
Fuente: gourmetsleuth.com

Es el queso no madurado, ni escaldado, moldeado, de textura relativamente firme, levemente granular, preparado con leche entera, semidescremada, coagulada con enzimas y/o ácidos orgánicos, generalmente sin cultivos lácticos que está listo para el consumo después de su fabricación. También se designa como queso blanco (INEN 158, 2012)

Tabla 5. Requisitos queso fresco

Tipo o clase	Humedad % máx. NTE INEN	Contenido de grasa en extracto seco % m/m
Semiduro	55	-
Duro Semiblando	40	-
Blando	65	-
Rico en grasa	80	60
Entero o graso	-	45
Semidescremado bajo en grasa	-	20
Descremado o magro	-	0.1

Fuente: NTE INEN 1528

Tabla 6. Requisitos microbiológicos del queso fresco

Requisito	N	m	M	c	Método de ensayo
Enterobacteriaceas UFC/g	5	2×10^2	10^3	1	NTE INEN 159-13
Escherichia coli, UFC/g	5	< 10	10	1	AOAC 991.14
Staphylococcus aereus UFC/g	5	10	10^2	1	NTE INEN 159-14
Listeria monocytogena 25 g	5	Ausencia	-		ISO 11290-1
Salmonella/25g	5	Ausencia	-	0	NTE INEN 159-15

Fuente: NTE INEN 1528

Dónde:

n= número de muestras a examinar

m= índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad.

M= índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad.

c= número de muestras permisibles con resultados entre m y M.

1.3.1. Valor nutritivo del queso

La pérdida de agua que acompaña a la fabricación del queso (el agua pasa de constituir un 90% en la leche entera a un 70% en el queso fresco), concentra los principios nutritivos de la leche. En general, los quesos frescos destacan por su contenido de proteínas de alto valor biológico y calcio de fácil asimilación, fósforo, magnesio, vitaminas del grupo B (especialmente, B2 o riboflavina, B12 y niacina) y vitaminas liposolubles A y D. (Eroski Consumer, 2012)

En cuanto a su contenido graso, la cantidad es variable, ya que aunque por lo general se trata de variedades de bajo contenido graso. Algunos de ellos se elaboran con

leche y nata, por lo que su contenido de grasas y valor calórico se incrementan de modo considerable. Así mismo pueden llevar como ingredientes adicionales: sal, azúcar o especias, así como diversos aromatizantes. (Eroski Consumer, 2009)

1.3.2. Elaboración del queso fresco

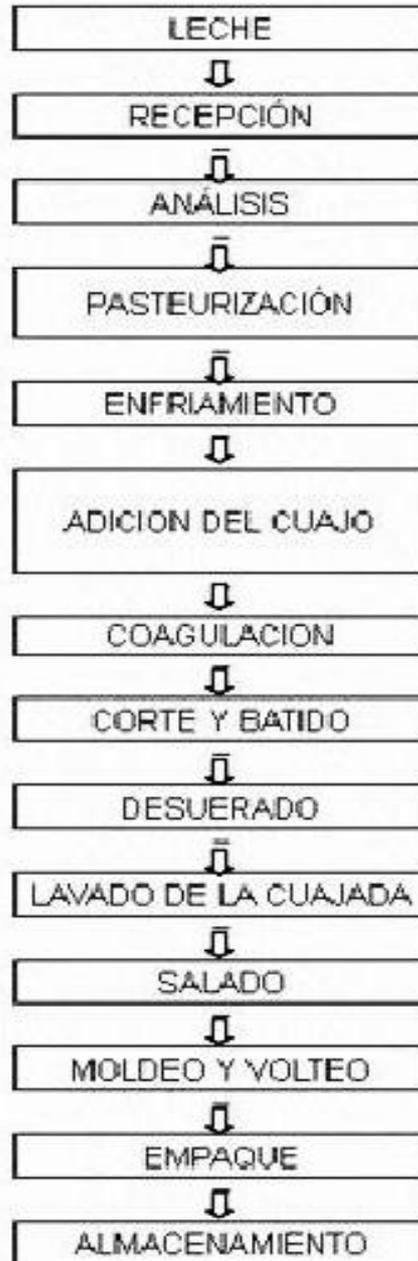


Ilustración 4. Diagrama de elaboración del queso fresco
Fuente: Autoras

1.3.3. Factores que influyen en la elaboración del queso fresco.

Factores inherentes a la leche

Los factores que influyen en la aptitud para la coagulación y que son inherentes a la leche son el contenido en caseínas, los contenidos en calcio soluble y fosfato cálcico coloidal, el tamaño de las micelas y el pH. (Tornadijo, M; Marra, A; García, M; Prieto, B; Caballo, J, 1998)

Contenido en caseínas

La relación entre el tiempo de coagulación y la concentración de caseínas se explica por el hecho de que el fenómeno de coagulación incluye dos etapas: la hidrólisis de la k-caseína y la agregación de las micelas modificadas. Si la concentración de caseínas es baja, la velocidad de agregación es lenta comparada con la velocidad de hidrólisis de la k-caseína; a elevada concentración, el tiempo de coagulación viene determinado por la velocidad de acción del cuajo. (Tornadijo, M; Marra, A; García, M; Prieto, B; Caballo, J, 1998)

La influencia del contenido en caseínas sobre la firmeza del coágulo es muy acusada, mientras que el ejercido sobre el tiempo de coagulación o "tiempo de toma" es mucho menos sensible. Una dilución de la leche con suero lácteo por un factor de 0,7 modifica poco el tiempo de coagulación, pero en estas condiciones la firmeza del gel resulta fuertemente reducida. Por el contrario, el enriquecimiento de la leche con caseínas, mediante técnicas de ultrafiltración, acelera la velocidad de endurecimiento del gel y acentúa su firmeza máxima, reduciendo la velocidad de sinéresis; el tiempo de coagulación resulta en este caso poco afectado o es ligeramente incrementado (Tornadijo, M; Marra, A; García, M; Prieto, B; Caballo, J, 1998)

Concentración de calcio soluble y de fosfato cálcico

La presencia de iones calcio, en cantidad suficiente, es indispensable para la floculación de las micelas de caseína modificadas por la acción del cuajo.

Las micelas, después de la acción del cuajo, se muestran muy sensibles a los iones de calcio y pequeñas variaciones en la concentración de estos iones en las leches pueden afectar notablemente al tiempo de coagulación y a la dureza del gel. (Tornadijo, M; Marra, A; García, M; Prieto, B; Caballo, J, 1998)

Habitualmente, el fenómeno de floculación sólo se produce si la leche contiene al menos una concentración de 1,5 a 2 mM de Ca^{+2} - Mg^{+2} . Es por esta razón por la que las leches pobres en calcio coagulan difícilmente y dan lugar a geles blandos, sin firmeza. Ha sido ampliamente demostrado que el cociente Ca/N de las leches está relacionado con su aptitud quesera; en el caso de las leches lentas o perezosas este cociente es inferior a 0,20, mientras que en las leches normales o rápidas es superior a 0,23. Es una práctica común en tecnología quesera la adición de cloruro cálcico a la leche, sobre todo cuando esta ha sido pasterizada; con esta adición de calcio se reduce el tiempo de coagulación y se aumenta la firmeza del gel formado. (Tornadijo, M; Marra, A; García, M; Prieto, B; Caballo, J, 1998)

La aptitud de la leche para la coagulación no está ligada únicamente a la concentración en calcio. Depende también del contenido en fosfato cálcico coloidal (micelar). (Tornadijo, M; Marra, A; García, M; Prieto, B; Caballo, J, 1998)

El tiempo de coagulación es tanto más corto y el gel es tanto más firme y se presta tanto mejor al desuerado cuanto más elevado sea el contenido en fosfato cálcico coloidal de la leche. (Tornadijo, M; Marra, A; García, M; Prieto, B; Caballo, J, 1998)

Cuajo

Es una sustancia que tiene la propiedad de coagular la leche y se presenta de manera líquida y en polvo, contiene principalmente la enzima llamada renina también conocida como quimosina utilizada en la elaboración de quesos cuya principal función es separar la caseína del suero. (Fundamentos para la elaboración de quesos, 2004)

La acción de la quimosina permite que las partículas de la caseína se unan para formar la cuajada, la efectividad de este está en función de la temperatura, la concentración de la leche del calcio y de la acidez. Las temperaturas optima de la leche para que se efectué la coagulación está a entre 39 – 43° C. Por debajo de 20° C y por encima de 60° C está inactivo. (Fundamentos para la elaboración de quesos, 2004)

Cloruro de calcio

El cloruro de calcio se utiliza para corregir los problemas de coagulación que se presentan en la leche almacenada por largo tiempo en refrigeración y en la leche pasteurizada. Su uso permite disminuir las pérdidas de rendimiento en estos casos y permite obtener una cuajada más firme a la vez que permite acortar el tiempo de coagulación. (Fundamentos para la elaboración de quesos, 2004)

La dosis máxima a utilizar es del 0,02% (1 gramo por cada 5 litros de leche). Una dosis excesiva conduce a una cuajada dura y quebradiza y con sabor amargo. (Fundamentos para la elaboración de quesos, 2004)

Cloruro de sodio

La sal interviene en el sabor y aroma de los quesos, ayuda al desuere y la regulación de la acidez. La principal función de la sal es inhibir las bacterias indeseables, como las proteolíticas. (Fundamentos para la elaboración de quesos, 2004)

1.4. Estructura de las proteínas.

Las estructuras de las proteínas son las siguientes:

- **Primaria**

Sirven para entender sus propiedades funcionales, identificar a la familia a la que pertenecen y describir los polimorfismos y las proteínas mutantes que causan enfermedades moleculares. (Navas. J., 2010)

- **Secundaria**

Es la disposición de la secuencia de aminoácidos en el espacio. Por ejemplo, la estructura helicoidal se forma al enrollarse helicoidalmente sobre sí misma la estructura primaria. Se debe a la formación de enlaces de hidrógeno entre el C=O de un aminoácido y el -NH del cuarto aminoácido que le sigue. (López.L, 2010)

- **Terciaria**

La estructura terciaria es la disposición de la estructura secundaria de un polipéptido al plegarse sobre sí misma originando una conformación globular. Esta conformación globular se mantiene estable gracias a la existencia de enlaces entre los radicales R de los aminoácidos. Aparecen varios tipos de enlaces: el puente disulfuro entre los radicales de los aminoácidos que tiene azufre, puentes de hidrógeno, puentes eléctricos e interacciones hidrofóbicas. En definitiva, es la estructura primaria la que determina cual será la secundaria y la terciaria. (López.L, 2010)

- **Cuaternaria**

Unión de varias cadenas polipeptídicas con estructura terciaria, para formar un complejo proteico. Cada una de estas cadenas polipeptídicas recibe el nombre de subunidad. Se producen fundamentalmente interacciones no covalentes, como puentes de hidrógeno, interacciones hidrófobas e interacciones electrostáticas. (López.L, 2010)

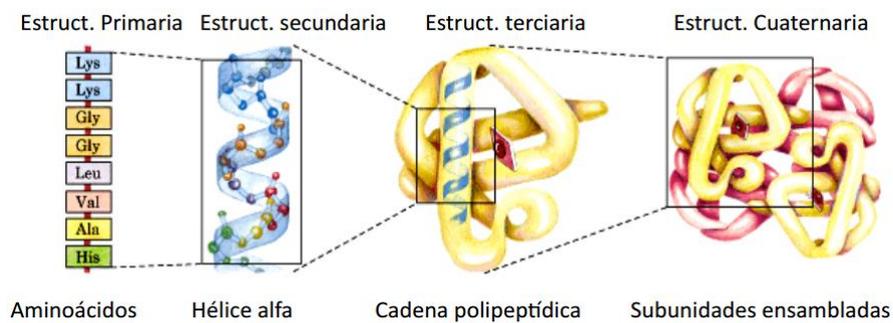


Ilustración 5. Estructura de las proteínas
Fuente: Lehninger Principles of Biochemistry.5ª ed. Freeman, 2009

1.4.1. Proteínas de la leche

Micelas de Caseína

En la leche, las caseínas forman asociaciones coloidales llamadas micelas, con un tamaño comprendido entre 50-300 nm (media 120 nm) y una masa molecular entre 10^6 y 3×10^9 Da (media 10^8 Da) (Fox, P.F. y Kelly, A.L, 2004). Las micelas están altamente hidratadas (2-3 g de H₂O/g de proteína) y contienen, aproximadamente, un 6% de materiales inorgánicos principalmente calcio y fosfato, que se conocen como fosfato cálcico coloidal (CCP) (Lucey y col., 1996). Estas micelas confieren a la leche una serie de propiedades muy importantes tecnológicamente, como su color, estabilidad al calor y al etanol, aptitud a la coagulación y acidificación. (Riel, R, 1991)

A pesar de que las micelas de caseína se han estudiado durante muchos años, aún no existe total consenso sobre la estructura de la micela. La mayoría de los modelos estructurales propuestos coinciden en que la κ -CN está localizada mayoritariamente en la superficie, jugando un papel esencial en la regulación del tamaño micelar y en el mantenimiento en suspensión de las caseínas en la leche. La proporción de κ -CN varía en relación inversa con el tamaño de la micela, mientras que la de β -CN lo hace en forma directa (Ferrandini, 2006) (Riel, R, 1991). El modelo más apoyado es aquel que define a la micela como una estructura formada por la agrupación de submicelas más pequeñas, unidas mediante interacciones hidrofóbicas, puentes de hidrógeno y/o CCP, recubiertas por una fina capa hidrofílica (5-10 nm). Esta capa, que estaría formada por el extremo C-terminal de la κ -CN, con o sin otros extremos hidrofílicos de otras caseínas (α s1- y β -CN) dependiendo del autor a seguir (Morr, C.V, 1967) (Waugh, 1971) (Slattery, 1976) (Schmidt, 1982) (Walstra, P. y Jenness, R., 1984), estabiliza a la micela por medio del aumento del potencial zeta (-20mV). Además, el CCP también podría localizarse dentro de la submicela.

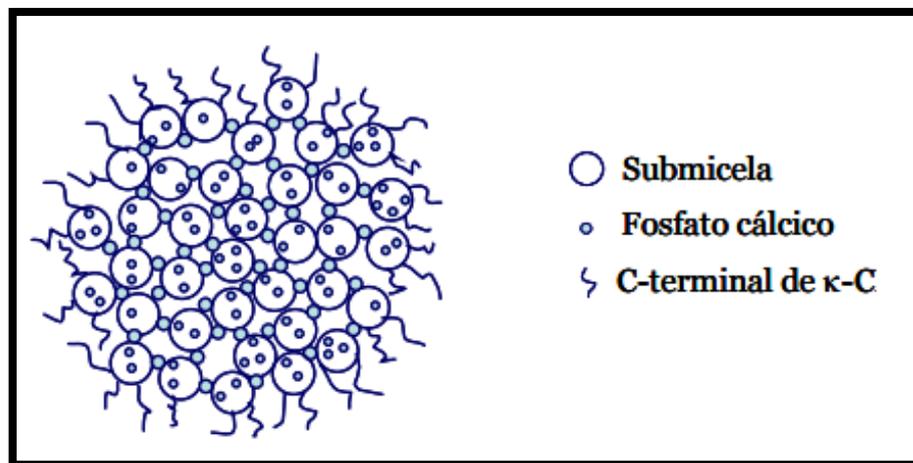


Ilustración 6 Esquema del modelo de estructura de las micelas de caseína
Fuente: (Walstra; 1999).

Los últimos modelos propuestos retienen dos de las principales características del modelo de la submicela, como son el papel que juega el CCP en la cementación de la micela y el de la κ -CN estabilizando la micela por su localización en la capa superficial, pero difieren, principalmente, en la composición de la estructura interna

de la micela en forma de submicelas (Visser, 1992) (Holt, 1992) (Horne, 1998). En concreto, y entre otros, el modelo propuesto por presenta a la micela como conglomerados esféricos de moléculas de caseína agregadas al azar y, el de como una enredada red de moléculas de caseína flexibles formando una estructura parecida a un gel. (Holt, 1992)

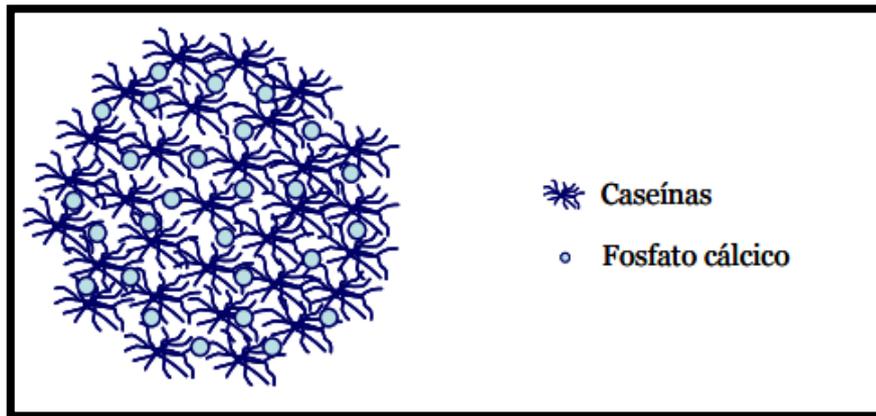


Ilustración 7 Esquema del modelo de estructura de las micelas de caseína
Fuente: (Holt; 1992).

Factores que afectan a la estabilidad de la micela

Las micelas de caseína no se pueden considerar estructuras estables, sino que se encuentran más bien en un equilibrio dinámico con el medio acuoso circundante, el suero lácteo. La estructura y la estabilidad de las micelas de caseína se modifican, por ejemplo, a consecuencia de las siguientes modificaciones (Fox, P.F. y Kelly, A.L, 2004)

- Las variaciones en la proporción entre el fosfato cálcico coloidal y el disuelto en el suero modifican el tamaño de la micela. Si se acompleja el calcio libre, sin cambiar el pH, o si se elimina mediante diálisis frente a una disolución libre de calcio, las micelas se disgregan, y en casos extremos incluso dan lugar a fragmentos micelares. (Fox, P.F. y Kelly, A.L, 2004)
- El almacenamiento de leche cruda en frío durante un tiempo prolongado influye especialmente en la β -CN que, debido al debilitamiento de las interacciones

hidrofóbicas, se disocia de las micelas y pasa al suero lácteo. Sin embargo, este hecho no conduce a una desestabilización profunda de las micelas y puede revertirse parcialmente si se recalienta ligeramente la leche. (Fox, P.F. y Kelly, A.L, 2004)

- Al calentar la leche a temperaturas superiores a 70°C se produce una agregación creciente de las proteínas del suero, especialmente de la β -Lg, con la κ -CN. Estos complejos de caseína-proteína de suero confieren a las micelas de caseína propiedades diferentes, por ejemplo, en la coagulación por acidificación o por hidrólisis enzimática. A la particular interacción entre la β -Lg y la κ -CN micelar se le considera una propiedad tecnológica de extraordinaria importancia, ya que permite esterilizar la leche sin que flocule a pesar de la casi completa desnaturalización de las proteínas del suero. (Fox, P.F. y Kelly, A.L, 2004)
- La bajada del pH en la leche produce la solubilización del fosfato cálcico coloidal y, por debajo de pH 5.2, las micelas de caseína empiezan a formar agregados que precipitan en su pI (pH 4.6). Estos agregados se vuelven a disolver cuando el pH sube a la neutralidad, aunque las micelas no vuelven a su estado natural. En la estructura de la micela de caseína de la leche acidificada influye la temperatura, así como los tratamientos térmicos previos a la acidificación, que producen la deposición de proteínas séricas desnaturalizadas sobre la superficie de la micela. (Fox, P.F. y Kelly, A.L, 2004)
- Las micelas de caseína también pueden coagular por reacciones enzimáticas. La quimosina escinde específicamente a la κ -CN a pH 6.7 en el enlace Phe105-Met106 dando lugar al caseinomacropéptido soluble (región C-terminal) y a la para- κ -CN insoluble. Cuando se ha escindido la mayor parte de la κ -CN, comienza la coagulación de las micelas. El proceso de coagulación depende en gran medida de la temperatura y de la concentración de iones calcio. Un precalentamiento intenso de la leche, que conduce a la unión de proteínas del suero desnaturalizadas a la κ -CN que recubre a las micelas, dificulta o impide el proceso de coagulación enzimática. (Fox, P.F. y Kelly, A.L, 2004)

- El tratamiento de las micelas de caseína a elevadas presiones hidrostáticas (por ejemplo, 200 MPa, 5 min, 20°C) produce su descomposición en subunidades o pequeños agregados. (Fox y Kelly, 2004)

1.5. Curvas de desnaturalización

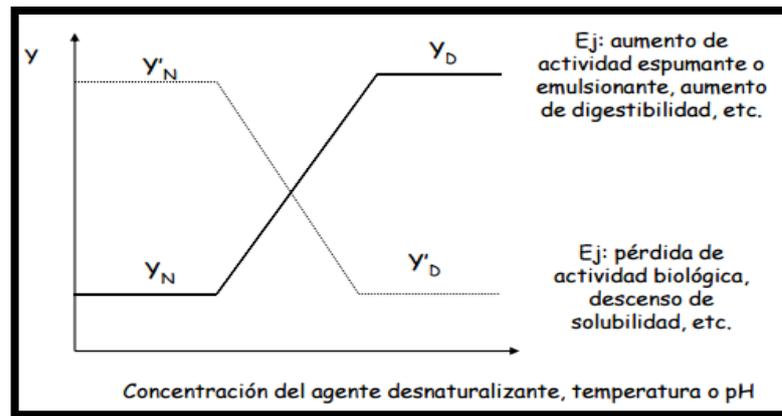


Ilustración 8. Curvas de desnaturalización

Fuente: (Laura. B , 2009)

Curvas de desnaturalización típicas. Representan cualquier propiedad física o química de la molécula de proteína mensurable y que cambie al variar la conformación. Y_N e Y_D son los valores de Y para estados nativo y desnaturalizado, respectivamente. La pendiente indica que es un proceso cooperativo, es decir que una vez que una molécula proteica empieza a desplegarse, o una vez que se han roto unas pocas interacciones, un ligero incremento de la concentración del agente desnaturalizante o de la temperatura despliega por completo la totalidad de la molécula (Laura. B , 2009)

1.5.1 Desnaturalización de las proteínas

En la leche, las proteínas tienen una estructura definida, que puede modificarse bajo la acción de diversos tratamientos aplicados en el laboratorio o en la industria, especialmente el calentamiento a más de 70°C, también por reactivos desnaturalizantes variados: ácidos, álcalis, urea, detergentes, etc. (Alais. Ch y Lacasa. A., 1985).

El calor desnatura las proteínas y pueden utilizarse, para mejorar la calidad de retención de agua y las propiedades de emulsificación.

Por otra parte, el calor disminuye la solubilidad de las proteínas por agregación o coagulación. La desnaturación de las proteínas en un espectro de temperatura de 60 a 90 °C limita la bioactividad de algunas de ellas, como las inmunoglobulinas o algunas proteínas presentes en el suero de la leche (lactoferrina y lisozima). Además, las proteínas pueden reaccionar tanto con azúcares reductores como no reductores, dando lugar a la disminución de la biodisponibilidad de algunos aminoácidos esenciales como la lisina. (Gil. A, 2010)

1.5.2 Efecto de los tratamientos térmicos de la leche sobre las proteínas solubles

No se conocen evidencias de la desnaturación de las proteínas solubles como consecuencia de los procesos de termización (65°C durante 30 s).

El proceso de pasteurización (72°C, 15s) da lugar a la desnaturación de aproximadamente el 7% de las proteínas solubles de la leche. Esta se ve sensiblemente aumentada si la temperatura o el tiempo de pasteurización son superiores a los señalados, de forma que un tratamiento a 80°C durante 20s da lugar a la desnaturación de, aproximadamente, el 25% de las proteínas solubles. (Romero R. y Mestres J., 2004). El proceso de esterilización UHT determina la desnaturación de los 50- 75% o 70-90% de las proteínas solubles, según se trate de un sistema directo o indirecto, respectivamente. (Romero R. y Mestres J., 2004)

Los procesos de esterilización convencional (115°C, 10 min) determinan la desnaturación de la práctica totalidad de las proteínas solubles. (Romero R. y Mestres J., 2004)

1.5.3 Determinación de la desnaturalización de la proteína

Método Kjeldahl Nitrógeno

La determinación se realiza según la norma AOAC. El nitrógeno se calcula por mililitro de leche, el NPN de cada muestra se determina tomando diez mililitros de leche descremada y se diluye en 50 ml con 15% (peso / vol) TCA para dar una concentración final de 12% TCA.

La mezcla se filtra a través de papel filtro y se determina el contenido de nitrógeno de las muestras con 10 ml del filtrado. (Manji B, Kakuda Y, 1987)

El porcentaje de desnaturalización se calcula por comparación de la WPN de leche tratado térmicamente con WPN de la leche cruda. (Manji B, Kakuda Y, 1987)

Fórmula N° 1

$$\% \text{Desnaturalización} = \frac{\text{WPN raw} - \text{WPN heated}}{\text{WPN raw}} \times 100$$

Dónde:

WPNraw= Porcentaje de nitrógeno de la leche cruda

WPNheated= Porcentaje de nitrógeno de la leche pasteurizada

1.6. Rendimiento

Especialmente su tenor en proteínas y grasa, tiene un papel fundamental en la definición del rendimiento. En relación a las proteínas, se considera de manera muy especial a la caseína que es la fracción coagulable por el cuajo y que al formar una red (paracaseinato de calcio) “aprisiona”, en diferentes proporciones, los demás elementos de la leche como la grasa, lactosa, sales mineras. Si se aumenta el tenor de la caseína en la leche, el rendimiento de elaboración se ve incrementado por el propio peso de la proteína, la cual es retenida en mayor cantidad y también por el

hecho de que la caseína aumenta considerablemente la retención de agua en el queso. Por otro lado, un aumento en el tenor de la materia grasa provoca el mismo efecto en el rendimiento, pero en este caso la mayor retención de agua en el queso se debe a la sinéresis durante la elaboración. Es muy importante que la estandarización de la leche para la fabricación de quesos se realice en base a la relación caseína/ materia grasa. Si ésta se mantiene fija, permite obtener quesos física y químicamente uniformes. (Celis.M & Juarez.D., 2009)

Una de las formas más exactas para determinarlos consiste en utilizar los porcentajes de transición de los componentes de la leche ya citados

Ejemplo: ¿Cuántos kilogramos de queso maduro con 48% de humedad y 1.5% de sal se obtendrán de 100 kilogramos de leche con 3% de grasa, 3.1% de proteína, 4.7% de lactosa y 0.7% de minerales?

Kilogramos de sólidos que pasan de la leche al queso:

Grasa:	3% x 0.90	=	2.700
Proteína:	3.1% x 0.75	=	2.325
Lactosa:	4.7% x 0.04	=	0.188
Minerales:	0.7% x 0.35	=	0.245

Total: = 5.458

Como el queso tiene 48% de humedad y 1.5% de sal, la materia seca será:
 $100 - (48 + 1.5) = 50.5\%$, por lo tanto los 5.458 kilogramos de materia seca aportados por la leche corresponden al 50.5% del queso corresponden a 5.458 kilogramos. (Alais. Ch y Lacasa. A., 1985)

$$\text{el } 100\% \text{ corresponderá a } X = 10.80 \text{ Kg.}$$

Por lo anterior, el rendimiento fue del 10.80% y los kilos de leche empleados para obtener un kilo de queso fueron: $100/10.8 = 9.26 \text{ Kg. de leche/Kg. de queso.}$
 (Alais. Ch y Lacasa. A., 1985)

CAPÍTULO II

2. METODOLOGÍA

2.1.TIPO DE ESTUDIO

Se utilizó tres métodos:

Experimental para lo cual se realizó ensayos de calentamiento a la leche a diferentes tiempos/temperatura, para determinar la afectación en componentes tales como: proteína, calcio y fósforo; con estos tratamientos se elaboró el queso tipo fresco.

Bibliográfico para la búsqueda y recopilación de información de artículos científicos, libros y páginas sobre los estudios realizados.

Descriptivo en lo cual se detalló los procesos y métodos que se utilizaron en los laboratorios de control de calidad y de procesos de la Escuela de Ingeniería Agroindustrial, con la finalidad de demostrar de manera clara y precisa la ejecución de la presente investigación.

2.2.POBLACIÓN Y MUESTRA

Esta investigación es un diseño experimental en lo cual se realizó diferentes ensayos sobre muestras preparadas en lo consecuente no se considera el dato de población.

Se realizó 3 repeticiones con 4 tratamientos tanto en muestras de leche como en queso, la materia prima se obtuvo de la planta de lácteos San Salvador perteneciente al cantón Riobamba.

2.3. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Tabla 7. Variables independiente y dependiente.

Variable Independiente	Concepto	Métodos	Indicadores	Técnica	Instrumento
Calentamiento de la leche utilizando un número de combinaciones de tiempo/temperatura.	La pasteurización es un proceso que combina tiempo y temperatura para asegurar la destrucción de todas las bacterias patógenas que pueden estar presentes en el producto crudo con el objetivo de mejorar su capacidad de conservación (Villacrés, 2013)	Organolépticos	Olor, color sabor	Experimental	Órganos sensoriales
		Análisis Físicoquímicos	Densidad, Acidez, pH, Proteína, Grasa, S. totales, Cenizas, Ensayo de la reductasa Prueba de alcohol, Calcio, Fósforo.	Instrumental	Laboratorio
Variable Dependiente	Concepto	Métodos	Indicadores	Técnica	Instrumento
Efecto de la desnaturalización de la proteína, calcio, fosforo y la calidad del queso elaborado.	Cambio en la conformación de la estructura de una proteína sin que cambie la secuencia de aminoácidos que la componen (Alais. Ch y Lacasa. A., 1985)	Análisis Físicoquímicos	Proteína Grasa., Humedad, Cenizas Cloruro, calcio y fosforo	Experimental	Laboratorio

Fuente: Autoras.

2.4. PROCEDIMIENTOS

Se desarrollaron 4 actividades durante la investigación, empezando con el control de calidad de la materia prima, en este paso se realizaron análisis básicos como acidez, pH, proteína, grasa, densidad, lactosa, punto crioscópico y adición de agua.

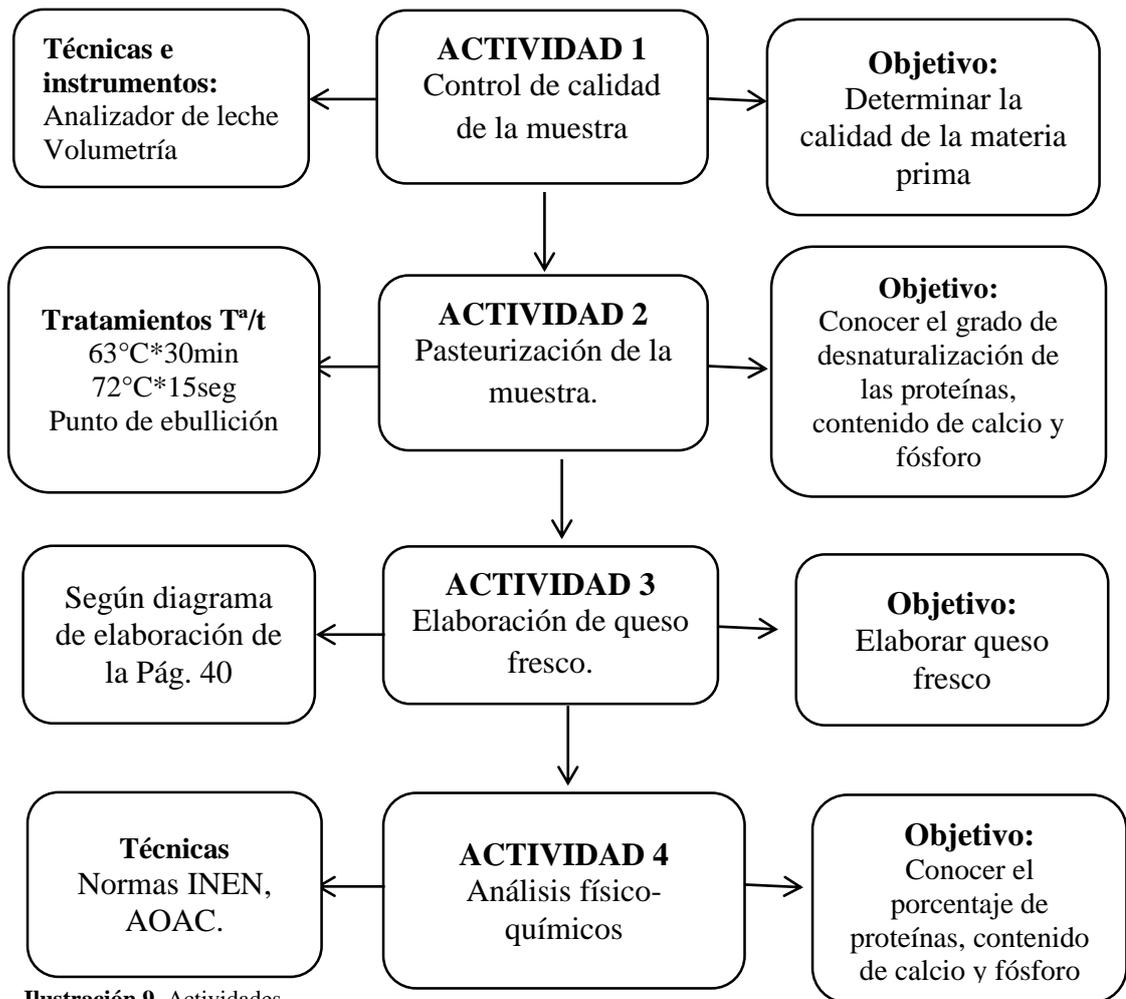


Ilustración 9. Actividades.
Fuente: Autoras

2.5.PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS

2.5.1. Actividad 1. Control de calidad de la materia prima

Para el control de calidad de la leche se realizó las siguientes determinaciones.



Ilustración 10. Control de calidad
Fuente: Autoras

Procedimientos

- **Determinación de Proteína**

Método: Kjeldahl

Fundamento: Se caracteriza por el uso de ebullición, ácido sulfúrico concentrado que efectúa la destrucción oxidativa de la materia orgánica de la muestra y la reducción del nitrógeno orgánico a amoníaco el amonio es retenido como bisulfato de amonio y puede ser determinado in situ o por destilación alcalina y titulación (FAO, 2010)

- **Determinación de Acidez**

Método: Volumétrico

Fundamento: Se titula la acidez con una solución estandarizada de hidróxido de sodio 0,1 N, y usando fenolftaleína como indicador.

- **Determinación de pH**

Método: Electroanalítico Potenciométrico

Fundamento: Determinación electrométrica del pH en una muestra de leche, utilizando un electrodo que mide el cambio eléctrico producido por el cambio de pH.

- **Determinación de Sólidos Totales**

Método: Instrumental

Fundamento: Se deseca, mediante evaporación, una cantidad determinada de leche y se pesa el residuo, que corresponde a los sólidos totales de la leche. Se incineran

a $530^{\circ} \pm 20^{\circ}\text{C}$ los sólidos totales de la leche, y se pesa el residuo que corresponde a las cenizas de la leche.

- **Ensayo de la reductasa**

Método: El método se basa en medir el tiempo que tarda la leche para decolorar, mediante reducción, el azul de metileno

Fundamento: Se coloca 10ml de leche y 1 ml de azul de metileno y se mide el tiempo de decoloración de la leche, el tiempo de reducción es inversamente proporcional al número de microorganismos contenidos en la leche al empezar la incubación.

- **Estabilidad proteica**

Método: Cualitativo

Fundamento: Para detectar la termoestabilidad de la leche se agrega 2ml de leche y 2 ml de alcohol al 70 %, se considerará positiva la prueba si se observan partículas coaguladas de caseína (cuajada) en el tubo dosificador o en la pared del tubo de ensayo, por lo que la leche no podrá ser aceptada.

- **Calcio**

Método: Espectrofotometría de Absorción Atómica

Fundamento: Se basa en la destrucción de la materia orgánica por vía seca hasta lograr la digestión del alimento para posteriormente solvatar los residuos con ácido nítrico diluido para la posterior determinación de los analitos.

- **Fósforo**

Método: Colorimétrica

Fundamento: Se basa en reacciones específicas para el ion ortofosfato. El molibdato de amonio y el tartrato de antimonio y potasio reaccionan en medio ácido con el ortofosfato para formar un heteropoliácido de color amarillo -ácido fosfomolibdico-, y que es reducido por ácido ascórbico a un complejo azul de molibdeno intensamente colorea.

2.5.2. Actividad 2. Pasteurización de la muestra

Se realizó un filtrado de la leche antes del proceso de pasteurización para garantizar que no existan impurezas o cuerpos extraños.

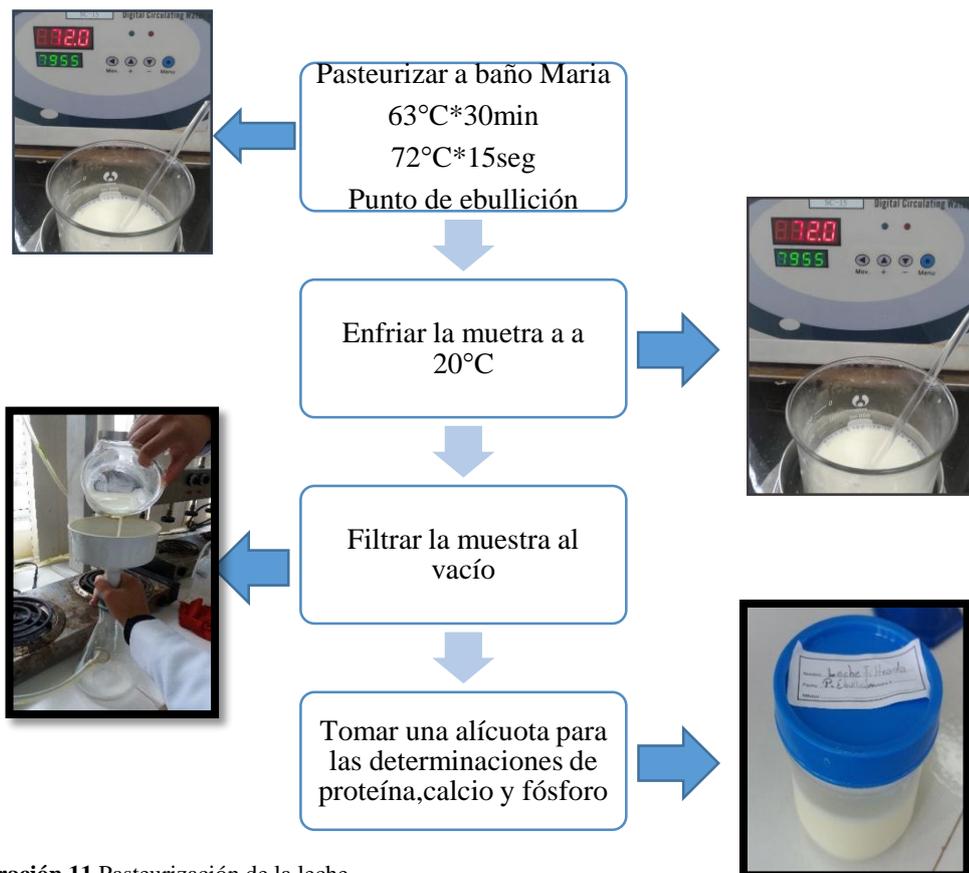


Ilustración 11 Pasteurización de la leche
Fuente: Autoras

2.5.3. Actividad 3. Elaboración del queso fresco

Una vez que se realizó el control de calidad y pasteurización se procedió a la elaboración de los quesos a diferentes tiempos y temperaturas.

Diagrama de flujo para la elaboración de queso fresco

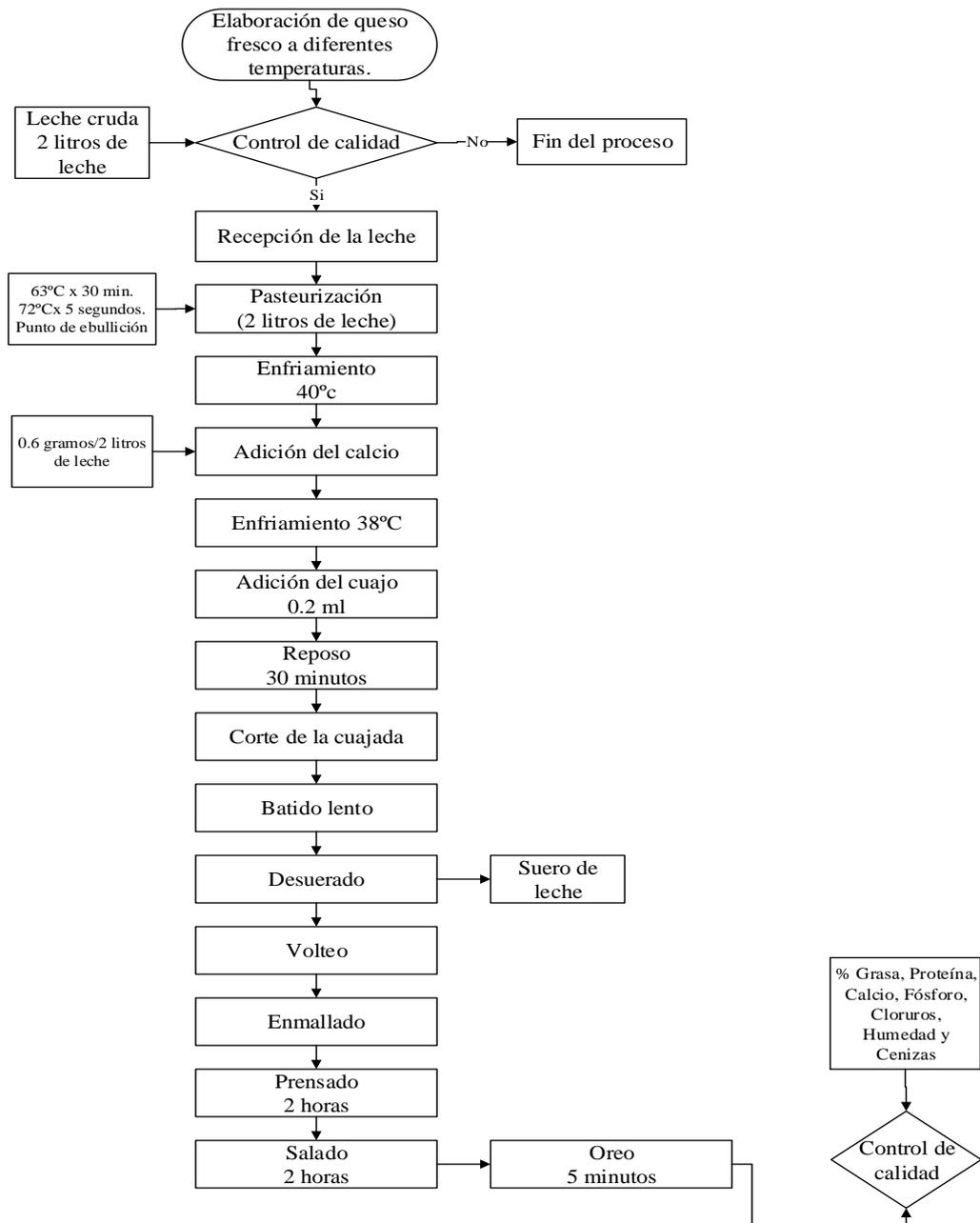


Ilustración 12 Diagrama de elaboración del queso fresco

Fuente: Autoras

2.5.4. Actividad 4. Análisis fisicoquímicos del queso.

Se realizaron análisis en el producto terminado basándose en las normas establecidas (AOAC, INEN,).

Del producto terminado se tomó una alícuota para realizar los siguientes análisis:

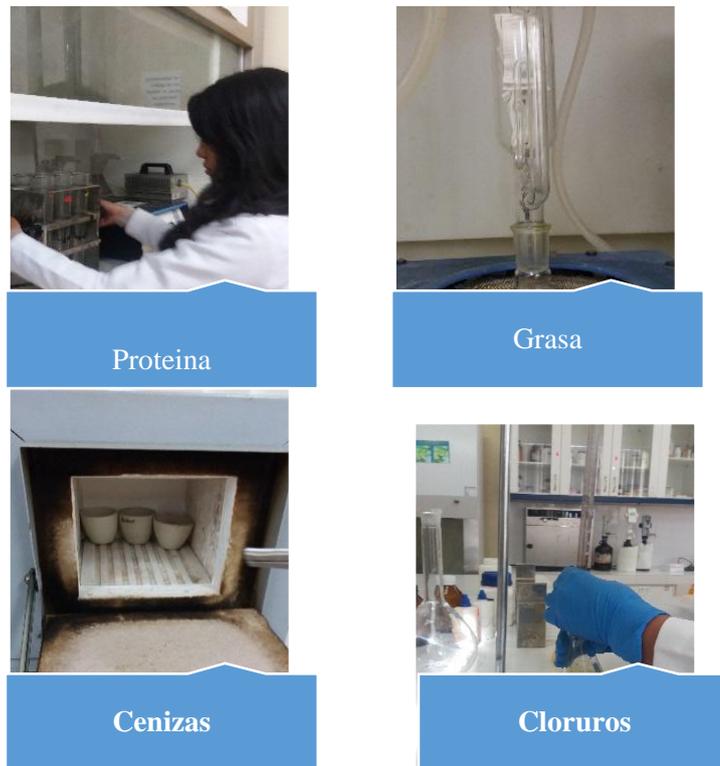


Ilustración 13 Análisis realizados en el queso.
Fuente: Autoras

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS

Los resultados de los análisis de la leche cruda se aprecian en la tabla N° 8 lo mismo que se realizaron mediante métodos y procedimientos descritos en la norma INEN, AOAC y el empleo del analizador de leche MILKOTESTER como complemento.

3.1. Análisis de la leche cruda

Tabla 8 Primera repetición, leche cruda.

Parámetros	Leche cruda		
	1 ^{era} Repetición	2 ^{da} Repetición	3 ^{era} Repetición
Densidad a 15 °C	1,028	1,030	1,028
% Grasa	3,9	4.1	3,9
% S. totales	19,3917	18,5945	18,9082
% Cenizas	0,7208	0,7004	0,7387
% Acidez exp Ac. Láctico	0,173	0,171	0,163
pH	6,89	6,88	6.74
P. Crioscópico °H	-0,535	-0,529	-0,586
% Proteína	3,4705	3,5548	3,5133
% Calcio	0,318	0.459	
% Fósforo	0,095	0,130	
Reacción de estabilidad proteica	Negativo	Negativo	Negativo
Ensayo de la reductasa	Negativo	Negativo	Negativo

Fuente: Autoras

3.2.Determinación del porcentaje de desnaturalización de la proteína, calcio y fósforo en la leche a diferentes temperaturas.

Tabla 9. Desnaturalización de proteína en la leche y porcentaje de calcio y fósforo.

Tratamientos												
	Leche cruda			Leche pasteurizada 63°c *30min			Leche pasteurizada filtrada 72°c*15s			Leche pasteurizada punto de ebullición		
Parámetros	1 ^{era} Rep.	2 ^{da} Rep.	3 ^{era} Rep.	1 ^{era} Rep.	2 ^{da} Rep.	3 ^{era} Rep.	1 ^{era} Rep.	2 ^{da} Rep.	3 ^{era} Rep.	1 ^{era} Rep.	2 ^{da} Rep.	3 ^{era} Rep.
% Proteína	3,470 5	3,554 8	3,513 3	3,2953	3,350 3	3,326 4	3,2097	3,2400	3,2213	3,00614	3,0768	3,0232
%Desnaturalización	-	-	-	5,0495	5,754 0	5,319 9	7,5159	8,8568	8,3095	13,3808	13,4475	13,9489
%Fosforo	0,095	0,163	-	0,105	0,094	-	0,086	0,101	-	0,090	0,156	-
% Calcio	0,318	0,459	-	0,323	0,287	-	0,421	0,359	-	0,376	0,316	-

Fuente: Autoras

Tabla 10. Mediana y Desviación Estándar de la leche.

Tratamientos								
	Leche cruda		Leche pasteurizada 63°c *30min		Leche pasteurizada filtrada 72°c*15s		Leche pasteurizada punto de ebullición	
Parámetros	Media	Desviación.	Media	Desviación.	Media	Desviación.	Media	Desviación.
% Proteína	3,5133	0,0422	3,3264	0,0276	3,2214	0,0153	3,0232	0,0369
%Desnaturalización			5,3199	0,3554	8,3095	0,674	13,4475	0,3105
%Fosforo	0,1290	0,0481	0,0995	0,0078	0,0935	0,0106	0,1230	0,0467
% Calcio	0,3885	0,0997	0,3050	0,0255	0,3900	0,0438	0,3460	0,0424

Fuente: Autoras

3.3. Análisis del queso fresco a diferentes temperaturas

Tabla 11. Análisis del queso en diferentes temperaturas.

ANÁLISIS DEL QUESO FRESCO A DIFERENTES TEMPERATURAS												
Parámetros	Q. Leche cruda			Q. Leche pasteurizada a 63°C x 30min			Q. Leche pasteurizada a 72°C x 15s			Q. Leche pasteurizada Punto de ebullición		
	1 ^{era} Rep.	2 ^{da} Rep.	3 ^{era} Rep.	1 ^{era} Rep.	2 ^{da} Rep.	3 ^{era} Rep.	1 ^{era} Rep.	2 ^{da} Rep.	3 ^{era} Rep.	1 ^{era} Rep.	2 ^{da} Rep.	3 ^{era} Rep.
% Humedad	57,7524	57,4842	59,8319	62,8065	61,1247	64,0379	66,1588	66,8843	68,4395	68,5132	68,0951	68,918
% Cenizas	4,4070	3,6899	3,1257	2,5416	2,1452	2,8189	2,8206	3,1826	3,0212	2,6482	3,5295	3,1517
% Grasa	40,4058	41,2619	40,5944	41,5282	42,5175	40,5963	42,6622	41,5176	42,0194	40,5785	41,0194	42,0194
% Cloruros	1,4523	0,9757	1,0076	0,9847	1,0729	1,4105	0,7366	0,8502	1,4723	1,3273	0,9145	1,0547
% Proteína	12,8637	11,2499	10,8796	14,7981	13,2177	13,821	15,0269	16,3693	15,8379	17,8588	17,5106	18,9426
% Fosforo	0,1313	-	-	0,21875	-	-	0,2063	-	-	0,2125	-	-
% Calcio	0,2952	-	-	0,3049	-	-	0,3193	-	-	0,3082	-	-

Fuente: Autor

Tabla 12 Mediana y Desviación Estándar del queso fresco.

Tratamientos								
Parámetros	Q. Leche cruda		Q. Leche pasteurizada 63°C x 30min		Q. Leche pasteurizada filtrada 72°C x 15s		Q. Leche pasteurizada punto de ebullición	
	Media	Desviación.	Media	Desviación.	Media	Desviación.	Media	Desviación.
% Humedad	57,7524	0,0129	62,8065	0,0146	66,8843	0,0117	68,5132	0,0410
% Cenizas	3,6899	0,6422	2,1452	1,3513	2,8206	1,7251	2,6482	1,8193
% Grasa	40,5944	0,4498	41,5282	0,9607	42,0194	0,5737	41,0194	0,7383
% Cloruros	1,0076	0,2664	1,0729	0,2248	0,8502	0,3960	1,0547	0,2099
% Proteína	11,2499	1,0550	13,8206	0,7976	15,8379	0,6760	17,8588	0,7468
% Fosforo	0,1313	-	0,2188	-	0,2063	-	0,2125	-
% Calcio	0,2959	-	0,3049	-	0,3193	-	0,3082	-

Fuente: Autoras

3.4. Rendimiento del queso fresco

Tabla 13. Factores para determinar el rendimiento del queso fresco

Parámetros	Factores	Leche cruda 1era Rep.	Leche cruda 2da Rep.	Leche cruda 3era Rep.
%Grasa	0,90	3,51	3,69	3,51
%Proteína	0,75	2,63	2,7	2,65
%Lactosa	0,04	0,192	0,176	0,18
%Minerales	0,35	0,25	0,245	0,245
Total Materia seca leche		6,582	6,811	6,56

Fuente: Autoras

Tabla 14. Rendimiento del queso fresco

Tratamientos	Rendimiento	%Humedad	%Cloruros	%Materia seca	%Rendimiento	Cantidad queso gr
Q. Leche cruda	Rep.1	57,75	1,5	40,75	16,16	333,33
	Rep.2	57,48	1,0	43,52	15,65	322,32
	Rep.3	59,83	1,0	39,17	16,74	345,45
Q. Leche pasteurizada a 63°C x 30min	Rep.1	62,80	1,0	36,20	18,17	374,64
	Rep.2	61,12	1,0	37,88	17,98	370,50
	Rep.3	64,04	1,4	34,56	18,98	391,63
Q. Leche pasteurizada a 72°C x 15s	Rep.1	66,16	0,7	33,14	19,85	409,74
	Rep.2	66,88	0,9	32,22	21,14	435,72
	Rep.3	68,44	1,5	33,06	21,82	449,78
Q. Leche pasteurizada a punto de ebullición	Rep.1	68,51	1,3	30,20	21,79	448,80
	Rep.2	68,09	0,9	31,01	21,96	452,74
	Rep.3	68,92	1,1	29,98	21,88	450,76

Fuente: Autoras

CAPÍTULO IV

4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Con las medias de los resultados de las determinaciones en la leche cruda, se realizó los siguientes análisis.

Tabla 15 Resultados de las determinaciones.

Parámetros	Norma INEN		Estudio Realizado
	Min	Max	
Densidad (g/ml)	1,029	1,033	1,028
%Materia Grasa	3,0	-	3,9
%Acidez	0,13	0,17	0,17
%Sólidos Totales	11,2	-	18,5945
%Cenizas	0,65	-	0,728
Punto Crioscópico (°H)	-0,555	-0,530	0,535
%Proteínas	2,9	-	3,51
Reductasa (h)	3	Negativo	Negativo
Prueba del alcohol	Para leche destinada a pasteurización: No se coagulará por la adición de un volumen igual de alcohol neutro de 68 % en peso o 75 % en volumen.		Negativo

Fuente: Autoras

Se puede evidenciar que se encuentran dentro de los requisitos fisicoquímicos que establece la Norma INEN 0009 para leche cruda; por lo tanto, fue apta para la realización del presente estudio.

Proteína.

En el siguiente cuadro se establece los valores en promedio de porcentaje de proteína de la leche cruda y de los diferentes tratamientos.

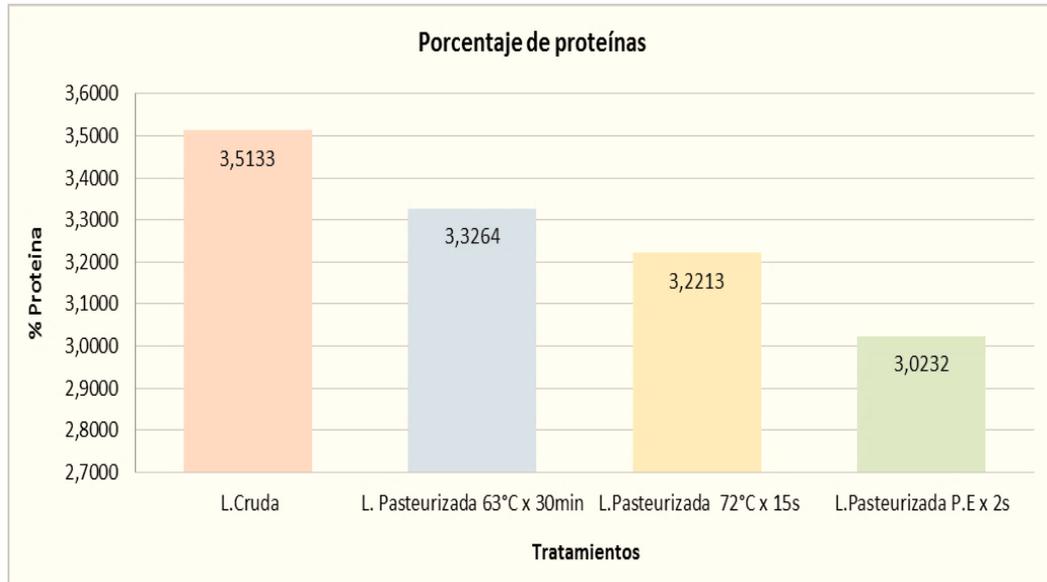


Ilustración 14 Porcentaje de Proteína

Fuente: Autoras

Según los valores obtenidos al incrementar la temperatura la cantidad de proteína descende siendo de mayor relevancia el de la leche sometida a punto de ebullición respecto a la leche cruda, esto se produce debido a que su estructura se ve afectada, determinándose aquello por el porcentaje de desnaturalización. En la ilustración N.- 15 se demuestra lo ocurrido al elevar la leche a diferentes temperaturas y tiempos establecidos en el estudio realizado.

Según Romero R. y Mestres J, (2004), el proceso de pasteurización a 72°C x 15s da lugar a un porcentaje de desnaturalización del 7%, a 80°C x 20 s el 25% de las proteínas solubles.

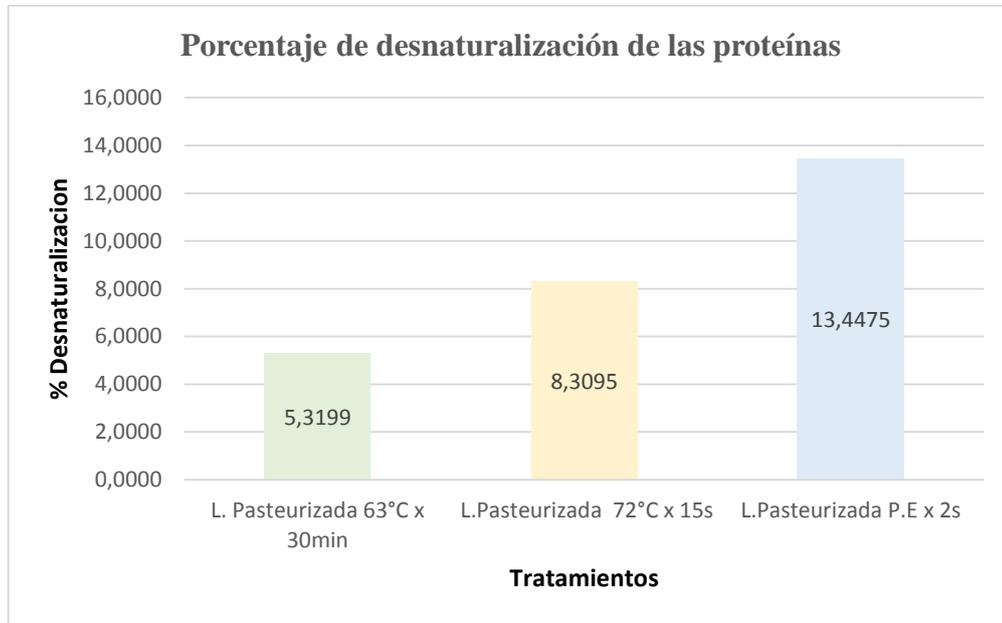


Ilustración 15 Porcentaje de desnaturalización
Fuente: Autoras

La fórmula aplicada para calcular el porcentaje de desnaturalización según (Manji B, Kakuda Y, 1987) es:

$$\% \text{ Desnaturalización} = \frac{LC - LFP}{LC} \times 100$$

Dónde:

LC=leche cruda

LFP= leche filtrada pasteurizada.

Se obtiene los siguientes promedios de desnaturalización.

En el estudio realizado el porcentaje promedio a 72°C x 15s fue de 8,3095%; y un 13,4475% a punto de ebullición. Por lo descrito anteriormente se comprobó que los tratamientos térmicos en la leche, dependiendo de la temperatura a la que somete

afectan en componentes termolábiles como las proteínas, provocando afectación en su estructura, determinándose así que a mayor temperatura aumenta el porcentaje de desnaturalización

Además, se observó que a 63°C x 30 min se obtuvo un porcentaje de desnaturalización de 5.319% lo que demuestra que la intensidad del tratamiento térmico provoca el mismo fenómeno, a diferencia del estudio realizado por Romero R. y Mestres J., (2004), establecen que no existe evidencias de desnaturalización de las proteínas a ésta temperatura.

Fósforo y Calcio

En cuanto al porcentaje de minerales como el calcio y el fósforo en los distintos tratamientos se obtuvieron los siguientes datos descritos en las siguientes ilustraciones 16 y 17

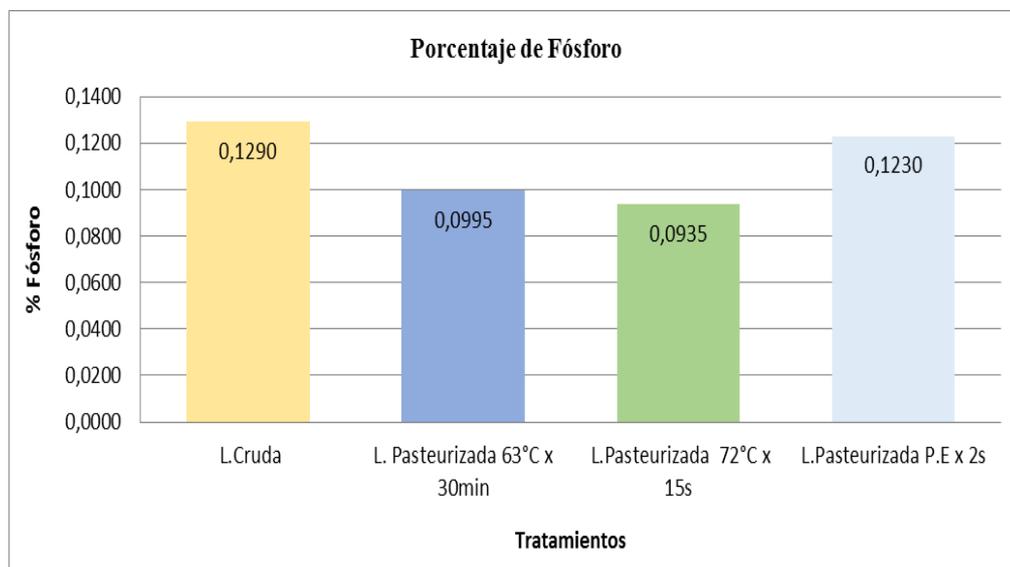


Ilustración 16 Porcentaje de Fósforo
Fuente: Autoras

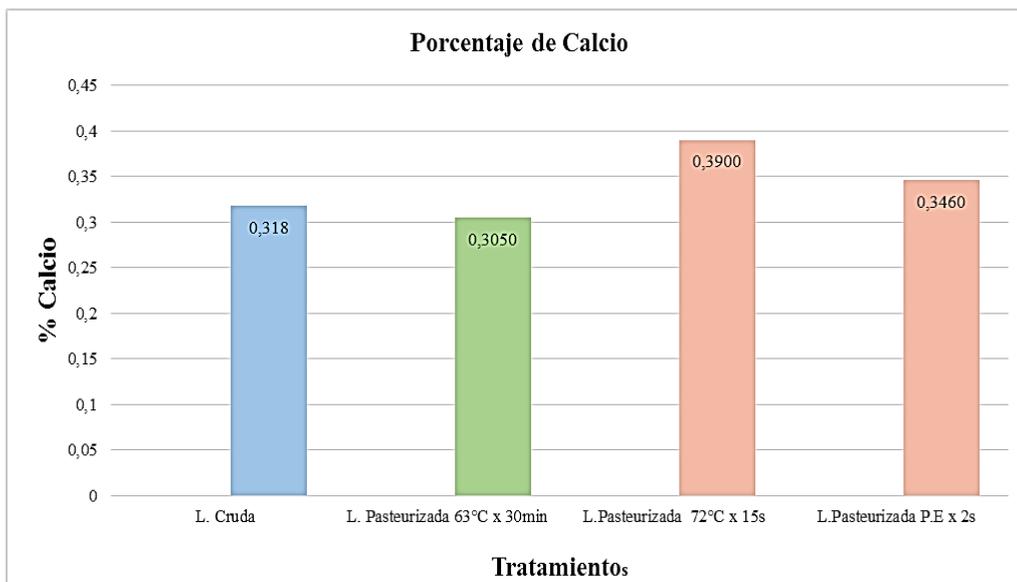


Ilustración 17. Porcentaje de Calcio
Fuente: Autoras

En cuanto al contenido de calcio no se encontró diferencia entre los tratamientos realizados debido a que no existe pérdida, sino que ocurre un proceso normal de descalcificación parcial de las caseínas, quedando menos iones de calcio disponibles para la coagulación, por lo que se hace necesario compensarlo.

Queso

Se elaboró queso tipo fresco aplicando los parámetros establecidos anteriormente, el procedimiento se detalla en la ilustración N.-12 para todos los tratamientos.

En la Ilustración N 12 se presentan los valores promedio de las determinaciones de minerales, calcio, fósforo, cloruros y grasa que no presentan una variación en sus porcentajes.

A continuación, se presentan los valores en promedio de cada uno de los análisis de los distintos tratamientos.

Humedad

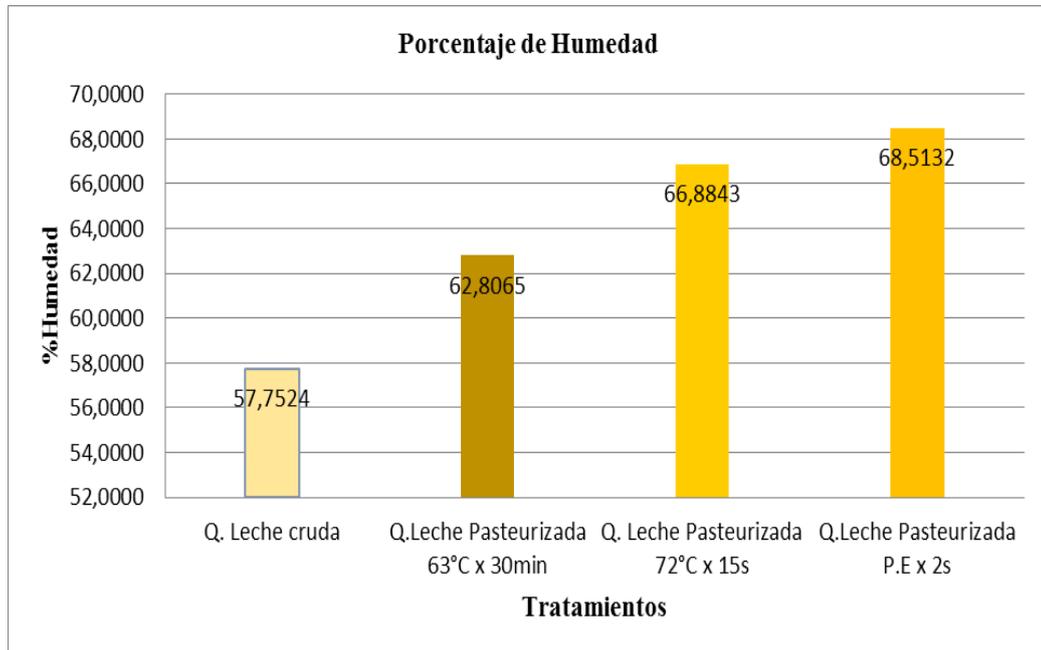


Ilustración 18 Porcentaje de humedad en el queso

Fuente: Autoras

El porcentaje de humedad del queso a punto de ebullición es de 68,5132 % siendo este el de mayor contenido, debido a que los tratamientos por encima de 63°C provocan la desnaturalización de proteínas del suero, esta desnaturalización implica un aumento de la capacidad de retención de agua por aumento de la hidratación de la proteína, al estirarse la molécula. (LUQUE, 2014)

Proteína

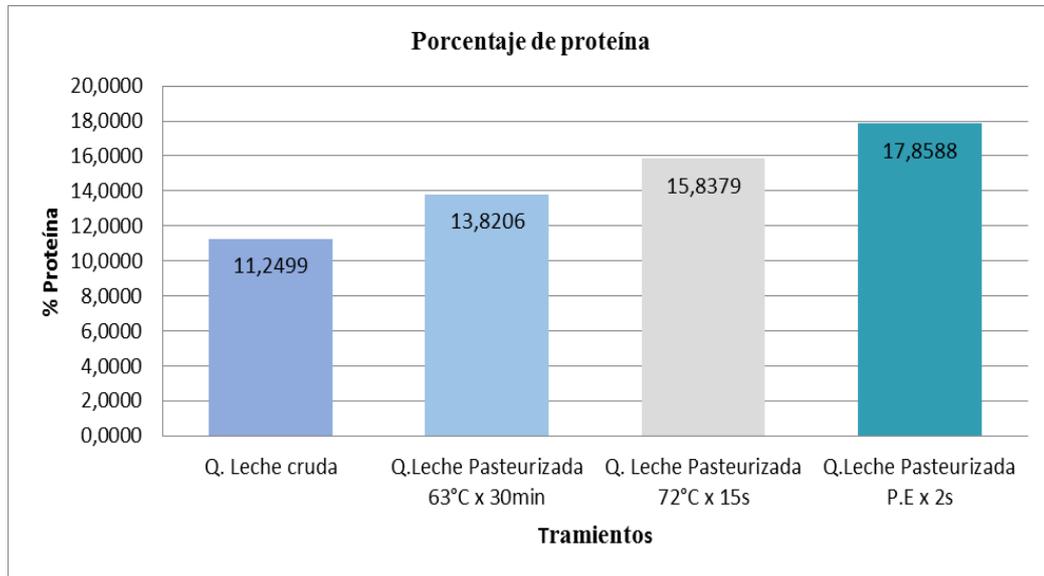


Ilustración 19 Porcentaje de proteína del queso
Fuente: Autoras

A medida que aumenta la temperatura de pasteurización existe una desnaturalización de las proteínas del lactosuero del 19,79% en el tratamiento a punto de ebullición con relación al de la leche cruda estas son eliminadas en el suero ya que no poseen la capacidad de coagulación, y no influyen en la cantidad de contenido de proteína en el queso.

Las caseínas no sufren desnaturalización durante el proceso térmico por lo tanto al añadirse una enzima como la quimosina, esta hidroliza la kappa caseína provocando un aumento considerable del contenido de materia nitrogenada no proteica y estabiliza al resto de las caseína en forma micelar. A partir de este momento, las micelas inestables forman, en presencia de minerales, una red de caseínas que gelifica cada vez más fuertemente formando un coagulo más o menos firme.

(Alais. Ch y Lacasa. A., 1985)

Fósforo y Calcio

En cuanto al contenido de minerales como el fósforo y calcio en los distintos tratamientos se presenta las siguientes ilustraciones.

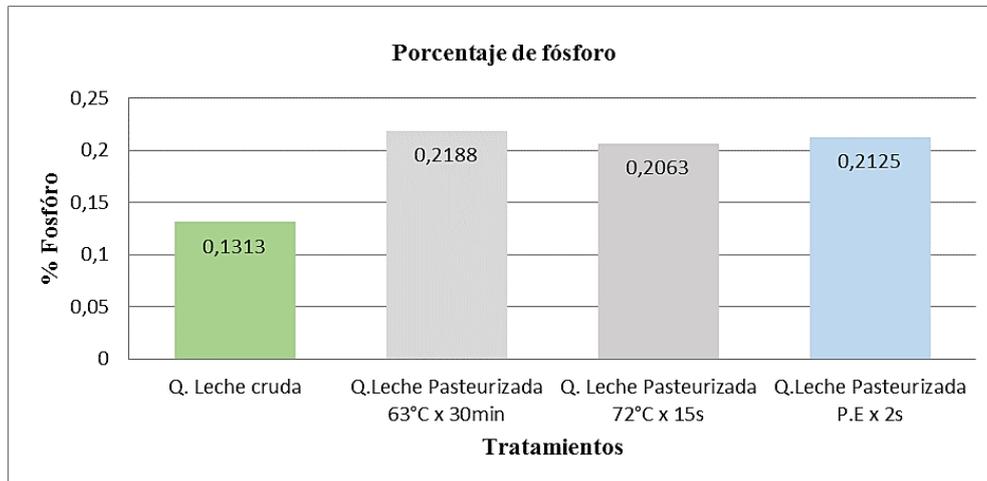


Ilustración 20. Porcentaje de Fósforo del queso
Fuente: Autoras

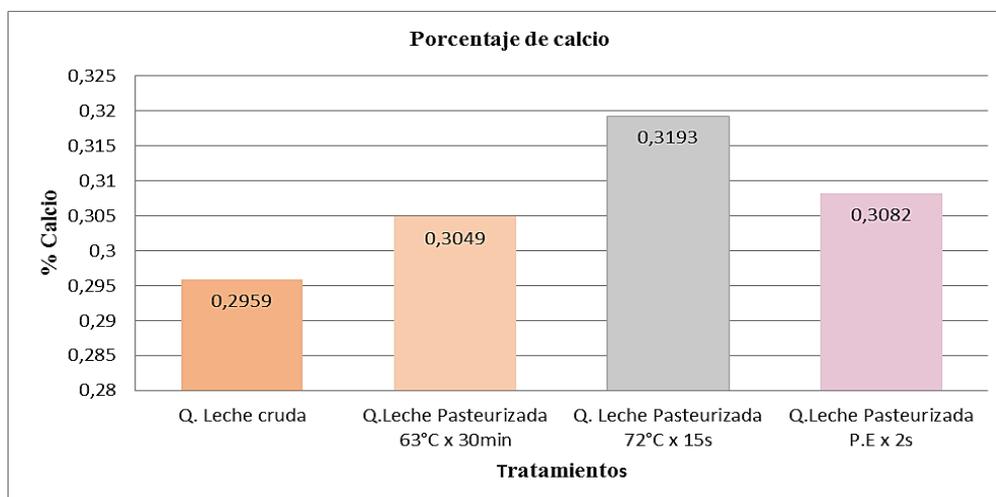


Ilustración 21 Porcentaje de calcio del queso
Fuente: Autoras

Los minerales de la leche, principalmente calcio y fósforo, se mantienen constantes. El porcentaje que se retiene en el queso depende de la acidez y pH durante el proceso de quesería. En quesos elaborados solamente con cuajo, sin el uso de fermentos o cultivos lácticos, se retiene cerca del 60 % de las sales y minerales. En

quesos elaborados con leche ácida, ya sea que se trate de acidez natural o de acidez inducida mediante cultivos o fermentos lácticos, se retiene entre el 40 % y el 50 %,

Rendimiento

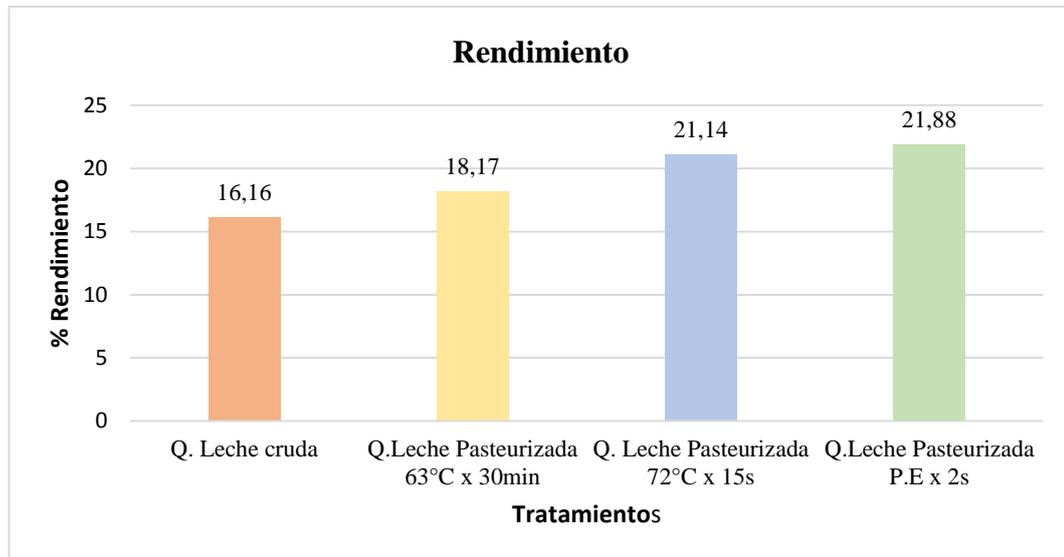


Ilustración 22 Rendimiento

Fuente: Autoras

El tratamiento con pasteurización a punto de ebullición posee mayor rendimiento (21,88%), esto se debe a la composición de la leche, esencialmente en el contenido de proteínas ya que si aumenta la caseína en la leche el rendimiento se ve incrementado por el propio peso de la proteína, la cual es retenida en mayor cantidad y también por el hecho de que la caseína aumenta considerablemente la retención de agua en el queso. Además un aumento de la materia grasa provoca el mismo efecto positivo, pero en este caso la mayor retención de agua se debe a la menor sinéresis.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- El tratamiento térmico al que fue sometida la leche dependiendo de las temperaturas/tiempos presentó cambios fisicoquímicos como disminución de la proteína por efecto de la desnaturalización fenómeno que provoca la modificación globular de la proteína causando un desdoblamiento de la cadena peptídica hacia formas lineales; según el estudio realizado se concluyó que a mayor temperatura (Punto de ebullición) el porcentaje de desnaturalización es mayor.
- Del total de las proteínas la caseína es la de mayor estabilidad ante el proceso térmico sin embargo las proteínas del suero resultan las más afectadas en especial a la lacto globulina, esto se evidencio ya que se realizó la determinación del contenido de proteína del suero de la leche cruda siendo esta mayor que el suero de punto de ebullición.
- El contenido de proteína aumenta en el queso fresco a mayor temperatura esta se eleva siendo mayor con leche a punto de ebullición con un 17,52%.
- Durante el proceso de elaboración del queso a temperaturas elevadas la cuajada resulta débil es decir menos manejable que a temperaturas bajas y la formación del coagulo requiere de más tiempo, siendo los factores que influyen en la aptitud para la coagulación: el contenido de caseína y de calcio por lo que se requiere adicionar el doble de cloruro de calcio para corregir problemas de coagulación y disminuir las pérdidas de rendimiento, a temperatura de ebullición la cuajada se tornó con mayor firmeza y pudo ser manejada y el tiempo de coagulación fue menor en relación a los ensayos realizados con la cantidad de cloruro de calcio recomendada que es máximo de 0,02% a la misma

temperatura el tiempo de coagulación fue mayor obteniéndose una cuajada blanda y menor cantidad de queso en relación al ensayo anterior.

- La presencia de los iones de calcio en cantidad suficiente es indispensable para la floculación de las micelas de la caseína que son modificadas por acción del cuajo ya que estas se muestran sensibles a los iones de calcio y las pequeñas variaciones en la concentración de estos iones pueden afectar notablemente al tiempo de coagulación y a la dureza del gel.
- En cuanto al rendimiento de la leche en quesos aumenta ligeramente porque la lactoalbumina y la lactoglobulina se coagulan y quedan retenidas en la cuajada formada por la caseína que forma una red de paraceinato de calcio por acción del cuajo que atrapa los demás elementos que se encuentran en la leche; si se aumenta el tenor de esta en la leche el rendimiento de elaboración se ve incrementado por el peso de la proteína y la cantidad de agua que retiene.

5.2.RECOMENDACIONES

- Incentivar a la realización de prácticas en la elaboración de quesos a diferentes temperaturas de pasteurización en la carrera de Agroindustria y a distintas concentración de cloruro de calcio para reforzar lo presentado en el estudio además ejecución de otras determinaciones para diferenciar la calidad de estos, así como a la afectación fisicoquímica que sufre la leche durante los procesos de pasteurización.
- Se recomienda el estudio de la adición de caseínas en la leche en relación al rendimiento, firmeza del coagulo, dosis de calcio y tiempo de coagulación con pasteurización de la leche a punto de ebullición.
- Efectuar un análisis comparativo de la calidad de los quesos que se elaboran en las distintas empresas del cantón Riobamba.

CAPÍTULO VI

6. PROPUESTA

6.1. Título de la propuesta.

Elaboración de queso fresco con pasteurización a punto de ebullición por 2 segundos de retención en la empresa de lácteos “San Salvador”.

6.2. Introducción

La fabricación de queso consiste en reorganizar las moléculas de caseína mediante este proceso, desde la preparación de la leche hasta el salado del queso, de forma que la microestructura de la red de caseína pueda retener el resto de componentes de la leche en las cantidades requeridas para cada tipo de queso, y obtener así: rendimiento, consistencia, firmeza y características organolépticas óptimas para la variedad de queso que se quiere producir. (Riera, J., 2011)

En la actualidad el cambio de procesos de elaboración de quesos es continuo. La adopción de nuevos métodos en su producción como la pasteurización frecuentemente ocasiona problemas por los cambios que se pueden producir en el queso por someter la leche a altas temperaturas.

Es por eso que éste proyecto se fundamenta en la realización de determinaciones de la leche pasteurizada a punto de ebullición y los cambios que provoca este tratamiento en las características del queso elaborado. La influencia de la pasteurización a punto de ebullición se ve reflejada en los resultados obtenidos anteriormente donde se observa de manera clara que al elevar a altas temperaturas trae grandes beneficios al productor ya que el rendimiento mejora y las propiedades nutricionales se mantienen o como es el caso de las proteínas aumentan considerablemente en relación a la leche.

6.3. Objetivos.

General

- Elaborar queso fresco pasteurizado a punto de ebullición con 2 segundos de retención en la empresa de lácteos “San Salvador”.

Específicos

- Elaborar queso fresco a punto de ebullición y comparar con las características del producto elaborado en la empresa.
- Demostrar los beneficios del queso a ser elaborado.
- Capacitar al personal en la elaboración de este tipo de queso y su manipulación.

6.4. Fundamentación científico- teórico.

Desde el punto de vista físicoquímico, el queso se define como un sistema tridimensional tipo gel, formado básicamente por la caseína integrada en un complejo caseinato fosfato cálcico, el cual por coagulación, engloba glóbulos de grasa, agua, lactosa, albúminas, globulinas, minerales, vitaminas y otras sustancias menores de la leche, las cuales permanecen adsorbidas en el sistema o se mantiene en la fase acuosa retenida. (Walstra, 2006)

Entre las proteínas de la leche, las caseínas son la pieza clave de la fabricación quesera ya que crean la matriz del queso. Son proteínas que representan más del 80% del nitrógeno total de la leche. Ya sabemos que hay cuatro tipos y que en presencia de fosfato cálcico forman *micelas* estables de caseína en equilibrio con la fase soluble de la leche. (Riera, J., 2011)

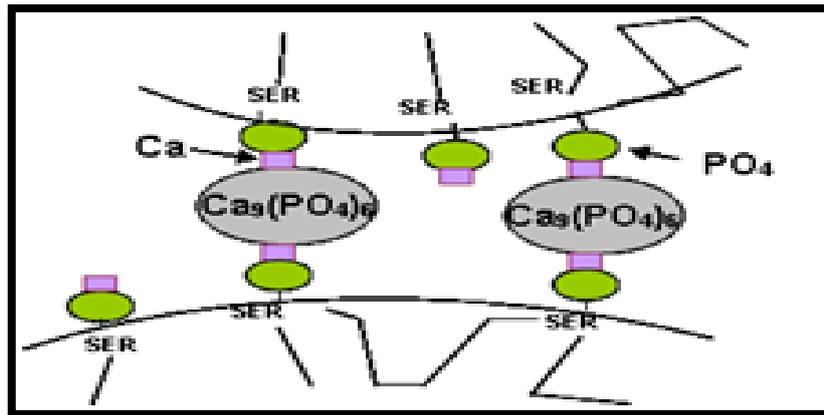


Ilustración 23 Papel del Ca y el fosfato en la estabilización de las micelas de caseína
Fuente: Riera, J., (2011)

Cuando varía la temperatura, el pH o la cantidad de sal, es posible modificar este equilibrio. Por ejemplo, cuando las bacterias lácticas transforman la lactosa en ácido láctico, el pH de la leche disminuye, lo que descalcifica las micelas de proteína, las desestabiliza y las hace precipitar (cuajada tipo **láctico**). Por otra parte, cuando se añade un enzima como la quimosina (componente del cuajo animal), ésta hidroliza (rompe) la caseína (kappa) que es la que estabiliza al resto de caseínas en forma micelar. A partir de este momento, las micelas inestables forman, en presencia de minerales, una red de caseínas que gelifica cada vez más fuertemente formando un **coágulo** más o menos firme según determinadas condiciones (cuajada tipo **enzimático**) (Riera, J., 2011)

La caseína, al formar un coágulo, sea láctico o enzimático, retiene en su red tridimensional una parte de los componentes de la leche: grasa, minerales, agua e incluso algunos de los elementos solubles, lo que tiene una incidencia directa en el rendimiento quesero. El arte de la fabricación de queso consiste, por lo tanto, en reorganizar las moléculas de caseína mediante el proceso de fabricación desde la preparación de la leche hasta el salado del queso, de forma que la microestructura de la red de caseína pueda retener el resto de componentes de la leche en las cantidades requeridas para cada tipo de queso, y obtener así un rendimiento, una consistencia, una firmeza y unas características organolépticas óptimas para la variedad de queso que se quiere producir. (Riera, J., 2011)

Como las caseínas constituyen la estructura básica del queso, su degradación por los enzimas proteolíticos contribuye a la evolución de la textura durante la curación o afinado. (Riera, J., 2011)

Con respecto al rendimiento quesero, la cantidad de proteína tiene mayor influencia en él que la cantidad de grasa. Se ha demostrado en tecnologías de pasta prensada cocida que 1 g de proteína ayuda a “fijar” entre 0,8 y 0,9 g de agua, y hasta 3 g en un queso fresco. En cambio, 1g de grasa sólo fija de 0 a 0,2 g de agua. (Riera, J., 2011).

Las caseínas participan también en el desarrollo del sabor del queso. Durante la fabricación, y sobre todo durante el afinado, las caseínas son hidrolizadas en componentes más pequeños (polipéptidos, péptidos y aminoácidos) por la acción de enzimas como la quimosina (añadida en el momento de la fabricación), los enzimas bacterianos y los enzimas presentes de forma natural en la leche que no hayan sido destruidos por los tratamientos térmicos. Estos componentes de las proteínas son responsables de la aparición de sabores afrutados, de avellanas o incluso de amargos (debido a los llamados “péptidos amargos” de cadena corta). El olor a amoníaco característico del camembert muy maduro proviene de la fuerte degradación de las proteínas por la acción de los enzimas de los hongos que crecen en su superficie. (Riera, J., 2011)

6.5. Descripción de la propuesta

6.5.1. Elaboración de queso fresco pasteurizado a punto de ebullición

Diagrama de elaboración de queso pasteurizado a Punto de ebullición

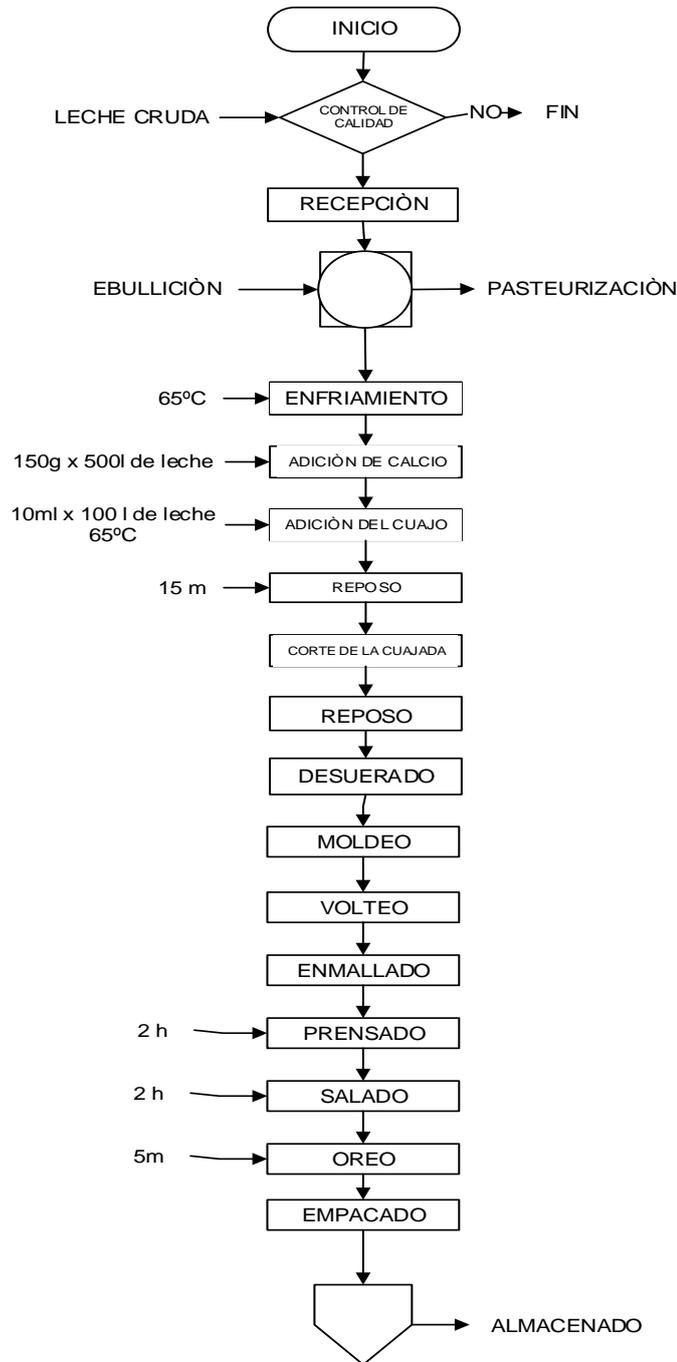


Ilustración 24 Diagrama de elaboración del queso a punto de ebullición
Fuente: Autoras

Proceso de elaboración.

- **Control de calidad:**

Análisis organoléptico: Evaluación de olor, color y sabor el mismo que debe ser debe ser blanco opalescente o ligeramente amarillento.

Análisis físico – químico: Acidez, punto crioscópico, adición de agua, grasa densidad.

- **Recepción.**

En esta operación la leche debe ser tamizada para evitar el paso de cuerpos extraños como: cabellos, hierbas, basuras u otros que afecten la calidad e inocuidad del producto final.

- **Pasteurización.**

Este proceso se realiza con el fin de eliminar los microorganismos patógenos de la leche, la temperatura de pasteurización es a punto de ebullición por 2 segundos de retención.

- **Enfriamiento.**

Para una correcta pasteurización se realiza un choque térmico hasta que la temperatura de la leche descienda a 65°C.

- **Adición de calcio.**

La temperatura para la adición es de 65°C, la cantidad se añade haciendo una relación de 150g de calcio por 500 L de leche.

- **Adición de cuajo.**

Se adiciona a 65 °C y la cantidad depende del tipo de cuajo se utiliza una relación de 10ml por cada 100 l de leche.

- **Reposo.**

Durante 15 minutos hasta que la leche se encuentre cuajada en su totalidad.

- **Corte.**

Permite la salida del suero que se encuentra retenido en el coágulo, los cortes se los realiza de forma longitudinal y transversal hasta que el grano tenga el tamaño ideal.

- **Reposo 2.**

Se lo realiza con el fin de que el suero se precipite.

- **Desuerado.**

Es la separación del suero que ha liberado el coágulo, se lo realiza con ayuda de una malla plástica estéril para evitar la pérdida de materia sólida.

- **Moldeado y enmallado.**

Distribuir uniformemente los granos de cuajada por los moldes para darle la forma respectiva, posteriormente se coloca una malla envolviendo al producto.

- **Prensado.**

En este proceso se ejerce sobre la cuajada presión durante 2 horas para que los quesos adquieran firmeza.

- **Salado.**

Se realiza por inmersión en salmuera preparada con anticipación (100 litros de agua - 30 kg de sal), se lo realiza con el fin de regular el desarrollo microbiano, además de contribuir a la pérdida de suero

- **Oreo.**

Durante 5 min para eliminar el agua de la salmuera.

- **Empacado y refrigerado.**

Luego de estar el queso frío se empaqa en fundas plásticas de grado alimenticio. La temperatura de refrigeración es de 4-5°C durante 24 horas.

6.5.2. Elaboración del queso pasteurizado a 72°C

Diagrama de elaboración del queso pasteurizado a 72 °C

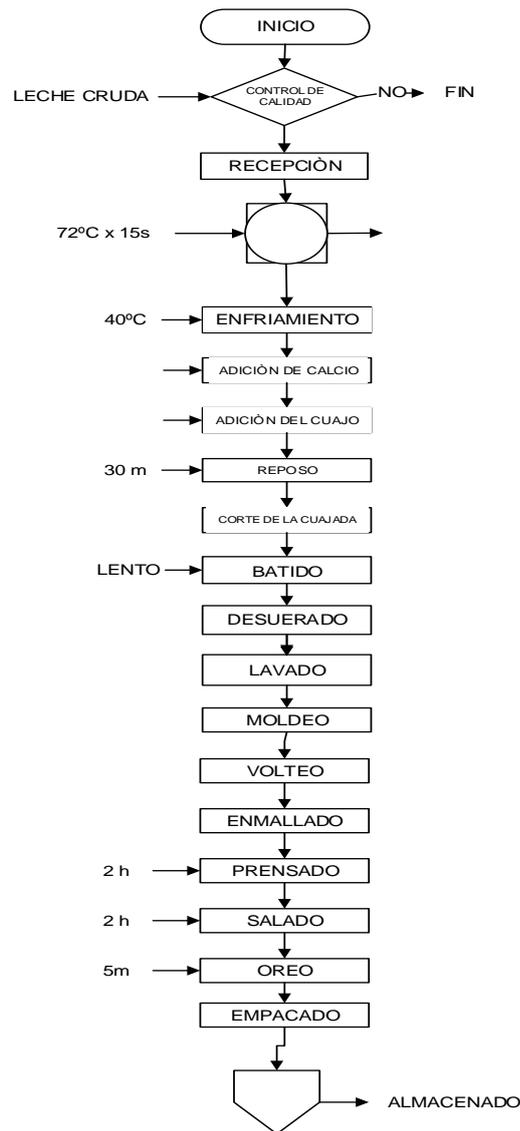


Ilustración 25 Diagrama de elaboración de queso fresco pasteurizado a 72°C
Fuente: Lácteos “San Salvador”

Proceso de elaboración

- **Control de calidad:**

Análisis organoléptico: Evaluación de olor, color y sabor el mismo que debe ser debe ser blanco opalescente o ligeramente amarillento.

Análisis físico – químico: Acidez, punto crioscópico, adición de agua, grasa densidad.

- **Recepción.**

En esta operación la leche debe ser tamizada para evitar el paso de cuerpos extraños como: cabellos, hierbas, basuras u otros que afecten la calidad e inocuidad del producto final.

- **Pasteurización.**

Este proceso se realiza con el fin de eliminar los microorganismos patógenos de la leche, la temperatura ideal de pasteurización es de 72 °C durante 15 segundos de retención.

- **Enfriamiento.**

Para una correcta pasteurización se realiza un choque térmico hasta que la temperatura de la leche descienda a 40°C.

- **Adición de calcio.**

La temperatura para la adición es de 40°C, la cantidad de calcio se lo realiza según los litros de leche procesados.

- **Adición de cuajo.**

Se adiciona a 37 °C y la cantidad depende del tipo de cuajo que se utilice.

- **Reposo.**

Durante 30 minutos hasta que la leche se encuentre cuajada en su totalidad.

- **Corte.**

Permite la salida del suero que se encuentra retenido en el coágulo, los cortes se los realiza de forma longitudinal y transversal hasta que el grano tenga el tamaño ideal.

- **Primer Batido.**

Suavemente durante 5 minutos, tiene por objeto acelerar el desuerado y que los granos se adhieran, además que ayuda a que la cuajada se caliente de manera uniforme.

- **Primer desuerado.**

Es la separación del suero que ha liberado el coágulo, se lo realiza con ayuda de una malla plástica estéril para evitar la pérdida de materia sólida.

- **Lavado y batido.**

La cuajada se lava para eliminar residuos de suero y bloquear el desarrollo de microorganismos que puedan dañar al queso, el lavado debe realizarse con agua pasteurizada

- **Segundo Desuerado.**

Con ayuda de una malla plástica estéril retiramos el exceso de suero que exista en la cuajada.

- **Moldeado y enmallado.**

Distribuir uniformemente los granos de cuajada por los moldes para darle la forma respectiva, posteriormente se coloca una malla envolviendo al producto.

- **Prensado.**

En este proceso se ejerce sobre la cuajada presión durante 2 horas y los quesos adquieran firmeza.

- **Salado.**

Se realiza por inmersión en salmuera preparada con anticipación (100 litros de agua - 30 kg de sal), se lo realiza con el fin de regular el desarrollo microbiano, además de contribuir a la pérdida de suero

- **Oreo.**

Durante 5 min para eliminar el agua de la salmuera.

- **Empacado y refrigerado.**

Luego de estar el queso frío se empaca en fundas plásticas de grado alimenticio. La temperatura de refrigeración es de 4-5°C durante 24 horas.

6.5.3. Comparación de las características del queso propuesto con el queso elaborado en la empresa

Características	Queso pasteurizado a Punto de Ebullición	Queso pasteurizado a 72°C
<i>Color</i>	Característico	Característico
<i>Olor</i>	Característico	Característico
<i>Sabor</i>	Característico	Característico
<i>Textura</i>	Cuajada Blanda	Cuajada fuerte
<i>% Proteínas</i>	17,511	15,8379
<i>% Calcio</i>	0,3082	0,3193
<i>% Fósforo</i>	0,2125	0,2063
<i>% Grasa</i>	41,0194	42,0194
<i>% Humedad</i>	68,5132	66,8843

Fuente: Autoras

6.5.4. Determinación y comparación del rendimiento

Tratamientos	% Rendimiento	Cantidad queso gr
Q. Leche pasteurizada a 72°C x 15s	19,85	409,74
	21,14	435,72
	21,82	449,78
Q. Leche pasteurizada a punto de ebullición	21,79	448,80
	21,96	452,74
	21,88	450,76

Tabla 16
Rendimiento del queso a punto de

ebullición y a 72°C x 15s.

6.5.5. Capacitación al personal.

El personal de la empresa debe tener amplios conocimientos para la elaboración y manipulación de productos lácteos, por lo cual se ha considerado temas de gran importancia que ayudarán a mejorar el desempeño de los trabajadores y a la vez garantizará la calidad e inocuidad del producto elaborado.

- a) Buenas Prácticas de Manufactura en la elaboración de productos lácteos

- Beneficios que se obtienen al trabajar con BPM
 - Condiciones necesarias para las Buenas Prácticas de Manufactura.
 - Buenas Prácticas de Manufactura antes de la elaboración de lácteos
 - Buenas Prácticas de Manufactura durante la elaboración de lácteos
 - Buenas Prácticas de Manufactura después de la elaboración de lácteos
 - Prevención de Riesgos
- b) Proceso de elaboración del queso fresco pasteurizado a punto de ebullición
- c) Beneficios al elaborar éste queso.
- a) **Buenas Prácticas de Manufactura en la elaboración de productos lácteos.**

Según la FAO, (2011). Todas las empresas que laboren con productos lácteos deben basarse en Las Practicas de Manufactura que contiene:

Beneficios que se obtienen al trabajar con BPM

- Producir con calidad sanitaria
- Mejorar las condiciones de higiene en los procesos de elaboración y garantizar la inocuidad.
- Competir en el mercado local.
- Mantener la imagen del producto y aumentar las ganancias.
- Tener clientes satisfechos.
- Cumplir con la ley.
- Evitar riesgos de contaminación de los productos.
- Proteger la salud de nuestra familia.
- Cumplir con el fundamento de cualquier sistema de control y garantía de calidad.

Condiciones necesarias para las Buenas Prácticas de Manufactura

El Local

El local para la elaboración de quesos y otros productos lácteos debe contar con condiciones y servicios básicos que permitan realizar los procesos de producción en un ambiente adecuado y que satisfaga los requerimientos sanitarios mediante los cuales se eliminen al máximo las posibilidades de contaminación.

- Los accesos y alrededores de la instalación deben estar limpios. No debe haber cerca de ellos letrinas, basureros o acumulación de estiércol de ganado; los corrales de cerdos, gallinas y caballos o mulas deben estar alejados.
- Las ventanas y puertas del local deben proporcionar buena ventilación e iluminación natural y deben estar protegidas con malla contra insectos.
- El local debe contar con servicios de energía eléctrica y agua potable para los procesos de elaboración de productos lácteos y para la limpieza.
- Es necesario tener un área de almacenamiento de los productos elaborados.
- Las instalaciones sanitarias deben estar separadas del área de producción. Se debe contar con todo lo necesario para la limpieza e higiene personal (jabón, papel higiénico) de quienes elaboran los productos lácteos.
- Se requiere un lugar para el lavado de manos en el área de elaboración de los productos.
- Los depósitos de agua deben estar siempre limpios y contar con un sistema de drenaje funcional.

- En el local hay que tener recipientes para depositar la basura que se genera en los procesos de elaboración de lácteos.
- Se debe tener un sistema que permita el control de insectos y roedores.

Los Productores

El objetivo de las buenas prácticas de higiene personal es garantizar que las personas que estén en contacto directo o indirecto con los productos lácteos no los contaminen. Por lo tanto, cada productora debe:

- Contar con su respectiva tarjeta de salud.
- Bañarse antes de iniciar las labores.
- Evitar el contacto con los productos lácteos en caso de padecer de una infección o afección temporal como catarro, gripe o diarrea.
- Utilizar ropa de trabajo adecuada y limpia, lo cual incluye bata, mascarilla y redcilla para el pelo. Esto es obligatorio.
- Lavarse las manos con agua, jabón y desinfectarse con alcohol en gel antes de iniciar el trabajo, después de ir al baño y todas las veces que sea necesario.
- Cortarse las uñas, mantenerlas limpias y sin pintura, quitarse el reloj, anillos y cualquier otro elemento que pueda estar en contacto con los productos durante el proceso de elaboración.
- Recogerse el cabello dentro de la redcilla o gorro.
- Quitarse la ropa de trabajo cuando vaya al baño y colocársela nuevamente al ingresar al lugar de producción.
- Dejar toda la ropa de trabajo en la quesería cuando salga a refaccionar

No debe

- Comer, beber, toser, estornudar, masticar chicle o escupir durante el proceso de elaboración de los productos lácteos, ni dentro de las instalaciones.
- Limpiarse las manos en la ropa de trabajo.
- Limpiar los utensilios en la ropa de trabajo.

- Secarse con la vestimenta de trabajo el sudor de la cara.
- Peinarse en las áreas de elaboración de lácteos.

La Recepción de la leche

La leche que ingrese a la quesería debe ser analizada para determinar si es leche pura y si está limpia y apta para la fabricación de queso. Las principales pruebas de control de calidad son las siguientes:

Análisis sensorial

Utilizar la vista, olfato y gusto para verificar las características del producto:

- Olor y sabor ligeramente dulce.
- Color ligeramente blanco/amarillento.

Se deben rechazar las leches sucias y de mal olor.

Pruebas de laboratorio

Pruebas Bacteriológicas:

- Reductasa: determina el número de bacterias presentes en la leche.

Pruebas físico químicas:

- Acidez y prueba de alcohol para conocer cuántos microbios están presentes; también nos sirve para conocer la higiene y conservación de la leche después del ordeño.
- Porcentaje de grasa, para conocer, justamente, el nivel de grasa en la leche.
- Densidad, para saber si le agregaron agua a la leche o ésta fue descremada.

Los análisis mencionados se deben realizar por el personal encargado de la planta de procesamiento de lácteos. Dicho personal toma muestras cada vez que se reciba o ingrese leche a la planta y efectúa los análisis sensoriales, bacteriológicos y fisicoquímicos, para lo cual se utiliza un recipiente (cucharón) de acero inoxidable con capacidad de 250 ml.

Antes de elaborar los alimentos

- Barrer y trapear el local donde se preparan los productos lácteos al inicio de las actividades.
- Quitarse reloj, anillos y cualquier otro artículo que pueda estar en contacto con los productos que se van a elaborar.
- Lavar las mesas donde se realizan los procesos de elaboración de quesos y otros productos lácteos.
- Lavar los utensilios con agua y jabón. • Enjuagar los utensilios con suficiente agua.
- Escurrir los utensilios de trabajo y secarlos con mantas.
- Colocar en orden de utilización los utensilios de trabajo.
- Recibir la leche y realizar el análisis sensorial. Para hacerlo, se debe ver, oler y probar la leche, para determinar si se trata de un producto puro, limpio y apto para la fabricación de queso y otros productos lácteos.
- Rechazar las leches sucias y de mal olor.
- Realizar prueba de acidez a la leche.
- Pesar o medir en litros la leche y colarla en mantas.
- Enfriar la leche

Durante todo el proceso

Las siguientes actividades deben realizarse durante la elaboración de productos lácteos.

- Manejar higiénicamente la preparación del cuajo, utilizando un recipiente limpio y agua limpia.
- Lavar las especies a utilizar durante el proceso de elaboración de los quesos y otros productos lácteos.
- Lavar el equipo y utensilios entre tandas de producción.

Después del proceso

Después de terminar la elaboración de productos lácteos se debe:

- Lavar los utensilios con agua y jabón.
- Enjuagar los utensilios con suficiente agua.
- Escurrir y secar con mantas los utensilios de trabajo.
- Lavar las mesas donde se realizaron los procesos de elaboración de quesos y otros productos lácteos.
- Colocar en orden los utensilios de trabajo.
- Barrer y trapear el local donde se prepararon los productos lácteos al final de las actividades.
- Quitarse la ropa de trabajo y lavarla

d) Beneficios de elaborar queso fresco pasteurizado a Punto de ebullición

Los Beneficios que nos proporciona éste queso en relación al pasteurizado a 72°C son:

- Aumento del rendimiento.

- Aumento considerable de las proteínas y fósforo lo que favorece al valor nutricional del queso.
- Mayor estabilidad en la carga microbiana patógena.

6.6. Diseño Organizacional.

La estructura organizativa es la siguiente:



Ilustración 26 Diagrama Organizacional de la empresa "San Salvador"
Fuente: Empresa del lácteos San Salvador

6.7. Monitoreo y Evaluación de la propuesta

ACTIVIDADES	Mes 1				Mes 2				Mes 3			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Presentación del proyecto a la empresa de lácteos San Salvador												
Aprobación del proyecto por parte de directivos de la empresa.												
Elaboración actual del queso												
Elaboración del queso de la propuesta planteada												
Capacitación al personal												

Fuente: Autoras

BILIOGRAFÍA

- Alais. Ch y Lacasa. A. (1985). *Ciencia de la leche*. Reverte.
- Romero R. y Mestres J. (2004). *Productos Lácteos Tecnología*. UPC.
- Abril.A, Pilco.V. (2013). *CALIDAD FISICOQUÍMICA DE LA LECHE CRUDA QUE INGRESA A LA*. cuenca.
- Celis.M. (2009). *Microbiología de la leche*. Cuenca.
- Celis.M, & Juarez.D. (2009). *Microbiología de la leche*. Bahía Blanca.
- Ěejna V.,Chládek. (2009). *The importance of*.
- *EROSKI CONSUMER*. (01 de 12 de 2009). Obtenido de EROSKI CONSUMER: <http://www.consumer.es/web/es/alimentacion/guia-alimentos/leche-y-derivados/2003/02/04/57228.php>
- *EROSKI CONSUMER*. (30 de marzo de 2012). *Fundación Eroski contigo*. Obtenido de Fundación Eroski contigo: <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2012/03/09/208595.php>
- FAO. (2010). *Determinación de proteína*. Obtenido de <http://www.fao.org/docrep/010/ah833s/ah833s17.htm>
- FAO. (2011). *Buenas prácticas en el manejo de leche*.
- Farrel.Jr; Ferrandini.E. (2006). *Casein micelle structure: what can be learned from milk synthesis and structural*.
- Farrell. Jr; Jimenez. F; Bleck. G; Swaisgood. H. (2004). *Nomenclature of the proteins of cows' milk-sixth revision*.
- Ferrandini, E. (2006). *Modelos estructurales de la caseína*.
- Fox, P.F. y Kelly, A.L. (2004). The caseins. En P. y. Fox, *Proteins in Food Processing* (págs. 29-71). Cambridge: Woodhead Publishing Limited.
- Fundación Eroski. (01 de 12 de 2009). *Eroski Consume*. Recuperado el 28 de 09 de 2015, de Eroski Consume: <http://www.consumer.es/web/es/alimentacion/guia-alimentos/leche-y-derivados/2003/02/04/57228.php>
- *Fundamentos para la elaboración de quesos*. (2004).

- García. L y Olmo. V. (2010). *La industria Alimentaria*. Recuperado el 28 de 09 de 2015, de <http://ben.upc.es/documents/eso/aliments/HTML/lacteo-3.html>: <http://ben.upc.es/documents/eso/aliments/HTML/lacteo-3.html>
- Gil. A. (2010). *Composición y calidad nutritiva de los alimentos*. Panamericana.
- Holt, C. (1992). *he biological function of casein*. The Hannah Institute, Scotland: Yearbook 1994.
- Horne, D. (1998). Casting light on the black boxes, the structure in dairy products. En D. Horne, *Casein interactions* (págs. 171, 177). International Dairy Journal.
- <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/322/2/03%20AGI%20204%20> <http://www.laanunciataikerketa.com/trabajos/yogur/pasteurizacion.pdf>. (2011).
- *Pasteurización*. Obtenido de Pateurización: <http://www.laanunciataikerketa.com/trabajos/yogur/pasteurizacion.pdf>
- INEN 158. (2012). *Norma general para quesos frescos no madurados.Requisitos*. Quito.
- INEN. (2012). *Leche y productos lácteos. Muestreo*. Quito.
- Jimenez, D. (2014). *Desnaturalización de las proteínas*. Bogotá.
- Kumar,A; Grover,S; Sharma,J.and Batish,V. (2010). *Chymosin and other milk coagulants:sources and biotechnological interventions*.
- Laura. B . (2009). *Desnaturalización de las proteínas*. México.
- Liu, H. (2007). *Antioxidan nature of bovine milk beta-lactoglobulin*.
- Livney, Y. (2010). *Milk proteins as vehicles for bioactives*.
- López.L. (2010). *química de los alimentos*.
- Lung A., S. F. (1996). *Encyclopedia of Common Natural Ingredients*. New York.
- Luque, V. (2014). *Estructura y propiedades de las proteínas*.
- Maeda-Yamamoto M, M., Kawahara, H., & Tahara, N. (1999). Effect of tea polyphenols on the invasión and matrix metalloproteinases activities of human fibrosarcoma HT1080 cells. *Journal of Agricultural Food Chemistry* , 47.

- Manji B, Kakuda Y. (1987). *Determination of Whey Protein Denaturation in Heat-Processed*. Journal of Dairy Science.
- McMahan, D. (2008). *Supramolecular structure of the casein micelle*.
- Morató, N. G. (2012). *Pasteurización de alimentos*. México.
- Muller-Buschbaum. P; Gebhardt, R; . (2007). *Effect of calcium concentration on the structure of casein micelles in thin films*.
- Navas. J. (2010). *Bioquímica Estructural y Metabólica*. Obtenido de <http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/bioquimica-estructural-y-metabolica/materiales-de-clase/Tema%203.%20Proteinas.%20Composicion%20y%20estructura.pdf>
- NORMA TÉCNICA ECUATORIANA 10. (2012). *Leche y productos lácteos. Muestreo*. Quito.
- Pilamonta D. (2015). *Determinar la desnaturalización de la proteína de la leche en la etapa de evaporación durante la producción de leche en polvo*. Cuenca.
- Reinhardt. T, Lippolis. J. (2006). *Bovine milk fat globule membrane proteome*.
- Revilla.A. (2008). *Tecnología de la leche*.
- Riel, R. (1991). Composición y estructura físico-química de la leche. En R. Riel, *Ciencia y tecnología de la leche* (págs. 1-53). Zaragoza, España: Amiot, J.
- Riera, J. (05 de 10 de 2011). *Quesos*. Obtenido de <https://quesosypan.wordpress.com/2011/10/05/papel-tecnologico-de-los-componentes-de-la-leche-la-materia-grasa-y-las-protenas/>
- Schmidt, D. (1982). Association of caseins and casein micelle structure. En D. Schmidt, *Developments in Dairy Chemistry, volume 1* (págs. 63-110). Londres: Fox, P.F.
- Slattery, C. (1976). *Casein micelle structure; an examination of models*. Journal of Dairy.
- Sorensen J, Palmer D, Schiott B. (2013). *Hot-spot mapping of the interactions between*.
- Swaisgood, H. (2003). *Protein composition of milk: identification, structure and chemical*.

- Thorn, D ; Meehan, S; Sunde, M; Rekas, A. (2005). *Amyloid fibril formation by bovine milk kappa-casein and its inhibition by the molecular chaperones alphaS and beta-casein. Biochemistry.*
- Tornadijo, M; Marra, A; García, M; Prieto, B; Caballo, J. (1998). *Ciencia y Tecnología Alimentaria.* México.
- Villacrés, P. (2013). *La pasteurización y sus beneficios.* Riobamba:
http://www.esPOCH.edu.ec/Descargas/facultadpub/PasteurizacionFCP_e09be.pdf.
- Visser, H. (1992). A new casein micelle model and its consequences for pH and temperature effects on the properties of milk. En H. Visser, *Protein interactions.* (págs. 135-165). Weinheim, Alemania: Visser, H.
- Wakabayashi, H. (2006). *Lactoferrin research, technology and applications.*
- Walstra, P. y Jenness, R. (1984). *Dairy Chemistry and Physics.* New York: John Wiley and Sons.
- Waugh, D. (1971). Formation and structure of casein micelles. En D. Waugh, *Milk proteins: Chemistry and molecular biology. Volume 2.* (págs. 3-85). Academic Press, New: McKenzie, H.A. .
- Zela, J. (2005). *Aspectos nutricionales y tecnológicos de la leche.*
- Zela, J. (2005). *Aspectos Nutricionales y Tecnológicos de la leche.* Colombia.
- Zimmermann, & Ruíz. (2010). *Comportamiento y evaluación de las proteínas de la leche (caseína y del lactosuero) frente al tratamiento térmico y pH.* Lima.

ANEXOS

Anexo 1. Análisis de la leche

Determinación de pH



Determinación de Acidez



Densidad



Ensayo de Reductasa



Prueba del alcohol

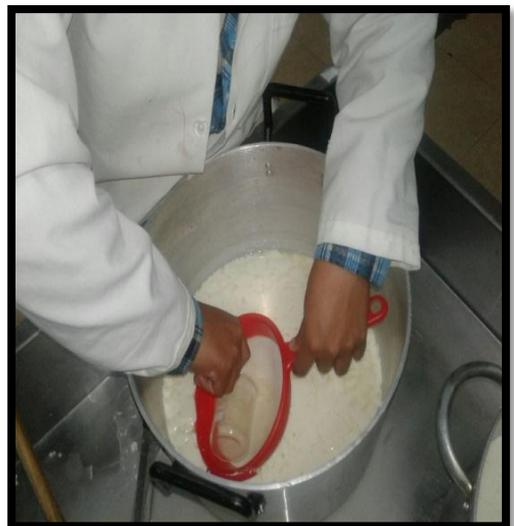


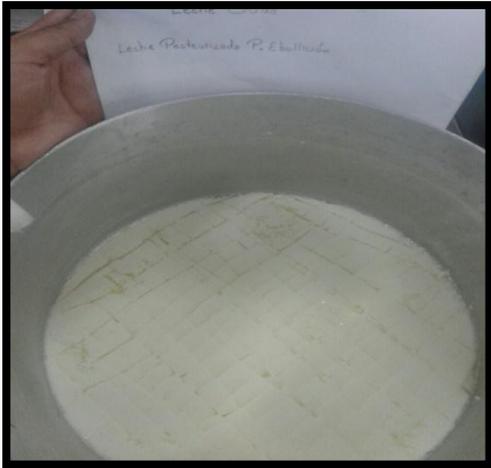
Determinación de Proteín





Anexo 2. Elaboración del queso fresco

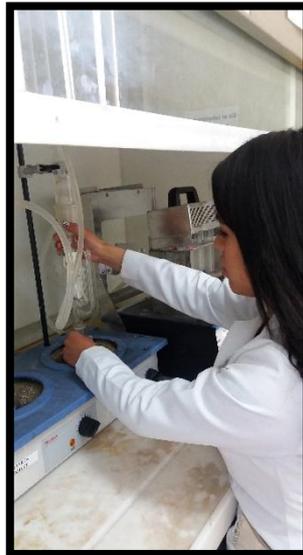
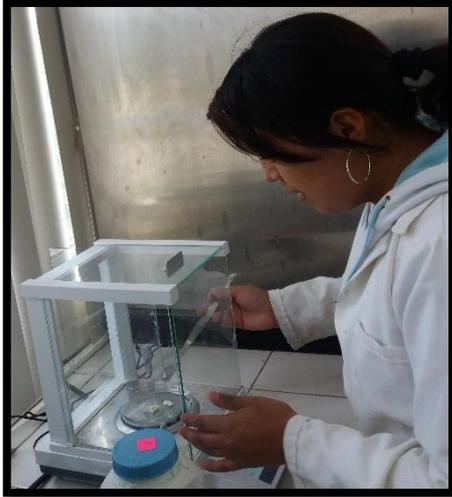






Anexo 4. Determinaciones analíticas del queso fresco

Grasa



Humedad y Ceniza





Cloruros





Riobamba, 16 de Agosto del 2016

CERTIFICADO

Certifico que las señoritas **RODAS HEREDIA CARLA VANESSA**, con cedula de identidad N° 0604338657, **AZAN PINTA ISABEL MARIANA**, con cedula de identidad N° 0605842392 egresadas de la Facultad de Ingeniería, carrera Ingeniería Agroindustrial, realizó distintos análisis en los Laboratorios de Control de Calidad y de Procesos correspondiente a su proyecto de tesis "EVALUACIÓN DEL GRADO DE DESNATURALIZACIÓN DE LA PROTEÍNA CALCIO Y FÓSFORO DE LA LECHE DURANTE EL CALENTAMIENTO UTILIZANDO UN NÚMERO DE COMBINACIONES DE TIEMPO / TEMPERATURA Y SU INFLUENCIA EN LA CALIDAD DE RENDIMIENTO DEL QUESO FRESCO ELABORADO" en los meses de Marzo del 2016 a Julio del 2016.

Es todo lo que puedo decir en honor a la verdad

Atentamente.

Ing. María Fernanda Rojas
**TÉCNICO (E) LABORATORIO
AGROINDUSTRIAL**



Campus Universitario **Msc. Edison Riera R.**
Km 1 ½ vía a Guano
Teléfonos: 032 364-315
RIOBAMBA –CHIMBORAZO –ECUADOR

Tecnología, Humanismo y Calidad