

UNIVERSIDAD TÉCNICA NACIONAL
SEDE ATENAS

ÁREA DE TECNOLOGÍA
INGENIERÍA EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

EFFECTO DE LA ADICIÓN DE LA ENZIMA TRANSGLUTAMINASA EN EL
RENDIMIENTO DEL QUESO FRESCO SEMIDURO

TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN PARA OPTAR POR EL GRADO DE
LICENCIATURA EN INGENIERÍA EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

RODRÍGUEZ BOLAÑOS YULIANA
VARGAS LÓPEZ DAYANA

ATENAS, COSTA RICA
2016

DECLARACIÓN JURADA

Yo, Yuliana María Rodríguez Bolaños portadora de la cédula de identidad número 206660615 y Dayana María Vargas López portadora de la cédula de identidad número 207050335 estudiantes de la Universidad Técnica Nacional, UTN en la carrera de Ingeniería en Tecnología de alimentos, conocedoras de las sanciones legales con que la Ley Penal de la República de Costa Rica castiga el falso testimonio y el delito de perjurio que pueda ocasionarse ante la Directora de Carrera y quienes constituyen el Tribunal Examinador de este trabajo de investigación, juramos solemnemente que este trabajo de investigación es una obra original respetando las leyes y que ha sido elaboradas siguiendo las disposiciones exigidas por la Universidad Técnica Nacional, UTN, así como con los derechos de autor.

En fe de lo anterior, firmamos en la ciudad de Atenas, a los dieciocho días del mes de agosto del dos mil dieciséis.

Yuliana María Rodríguez Bolaños
Cédula 206660615

Dayana María Vargas López
Cédula 207050335

HOJA DE APROBACIÓN

Este Trabajo Final de Graduación fue aprobado por el Tribunal Evaluador como requisito parcial para optar al grado de Licenciatura en Ingeniería en Tecnología de Alimentos

EAL II.

Eduardo Barrantes Guevara
Director Investigación Sede Atenas

A. Bárcenas

Ana María Bárcenas Parra
Directora de Carrera

[Signature]

Francia Osiris Madrid González
Tutora TFG

Samaria Vargas Rojas

Samaria Vargas Rojas
Lectora TFG

[Signature]

Marlón Gerardo Rodríguez Rodríguez
Gerente General Cooperativa de Servicios Múltiples
de Santa Rosa de Alfaro Ruiz, Coopebrisas R.L.

DEDICATORIA

A Dios, por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mi madre Leticia, por apoyarme en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor.

A mi padre Gilberto, por el ejemplo de perseverancia y constancia que lo caracterizan y que me ha infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante y por su amor.

A mi hermano Carlos por ser un ejemplo de perseverancia, a mi novio Anthony por ser mi amigo, por apoyarnos mutuamente en nuestra formación profesional.

Yuliana Rodríguez Bolaños

Principalmente a Dios porque ha estado conmigo en cada paso que doy, me ha guiado a lo largo de mi carrera y gracias a Él he llegado hasta aquí, a mis padres porque creyeron en mí y me sacaron adelante, dándome ejemplos dignos de superación y entrega, por el apoyo, la paciencia, la comprensión que han tenido durante todos estos años y porque gracias a Dios y a ustedes, hoy puedo ver alcanzada mi meta.

Dayana Vargas López

AGRADECIMIENTO

A Dios, por ser el pilar de nuestras vidas y el principal maestro durante este proceso de formación. A nuestras familias, por el apoyo, el tiempo, comprensión y recursos a lo largo de todo el proceso de estudio.

A Coopebrisas R.L., Marlon Rodríguez en calidad de Gerente General, al departamento de Producción, especialmente al área de proceso y laboratorio, por la dedicación y el esfuerzo, por creer en nuestro proyecto y trabajo, por abrirnos las puertas de su hermosa compañía.

Gracias, a cada uno de ustedes, los llevaremos en nuestros corazones por el trabajo compartido y por haber sido parte de nuestro proceso de formación como ingenieras; realmente nos inspiran a ser unas excelentes profesionales.

A nuestra tutora de proyecto Francia Madrid González, por la paciencia y por el empeño que demostró en nuestro proyecto, como motor para alcanzar esta meta. Gracias por creer en nuestras capacidades, pero sobre todo por el tiempo y el apoyo.

Finalmente, al equipo administrativo y docente de la Universidad Técnica Nacional, sede Atenas, aquellos que marcaron cada etapa de nuestro camino universitario, y que nos ayudaron en asesorías y dudas presentadas en la elaboración del proyecto por el apoyo y conocimiento transmitido a lo largo de nuestra carrera, gracias por estar siempre dispuestos a dar lo mejor por los estudiantes.

TABLA DE CONTENIDO

I.	INTRODUCCIÓN.....	12
1.1.	Objetivo General	14
1.2.	Objetivos Específicos	14
1.3.	Hipótesis.....	14
1.3.1.	Hipótesis análisis de rendimiento	15
1.3.2.	Hipótesis análisis proximal.....	16
1.3.3.	Hipótesis análisis de textura	17
1.3.4.	Hipótesis sobre cantidad de suero liberado en almacenamiento	18
II.	MARCO TEÓRICO	20
2.1.	El queso	25
2.2.	Enzimas en la elaboración de queso.....	28
2.2.1.	Enzimas coagulantes.....	28
2.2.2.	La transglutaminasa	29
2.3.	Aplicación en lácteos.....	31
III.	MARCO METODOLÓGICO.....	34
3.1.	Materiales y métodos	34
3.2.	Diseño experimental.....	38
3.3.	Análisis fisicoquímico de los quesos	38
3.4.	Análisis de datos	39
3.4.1.	Varianza explicada	39
3.4.2.	Análisis t de Student	40
IV.	ANÁLISIS DE RESULTADOS	43
4.1.	Análisis proximal de la leche inicial	43
4.2.	Análisis de rendimiento y relación con composición proximal.....	43
4.3.	Análisis de textura	50
4.4.	Análisis de suero liberado a los 15 días de vida útil	52
V.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	55
5.1.	Conclusiones.....	55

5.2. Recomendaciones.....	55
VI. REFERENCIAS	57
VII. GLOSARIO	60
VIII. APÉNDICES.....	61
Apéndice 1. Flujo de proceso T ₋₃₀	61
Apéndice 2. Flujo de proceso T ₀	68
Apéndice 3. Flujo de proceso del Queso patrón	74
IX. ANEXOS.....	81
Anexo 1.....	81
Anexo 2.....	85
Anexo 3.....	87
Anexo 4.....	97
Anexo 5.....	104
Anexo 6.....	107
Anexo 7.....	108

Lista de tablas

Tabla 1. Composición de la leche (%)	21
Tabla 2. Composición promedio de la leche de diversos mamíferos (%)	25
Tabla 3. Designación del queso según sus características de consistencia ..	27
Tabla 4. Contenido de grasa en el queso según el CODEX STAN 283-1978	27
Tabla 5. Datos para cálculo de g de proteína por L de leche	35
Tabla 6. Equipos de análisis utilizados Laboratorio Ciencias Básicas UTN ...	39
Tabla 7. Promedio del análisis proximal de la leche.....	43
Tabla 8. Varianza explicada del análisis proximal de la leche.....	43
Tabla 9. Rendimiento promedio de los tratamientos analizados en la elaboración de queso fresco semiduro.....	44
Tabla 10. Varianza explicada del rendimiento entre los tratamientos	44
Tabla 11. Resultados de comprobación de supuesto de normalidad de los datos mediante la prueba de Shapiro-Wilk.....	45
Tabla 12. Análisis de T de Student entre los tratamientos de adición de la enzima.....	45

Tabla 13. Resultado del análisis proximal en los diferentes tratamientos	46
Tabla 14. Cantidad de kg de queso obtenidos para los distintos tratamientos en 100L de leche	46
Tabla 15. Recuperación de kg de proteína, grasa, humedad en 100L de leche en el T ₋₃₀	47
Tabla 16. Recuperación de kg de proteína, grasa, humedad en 100L de leche en el T ₀	47
Tabla 17. Recuperación de kg de proteína, grasa, humedad en 100L de leche para el queso patrón.....	47
Tabla 18. Resultado de varianza explicada para el análisis proximal en los diferentes tratamientos	48
Tabla 19. Comparación de resultados de Shapiro-Wilk para análisis proximales	49
Tabla 20. Comparación de resultados de t de Student para los análisis proximales	49
Tabla 21. Resultados de análisis de textura.....	50
Tabla 22. Resultados de la varianza explicada para la textura	51
Tabla 23. Comprobación del supuesto normalidad para la textura mediante Shapiro-Wilk	51
Tabla 24. Comparación de los resultados del análisis de T de Student de la textura	52
Tabla 25. Suero liberado en una porción de queso fresco semiduro	52
Tabla 26. Comparación de los resultados de la varianza explicada del suero para cada tratamiento.....	53
Tabla 27. Comprobación del supuesto normalidad para los datos de suero liberado mediante prueba de Shapiro-Wilk.....	53
Tabla 28. Comparación de los resultados de la T de Student del suero según tratamiento	54

Lista de figuras

Figura 1. Equipo LactoStar para determinación de proteína y grasa en la leche	104
Figura 2. Agitación lenta de la cuajada con paleta mecánica de acero inoxidable	104
Figura 3. Desuerado a nivel de cuajada y formación manual de los bloques de queso.....	105
Figura 4. Prensado hidráulico.....	105
Figura 5. Refrigeración de los bloques de queso	106

Lista de gráficos

Gráfico 1. Cantidad de kg de proteína, grasa, humedad recuperados en 100L de los distintos tratamientos	48
---	----

RESUMEN EJECUTIVO

En el presente proyecto se realiza un estudio del efecto de la enzima transglutaminasa (TG) en dos tratamientos de adición durante el proceso de elaboración del queso fresco semiduro, a una dosis de 0,5 Unidades de TG/g de proteína, con el fin de observar el efecto en el rendimiento final del producto.

Las pruebas se realizan en la Cooperativa Coopebrisas R.L, ubicada en el cantón de Zarceró, la cual cuenta con diferentes departamentos y servicios. Uno de los departamentos es la Planta de lácteos, donde se elaboran diversos productos de consumo directo como: yogurt, natilla, quesos, etc.

La enzima TG se emplea como coadyuvante de proceso en la industria alimentaria, con el fin de mejorar las propiedades fisicoquímicas en productos como yogurt y queso. Esta enzima permite mejorar la textura y el rendimiento final, actúa sobre la proteína de la leche mediante la realización de enlaces covalentes de las caseínas.

La adición de la enzima se realiza en dos tratamientos de aplicación denominados, tratamiento menos 30 (T₋₃₀) en donde se adiciona la TG 30 minutos antes del coagulante y tratamiento cero (T₀) que consiste en la aplicación de la TG junto con el coagulante.

Se elaboran seis lotes para cada uno de los tratamientos, los cuales se desarrollan en dos semanas durante seis días, de lunes a sábado. Para la tercera semana se realizan seis lotes para el queso patrón o de referencia.

La cantidad de L de leche utilizada para la realización de las pruebas alcanza los 72,000L (6000L por batch). Los restantes ingredientes utilizados (TG, calcio granulado, coagulante, sal) son pesados según formulación para la elaboración del queso fresco semiduro.

El día posterior a la producción de cada lote, cumpliendo el tiempo establecido de refrigeración de 24 horas, se realiza el pesaje para determinar el rendimiento obtenido. El cálculo anterior se obtiene a partir de la división de la cantidad de kilogramos (kg) de queso obtenidos entre la cantidad de litros (L) de leche utilizados. El resultado es interpretado como la cantidad de L de leche utilizados para la elaboración de un kg de queso.

Para cada uno de los lotes se almacenan tres muestras de 500g empacados al vacío. Para cada una de las muestras se realizan los análisis proximales (proteína, grasa y humedad), pH del suero, textura y cantidad de suero liberado.

Los análisis antes mencionados se realizan en el laboratorio de ciencias básicas de la Universidad Técnica Nacional, Sede Atenas. Las pruebas son realizadas a los 15 días de vida útil de los productos, tomando en cuenta la declaración actual del queso patrón comercializado con un mes, desde su fecha de fabricación.

Para la interpretación de los resultados de las variables rendimiento, grasa, humedad y cantidad de suero, se realiza el análisis de varianza explicada, con el fin de observar las variables de los resultados y con ello determinar si existe relación entre el aumento o la mejora en el rendimiento por el uso de la enzima TG.

Cabe mencionar que, para el análisis estadístico de los datos, el supuesto de normalidad, se valida mediante la prueba de Shapiro-Wilk. Este supuesto, se comprueba a través de la prueba T de Student, en donde se desea comparar los diferentes tratamientos mediante el contraste de hipótesis.

Los resultados demuestran que el uso de la enzima TG, indiferentemente del momento de adición, mejora de manera significativa el rendimiento de los tratamientos evaluados, en comparación con el queso patrón. Con la adición de la enzima, 30 minutos antes de la coagulación se obtuvo un 14,2% más queso, respecto a la cantidad obtenida en la tanda patrón y en el tratamiento con la adición de la TG. Con el cuajo se obtiene un 12,7 % adicional.

Junto al aumento de rendimiento, también se observa un aumento en la cantidad de grasa recuperada en el queso. Se cumple de esta manera la funcionalidad de la enzima, la cual, mediante enlaces covalentes, permite retener una mayor cantidad de grasa, humedad y proteínas dentro de la matriz del queso.

En cuanto a la textura no se muestra diferencia significativa entre el Queso patrón y el T-30. Finalmente, la cantidad de suero liberado se disminuye significativamente en el T-30. Este efecto es debido a una mejor estabilización de la humedad por la polimerización de las proteínas que forman enlaces covalentes (Kieliszek, 2014). Esta estabilización es de gran importancia, ya que, la retención de la humedad en el queso permite, no solo obtener un mejor

rendimiento, sino también mantener el vacío en el empaque de los quesos, lo que ayuda a mantener su vida útil.

I. INTRODUCCIÓN

Los quesos son derivados lácteos que se obtienen mediante la coagulación de la proteína de la leche (caseína), que se separa del suero. En el mundo, se producen centenares de variedades de queso, muchos de los cuales son característicos de una región específica y pueden ser duros, semiduros, blandos madurados o no madurados. Además, las distintas características de los quesos derivan de las diferencias en la composición de la leche y los tipos de esta, los procedimientos de elaboración aplicados y los microorganismos utilizados (FAO, 2016).

La producción industrial de queso está aumentando rápidamente y por lo tanto la cantidad de suero también; sin embargo, como subproducto no es eficientemente utilizado y junto con él se pierde una cantidad considerable de proteínas y otros nutrientes. Estos nutrientes se pueden retener mejor en la matriz del queso por medio de la adición de algunas enzimas. Se mejora, de esta forma, el rendimiento de los quesos y a la vez se facilita el tratamiento posterior del suero. La adición de enzimas es una alternativa que permite aprovechar mejor los nutrientes que se encuentran naturalmente en la leche, por ser coadyuvantes de proceso; permiten mantener la etiqueta limpia, lo que va acorde con las tendencias globales de productos elaborados con la menor cantidad de ingredientes posibles. Otros mecanismos para mejorar el rendimiento del queso se basan en la adición de almidones y gomas que retienen mayor humedad en el queso; estos mecanismos tienen la limitante de que alteran la textura normal del queso (Davalos, 2004) y se deben declarar ingredientes que no son propios del queso artesanal.

Dentro de las alternativas de enzimas existen en el mercado, las coagulantes de alta especificidad que permiten tener mejoras en rendimientos al cortar de forma selectiva la caseína, lo que permite coagular sin producir pérdidas por finos producidos por la acción inespecífica de otros cuajos (Alves et al, 2013).

Para los coagulantes de alta especificidad, existen gran cantidad de estudios publicados y es hoy la tecnología de uso regular en la producción de quesos. Otro tipo de enzima que puede tener impacto como coadyuvante de proceso para

mejorar el rendimiento de los quesos es la transglutaminasa. La TG fortalece la red proteica mediante enlaces covalentes, permite una mejor retención de proteínas y grasa, que de otra manera se perderían en el suero (Altonen et al, 2014).

Sobre el uso de TG, en la producción de queso, existen muy pocos estudios formales a nivel industrial, la mayor parte hechos a escala de laboratorio o piloto. En el presente proyecto se evalúa el efecto de la adición de la TG a una misma dosis utilizada como óptima en otras investigaciones, en dos tratamientos de adición del proceso de elaboración del queso fresco semiduro.

A diferencia de la mayoría de las referencias actuales, el presente proyecto es realizado a escala industrial y utiliza tinajas de 6,000L de leche para cada prueba, lo que permite poder determinar con mayor robustez las diferencias en rendimiento y entender el impacto que la incorporación de la TG tendría en un proceso industrial estándar de queso fresco semiduro.

La caracterización físico - química del producto obtenido, permite explicar las razones del aumento en rendimiento y las características observadas en el queso elaborado con los diferentes procesos. Dadas las limitaciones de tiempo y recursos no se incluye en el presente estudio la caracterización microbiológica y el seguimiento del impacto en la vida útil de los tratamientos evaluados. Estos aspectos deberán ser analizados en una segunda etapa de investigación.

La investigación se realiza en la Cooperativa de Servicios Múltiples de Santa Rosa de Zarcero, en la provincia de Alajuela, COOPEBRISAS R.L., fundada en 1973, que cuenta con la participación de noventa asociados. En la actualidad COOPEBRISAS R.L., cuenta con cinco departamentos: Supermercado (1983), Almacén de Suministros Agropecuarios y materiales de construcción (1986), Departamento de Crédito (1987), Planta de Lácteos (1993) y Centro de Producción Orgánico e invernaderos (1999). Las tres comunidades de mayor influencia de la cooperativa son Santa Rosa, La Legua y Los Ángeles. COOPEBRISAS R.L. ha extendido sus servicios a todo el cantón de Zarcero y a nivel nacional. Su crecimiento ha sido vertiginoso y en forma constante se han abierto nuevas secciones, que permiten ofrecer a 1188 asociados (as) y a la comunidad en general

una serie de alternativas, que indudablemente han llevado a su mejoramiento socio económico.

1.1. Objetivo General

Comparar el efecto de la adición de la enzima transglutaminasa en dos tratamientos del proceso de elaboración del queso fresco semiduro a una dosis de 0,5 U TG/g de proteína por litro de leche.

1.2. Objetivos Específicos

- a) Comparar el efecto sobre el rendimiento del queso fresco semiduro por la adición de la enzima transglutaminasa a una dosis de 0,5U TG/g de proteína en la leche adicionada al mismo tiempo que el coagulante y 30 minutos antes de la adición del cuajo.
- b) Determinar el análisis proximal del queso fresco semiduro elaborado por la adición de la enzima transglutaminasa a una dosis de 0,5U TG/g de proteína en la leche adicionada, al mismo tiempo que el coagulante y 30 minutos antes de la adición del cuajo.
- c) Determinar el efecto en la textura del queso fresco semiduro elaborado por la adición de la enzima transglutaminasa a una dosis de 0,5U TG/g de proteína en la leche adicionada al mismo tiempo que el coagulante o 30 minutos antes de la adición del cuajo.
- d) Comparar el nivel de desuerado del queso fresco semiduro empacado al vacío 15 días después de su elaboración por la adición de la enzima transglutaminasa a una dosis de 0,5 U TG/g de proteína en la leche en dos etapas diferentes del proceso.

1.3. Hipótesis

Dado el respaldo documental se pretende utilizar la enzima TG, para comprobar si existe un aumento en el rendimiento del queso fresco semiduro, mediante la incorporación de la enzima a una dosis de 0,5 U TG/g. Se evalúan dos tratamientos de adición: el primero de ellos junto con el cuajo y el segundo 30 minutos antes de incorporar el coagulante. Se plantean las siguientes hipótesis a un nivel de confianza del 95% para cada una de las variables por analizar.

1.3.1. Hipótesis análisis de rendimiento

De acuerdo con la variable rendimiento para los tratamientos evaluados, se pretende determinar si las medias de las muestras son muy diferentes, por lo tanto, se plantean las siguientes hipótesis.

Hipótesis nulas:

- a) No existe diferencia en el rendimiento obtenido en la producción de queso fresco semiduro del queso patrón vs. el obtenido como resultado de la aplicación de 0,5U TG/g de proteína agregada 30 minutos antes de la adición del cuajo.
- b) No existe diferencia en el rendimiento obtenido en la producción de queso fresco semiduro del queso patrón vs. el obtenido como resultado de la aplicación de 0,5U TG/g de proteína en el mismo momento que se adiciona el coagulante.
- c) No existe diferencia en el rendimiento obtenido en la producción de queso fresco con la aplicación de 0,5U TG/g de proteína en el mismo momento que se adiciona el coagulante vs. el obtenido como resultado de la aplicación de 0,5U TG/g de proteína 30 minutos antes de la adición del cuajo.

Hipótesis alternativa:

- a) El rendimiento obtenido en la producción de queso fresco semiduro en la aplicación de 0,5U TG/g de proteína agregada 30 minutos antes de la adición del cuajo es mayor que el rendimiento obtenido del queso patrón.
- b) El rendimiento obtenido en la producción de queso fresco semiduro en la aplicación de 0,5U TG/g de proteína, agregada en el mismo momento que se adiciona el coagulante, es mayor que el rendimiento obtenido del queso patrón.
- c) El rendimiento obtenido en la producción de queso fresco semiduro en la aplicación de 0,5U TG/g de proteína, agregada 30 minutos antes de la adición del cuajo, es mayor que el rendimiento en la aplicación de 0,5U TG/g de proteína agregada en el mismo momento que se adiciona el coagulante.

1.3.2. Hipótesis análisis proximal

Para las variables proteína, grasa y humedad, se comparan los diferentes tratamientos mediante el contraste de hipótesis, como se muestran a continuación.

Hipótesis nulas:

- a) No existe diferencia en las variables del análisis proximal entre queso patrón vs. la aplicación de 0,5U TG/g de proteína agregada 30 minutos antes de la adición del cuajo.
- b) No existe diferencia en las variables del análisis proximal entre queso patrón vs. la aplicación de 0,5U TG/g de proteína, en el mismo momento que se adiciona el coagulante.
- c) No existe diferencia en las variables del análisis proximal entre la aplicación de 0,5U TG/g de proteína, en el mismo momento que se adiciona el coagulante vs. la aplicación de 0,5U TG/g de proteína 30 minutos antes de la adición del cuajo.

Hipótesis alternativa:

Las siguientes hipótesis alternativas se plantean para las variables grasa y humedad:

- a) El porcentaje de grasa y humedad en la aplicación de 0,5U TG/g agregada 30 minutos antes de la adición del cuajo es diferente que los obtenidos del queso patrón.
- b) El porcentaje de grasa y humedad en la aplicación de 0,5U TG/g agregada en el mismo momento que se adiciona el coagulante es diferente que los obtenidos del queso patrón.
- c) El porcentaje de grasa y humedad en la aplicación de 0,5U TG/g de proteína agregada 30 minutos antes de la adición del cuajo es diferente que el obtenido en la aplicación de 0,5U TG/g de proteína agregada, en el mismo momento que se adiciona el coagulante.

Las siguientes hipótesis alternativas se plantean para la variable de proteína:

- a) El porcentaje de proteína en la aplicación de 0,5U TG/g, agregada 30 minutos antes de la adición del cuajo, es diferente que el obtenido del queso patrón.
- b) El porcentaje de proteína en la aplicación de 0,5U TG/g, agregada en el mismo momento que se adiciona el coagulante, es diferente que los obtenidos del queso patrón.
- c) El porcentaje de proteína en la aplicación de 0,5U TG/g, agregada 30 minutos antes de la adición del cuajo, es diferente que los obtenidos en la aplicación de 0,5U TG/g de proteína agregada en el mismo momento que se adiciona el coagulante.

1.3.3. Hipótesis análisis de textura

Para determinar si existe diferencia significativa entre las medias para la variable textura en el queso elaborado con TG, se establecen las siguientes hipótesis.

Hipótesis Nulas:

- a) No existe diferencia en la textura del queso fresco semiduro entre el queso patrón vs. el obtenido como resultado de la aplicación de 0,5U TG/g de proteína, agregada 30 minutos antes de la adición del cuajo.
- b) No existe diferencia en la textura del queso fresco semiduro entre el Queso patrón vs. el obtenido como resultado de la aplicación de 0,5U TG/g de proteína, en el mismo momento que se adiciona el coagulante.
- c) No existe diferencia en la textura del queso fresco con la aplicación de 0,5U TG/g de proteína en el mismo momento que se adiciona el coagulante, vs. el obtenido como resultado de la aplicación de 0,5U TG/g de proteína 30 minutos antes de la adición del cuajo.

Hipótesis alternativa:

- a) La textura en la producción de queso fresco semiduro como resultado de la aplicación de 0,5U TG/g de proteína, agregada 30 minutos antes de la adición del cuajo, es distinta que la textura del queso patrón.

- b) La textura obtenida en la producción de queso fresco semiduro en la aplicación de 0,5U TG/g de proteína, agregada en el mismo momento que se adiciona el coagulante, es distinta que la textura del queso patrón.
- c) La textura obtenida en la producción de queso fresco semiduro con la aplicación de 0,5U TG/g de proteína, agregada en el mismo momento que se adiciona el coagulante, es distinta que la textura en la aplicación de 0,5U TG/g de proteína agregada 30 minutos antes de la adición del cuajo.

1.3.4. Hipótesis sobre cantidad de suero liberado en almacenamiento

De acuerdo con la cantidad de suero liberado, se plantean las siguientes hipótesis, con el fin de determinar la inferencia entre las medias evaluadas.

Hipótesis nulas:

- a) No existe diferencia en la cantidad de suero liberado en la producción del queso fresco semiduro entre el queso patrón vs. el obtenido como resultado de la aplicación de 0,5U TG/g de proteína agregada 30 minutos antes de la adición del cuajo.
- b) No existe diferencia en la cantidad de suero liberado en la producción de queso fresco semiduro, entre el queso patrón vs. el obtenido como resultado de la aplicación de 0,5U TG/g de proteína, en el mismo momento que se adiciona el coagulante.
- c) No existe diferencia en la cantidad de suero liberado en la producción de queso fresco con la aplicación de 0,5U TG/g de proteína, 30 minutos antes de la adición del cuajo vs. el obtenido como resultado de la aplicación de 0,5U TG/g de proteína en el mismo momento que se adiciona el coagulante.

Hipótesis alternativa:

- a) La cantidad de suero liberado en la producción de queso fresco semiduro como resultado de la aplicación de 0,5U TG/g de proteína, agregada 30 minutos antes de la adición del cuajo, es diferente que la cantidad liberada del queso patrón.

- b) La cantidad de suero liberado en la producción de queso fresco semiduro en la aplicación de 0,5U TG/g de proteína agregada en el mismo momento que se adiciona el coagulante es diferente que la cantidad de suero liberada del queso patrón.
- c) La cantidad de suero liberado en la producción de queso fresco semiduro con la aplicación de 0,5U TG/g de proteína agregada 30 minutos antes de la adición del cuajo es diferente que cantidad liberada en la aplicación de 0,5U TG/g de proteína agregada en el mismo momento que se adiciona el coagulante.

II. MARCO TEÓRICO

La elaboración de queso corresponde a un sector importante de la agroindustria en Costa Rica; debido a esto, el aumento de su rendimiento representa una mejora, no solo económica sino de productividad, al aprovechar al máximo los nutrientes presentes en la leche y que se recuperan en el queso.

En Costa Rica, el consumo nacional per cápita de lácteos fue de 202 kg para el 2013, según los datos de encuesta de hogares INEC (datos de población estimados 2012 y 2013). El sector artesanal procesa el 40% de la producción nacional, de este 40% un 32,5% corresponde a la producción de quesos (Cortés, 2014).

Por tal motivo, Maza y Legorreta, (2011), definen la leche como *“la secreción natural de las glándulas mamarias de los mamíferos destinada como alimento para sus crías. Entre las especies domésticas existen algunas especializadas en la producción de leche para consumo humano”* (pág. 10).

Además, existen otras definiciones que se han propuesto a lo largo del tiempo desde distintos enfoques.

Según Magariños (2000), desde un punto de vista legal, la leche de vaca puede definirse como *“el producto fresco del ordeño completo de una o varias vacas sanas, bien alimentadas y en reposo, exento de calostro, que cumple con las características físicas, microbiológicas e higiénicas establecidas”*. Estas características pueden ser: la densidad, el índice crioscópico, el índice de refracción, la acidez titulable, la materia grasa, los sólidos no grasos, el número de leucocitos, los microorganismos patógenos, la presencia de sustancias inhibitoras, etc. (pág.5).

La leche es un alimento de gran importancia para el ser humano, ya que contiene gran cantidad de vitaminas y minerales; es por ello que su consumo es esencial para el buen funcionamiento del organismo.

De todos los alimentos que consume el hombre, solamente la leche tiene como único objetivo el de servir de alimento como tal. Consecuentemente, se espera que su valor nutritivo sea muy alto. La leche es un alimento casi completo, ya que solamente es pobre en hierro, vitamina D y vitamina C. Su riqueza en energía,

proteínas de fácil asimilación, grasa, calcio, fósforo y varias vitaminas hacen de la leche el alimento básico del lactante y, en general, del niño en sus primeros cuatro años de vida, aunque también es muy importante en otras etapas. Su valor nutricional, así como el económico están directamente asociados con su contenido de sólidos, ya que, como se puede observar en la Tabla 1, está compuesta por grasa, proteína, lactosa, minerales (sólidos totales) y agua (Maza & Legorreta, 2011, pág. 15).

Tabla 1. Composición de la leche (%)

Componente	Valor medio (%)*
Agua	86.9
Proteína	3.5
Grasa	4.0
Lactosa	4.9
Cenizas	0.7
Sólidos totales	13.1

Fuente: *Magariños (2000)

Maza y Legorreta (2011), mencionan los siguientes componentes químicos de la leche:

- a) Agua: El contenido de agua de la leche de las diferentes especies de mamíferos puede variar del 36 al 90.5%; sin embargo, normalmente representa el 87% del contenido total de la leche. Dicha variación se debe a la alteración de cualquiera de sus otros componentes: proteínas, lactosa y, sobre todo, grasa. Por su importante contenido de agua, la leche permite que la distribución de sus componentes sea relativamente uniforme y de esta forma cualquier cantidad de leche, por pequeña que sea, contiene casi todos los nutrimentos disponibles (pág. 27).
- b) Grasa: los lípidos figuran entre los constituyentes más importantes de la leche y sus derivados, ya que confieren características únicas de sabor, contenido nutrimental y propiedades físicas. La grasa de la leche es una buena fuente de energía y un excelente medio de transporte de las

vitaminas liposolubles A, D, E, y K. El caroteno, precursor de la vitamina A, da a la leche el color “crema”.

La fracción grasa de la leche se presenta en forma de glóbulos microscópicos de unas 4.4 μ diámetro en forma de emulsión. Tanto el contenido total de lípidos como el de ácidos grasos puede variar considerablemente como respuesta a cambios en la dieta, raza del animal y el estado de lactancia entre un 3 y un 6%, aunque típicamente el contenido de grasa puede estar entre 3.5% y 4.7%. El factor que más influye en el contenido de lípidos en la leche es, en definitiva, la especie animal (pág. 27).

- c) Proteínas: la función primaria de las proteínas lácteas es el aporte suficiente de aminoácidos indispensables y de nitrógeno orgánico para la síntesis y reparación de tejidos y otras proteínas de importancia biológica. La leche de vaca es considerada una excelente fuente de proteínas de alto valor biológico, ya que contiene los diez aminoácidos indispensables.

La fracción de proteínas de la leche corresponde regularmente al 3-4% y se distinguen dos categorías principales que se definen por su composición química y propiedades físicas: la caseína, que constituye el 70% de las proteínas de la leche, contiene fósforo y coagula o se precipita a un pH de 4.6; y las seroproteínas (proteínas del suero de la leche), que representan el 20% restante, no contienen fósforo sino sulfuro y permanecen en solución en la leche a un pH de 4.6.

Las caseínas están constituidas por las fracciones α , β y κ caseínas, que se distinguen entre sí por su composición de aminoácidos y propiedades funcionales. Las caseínas se encuentran suspendidas en la leche a través de micelas, formadas por complejos macromoleculares de fosfoproteínas y glucoproteínas en suspensión coloidal. El papel nutrimental de la caseína es el suministro de aminoácidos, calcio y fósforo inorgánico.

Las proteínas del suero de leche, también conocidas como seroproteínas, se consideran proteínas solubles y se clasifican principalmente en albúminas y globulinas, entre las que se incluyen α -lactoalbúminas, β -lactoglobulinas, inmunoglobulinas, proteasas-peptonas y otros compuestos nitrogenados minoritarios no específicos como lactoferrina y lisozima. Las seroproteínas son

consideradas proteínas de alto valor biológico que cuentan con un amplio perfil de aminoácidos que incluye aminoácidos azufrados como la cisteína y la metionina, aminoácidos de cadena ramificada y lisina y triptófano, con lo que se compensan las deficiencias de la caseína.

La relación seroproteínas/caseína es de aproximadamente 0.2 en la leche de vaca, mientras que en la leche humana es cercana a 2.0, lo cual debe tomarse en cuenta cuando se intenta imitar con la leche de vaca a la leche materna caseína (págs. 28-29).

- d) Lactosa: es el principal hidrato de carbono de la leche y la contiene en un 4.5% aproximadamente. Es un 85% menos dulce que la sacarosa o azúcar común y contribuye, junto con las sales, en el sabor global de la leche, siendo las cantidades de lactosa y sales inversamente proporcionales. La lactosa es fácilmente transformada en ácido láctico por la acción de bacterias.

La cantidad de leche que se sintetiza en los mamíferos depende de la lactosa producida. Para el ser humano, la lactosa constituye la única fuente de galactosa, un importante constituyente de los tejidos nerviosos (págs. 29).

- e) Minerales: la leche aporta elementos minerales indispensables para el organismo humano y es la fuente más importante de calcio biodisponible de la dieta. Su buena absorción se da gracias a la presencia de lactosa y de vitamina D y a su unión con los fosfopéptidos derivados de la hidrólisis de la caseína; además, la adecuada relación calcio: fósforo (mayor a la unidad) favorece su absorción en el intestino humano. Por ello se considera que la leche de vaca es la mejor fuente de calcio, tanto para el crecimiento de los huesos en jóvenes como para el mantenimiento de la integridad ósea en los adultos.

La leche de vaca contiene alrededor de 7 gramos de minerales por litro en promedio. La distribución y concentración de estos elementos en la mezcla de fases que la constituyen, varía según el mineral.

En la fase acuosa continua se encuentran disueltas, conjuntamente con lactosa y compuestos nitrogenados solubles, sales minerales u orgánicas como citratos, fosfatos y cloruros de calcio, potasio, magnesio, sodio y trazas de hierro.

En la fase coloidal están en suspensión micelas de caseína insoluble que contienen aproximadamente un 20% del calcio y fósforo unidos a su estructura y sales compuestas de fosfato de calcio coloidal, citratos y magnesio en proporciones fijas, que contribuyen a estabilizar las micelas. Los glóbulos de grasa emulsionados contienen un 1% de fosfolípidos y en sus membranas se fijan hierro, cobre, zinc y manganeso.

Más de la mitad del hierro y alrededor del 80% del zinc y cobre se fijan a micelas de caseína y entre el 15 y 30% del hierro, zinc y cobre se unen a las proteínas solubles (págs. 29-30).

La leche contiene una gran cantidad de vitaminas en diferente proporción.

f) Vitaminas liposolubles: tanto la leche como los productos lácteos, son considerados una importante fuente alimentaria de vitamina A; dicha vitamina interviene en funciones relacionadas con la visión, expresión génica, desarrollo embrionario, crecimiento, reproducción e inmunocompetencia. Tanto la vitamina A como sus precursores llamados carotenoides -principalmente b-caroteno- están presentes en distintas cantidades en la fracción grasa de la leche.

La vitamina D interviene en la absorción del calcio y fósforo en el intestino y resulta indispensable para el buen mantenimiento del esqueleto a lo largo de la vida. Se encuentra en muy bajas concentraciones en el caso de leche y derivados a los que no se les ha adicionado esta vitamina.

La vitamina E también llamada tocoferol es considerada un antioxidante que protege a las membranas de las células del daño por radicales libres. Además, participa en la respuesta inmunitaria. Incluso algunos estudios la consideran como un factor de protección de algunos tipos de cáncer y enfermedades cardiovasculares. Esta vitamina está presente en la leche en bajas concentraciones al igual que la vitamina K.

Vitaminas hidrosolubles: tanto la leche como sus derivados contienen la gran mayoría de las vitaminas solubles en distintas cantidades, aunque destacan el contenido de vitamina B2 (riboflavina) y niacina; la leche aporta en menor cantidad vitamina B1 (tiamina), vitamina B6 (piridoxina) y ácido fólico (págs. 30-31).

Los componentes de la leche, mencionados anteriormente, varían de una especie a otra, como lo muestra el siguiente cuadro de composición de la leche de diferentes mamíferos:

Tabla 2. Composición promedio de la leche de diversos mamíferos (%)

Componente	Humana	Vaca	Cabra	Oveja	Búfala
Agua	87.43	87.20	87.0	80.7	82.0
Grasa	3.75	3.70	4.25	7.0	7.98
Proteína	1.63	3.50	3.52	5.23	4.0
Lactosa	6.98	4.90	4.27	4.81	5.18
Minerales	0.21	0.70	0.86	0.90	0.78

Fuente: FAO, (1990). Composición promedio de la leche de diversos mamíferos (%). Estudio técnico de la denominación de origen del queso Turrialba.

2.1. El queso

Heredia (2006), define el queso como *“el producto obtenido por coagulación de la leche pasteurizada, íntegra o parcialmente descremada, constituido esencialmente por caseína de la leche en forma de gel más o menos deshidratado, que retiene un porcentaje de la materia de grasa, según el caso, un poco de lactosa en forma de ácido láctico y una fracción variable de sustancias minerales”* (pág. 3).

De acuerdo con lo anterior, el queso se prepara a partir de líquidos lácteos por procesos que incluyen tratamiento con un agente coagulante o precipitante. Normalmente la cuajada se separa del suero líquido, que contiene proteínas solubles no afectadas por la coagulación; tales proteínas, no están incorporadas en el coágulo.

Como lo menciona Ramírez & Vélez (2012), *“mediante este proceso se logra preservar el valor nutritivo de la leche, incluidas las grasas, proteínas y otros constituyentes menores, generando un sabor especial y una consistencia sólida o semisólida en el producto obtenido”* (pág. 132).

El queso es producido en todo el mundo con una gran diversidad de sabores, aromas, texturas y formas* es por esto que a través del tiempo se ha buscado su innovación, para mejorar los procesos y con ello sus características organolépticas.

En tiempos remotos, la leche ordeñada era almacenada en pequeñas mochilas de piel de animal, que permanecían bajo los rayos solares durante largo tiempo, generalmente colgadas de ramas de un árbol. Entonces, por efecto del calor, la leche se transformaba primero en cuajada o pasta, algún "curioso" la probó y así con la producción de la pasta, nace la industria quesera (Luluaga & Nuñez, 2010, pág. 51).

De acuerdo con González (2012), para la producción del queso existen factores interdependientes que participan en el resultado y la caracterización (págs.4):

- a) Factores microbianos (composición de la flora microbiana presente en la leche cruda o la añadida).
- b) Factores bioquímicos (concentración y propiedades de las enzimas presentes).
- c) Factores físico-químicos (temperatura, pH, presión atmosférica).
- d) Factores químicos (proporción de calcio en la cuajada, agua, sales minerales, etc.).
- e) Factores mecánicos (corte, removido y presión mecánica).

Es importante considerar los factores indicados anteriormente en la elaboración del queso, para mejorar las características del producto final y con esto lograr la optimización de los resultados.

De la misma forma, según Heredia (2006), el queso puede clasificarse de acuerdo con los siguientes criterios: contenido de humedad, se clasifican en quesos duros, semiduros y blandos, de acuerdo con el método de coagulación de la caseína quesos (enzimáticos), queso de coagulación láctica (ácido láctico), queso de coagulación de ambos métodos y conforme al microorganismo utilizado en la maduración y a la textura del queso se clasifican en quesos de ojos redondeados, granulares y quesos de textura cerrada (pág. 5).

Además, existen normas que determinan la clasificación de los quesos de acuerdo con sus componentes, para proteger la salud de los consumidores y asegurar la aplicación de prácticas comerciales justas.

Según la Norma General del CODEX STAN 283-1978 para el queso, los quesos se clasifican en: madurados, no madurados, quesos frescos, fundido o procesado y fundido o procesado para untar. De acuerdo a su consistencia se pueden clasificar según se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3. Designación del queso según sus características de consistencia

Según su consistencia: Término 3	
HSMG %	Designación
< a 51	Extra duro
49 a menos de 56	Duro
54 a menos de 69	Semiduro
> a 67	Blando

Fuente: CODEX STAN 283-1978.

De igual forma, el contenido de grasa, el queso se puede declarar de acuerdo con las siguientes expresiones, como se muestran en la Tabla 4:

Tabla 4. Contenido de grasa en el queso según el CODEX STAN 283-1978

Contenido de grasa en el queso	
Extragraso	Si el contenido de GES es superior o igual al 60 %.
Graso	Si el contenido de GES es superior o igual al 45 % e inferior al 60 %).
Semigraso	Si el contenido de GES es superior o igual al 25 % e inferior al 45 %).
Semidesnatado (Semidescremado)	Si el contenido de GES es superior o igual al 10 % e inferior al 25 %).
Desnatado (descremado)	Si el contenido de GES es inferior al 10 %.

Fuente: CODEX STAN 283-1978.

2.2. Enzimas en la elaboración de queso

Las enzimas son biomoléculas de naturaleza proteica que aceleran la velocidad de reacción hasta alcanzar un equilibrio. Constituyen el tipo de proteínas más numeroso y especializado y, actúan como catalizadores (sustancias que aumentan la velocidad o proporción de las reacciones químicas sin que ellas cambien en el proceso, ni el enzima ni la reacción) de reacciones químicas específicas en los seres vivos o sistemas biológicos. Muchas de las enzimas no trabajan solas, se organizan en secuencias, también llamadas rutas metabólicas, y muchas de ellas tienen la capacidad de regular su actividad enzimática (Franklin, 2011, pág. 41)

2.2.1. Enzimas coagulantes

El coagulante es la enzima más importante por tener en cuenta que en el proceso de elaboración del queso, pues permite la separación de la cuajada del suero. El proceso de coagulación, se puede dividir en tres fases esenciales, (Heredia, 2006, pág. 10).

- a) La formación del gel de caseína. Es el cuajado o coagulación de la leche.
- b) La deshidratación parcial de este gel por sinéresis, es decir, por contracción de las micelas que la forman. Es el desuerado de la cuajada.
- c) La maduración enzimática del gel deshidratado. Es el afinado o maduración de la cuajada, del que es responsable, la proliferación de determinados microorganismos.

En los quesos elaborados mediante coagulación enzimática o mixta, las enzimas coagulantes constituyen un elemento esencial. Tradicionalmente se utiliza la quimosina o renina, extraída del estómago de los corderos lactantes. Pero debido al aumento en la demanda de cuajos se han desarrollado técnicas para la utilización de enzimas provenientes de microorganismos y vegetales (Poncelet, s.f.).

No obstante, es importante resaltar lo que otros autores indican de acuerdo con la etapa de la coagulación:

La coagulación de la caseína es el paso indispensable en la elaboración de quesos y es provocada mediante la acción combinada de enzimas proteolíticas (cuajos de distintos tipos) y calcio. El proceso de formación del coágulo incluye dos

etapas. En la primera, se desarrolla un proceso enzimático modulado por la quimosina, la cual rompe los enlaces entre los aminoácidos fenilalanina y metionina presentes en la k-caseína, liberándose el glicomacropéptido en la solución. En la segunda etapa, los agregados de para-k-caseína producen el coágulo. Hasta la etapa de coagulación, los procedimientos básicos en la elaboración de los diferentes tipos de quesos son muy similares; sin embargo, las etapas siguientes varían con el tipo de queso por producir (Ramírez & Vélez, 2012, pág. 133).

Además, la enzima coagulante puede ser renina, pepsina o quimosina; actúa sobre la caseína de la leche que es soluble y la transforma, en presencia de sales de calcio, en paracaseína insoluble que precipita formando el coágulo. Cuando esto ocurre se da el desprendimiento de un líquido verdoso que puede contener albúmina (otra proteína de la leche), y algunas partículas sólidas, a este líquido se le denomina suero. La actividad de estas enzimas se ve afectada por la temperatura del medio en el que se encuentran presentes. Las bajas temperaturas inactivan al cuajo y las superiores a 45 °C lo destruyen. La temperatura ideal para la coagulación de la leche es entre 28 y 37 °C.

La cantidad de cuajo que se utiliza para elaborar los quesos es generalmente pequeña. Este debe ser siempre diluido en agua filtrada antes de ser agregado a la leche que está a una temperatura entre los 30 y 40 °C. El tiempo necesario para que la cuajada se forme y posea las características adecuadas para su corte, depende de factores tales como el pH, la concentración de calcio, la concentración de enzima y la temperatura.

Normalmente en las condiciones de elaboración de Costa Rica, al utilizar una temperatura de corte entre 30 y 40°C, el tiempo de coagulación con la dosis recomendada de cuajo, es de 35 a 45 minutos (Murillo, pág. 45).

2.2.2. La transglutaminasa

Según el RTCA 67.04.54:10 “Alimentos y Bebidas Procesadas. Aditivos Alimentarios”, un coadyuvante de elaboración se define como toda sustancia o materia, excluidos aparatos y utensilios, que no se consume como ingrediente

alimenticio por sí mismo y que se emplea intencionadamente en la elaboración de materias primas, alimentos o sus ingredientes, para lograr alguna finalidad tecnológica durante el tratamiento o la elaboración; puede dar lugar a la presencia no intencionada, pero inevitable, de residuos o derivados en el producto final.

El Codex Alimentarius recoge la transglutaminasa de *Streptomyces mobaraensis* en el Inventario de sustancias utilizadas como coadyuvantes de elaboración. Para la FDA ha sido clasificada y generalmente reconocida como segura (GRAS) en diversas ocasiones, desde 1997 y para diversos usos, por ejemplo, para la carne procesada, productos de la pesca, quesos, crema de quesos, postres helados, etc., con determinadas condiciones de uso (Agencia de Salud Pública de Catalunya, 2015).

La TG es una enzima ampliamente distribuida en la naturaleza, que se encuentra en tejidos animales, plantas y microorganismos. Se caracteriza por entrecruzar proteínas a través de enlaces covalentes, específicamente entre los aminoácidos glutamina y lisina. Este entrecruzamiento tiene efectos sobre las propiedades de las proteínas, la capacidad de gelificación, la estabilidad térmica, la capacidad de retención de agua, etcétera.

La transglutaminasa inicialmente se aisló de las bacterias *Mobaraense Streptovercillium* y usado para mejorar el rendimiento y las propiedades del queso blando, fabricado a partir de leche de vaca mediante la mejora de la reacción de entrecruzamiento entre proteínas de la leche.

La TG es utilizada en productos de la pesca, surimi, productos cárnicos, pastas secas, productos lácteos y panificados, entre otros. Tiene un gran potencial para mejorar la firmeza, elasticidad, viscosidad, estabilidad al calor y capacidad de retención de agua en alimentos mediante la reacción enzimática (Escobar , y otros, 2014).

Es por esto, que la TG se utiliza en los quesos para mejorar las características físicas y químicas, así como el rendimiento.

Durante el proceso de transformación de la leche en queso, las caseínas forman una red proteica conocida como coágulo o gel. El impacto de la TG en las proteínas de la leche, en las propiedades físicas y de textura de los geles

resultantes se ve afectada por los parámetros del procesamiento, como: tratamiento térmico utilizado, la temperatura de coagulación, concentración de caseína, proteínas presentes, concentración de calcio, la concentración de TG y el pH de la leche inicial (Escobar , y otros, 2014, pág. 25).

Es necesario optimizar estos parámetros antes de realizar la incorporación de TG en la fabricación de quesos.

La enzima es sensible a valores de pH. El rango de actividad óptima debe estar entre pH 5 y 9, el óptimo entre 6 y 8. No se debe agregar la enzima en el momento en que la leche se encuentra a temperaturas superiores a 50 °C, ya que esta se inactivará y no realizará el efecto deseado (BDF Ingredients , 2010).

La TG forma enlaces entre las α - β - y κ -caseínas y además produce entrecruzamientos con la β -lactoglobulina y la α -lactoalbúmina en la cuajada. Estos entrecruzamientos podrían favorecer un aumento del rendimiento quesero y afectar positivamente la rentabilidad del producto. Otro ingrediente utilizado en la fabricación de quesos es la enzima quimosina, que actúa sobre la κ -caseína y produce caseinomacropéptidos (CMP). Es importante tanto el momento de agregado de la quimosina como la temperatura, para que la acción de la TG no enlentezca la liberación de CMP durante la fase primaria de la coagulación (Escobar , y otros, 2014).

2.3. Aplicación en lácteos

El efecto de la TG en productos lácteos se ha investigado en varios estudios previos. Las proteínas del suero son más susceptibles a la formación de enlaces por la TG en presencia de agentes reductores como el ditiotreitol. Entre las caseínas de la leche, la κ -caseína ha demostrado ser más susceptible a formar enlaces en leche sin calentar, seguida por la β -caseína. Esta última es de especial interés en la industria quesera, ya que su hidrólisis enzimática por el cuajo (la enzima quimosina) genera una nueva proteína, denominada para- κ -caseína; cuando esta última reacciona con el calcio, genera paracaseinato de calcio. Durante el proceso de maduración del queso, y a partir de la para- κ -caseína, se forman unos macropéptidos denominados γ -caseínas, responsables de las

características reológicas y organolépticas de los quesos (Aguilar, Aguilar, Carrillo, & Portilla, 2012, págs. 9-10).

Varios autores investigaron las propiedades de la adición de cuajo en proteínas de leche que se habían tratado previamente con transglutaminasa; se encontró que el aumento de los tiempos de incubación de la TG previo al cuajado, así como una mayor intensidad en el tratamiento de pre-calentamiento de la leche resultó en el aumento de los tiempos de coagulación hasta el punto de una completa ausencia de floculación (Lorenzen, 2000). El autor atribuyó el efecto a la reducida capacidad de cuajo de la leche precalentada a un "sellado de la superficie" de las micelas de caseína con proteínas de suero entrecruzadas, en particular la β -lactoglobulina, que conduce a una inhibición estérica en la superficie de la micela de caseína que imposibilita la acción del cuajo.

La revista del laboratorio tecnológico del Uruguay publica el siguiente estudio: *Influencia de la transglutaminasa en el rendimiento de la producción de queso Dambo uruguayo*, estudio realizado por Escobar, et al (2014), en el cual se elaboró un diseño experimental completamente al azar con parcelas divididas medidas en el tiempo; se consideran dos factores: (concentración de la enzima y momento de agregado), en tres niveles. Los momentos de incorporación de TG en el proceso, fueron: con el cuajo, manteniendo las restantes condiciones de fabricación iguales al queso referencia, con el cuajo en frío a 15 °C. Se realizó todo el proceso previo a 15 °C, y al corte; se incorpora la enzima luego de alcanzado el tamaño grano de maíz. De acuerdo con este estudio, los mejores resultados en cuanto a rendimiento se obtuvieron al adicional la TG en el mismo momento de adicionar el cuajo a una concentración de 0,5 UTG por gramo de proteína.

Según un estudio realizado por Escobar y otros (2014), *"la mayor recuperación de extracto seco, encontrada al utilizar concentraciones de TG de 0,5U TG/g proteína podría deberse a la incorporación de proteína de suero en el queso, según lo demostrado en un estudio de queso blanco, y en queso blanco iraní bajo en grasa"* (pág. 29).

En cuanto a las variaciones en las características organolépticas del queso, varios autores hallaron que la dureza del queso blanco iraní aumenta con la

concentración de TG, utilizada en su fabricación, tal como se demostró con el estudio para el queso Dambo tipo barra, correlación similar a la hallada por otros estudios (Escobar , y otros, 2014). Estos autores atribuyen a que la función principal de TG en el queso es formar enlaces isopeptídicos, lo que conduce a una red de gel con menores agregados y tamaños de poros; resultan en una red más restringida, por lo que se prevé que la dureza sea debido a una mayor cantidad de puntos de contacto entre las proteínas de la matriz del queso. En lo referente a la elasticidad de los quesos, se determinó que los quesos tratados con TG mantienen la elasticidad más estable durante la maduración, comparados con los quesos que no se elaboran con TG. Se constató que los quesos fabricados con 0,5 y 1,0 U TG / g proteína son los que presentaron mayores valores de cohesividad. En el trabajo de Escobar y otros (2014), se demostró que la cohesividad no presenta diferencias significativas con el tiempo, sin embargo, se hallaron valores más altos en el queso blanco salado tratado con TG respecto a la referencia. Esto se justifica porque tanto el número como la fuerza de los enlaces de la proteína en los quesos tratados con enzimas son afectados por la TG.

Mediante el uso de la Transglutaminasa en el queso se logra obtener de un 10-15 % más de rendimiento en el producto final, reducir la sinéresis, aumentar y mejorar la textura y reducir o eliminar la adición de proteínas extras que se puedan añadir al proceso reduciendo el costo final del producto (BDF Ingredients , 2010).

III. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Materiales y métodos

La elaboración del presente proyecto se planifica bajo una serie de etapas cuya secuencia es indispensable para desarrollar el análisis requerido; por esta razón a continuación se detalla la metodología empleada.

El desarrollo del proyecto se lleva a cabo en la empresa cooperativa Coopebrisas R.L ubicada en el cantón de Zarceró, Alajuela, la cual cuenta con una Planta de Lácteos en donde es enfocado el proyecto, específicamente en el proceso de elaboración de queso.

Antes de efectuar las pruebas con la enzima TG en el queso, se formula un esquema basado en dos tratamientos, considerándose para ambos la misma dosis 0,5 U TG/g de proteína por litro de leche o 0,3g de TG por L de leche en dos etapas de adición durante el proceso.

Para la determinación de la dosis de uso de g de TG/L de leche, se utiliza el siguiente cálculo:

- a) Se toma como referencia el porcentaje de proteína inicial presente en la leche, este dato se convierte en g de proteína /L de leche.

$$g_{proteína}/L_{leche} = \%_{proteína\ leche} * 1000$$

- b) Para calcular las U de TG/L de leche se multiplican, los g de Probind CH/L que se desean utilizar, por la concentración de TG en Probind CH de acuerdo con la recomendación de Ficha Técnica del proveedor.

$$U\ TG/L = g_{a\ utilizar} * Concentración\ TG_{Ficha\ técnica}$$

- c) Para calcular las U de TG/g de proteína se divide el valor anterior entre los g de proteína por L de leche utilizada.

$$U\ TG/g\ proteína = \frac{U\ TG/L}{g_{proteína}/L_{leche}}$$

Para este proyecto se utilizan como referencia los siguientes valores:

- a) Proteína promedio en la leche: 3,18%
 b) Concentración de TG en Probind CH: 50.
 c) Rango óptimo de pH de la leche: seis y ocho (BDF Ingredients, 2010).

Tabla 5. Datos para cálculo de g de proteína por L de leche

g proteína/L de leche	g Probind CH/L	U TG/L de leche	U TG/g Proteína
31,8	0,3	16	0,5

Fuente: Rodríguez y Vargas, julio 2016

El primer tratamiento está fundamentado en estudios anteriores, se afirma que, al agregar la enzima junto con el cuajo, se obtiene un mayor rendimiento del queso (Escobar , y otros, 2014). El segundo tratamiento se realiza considerando que la TG es una enzima, la cual requiere tiempo de reacción sobre la proteína de la leche; se considera evaluar un tiempo adicional de 30 minutos de acción, previo a la adición del coagulante.

El queso fresco semiduro se elabora a partir de leche cruda de vaca. La leche se analiza a su ingreso en el laboratorio de la empresa Coopebrisas determinando: pH, el porcentaje de proteínas y materia grasa en equipo LactoStar (Figura 1) y células somáticas en prueba de detección rápida Beta Star CHR Hansen (Anexo 1.).

Como medida para evitar variaciones en los resultados, se procesan 6,000L de leche para cada lote de lunes a sábado, por un tiempo de tres semanas. Se inicia con el tratamiento T₋₃₀, seguidamente el tratamiento T₀ y por último el queso patrón o de referencia.

Se fabrican un total de 18 lotes de queso, doce con la misma dosis de la enzima agregada en dos tratamientos distintos adicionados en el proceso y seis para el queso patrón, y se mantienen las condiciones de fabricación.

Cada lote de queso es elaborado en tina quesera con doble chaqueta, con sistema de agitación y corte mecánico controlado, a partir de 6,000L de leche previamente pasteurizados a 77°C durante 15 segundos y estandarizados al 2% de grasa.

A continuación, se detallan cada uno de los tratamientos evaluados:

- a) Tratamiento T₋₃₀** (Apéndice 1. Flujo de proceso T-30) **con TG:** Pasteurizar la leche a 77°C por 15 segundos (s), estandarizar la grasa al 2%. Llevar la leche hasta el tanque y enfriar hasta alcanzar los 37 grados Centígrados (°C) incorporar el cloruro de calcio granular Álcali al 93% (Anexo 2.) a una dosis

del 0,02%, pre disolver en agua a temperatura ambiente para facilitar su dispersión. Añadir la enzima TG Probind CH BDF ingredients (Anexo 3.) a una dosis de 0,3g/L, dejar reposar 30min. Posteriormente añadir 0,005% de coagulante de quimosina CHY-MAX® M 1000 CHR Hansen (Anexo 4.) y dejarlo actuar durante 30min. Realizar el corte de la cuajada con lira mecánica hasta obtener un tamaño de grano de maíz, dejar reposar durante cinco min. Agitar lentamente con paleta mecánica de acero inoxidable durante 15min más (Figura 2), pasado este tiempo, dejar reposar 5min. Desuerar la cuajada hasta alcanzar un 75% y posterior a ello añadir la sal al 2%, debe calcularse con respecto a la cantidad de leche inicial, agitar lentamente la cuajada hasta dispersar. Formar los quesos manualmente en moldes de 12 kilogramos (kg) (Figura 3) de capacidad de acero inoxidable con desuerador y tapa. Apilar los moldes en posición vertical en prensa hidráulica a 60 libras de presión (psi) durante 25min (Figura 4). Refrigerar por 24 horas (h) en cámara de frío a 5°C (Figura 5). Posteriormente desmoldar y pesar los bloques de queso, empacar en bolsa de polietileno transparente. Almacenar nuevamente el producto en la cámara. Cortar los bloques en barras de 500 gramos (g), empacar en bolsas al vacío transparente calibre 60.

- b) Tratamiento T₀** (Apéndice 2. Flujo de proceso T₀) **con TG**: Pasteurizar la leche a 77°C por 15s, estandarizar la grasa al 2%. Llevar la leche hasta el tanque y enfriar hasta alcanzar los 37°C, incorporar el cloruro de calcio granular Álcali al 93%, una dosis del 0,02%, pre disolver en agua a temperatura ambiente para facilitar su dispersión y añadir la enzima TG a una dosis de 0,3g/L. Posteriormente, añadir 0,005% de coagulante de quimosina CHY-MAX® M, mezclar para dispersar por toda la leche, dejar actuar durante 30min. Realizar el corte de la cuajada con lira mecánica hasta obtener un tamaño de grano de maíz, dejar reposar durante 5min. Agitar lentamente con paleta mecánica de acero inoxidable durante 15min, pasado este tiempo, dejar reposar 5min. Desuerar la cuajada hasta alcanzar un 75% y posterior a ello añadir la sal al 2%, debe calcularse con respecto a la cantidad de leche inicial, agitar lentamente la cuajada hasta dispersar. Formar los quesos manualmente en

moldes de 12kg de capacidad de acero inoxidable con desuerador y tapa. Apilar los moldes en posición vertical en prensa hidráulica a 60psi durante 25min. Refrigerar por 24h en cámara de frío a 5°C. Posteriormente desmoldar y pesar los bloques de queso, empacar en bolsa de polietileno transparente. Almacenar nuevamente el producto en la cámara. Cortar los bloques en barras de 500g, empacar en bolsas al vacío transparente calibre 60.

c) Proceso de queso patrón o de referencia (Apéndice 3. Flujo de proceso del Queso patrón): Pasteurizar la leche a 77°C por 15s, estandarizar la grasa al 2%. Llevar la leche hasta el tanque y enfriar hasta alcanzar los 37°C incorporar el cloruro de calcio granular a una dosis del 0,02%, pre disolver en agua a temperatura ambiente para facilitar su dispersión, posteriormente añadir 0,005% de coagulante de quimosina CHY-MAX® M dejándolo actuar durante 30min. Realizar el corte de la cuajada con lira mecánica hasta obtener un tamaño de grano de maíz, dejar reposar durante cinco min. Agitar lentamente con paleta mecánica de acero inoxidable durante 15min, pasado este tiempo, dejar reposar 5min. Desuerar la cuajada hasta alcanzar un 75% y posterior a ello añadir la sal al 2%, debe calcularse con respecto a la cantidad de leche inicial, agitar lentamente la cuajada hasta dispersar. Formar los quesos manualmente en moldes de 12kg de capacidad de acero inoxidable con desuerador y tapa. Apilar los moldes en posición vertical en prensa hidráulica a 60 psi durante 25min. Refrigerar por 24h en cámara de frío a 5°C. Posteriormente desmoldar y pesar los bloques de queso, empacar en bolsa de polietileno transparente. Almacenar nuevamente el producto en la cámara. Cortar los bloques en barras de 500g, empacar en bolsas al vacío transparente calibre 60.

Para demostrar la funcionalidad de la enzima TG en cuanto a recuperación de proteína, se determina el total de kg de queso obtenidos por cada 100L de leche para los tratamientos evaluados y el queso patrón, mediante el siguiente cálculo:

$$Rendimiento_{100L} = \frac{\text{Cantidad de L de leche utilizados}}{\text{Rendimiento promedio obtenido}}$$

Así mismo, para respaldar el aumento en el rendimiento obtenido en el T-30 se realiza la estimación de la recuperación de kg de las variables desarrolladas, el cual se determina mediante el siguiente cálculo:

$$\text{Recuperación} = \text{Total kg queso obtenidos en 100L} \times \% \text{ Promedio de la variabl}$$

3.2. Diseño experimental

Se realiza un diseño experimental para analizar las muestras de queso según los lotes elaborados, se consideran las condiciones de su producción, queso patrón sin enzima y los quesos elaborados con el uso de esta.

Las pruebas de análisis proximal, textura, desuerado y pH se realizan en el laboratorio de Ciencias Básicas de la Universidad Técnica Nacional (UTN), Sede Atenas (Tabla 6). Para cada una de las condiciones de proceso mencionadas anteriormente y tomando de igual manera el queso patrón sin enzima como referencia se almacenaron bajo custodia tres unidades estrictamente señalizadas, según su condición de proceso.

Los análisis se realizan a los 15 días de elaboración de cada lote con el fin de verificar las condiciones del producto en su mediana vida útil, ya que; el producto actual comercializado mantiene una declaración de 30 días desde su fabricación.

3.3. Análisis fisicoquímico de los quesos

Para el análisis realizado en el Laboratorio de Ciencias Básicas de la Universidad Técnica Nacional se cuenta con tres muestras por número de lote en presentación de 500g.

Los equipos utilizados según el análisis, se calibraron antes de su uso, las muestras analizadas se tomaron de cada lote de acuerdo con la capacidad de análisis.

A continuación, se detalla el equipo utilizado para cada uno de los análisis mencionados:

Tabla 6. Equipos de análisis utilizados Laboratorio Ciencias Básicas UTN

Instrumento	Análisis
pHmetro	pH
Digestor	Proteína
Texturómetro	Textura
Estufa	Humedad
Centrifuga	Gerber
Balanza analítica y granataria	Peso

Fuente: Rodríguez y Vargas, abril-mayo 2016

3.4. Análisis de datos

En los diseños experimentales, la utilización de la estadística es fundamental, ya que permite inferir sobre los resultados obtenidos de una prueba, identificar si los tratamientos muestran diferencias significativas o si existe algún tipo de relación entre las causas de un efecto dentro de un estudio experimental, a través de análisis provenientes de una muestra representativa de datos.

Para desarrollar el análisis estadístico del diseño experimental expuesto en el presente documento, se utilizan las herramientas estadísticas denominados varianza explicada, prueba de Shapiro-Wilk y t de Student, las cuales se detallan a continuación.

3.4.1. Varianza explicada

La varianza de las medias describe las diferencias entre las clases que pueden deberse al tratamiento, de aquí el nombre de varianza entre-grupos. Si los tratamientos tienen evidentemente un efecto, se espera que la varianza explicada sea grande en comparación con la varianza residual, la cual se define como la razón de la varianza intra-grupos entre la varianza total (Gómez, 2008, págs. 327-329).

Visto de otra forma, la varianza explicada muestra en qué porcentaje difiere un tratamiento de otro como resultado de una modificación en las características originales de alguno de ellos. El mayor grado de heterogeneidad se da cuando la característica estudiada está presente en el 50% de la población; por ello, es el

valor que se usa para tener una mayor seguridad en la determinación del tamaño muestral (Arriaza, pág. 25).

Este análisis se realizó para observar el comportamiento entre los grupos analizados, al tomar en cuenta que los resultados por encima del 50% tienen una mayor seguridad en su determinación.

$$V_{Total} = V_E + V_D$$

$$V_{Explicada} = \frac{V_E}{V_T} * 100$$

Donde:

V_{Total} : Varianza total.

$V_{Explicada}$: Varianza explicada.

V_D : Varianza dentro de grupo.

V_E : Varianza entre-grupos.

En los tratamientos desarrollados, se aplica la varianza explicada para determinar si existe un efecto al adicionar la TG en el proceso de elaboración de queso fresco semiduro; los resultados mostrados se presentan en términos porcentuales.

3.4.2. Análisis t de Student

Para brindar mayor robustez a los resultados se aplicó *t de Student* con el fin de comparar las medias de los tratamientos; permite hacer un análisis profundo en el efecto de un tratamiento comparado con un grupo de control.

La técnica estadística *t de Student* “... es sumamente importante para la estimación y el contraste de hipótesis...” (Gorgas García, Cardiel López, & Zamorano Calvo , 2011, pág. 98) y según Walpole et al. (2012), es utilizada ampliamente en problemas relacionados con inferencias acerca de la media de la población o en problemas que implican muestras comparativas, es decir, en casos donde se trata de determinar si las medias de dos muestras son muy diferentes (pág. 250).

Para las variables: rendimiento, grasa, humedad y cantidad de suero, se utiliza la prueba *t de Student*, a través de la cual se desean comparar los diferentes tratamientos mediante el contraste de hipótesis.

Además, dicha prueba se aplica cuando la muestra estudiada tiene un tamaño menor a 30 y el estadístico en el que está basada la inferencia esté normalmente distribuido (Gorgas García, Cardiel López, & Zamorano Calvo, 2011, pág. 323).

Es por esta razón, que para la implementación de la prueba *t de Student*, es necesario validar el supuesto de normalidad y aunque para el proceso de estimación se ha supuesto que los distintos tratamientos tienen la misma varianza; es decir, el cumplimiento del supuesto homocedasticidad. En el presente proyecto se desea realizar un análisis de las medias de los tratamientos, por lo que no es necesario considerar el segundo supuesto.

El contraste de hipótesis mencionado anteriormente, es una afirmación sobre los valores de los parámetros de una población o proceso, que es susceptible de probarse a partir de la información contenida en una muestra representativa que es obtenida de la población (Gutiérrez Pulido & de la Vara Salazar, 2012).

En caso de que la afirmación planteada no pueda probarse, se estaría produciendo un resultado opuesto; por tal motivo en cualquier contraste de hipótesis tendremos dos alternativas complementarias.

Estas hipótesis son denominadas:

- a) H_0 : conocida como *hipótesis nula*, es la hipótesis de partida que se quiere contrastar y la misma comúnmente se plantea como una igualdad.
- b) H_A : se define como la *hipótesis alternativa*, la cual puede plantearse como una hipótesis bilateral o unilateral.

Según Gutiérrez, H. y de la Vara, R. (2012), una hipótesis es bilateral cuando la hipótesis alternativa (H_A) es del tipo “no es igual” (\neq); y es unilateral cuando la alternativa es del tipo “mayor que” ($>$) o “menor que” ($<$).

Durante el análisis de los datos de las pruebas realizadas en el proyecto, se utilizan ambas hipótesis alternativas unilaterales, ya que para algunas variables se

analiza si es “mayor que” o “menor que”, y con esto determinar el efecto de la transglutaminasa.

Una vez planteadas las hipótesis, se debe determinar un valor mediante el cual es posible concluir y cuyo valor es conocido como estadístico de prueba; este se calcula a partir de los datos de la muestra durante una prueba de hipótesis (Gutiérrez Pulido & de la Vara Salazar, 2012, pág. 23). Este valor calculado, nos permite determinar el *p-value*, valor que termina diciendo únicamente si aceptamos o no la hipótesis nula, mediante una comparación contra el nivel de significancia, el cual consiste en un valor definido por el investigador antes de recoger los datos y según Walpole et al. (2012) se define como la probabilidad de error en que incurriríamos en caso de rechazar la hipótesis nula, cuando esta es verdadera (p.23).

El valor de significancia se representa con la letra griega “ α ” y para todos los análisis estadísticos que se realizan en el presente diseño experimental, se utiliza un valor de α : 0,05.

Para análisis de los resultados procesados mediante la *t de Student*, se define el estadístico de prueba “*t*”, el cual se representa a través de la siguiente ecuación:

$$t_0 = \frac{\bar{d}}{S_d/\sqrt{n}}$$

Cabe mencionar que, para el análisis estadístico de los datos en el presente proyecto, el supuesto de normalidad, se valida mediante la prueba de Shapiro-Wilk. El cual se utiliza para contrastar la normalidad de un conjunto de datos. Se considera uno de los test más potentes para el contraste de normalidad, sobre todo para muestras pequeñas ($n < 50$).

Para el cálculo de *t de Student* y prueba Shapiro-Wilk se utiliza el software estadístico R Commander®, versión 3.2.

IV. ANÁLISIS DE RESULTADOS

En este capítulo se evalúan los resultados alcanzados de rendimiento, análisis proximal (proteína, grasa y humedad), textura y suero en el proceso de elaboración del queso fresco semiduro y se utiliza la enzima transglutaminasa. Las pruebas se desarrollan durante dos tiempos de adición de la enzima a una dosis de 0,5 U TG/g de proteína y se comparan con el queso patrón o de referencia.

4.1. Análisis proximal de la leche inicial

Al realizar el análisis proximal de la leche (grasa y proteína), se puede observar en la Tabla 7 que no existe diferencia significativa entre la leche utilizada para la elaboración del queso patrón en comparación con el T₋₃₀ y el T₀.

Tabla 7. Promedio del análisis proximal de la leche

Procesos	Promedio (%)	
	Grasa	Proteína
Queso patrón	2,11	3,19
T ₋₃₀	2,04	3,17
T ₀	2,05	3,18

Fuente: Rodríguez y Vargas, abril-mayo 2016

En la Tabla 8 se observan los resultados al realizar el análisis de varianza explicada de la grasa y proteína de la leche.

Tabla 8. Varianza explicada del análisis proximal de la leche

Análisis	Queso patrón vs T ₋₃₀	Queso patrón vs T ₀	T ₋₃₀ vs T ₀
Grasa	11,89	7,57	0,21
Proteína	14,22	3,92	12,86

Fuente: Rodríguez y Vargas, abril-mayo 2016

4.2. Análisis de rendimiento y relación con composición proximal

Al analizar el promedio de rendimiento en el proceso de elaboración de queso fresco semiduro, se puede identificar que se obtiene un rendimiento mayor cuando la TG es adicionada 30 min antes del cuajo.

De esta forma en la Tabla 9 se observa que se requiere una menor cantidad de litros de leche para obtener un kg de queso.

Tabla 9. Rendimiento promedio de los tratamientos analizados en la elaboración de queso fresco semiduro

Tratamiento	Total kgs producidos	(Lts leche/kg Queso) Rendimiento promedio
Queso patrón	766	7,62
T ₋₃₀	900	6,67
T ₀	808	7,42

Fuente: Rodríguez y Vargas, abril-mayo 2016

El tiempo de exposición 30 minutos antes del cuajo, permite formar una red proteica mediante enlaces covalentes que contribuyen a una mejor retención de agua y grasa, y se evita perderlo en el suero; esto se confirma posteriormente con la validación del análisis proximal.

Al desarrollar el análisis de varianza para la variable rendimiento, se obtienen los resultados que se muestran en la Tabla 10.

Tabla 10. Varianza explicada del rendimiento entre los tratamientos

Variable (%)	Queso patrón vs T ₋₃₀	Queso patrón vs T ₀	T ₋₃₀ vs T ₀
Rendimiento	96,56	52,63	98,71

Fuente: Rodríguez y Vargas, junio 2016

Según los resultados obtenidos, se puede establecer que la diferencia mostrada en el rendimiento entre los tratamientos T₋₃₀ vs. T₀, se explica en un 98,71% debido a la acción de la enzima.

En el caso de los tratamientos queso patrón vs. T₋₃₀, la diferencia se explica en un 96,56% y en la comparación entre los tratamientos queso patrón vs. T₀ la diferencia se explica en un 52,63%.

Se puede determinar que, al existir una diferencia de las varianzas entre cada uno de los tratamientos, efectivamente la enzima TG tiene un efecto sobre el rendimiento de la producción de queso fresco semiduro, sin embargo, en el tratamiento T₀ la diferencia es significativa, aunque esta sea menor, de acuerdo con el análisis estadístico planteado.

Una vez ejecutado el análisis de varianza explicada, se realiza la prueba estadística t de Student, para determinar, mediante la comparación de las medias, en qué medida la enzima tiene un impacto sobre los tratamientos.

Sin embargo, antes efectuar dicha prueba, se debe comprobar el supuesto de normalidad de los datos, mediante la utilización de la prueba de Shapiro-Wilk.

Tabla 11. Resultados de comprobación de supuesto de normalidad de los datos mediante la prueba de Shapiro-Wilk

Variable	Valores de <i>p-value</i>		
	Queso Patrón	T ₋₃₀	T ₀
Rendimiento	0,9987	0,4044	0,7428

Fuente: Rodríguez y Vargas, junio 2016

Como se puede observar en la Tabla 11 los valores de *p-value* de la variable de rendimiento para cada uno de los tratamientos, son mayores al nivel de significancia α : 0,05, lo cual quiere decir que los datos siguen una distribución normal.

Tabla 12. Análisis de T de Student entre los tratamientos de adición de la enzima

Variables	Valores de <i>p-value</i>		
	Queso patrón vs T ₋₃₀	Queso patrón vs T ₀	T ₀ vs T ₋₃₀
Rendimiento	0,0000145	0,009835	0,000000430

Fuente: Rodríguez y Vargas, junio 2016

En la Tabla 12 se presentan los valores de *p-value* de la variable de rendimiento para cada uno de los tratamientos. Como se puede observar, son menores al nivel de significancia establecido, por esta razón se rechazan las hipótesis nulas; esto quiere decir que el rendimiento obtenido con la adición de la TG, será mayor comparado con el queso patrón. Con la adición de la enzima 30 minutos antes de la coagulación se obtuvo un 14,2% más de queso respecto al patrón, mientras que adicionando la TG junto con el cuajo se obtiene un aumento del 12,7% en la cantidad de queso obtenida con respecto al queso patrón. En ambos tratamientos hay un aumento significativo del rendimiento; esto concuerda con los resultados obtenidos por Ozer en 2014 para la adición junto con el cuajo.

El obtener un mayor rendimiento al tener mayor tiempo de acción de la enzima, se explica al considerar que se forman más enlaces que retienen más proteínas, grasa y humedad. Esto se demuestra en la comparación del análisis proximal, ya

que según Escobar y otros (2014), la TG se caracteriza por entrecruzar proteínas, específicamente entre los aminoácidos glutamina y lisina. Este entrecruzamiento tiene efectos sobre las propiedades de las proteínas, la capacidad de gelificación, la estabilidad térmica, la capacidad de retención de agua, etcétera y es usado para mejorar el rendimiento y las propiedades del queso blando fabricado a partir de leche de vaca.

Al analizar las variables de la composición proximal de los quesos para los tres tratamientos, se obtienen los siguientes resultados.

Tabla 13. Resultado del análisis proximal en los diferentes tratamientos

Procesos	Promedio (%)		
	Proteína	Grasa	Humedad
Queso patrón	20,97	14,19	55,79
T ₋₃₀	20,23	18,00	58,05
T ₀	20,84	17,08	56,01

Fuente: Rodríguez y Vargas, abril-mayo 2016

En la Tabla 13, se observa que el tratamiento T₋₃₀ presenta la mayor cantidad de grasa y humedad en comparación con los demás tratamientos evaluados; sin embargo, en cuanto a proteína, la mayor concentración se encuentra en el queso patrón.

Según Altonen, et al (2014), la TG fortalece la red proteica mediante enlaces covalentes y permite una mejor retención de proteínas y grasa que de otra manera se perderían en el suero. Sin embargo, el valor de proteína en el tratamiento T₋₃₀ es más bajo en comparación con los tratamientos evaluados, no obstante, su recuperación, se ve reflejada en una mayor cantidad de kg de queso, aunque esta porcentualmente disminuya en la composición del queso.

Tabla 14. Cantidad de kg de queso obtenidos para los distintos tratamientos en 100L de leche

Litros de Leche	Rendimiento Promedio		
	T ₋₃₀	T ₀	Queso Patrón
100	6,67	7,42	7,62
Total queso obtenido (kg)	15,00	13,47	13,12

Fuente: Rodríguez y Vargas, junio 2016

Comparando el T₋₃₀ con el queso patrón se obtiene una disminución de 950mL de leche utilizados para la elaboración de un kg de queso.

Es por esto, que se puede confirmar que el uso de la TG en un mayor tiempo de exposición sobre la leche, permite realizar enlaces entre las proteínas, al mejorar la capacidad de retención de agua, grasa y proteína de suero dentro de las micelas de caseína.

En las Tablas 15, 16 y 17 se muestra la determinación de la recuperación de kg de las variables analizadas.

Tabla 15. Recuperación de kg de proteína, grasa, humedad en 100L de leche en el T₋₃₀

Variables	Promedio (%)	Recuperación (kg)
Proteína	20,23	3,04
Grasa	18,00	2,70
Humedad	58,05	8,71
Otros	3,72	0,56
Total	100,00	15,00

Fuente: Rodríguez y Vargas, junio 2016

Tabla 16. Recuperación de kg de proteína, grasa, humedad en 100L de leche en el T₀

Variables	Promedio (%)	Recuperación (kg)
Proteína	20,84	2,81
Grasa	17,08	2,30
Humedad	56,01	7,54
Otros	6,07	0,82
Total	100,00	13,47

Fuente: Rodríguez y Vargas, junio 2016

Tabla 17. Recuperación de kg de proteína, grasa, humedad en 100L de leche para el queso patrón

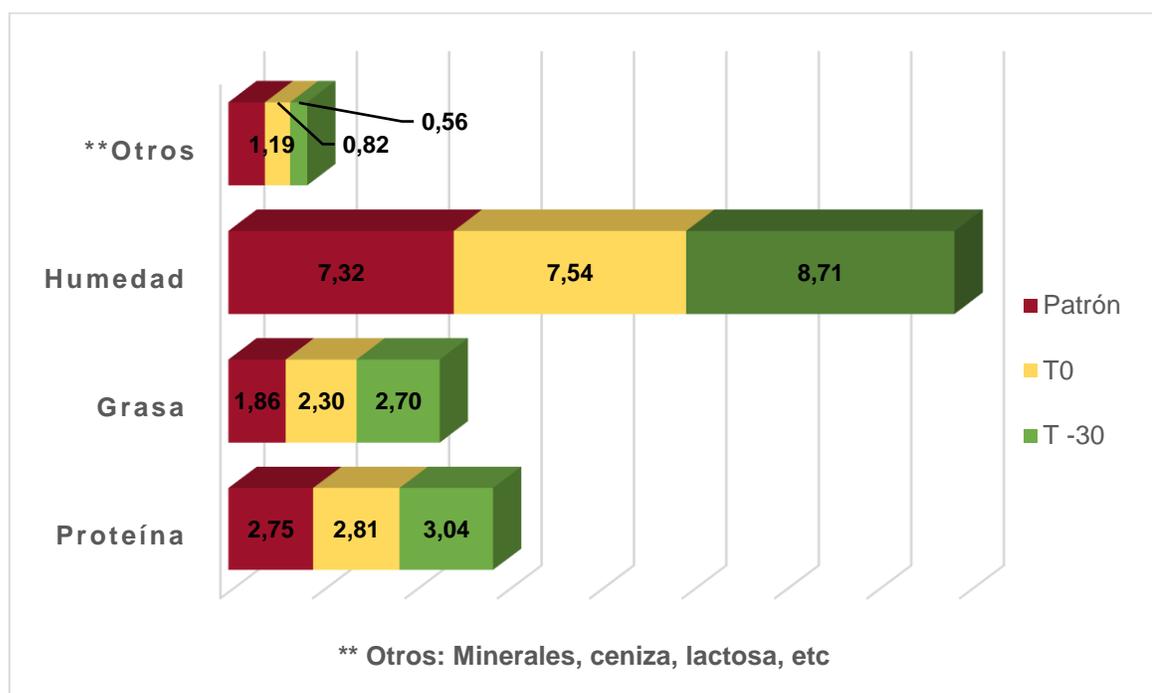
Variables	Promedio (%)	Recuperación (kg)
Proteína	20,97	2,75
Grasa	14,19	1,86
Humedad	55,79	7,32
Otros	9,05	1,19
Total	100,00	13,12

Fuente: Rodríguez y Vargas, junio 2016

En los resultados mostrados anteriormente, se observa que, en el porcentaje promedio de las variables evaluadas, el T-30 presenta los resultados más altos. Es por esto que la recuperación de proteína, grasa, humedad y otros, incluyendo minerales, ceniza, lactosa, etc., reflejan el aumento de kg de queso obtenidos.

Al analizar los datos anteriores, al mostrar la distribución mediante un gráfico de barras, se observa el siguiente comportamiento.

Gráfico 1. Cantidad de kg de proteína, grasa, humedad recuperados en 100L de los distintos tratamientos



Fuente: Rodríguez y Vargas, julio 2016

Al desarrollar el análisis de varianza explicada para las variables de la composición proximal, se obtienen los resultados que se muestran en la Tabla 18.

Tabla 18. Resultado de varianza explicada para el análisis proximal en los diferentes tratamientos

Variables (%)	Queso patrón vs T-30	Queso patrón vs T ₀	T-30 vs T ₀
Proteína	75,34	9,39	60,66
Humedad	72,76	12,33	72,22
Grasa	92,86	92,68	60,91

Fuente: Rodríguez y Vargas, junio 2016

En la Tabla 18, se puede determinar que la diferencia mostrada en la proteína entre los tratamientos Queso patrón vs. T₀ no es significativa, ya que esta es de 9,39%, mientras que, la diferencia mostrada en la grasa entre los tratamientos Queso patrón vs. T₋₃₀ es significativa dado que se representa en un 92,86%.

La comprobación del supuesto de normalidad de los datos para el análisis proximal, se muestran en la Tabla 19.

Tabla 19. Comparación de resultados de Shapiro-Wilk para análisis proximales

Variables	Queso Patrón	T ₋₃₀	T ₀
Proteína	0,8831	0,8089	0,2747
Humedad	0,3631	0,4705	0,04712
Grasa	0,4207	0,0207	0,101

Fuente: Rodríguez y Vargas, junio 2016

Al analizar los datos mostrados en la Tabla 19, se puede determinar que, debido a que los valores de *p-value* de todas las variables en cada tratamiento, son mayores al nivel de significancia α : 0,05, se acepta la hipótesis nula, lo cual quiere decir que los datos siguen una distribución normal.

Al verificar el supuesto de normalidad de los datos del análisis proximal, se procede con el desarrollo de la prueba de t de Student.

Tabla 20. Comparación de resultados de t de Student para los análisis proximales

Variables	Valores de <i>p-value</i>		
	Queso patrón vs T ₋₃₀	Queso patrón vs T ₀	T ₀ vs T ₋₃₀
Proteína	0,001704	0,1395	0,003708
Humedad	0,0001385	0,2522	0,0000544
Grasa	0,00002913	0,00005491	0,9901

Fuente: Rodríguez y Vargas, junio 2016

Mediante los datos mostrados en la tabla anterior para la variable proteína, se puede determinar que dado que los valores de *p-value* para los comparativos Queso patrón vs. T₋₃₀ y T₀ vs. T₋₃₀ son menores al nivel de significancia, se rechaza la hipótesis nula y por tanto la concentración de proteína en el tratamiento T₋₃₀

siempre será menor que en cualquiera de los demás tratamientos analizados de acuerdo con la herramienta estadística utilizada.

Sin embargo, esto no se cumple para el comparativo del Queso patrón vs. el T₀, ya que al obtenerse un valor de *p-value* mayor a 0,05 se acepta la hipótesis nula; esto quiere decir que la media del porcentaje de proteína es igual entre estos dos tratamientos.

En cuanto a la variable humedad se puede determinar que, en los comparativos entre queso patrón vs. T₋₃₀ y T₀ vs. T₋₃₀, dado que los valores de *p-value* son menores al nivel de significancia, se rechaza la hipótesis nula y por tanto la concentración de humedad en el tratamiento T₋₃₀ es mayor que en el T₀, mientras que en el comparativo del queso patrón vs. T₀, se puede inferir que al obtener un valor de *p-value* mayor al nivel de significancia, se acepta la hipótesis nula y por lo tanto se establece que las medias del porcentaje de humedad entre estos dos últimos tratamientos no difieren.

Al analizar los resultados con respecto a la variable grasa, se puede determinar que, en los comparativos entre el queso patrón y ambos tratamientos, al obtenerse un valor de *p-value* menor al nivel de significancia, se rechaza la hipótesis nula. Se concluye así que la grasa en los tratamientos que contiene la TG siempre será mayor en comparación con el queso patrón y si se analiza el comparativo del T₀ vs el T₋₃₀, se puede inferir que al obtener un valor de *p-value* mayor al nivel de significancia, se acepta la hipótesis nula y por lo tanto no existe diferencia en el porcentaje de grasa entre los tratamientos que contienen la TG.

4.3. Análisis de textura

En la Tabla 21 se muestran los resultados de la variable textura en cada uno de los tratamientos.

Tabla 21. Resultados de análisis de textura

Procesos	Promedio (N)
Queso patrón	3,15
T ₋₃₀	3,04
T ₀	4,18

Fuente: Rodríguez y Vargas, abril-mayo 2016

Considerando la textura, como uno de los parámetros organolépticos percibidos de forma directa y más notoria por el consumidor, se busca que al adicionar la TG no provoque variación significativa respecto al queso que ya consumen, siendo este el patrón.

Es por este motivo que, en la tabla anterior, en el tratamiento T₋₃₀ se percibe una variación mínima en comparación con el queso patrón, mientras que en el caso del T₀ dicha variación es mayor.

Al aplicar el análisis de varianza explicada para la textura de los quesos obtenidos en cada uno de los tratamientos, los resultados se muestran en la Tabla 22.

Tabla 22. Resultados de la varianza explicada para la textura

Variable	Queso patrón vs T ₃₀	Queso patrón vs T ₀	T ₃₀ vs T ₀
Textura (%)	1,24	56,08	91,24

Fuente: Rodríguez y Vargas, junio 2016

Mediante los datos mostrados anteriormente es posible concluir que la diferencia en cuanto a textura, entre el tratamiento T₋₃₀ vs. T₀, se explica en un 91,24%, mientras que la diferencia entre queso patrón vs. T₋₃₀ se explica en un 1,24% a través de cuyo valor se determina que la variación entre dichos tratamientos no es significativa.

Antes de desarrollar la prueba t de Student para la textura se realiza la comprobación del supuesto de normalidad de los datos; los resultados se muestran en la Tabla 23.

Tabla 23. Comprobación del supuesto normalidad para la textura mediante Shapiro-Wilk

Variable	Valores de <i>p-value</i>		
	Queso patrón	T ₋₃₀	T ₀
Textura	0,1736	0,3172	0,07265

Fuente: Rodríguez y Vargas, junio 2016

En los datos mostrados en la tabla anterior, se puede determinar que debido a que todos los valores de *p-value* son mayores al nivel de significancia, se acepta la hipótesis nula, lo cual quiere decir que los datos siguen una distribución normal.

Comprobado el supuesto de normalidad, se aplica la prueba de *t de Student* como se muestra en la Tabla 24.

Tabla 24. Comparación de los resultados del análisis de T de Student de la textura

Variables	Valores de <i>p-value</i>		
	Queso patrón vs T ₋₃₀	Queso patrón vs T ₀	T ₋₃₀ vs T ₀
Textura	0,164	1,00	3,76x10 ⁻¹¹

Fuente: Rodríguez y Vargas, junio 2016

Mediante los resultados expuestos en la tabla anterior, se puede inferir que dado que los valores de *p-value* entre los tratamientos con la TG vs el patrón son mayores al nivel de significancia, no existe diferencia significativa entre las medias para la variable textura. Sí hay diferencia en los tratamientos entre sí, ya que cuanto mayor tiempo de acción se le da a la transglutaminasa, en cuanto a la proteína, se absorbe más humedad; por lo tanto, la textura es más suave el T₋₃₀ en comparación con el T₀. La función principal de TG en el queso, es formar enlaces isopeptídicos. Esto conduce a una red de gel con menores agregados y tamaños de poros y resulta en una red más restringida. Por ello se prevé que la dureza sea debido a una mayor cantidad de puntos de contacto entre las proteínas de la matriz del queso (Escobar , y otros, 2014).

4.4. Análisis de suero liberado a los 15 días de vida útil

De acuerdo con la funcionalidad de la TG, se procedió a realizar la medición de suero liberado en una porción de 500g a los 15 días de vida útil y se obtienen los resultados que a continuación se observan en la Tabla 25.

Tabla 25. Suero liberado en una porción de queso fresco semiduro

Procesos	Promedio (%)
Queso patrón	3,27
T ₋₃₀	2,93
T ₀	3,10

Fuente: Rodríguez y Vargas, abril-mayo 2016

Con base en los resultados obtenidos, se puede observar que el T-30 evidencia una menor pérdida de suero a los 15 días de su vida útil. Este resultado demuestra que se da una mayor retención de agua y por tanto una menor liberación de suero.

Al realizar la comparación entre los resultados mediante la varianza explicada, se observan los resultados en la Tabla 26.

Tabla 26. Comparación de los resultados de la varianza explicada del suero para cada tratamiento

Variable	Queso patrón vs T-30	Queso patrón vs T ₀	T-30 vs T ₀
Suero (%)	92,51	73,83	84,31

Fuente: Rodríguez y Vargas, junio 2016

Los datos obtenidos del análisis de varianza explicada, muestran que la diferencia en la cantidad de suero liberado entre el tratamiento queso patrón vs. T-30, se explica en un 92,51%.

Así mismo, la diferencia entre el queso patrón vs. T₀ se explica en un 73,83% y para el caso del comparativo entre el T-30 vs. T₀, la diferencia se explica en un 84,31%.

Por tanto, se determina la que el tratamiento T-30 tiene significativamente menor suero liberado en comparación con el queso patrón.

Antes de efectuar la prueba t de Student, se debe comprobar el supuesto de normalidad de los datos, para lo cual se consideran las hipótesis de comprobación de dicho supuesto mediante la utilización de la prueba de Shapiro-Wilk, como se observa en la Tabla 27.

Tabla 27. Comprobación del supuesto normalidad para los datos de suero liberado mediante prueba de Shapiro-Wilk

Variable	Valores de <i>p-value</i>		
	Queso Patrón	T-30	T ₀
Suero	0,6369	0,6369	1

Fuente: Rodríguez y Vargas, junio 2016

Según los resultados mostrados en la tabla anterior, se determina que los datos para cada uno de los tratamientos siguen una distribución normal, dado que los valores de *p-value* son mayores al nivel de significancia y por consiguiente se acepta la hipótesis nula.

Una vez verificado el supuesto de normalidad, se realiza la prueba de t de Student como se muestra en la Tabla 28.

Tabla 28. Comparación de los resultados de la T de Student del suero según tratamiento

Variable	Queso patrón vs T-30	Queso patrón vs T ₀	T ₀ vs T-30
Suero	0,003989	0,04822	0,0231

Fuente: Rodríguez y Vargas, junio 2016

Los resultados expuestos en la tabla anterior, muestran que al obtener valores de *p-value* menores al nivel de significancia, por tanto, se puede inferir que las cantidades de suero liberado en los tratamientos que contienen TG es menor en comparación con la cantidad de suero liberado en el queso patrón, de acuerdo con la herramienta estadística utilizada.

Este control sobre la cantidad de desuerado se explica por una mejor estabilización de la humedad por la polimerización de las proteínas que forman enlaces covalentes (Kieliszek & Misiewicz, 2013). Esta estabilización es de suma importancia, al considerar que la retención de la humedad en el queso permite no solamente tener un mejor rendimiento, sino también mantener el vacío en el empaque de los quesos lo que ayuda a mantener su vida útil. El efecto específico sobre la variable de vida útil debe ser evaluado en un trabajo posterior.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

De acuerdo con los resultados del estudio, se observaron diferencias significativas en los tratamientos con la enzima TG vs el queso patrón, en características como rendimiento, textura y desuerado después de su elaboración.

- a) Al comparar el efecto sobre el rendimiento del queso fresco semiduro, por la adición de la enzima transglutaminasa a una dosis de 0,5 U TG/g de proteína, se obtuvo como resultado que el T₋₃₀ fue el tratamiento que obtuvo el mayor rendimiento en comparación con el T₀ y el queso patrón.
- b) Con base en el estudio de los resultados obtenidos del análisis proximal, se obtiene que el T₋₃₀ es el más eficiente en la recuperación de grasa, proteína y humedad; esto se refleja en un aumento de la cantidad de kilos de queso, obtenidos.
- c) Con la aplicación de la TG no se obtienen diferencias significativas en la textura entre el queso patrón y el T₋₃₀, por lo tanto, su aplicación no altera la percepción del producto final.
- d) Al comparar el nivel de desuerado del queso fresco semiduro empacado al vacío, a los 15 días después de su elaboración con la adición de la enzima transglutaminasa a una dosis de 0,5 U TG/g de proteína en la leche, en dos etapas diferentes del proceso, se observa que el uso de la TG reduce significativamente el desuerado en el producto durante el almacenamiento.

5.2. Recomendaciones

Dado los buenos resultados en el rendimiento y caracterización del queso obtenido, se recomienda completar la información en los siguientes estudios.

- a) Realizar un análisis para evaluar vida útil y características organolépticas del producto.
- b) Desarrollar la caracterización microbiológica y el seguimiento del impacto en la vida útil de los diferentes tratamientos evaluados, al adicionar la TG.
- c) Evaluar distintas dosis de aplicación de la enzima y observar el impacto que tienen estas en el tiempo de coagulación y rendimiento para optimizar el uso.

- d) Elaborar un análisis de costos para respaldar la viabilidad económica del uso de la TG en el queso fresco semiduro.

VI. REFERENCIAS

- Agencia de Salud Pública de Catalunya. (2015). Transglutaminasa: Evaluación del riesgo y el uso en alimentos. Obtenido de https://www.gencat.cat/salut/acsa/html/es/dir1623/transglutaminasa_es.pdf
- Aguilar, P., Aguilar, M., Carrillo, M., & Portilla, O. (2012). Importancia de la *producción de transglutaminasa microbiana para su aplicación en alimentos*. Mexico. Obtenido de <http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/Documentos/AQM/AQM8/1.pdf>
- Arriaza, M. (s.f.). *Guía práctica de análisis de datos*. Obtenido de http://www.um.es/jmpaz/AGP1213/guia_practica_de_analisis_de_datos.pdf
- BDF Ingredients . (2010). *Hoja de aplicación*.
- Codex Standard 283-1978. (1978). *Norma general del Codex para el queso*. Obtenido de file:///C:/Users/yrodriguez/Downloads/CXS_283s.pdf
- Escobar, D., Arcia, P., Curutchet, A., Pelaggio, R., Urrestarazu, P., & Márquez, R. (07 de 11 de 2014). *Influencia de la transglutaminasa en el rendimiento de la producción de queso Dambo uruguayo*. Obtenido de http://ojs.latu.org.uy/index.php/INNOTECH/article/view/261/pdf_1
- Franklin, B. (2011). *Las enzimas*. Obtenido de http://www.fca.proed.unc.edu.ar/pluginfile.php/13735/mod_folder/content/0/3%20-Cap%201%20-%20%20Enzimas.pdf?forcedownload=1
- Gómez, M. (2008). *Elementos de estadística descriptiva*. San José: EUNED.
- González, M. (2002). *Tecnología para la elaboración de queso blanco, amarillo y yogurth*. Panamá. Obtenido de http://www.argenbio.org/doc/tecnologia_para_la_elaboracion_de_queso.pdf

- Gorgas García, J., Cardiel López, N., & Zamorano Calvo, J. (2011). *ESTADÍSTICA BÁSICA PARA ESTUDIANTES DE CIENCIAS*. Madrid: Universidad Complutense de Madrid.
- Gutiérrez Pulido, H., & de la Vara Salazar, R. (2012). *Análisis y diseño de experimentos*. México: MacGraw-Hill.
- Heredia, M. (2006). *Aplicación de Antibut (batericida) para eliminar bacterias del grupo coli aerogenes en la elaboración en la elaboración de queso Andino. (Tesis de grado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo)*. Ecuador. Obtenido de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/874/1/27T091.pdf>
- Luluaga, S., & Nuñez, M. (2010). *Guía de elaboración de quesos artesanales*. Tucuman. Obtenido de http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/procal/proyectospiloto/2009/2009_Lacteos_Tucuman_01_guiaQuesos.pdf
- Maza, M., & Legorreta, P. (2011). El libro blanco de la leche y productos blancos. En M. Estrada, *El libro blanco de la leche y los productos lácteos*. México. Obtenido de http://www.canilec.org.mx/descarga_archivos_publico/Libro_Blanco_mail.pdf
- Murillo, O. (s.f.). *Ficha técnica de proceso de queso Turrialba pasteurizado*. Costa Rica. Obtenido de <http://docplayer.es/15492236-Ficha-tecnica-de-proceso-de-queso-turrialba-pasteurizado.html>
- Pimienta Lastra, R. (2003). *PRUEBA ESTADÍSTICA DE HIPÓTESIS*. Obtenido de http://148.206.107.15/biblioteca_digital/capitulos/182-3108eqf.pdf
- Poncelet. (s.f.). *Poncelet*. Obtenido de <http://www.poncelet.es/enciclopedia-del-queso/elaboracion.html>
- Ramírez, C., & Vélez, J. (2012). *Quesos frescos: propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad*. México. Obtenido de

<http://web.udlap.mx/tsia/files/2013/12/TSIA-62Ramirez-Lopez-et-al-2012.pdf>

Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.54:10. (2012). *Alimentos y Bebidas Procesadas. Aditivos Alimentarios*. Obtenido de <http://www.mspas.gob.gt/files/Descargas/Servicios/NuevoRenovacion%20RegistroSanitario/RTCAAditivosAlimentarios.pdf>

Kieliszek , M., & Misiewicz, A. (2013). Microbial transglutaminase and its application in the food industry. A review. Obtenido de <http://link.springer.com/article/10.1007/s12223-013-0287-x>

Walpole, R. E., Myers, R. H., Myers, S. L., & Ye, K. (2012). *Probabilidad y estadística para ingeniería y ciencias*. México: PEARSON EDUCACIÓN.

VII. GLOSARIO

AOAC: Association of Official Analytical Chemists

GES: Grasa en extracto seco

g: Según el Sistema Internacional de Medidas se define como gramos.

h: Según el Sistema Internacional de Medidas se define como horas.

HSMG: Humedad sin materia grasa.

kg: Según el Sistema Internacional de Medidas se define como kilogramos.

L: Según el Sistema Internacional de Medidas se define como litros.

min: Según el Sistema Internacional de Medidas se define como minutos.

mL: Según el Sistema Internacional de Medidas se define como mililitros.

psi: pounds-force per square inch (libra fuerza por pulgada cuadrada)

TG: Transglutaminasa

U: Unidades de actividad bacteriana

UTN: Universidad Técnica Nacional

vs: Versus (comparativo)

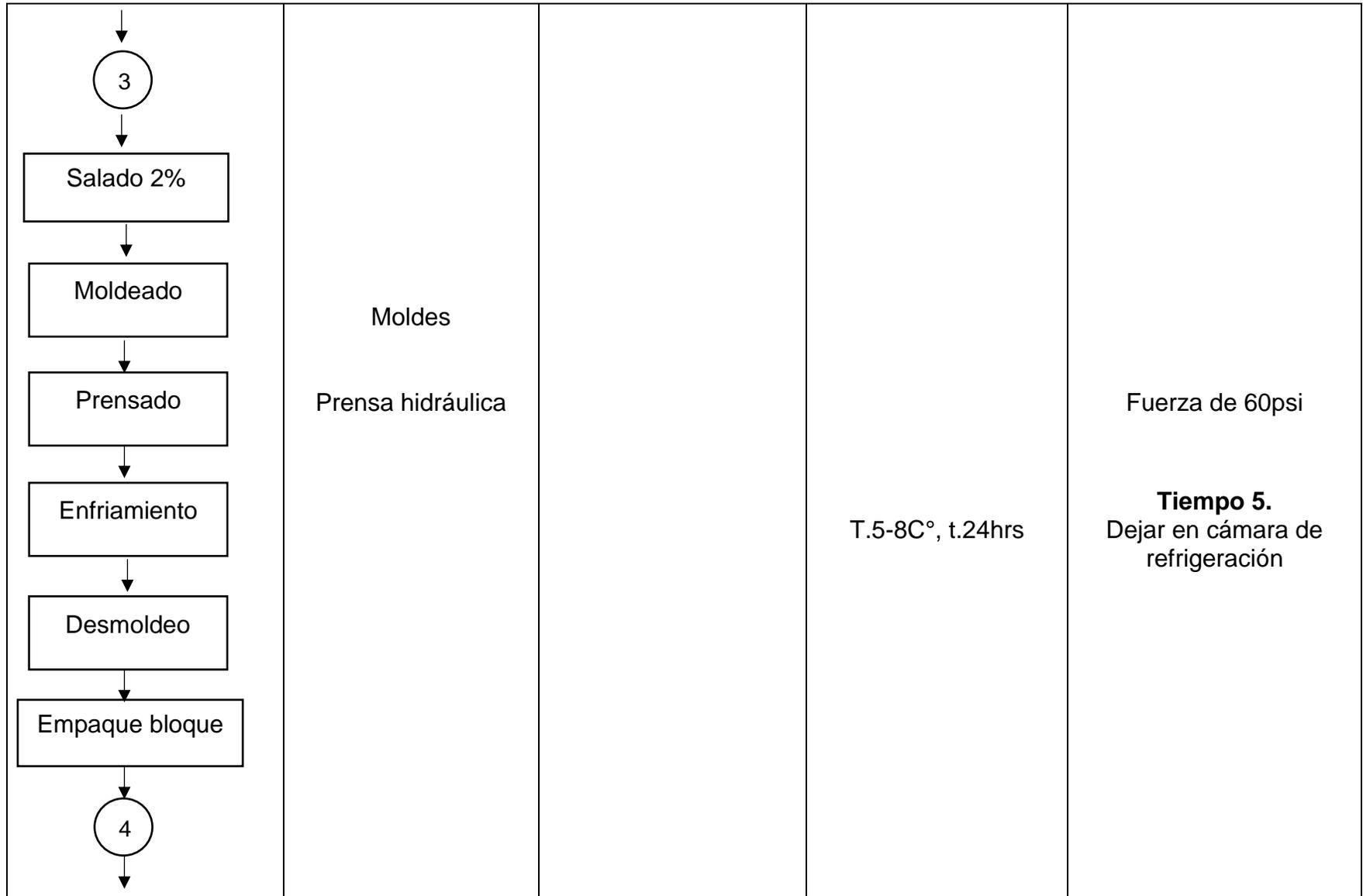
VIII. APÉNDICES

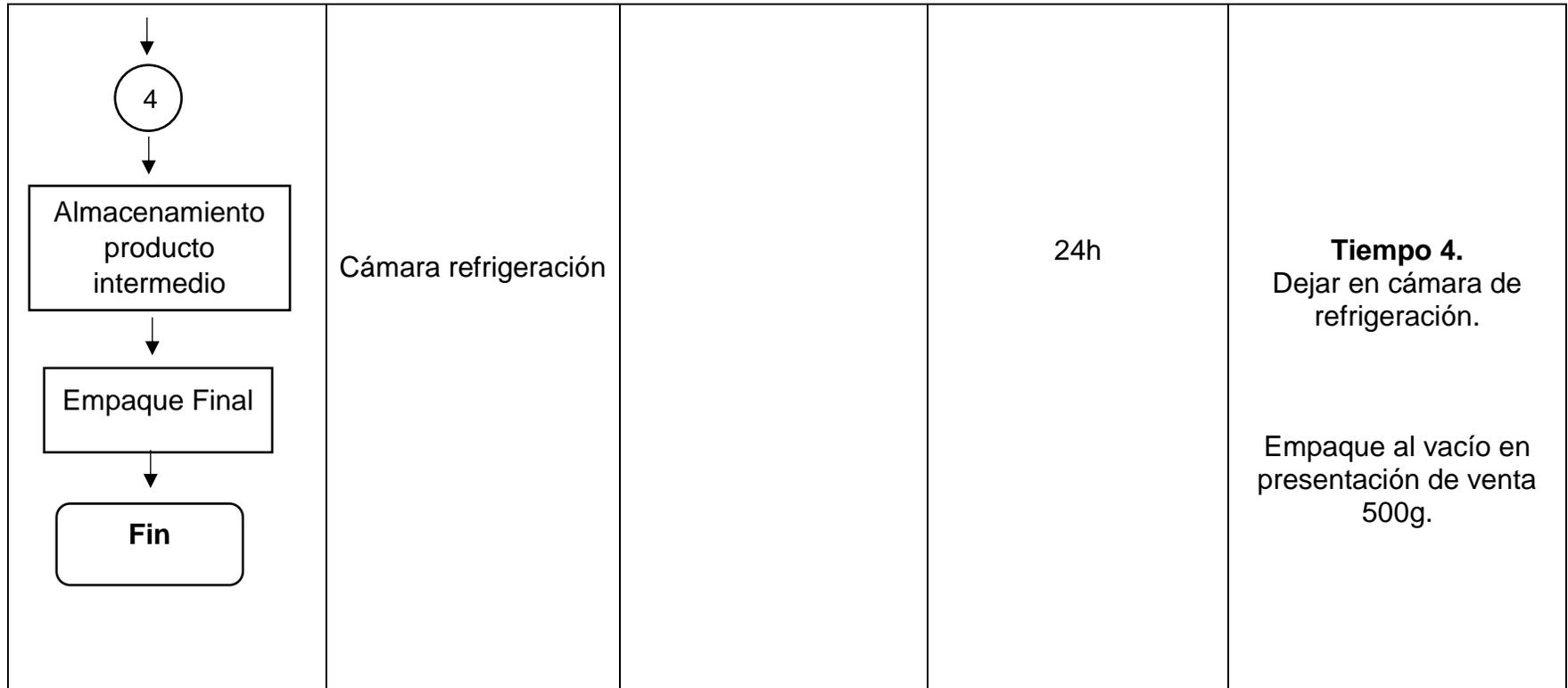
Apéndice 1. Flujo de proceso T-30

Operación	Equipo	Agitación	Temperatura - Tiempo	Otros Parámetros
<pre> graph TD Inicio([Inicio]) --> Recepcion[Recepción de materia prima] Recepcion --> Estandarizacion[Estandarización de la leche] Estandarizacion --> Pasteurizacion[Pasteurización] Pasteurizacion --> Llenado[Llenado de tinas] Llenado --> 1((1)) 1 --> Arrow[] style Arrow fill:none,stroke:none </pre>	<p>Descremadora</p> <p>Pasteurizador</p> <p>Tina</p>	<p>Hasta alcanzar temperatura.</p>	<p>T.77°C, t.15 s</p> <p>T.37°C</p>	<p>Leche 4°C.</p> <p>2% de grasa</p> <p>Pasteurización rápida</p>

<pre> graph TD Start((1)) --> A[Adición de Cloruro de Calcio (0.02%)] A --> B[Adición de Transglutaminasa] B --> C[Reposo] C --> D[Adición del Cuajo (0.005%)] D --> E[Reposo de Cuajo] E --> End((2)) </pre>	<p>Agitador mecánico</p>	<p>Mezclar durante la adición.</p> <p>Mezclar durante la adición.</p>	<p>T.37°C</p> <p>t. 30min</p> <p>T.37°C</p> <p>t. 30min</p>	<p>Disolver en un recipiente plástico con agua a temperatura ambiente</p> <p>Adicionar la Transglutaminasa 0.3g/L.</p> <p>Tiempo 1. Dejar reposar sin agitación.</p> <p>Tiempo 2. Dejar reposar sin agitación.</p>
---	--------------------------	---	---	--

<pre> graph TD 2((2)) --> A[Corte de la cuajada] A --> B[Reposo] B --> C[Agitación] C --> D[Reposo] D --> E[Desuerado] E --> 3((3)) </pre>	<p>Corte Lira (1cm x 1cm)</p> <p>Agitador mecánico</p>		<p>t. 5min</p> <p>t. 15min</p> <p>t.5min</p>	<p>Realizar la prueba de corte de cuchillo hasta observar una textura lisa y uniforme</p> <p>Tiempo 3. Dejar reposar sin agitación.</p> <p>Tiempo 4. Dejar reposar sin agitación</p> <p>Hasta alcanzar nivel de cuajada.</p>
--	--	--	--	--





Descripción del proceso T-30

1. **Recepción de materia prima:** Se realiza análisis de células somáticas a la leche. Después de ser aprobada por el departamento de aseguramiento de calidad, se procede a transportar la leche a los silos de almacenamiento de leche cruda.
2. **Estandarización de la leche:** Ajustar el contenido de grasa en la leche al 2%. El 50% de la leche se descrema al 0% de grasa, el restante 50% se utiliza entera para lograr una mezcla final al 2% de grasa.
3. **Pasteurización:** Calentar la leche a 77°C y mantenerla por 15s. Los tiempos y las temperaturas se deben aplicar estrictamente:
 - A temperaturas mayores puede darse una desestabilización de la proteína, que ocasiona dificultad para cuajar y pérdida de rendimiento.
 - Si las temperaturas y tiempos son menores no se asegura la reducción adecuada de la carga microbiana.
4. **Llenado de Tinas:** Llenar las tinas con la leche de 36 a 38°C hasta alcanzar la capacidad máxima (6,000L).
5. **Adición del Cloruro de Calcio:** Disolver el calcio al 0,02% previamente en agua a temperatura ambiente en un envase de plástico resistente al calor y disolverlo uniformemente en la totalidad de la leche.
6. **Adición de la TG:** Agregar la enzima TG a una temperatura de 37°C y mezclar para su distribución uniforme.
7. **Reposo:** Dejar actuar la enzima durante 30 minutos en estado de reposo.
8. **Adición del Cuajo:** Adicionar el cuajo al 0.005% y mezclar vigorosamente para distribuirlo en toda la leche.
9. **Reposo del cuajo:** Dejar actuar en reposo durante 30 minutos.
10. **Corte de la cuajada:** Cortar la cuajada de forma homogénea utilizando una lira con paleta mecánica de acero inoxidable de 2cm x 2cm a través del

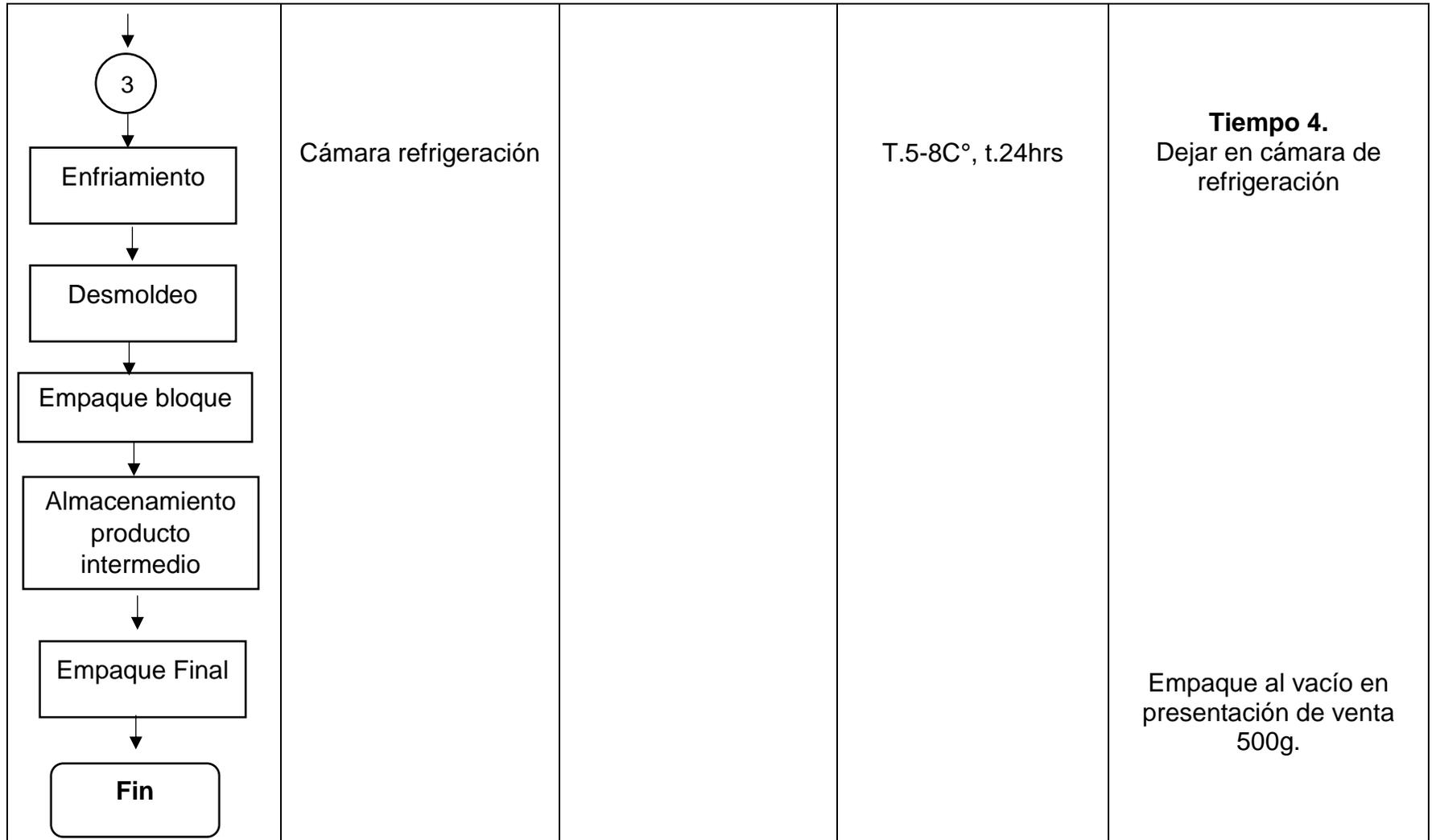
tanque. El corte dependerá de la dimensión del grano de cuajada que se desea.

- 11. Reposo:** Dejar reposar la cuajada durante 5 minutos.
- 12. Agitación:** Posteriormente se agita suavemente por 15 minutos utilizando una paleta mecánica de acero inoxidable. El agitado de la cuajada no debe ser muy fuerte ni rápido para evitar pérdidas en el rendimiento.
- 13. Reposo:** Dejar reposar por 5 minutos, para que el suero se libere lentamente de la cuajada.
- 14. Desuerado:** Desuerar a nivel de cuajada, aproximadamente un 75% con respecto al contenido total. La coloración del suero debe ser amarillo-verdoso.
- 15. Salado:** Mezclar la sal con el suero a nivel de cuajada. La cantidad de sal se calcula sobre la cantidad de leche inicial y se utiliza el 2%.
- 16. Moldeado:** Colocar la cuajada en los moldes. Realizar el moldeo, dejar reposar 15 min para lograr la mayor extracción del suero.
- 17. Prensado:** Prensar los moldes con una prensa hidráulica vertical a 60 psi durante 25 minutos.
- 18. Enfriamiento:** Colocar el queso todavía en los moldes en un cuarto frío por 24h a una temperatura entre -2 - 5°C.
- 19. Desmoldeo:** Retirar la tapa del molde y extraer el bloque de queso.
- 20. Empaque bloque:** Pesar los bloques de queso para determinar el rendimiento. Empacar en bolsa de polietileno transparente, dejar refrigerar por 24h.
- 21. Almacenamiento producto intermedio:** Se almacena de 2-5 °C en la cámara de queso fresco para ser posteriormente empacado.
- 22. Empaque final:** El Bloque se utiliza como producto intermedio, para cortar y empacar en diferentes presentaciones.

Apéndice 2. Flujo de proceso T₀

Operación	Equipo	Agitación	Temperatura – Tiempo	Otros Parámetros
<pre> graph TD Inicio([Inicio]) --> Recepcion[Recepción de materia prima] Recepcion --> Estandarizacion[Estandarización de la leche] Estandarizacion --> Pasteurizacion[Pasteurización] Pasteurizacion --> Llenado[Llenado de tinas] Llenado --> 1((1)) 1 --> Arrow[↓] </pre>	<p>Descremadora</p> <p>Pasteurizador</p> <p>Tina</p>	<p>Hasta alcanzar temperatura.</p>	<p>T.77°C, t.15 s</p> <p>T.37°C</p>	<p>Leche 4°C.</p> <p>2% de grasa</p> <p>Pasteurización rápida</p>

<pre> graph TD Start((1)) --> A[Adición de Cloruro de Calcio (0.02%)] A --> B[Adición de Transglutaminasa y cuajo (0.005%)] B --> C[Reposo de Cuajo] C --> D[Corte de la cuajada] D --> E[Reposo] E --> End((2)) </pre>	<p>Agitador mecánico</p> <p>Agitador mecánico</p> <p>Corte Lira (1cm x 1cm)</p>	<p>Mezclar durante la adición.</p> <p>Mezclar durante la adición.</p>	<p>T.37°C</p> <p>T.37°C</p> <p>t. 30min</p> <p>t. 5min</p>	<p>Disolver en un recipiente plástico con agua a temperatura ambiente</p> <p>Adicionar la TG 0.3g/L.</p> <p>Tiempo 1. Dejar reposar sin agitación.</p> <p>Realizar la prueba de corte de cuchillo hasta observar una textura lisa y uniforme</p> <p>Tiempo 2. Dejar reposar sin agitación.</p>
---	---	---	--	--



Descripción del proceso T₀

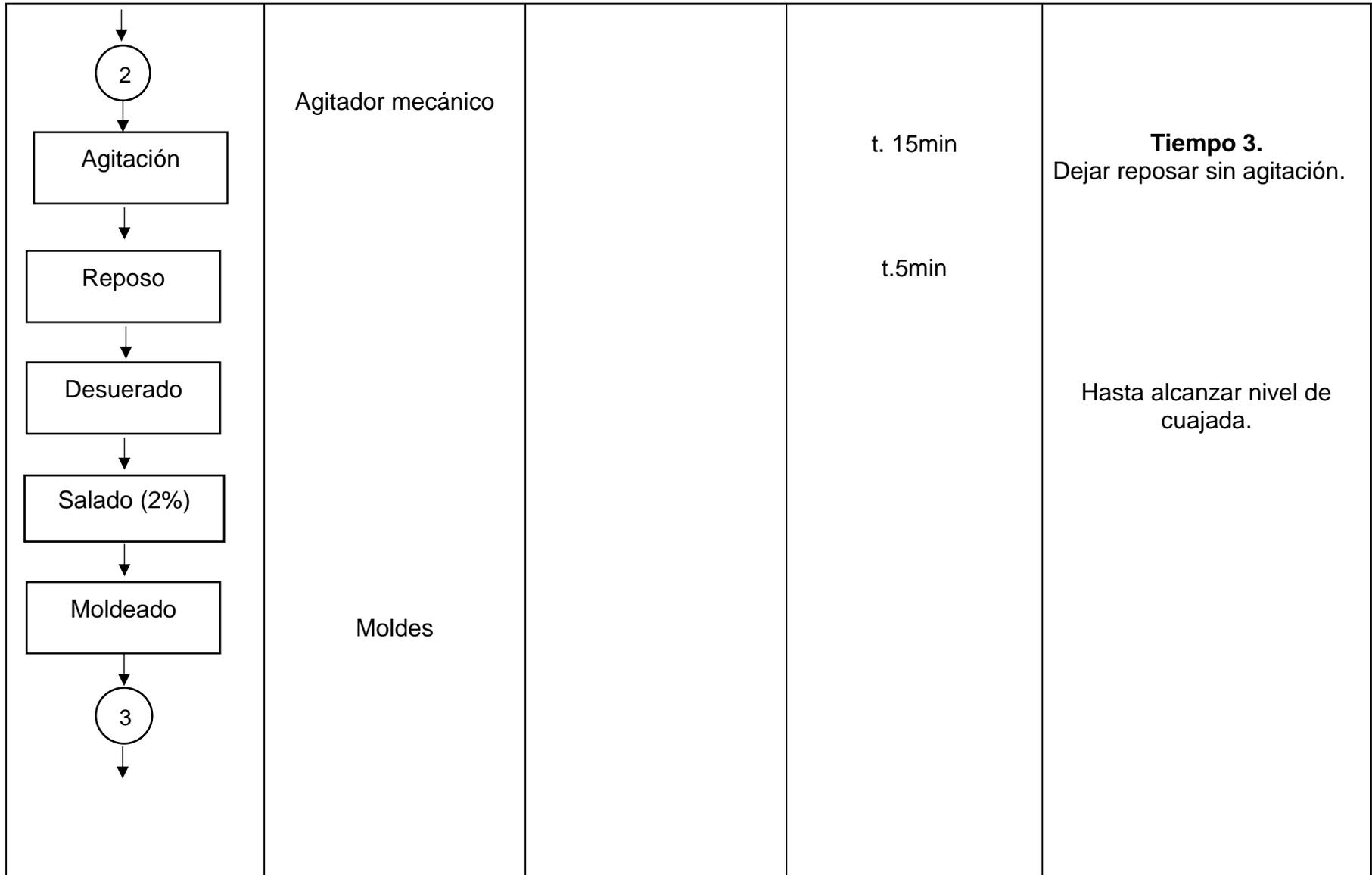
- 1. Recepción de materia prima:** Se realiza análisis de células somáticas a la leche. Después de ser aprobada por el departamento de aseguramiento de calidad se procede a transportar la leche a los silos de almacenamiento de leche cruda.
- 2. Estandarización de la leche:** Ajustar el contenido de grasa en la leche al 2%. El 50% de la leche se descrema al 0% de grasa, el restante 50% se utiliza entera para lograr una mezcla final al 2% de grasa.
- 3. Pasteurización:** Calentar la leche a 77°C y mantenerla por 15 segundos. Los tiempos y las temperaturas se deben aplicar estrictamente:
 - A temperaturas mayores puede darse una desestabilización de la proteína y ocasionar dificultad para cuajar y pérdida de rendimiento.
 - Si las temperaturas y tiempos son menores no se asegura la reducción adecuada de la carga microbiana.
- 4. Llenado de Tinas:** Llenar las tinas con la leche de 36 a 38°C hasta alcanzar la capacidad máxima (6,000L).
- 5. Adición del Cloruro de Calcio:** Disolver el calcio al 0,02% previamente en agua a temperatura ambiente en un envase de plástico resistente al calor y disolverlo uniformemente en la totalidad de la leche.
- 6. Adición de la TG:** Agregar la enzima TG a una temperatura de 37°C y mezclar para su distribución uniforme.
- 7. Adición del Cuajo:** Adicionar el cuajo al 0.005% y mezclar vigorosamente para distribuirlo en toda la leche.
- 8. Reposo del cuajo:** Dejar actuar en reposo durante 30 minutos.
- 9. Corte de la cuajada:** Cortar la cuajada de forma homogénea utilizando una lira con paleta mecánica de acero inoxidable de 2cm x 2cm a través del

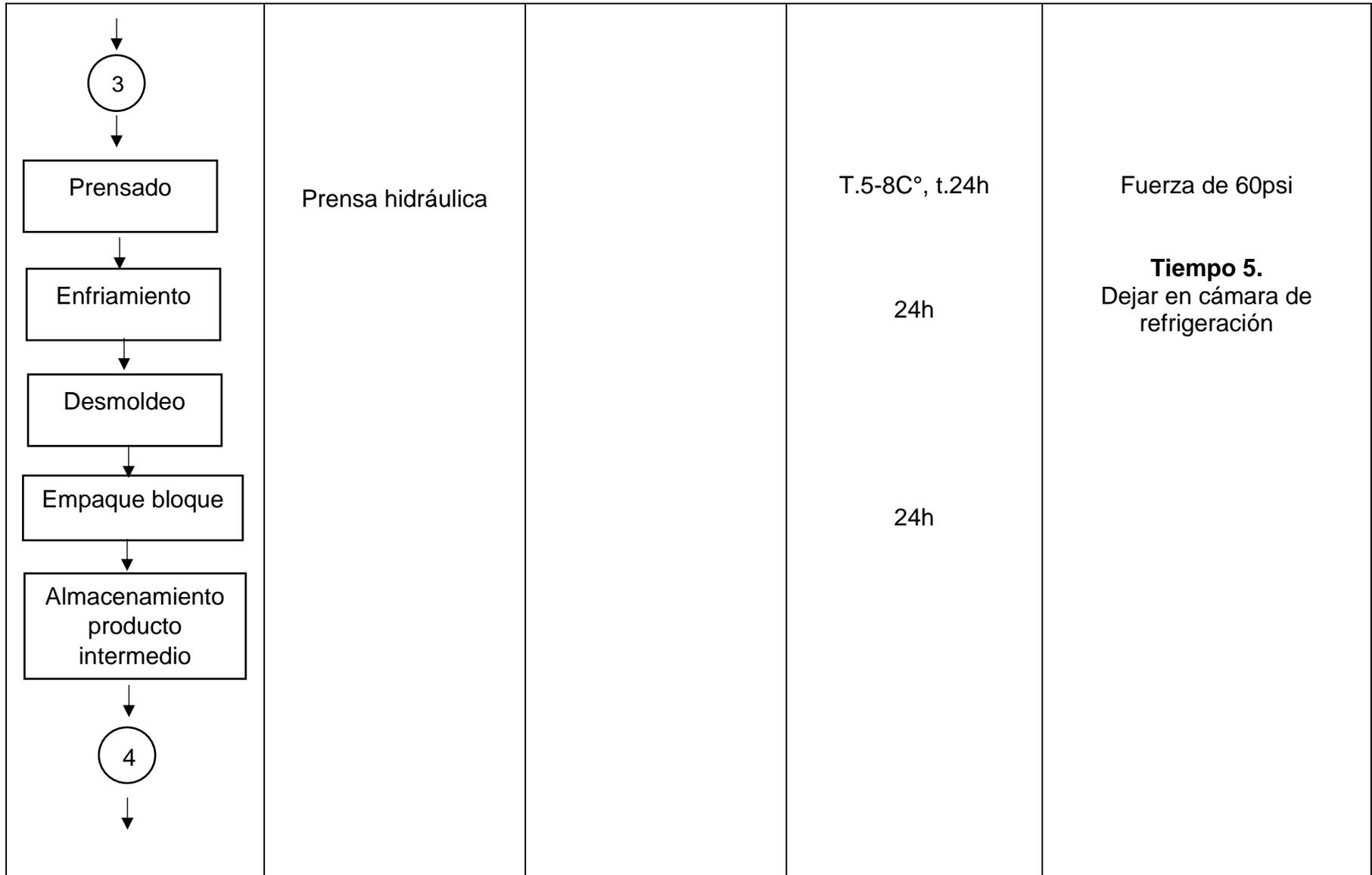
tanque. El corte dependerá de la dimensión del grano de cuajada que se desea.

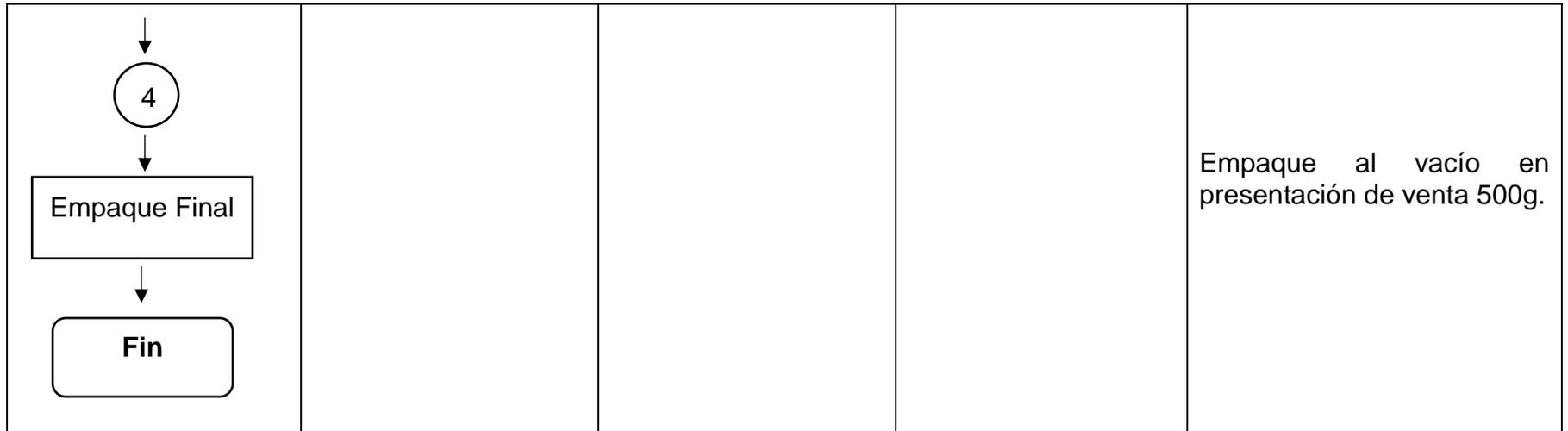
- 10. Reposo:** Dejar reposar la cuajada durante 5 minutos.
- 11. Agitación:** Posteriormente se agita suavemente por 15 minutos utilizando una paleta mecánica de acero inoxidable. El agitado de la cuajada no debe ser muy fuerte ni rápido para evitar pérdidas en el rendimiento.
- 12. Reposo:** Dejar reposar por 5 minutos, para que el suero se libere lentamente de la cuajada.
- 13. Desuerado:** Desuerar a nivel de cuajada, aproximadamente un 75% con respecto al contenido total. La coloración del suero debe ser amarillo-verdoso.
- 14. Salado:** Mezclar la sal con el suero a nivel de cuajada. La cantidad de sal se calcula sobre la cantidad de leche inicial y se utiliza el 2%.
- 15. Moldeado:** Colocar la cuajada en los moldes. Realizar el moldeo, dejar reposar 15 min para lograr la mayor extracción del suero.
- 16. Prensado:** Prensar los moldes con una prensa hidráulica vertical a 60 psi durante 25 minutos.
- 17. Enfriamiento:** Colocar el queso todavía en los moldes en un cuarto frío por 24h a una temperatura entre -2 - 5°C.
- 18. Desmoldeo:** Retirar la tapa del molde y extraer el bloque de queso.
- 19. Empaque bloque:** Pesar los bloques de queso para determinar el rendimiento. Empacar en bolsa de polietileno transparente, dejar refrigerar por 24h.
- 20. Almacenamiento producto intermedio:** Se almacena de 2-5 °C en la cámara de queso fresco para ser posteriormente empacado.
- 21. Empaque final:** El Bloque se utiliza como producto intermedio, para cortar y empacar en diferentes presentaciones.

Apéndice 3. Flujo de proceso del Queso patrón

Operación	Equipo	Agitación	Temperatura – Tiempo	Otros Parámetros
<pre> graph TD Inicio([Inicio]) --> Recepcion[Recepción de materia prima] Recepcion --> Estandarizacion[Estandarización de la leche] Estandarizacion --> Pasteurizacion[Pasteurización] Pasteurizacion --> Llenado[Llenado de tinajas] Llenado --> 1((1)) 1 --> Arrow[] style Arrow fill:none,stroke:none </pre>	<p>Descremadora</p> <p>Pasteurizador</p> <p>Tina</p>	<p>Hasta alcanzar temperatura.</p>	<p>T.77°C, t.15 s</p> <p>T.37°C</p>	<p>Leche 4°C.</p> <p>2% de grasa</p> <p>Pasteurización rápida</p>







Descripción del proceso queso patrón

- 1. Recepción de materia prima:** Se realiza análisis de células somáticas a la leche. Después de ser aprobada por el departamento de aseguramiento de calidad se procede a transportar la leche a los silos de almacenamiento de leche cruda.
- 2. Estandarización de la leche:** Ajustar el contenido de grasa en la leche al 2%. El 50% de la leche se descrema al 0% de grasa, el restante 50% se utiliza entera para lograr una mezcla final al 2% de grasa.
- 3. Pasteurización:** Calentar la leche a 77°C y mantenerla por 15s. Los tiempos y las temperaturas se deben aplicar estrictamente:
 - A temperaturas mayores puede darse una desestabilización de la proteína y ocasionar dificultad para cuajar y pérdida de rendimiento.
 - Si las temperaturas y tiempos son menores no se asegura la reducción adecuada de la carga microbiana.
- 4. Llenado de Tinajas:** Llenar las tinajas con la leche de 36 a 38°C hasta alcanzar la capacidad máxima (6,000L).
- 5. Adición del Cloruro de Calcio:** Disolver el calcio al 0,02% previamente en agua a temperatura ambiente en un envase de plástico resistente al calor y disolverlo uniformemente en la totalidad de la leche.
- 6. Adición del Cuajo:** Adicionar el cuajo al 0.005% y mezclar vigorosamente para distribuirlo en toda la leche.
- 7. Reposo del cuajo:** Dejar actuar en reposo durante 30 minutos.
- 8. Corte de la cuajada:** Cortar la cuajada de forma homogénea utilizando una lira con paleta mecánica de acero inoxidable de 2cm x 2cm a través del tanque. El corte dependerá de la dimensión del grano de cuajada que se desea.
- 9. Reposo:** Dejar reposar la cuajada durante 5 minutos.

- 10. Agitación:** Posteriormente se agita suavemente por 15 minutos utilizando una paleta mecánica de acero inoxidable. El agitado de la cuajada no debe ser muy fuerte ni rápido para evitar pérdidas en el rendimiento.
- 11. Reposo:** Dejar reposar por 5 minutos, para que el suero se libere lentamente de la cuajada.
- 12. Desuerado:** Desuerar a nivel de cuajada, aproximadamente un 75% con respecto al contenido total. La coloración del suero debe ser amarillo-verdoso.
- 13. Salado:** Mezclar la sal con el suero a nivel de cuajada. La cantidad de sal se calcula sobre la cantidad de leche inicial y se utiliza el 2%.
- 14. Moldeado:** Colocar la cuajada en los moldes. Realizar el moldeo, dejar reposar 15 min para lograr la mayor extracción del suero.
- 15. Prensado:** Prensar los moldes con una prensa hidráulica vertical a 60 psi durante 25 minutos.
- 16. Enfriamiento:** Colocar el queso todavía en los moldes en un cuarto frío por 24h a una temperatura entre -2 - 5°C.
- 17. Desmoldeo:** Retirar la tapa del molde y extraer el bloque de queso.
- 18. Empaque bloque:** Pesar los bloques de queso para determinar el rendimiento. Empacar en bolsa de polietileno transparente, dejar refrigerar por 24h.
- 19. Almacenamiento producto intermedio:** Se almacena de 2-5 °C en la cámara de queso fresco para ser posteriormente empacado.
- 20. Empaque final:** El Bloque se utiliza como producto intermedio, para cortar y empacar en diferentes presentaciones.

IX. ANEXOS

Anexo 1.

Prueba de detección rápida de células somáticas

Anexo 2.

Cloruro de calcio granular Álcali al 93%

Anexo 3.

Enzima transglutaminasa Probind CH BDF ingredients

Anexo 4.

Coagulante de quimosina CHY-MAX M 1000 CHR Hansen

Anexo 5.

Instrumento y desarrollo de las etapas del proceso

Figura 1. Equipo LactoStar para determinación de proteína y grasa en la leche



Figura 2. Agitación lenta de la cuajada con paleta mecánica de acero inoxidable



Figura 3. Desuerado a nivel de cuajada y formación manual de los bloques de queso



Figura 4. Prensado hidráulico



Figura 5. Refrigeración de los bloques de queso



Anexo 6.**FORMULARIO DE AUTORIZACIÓN
DE LA EMPRESA PARA LA PUBLICACIÓN DE DATOS**

Yo Marlon Gerardo Rodríguez Rodríguez, con cédula de identidad 109290805, en calidad de Gerente General de la Cooperativa de Servicios Múltiples de Santa Rosa de Alfaro Ruiz, Coopebrisas R.L, autorizo para que el Trabajo Final de Graduación titulado: *“Efecto de la adición de la enzima transglutaminasa en el rendimiento del queso fresco semiduro”* para optar al grado de Licenciatura en Tecnología de alimentos, elaborado por las estudiantes: Yuliana María Rodríguez Bolaños, con cédula: 206660615 y Dayana María Vargas López, con cédula: 20705335, sea presentado a la Universidad Técnica Nacional, Sede de Atenas.

Asimismo, autorizo para que se realice la publicación de esta investigación, tanto impresa como a través de la página Web de dicha unidad para fines académicos y no lucrativos, sin perjuicio de la observancia del régimen de derechos de autor y del principio de confiabilidad acordado entre ambas partes.

Agradeciendo la oportunidad de brindar un aporte al desarrollo académico y profesional de la comunidad universitaria en nombre de mi representada firmo en Zarceros a los _____ días del mes de _____ de 2016.

Atentamente,

SELLO U.A

Marlon Gerardo Rodríguez Rodríguez

Cooperativa Coopebrisas R.L

Anexo 7.**FORMULARIO DE AUTORIZACIÓN
DE USO PÚBLICO DE LA INFORMACIÓN**

Las suscritas Yuliana Rodríguez Bolaños, cédula 2-0666-0615 y Dayana Vargas López, cédula 2-0705-0335, estudiantes de la carrera de Tecnología de Alimentos, autorizamos para que nuestro Trabajo Final de Graduación titulado: “Efecto de la adición de la enzima transglutaminasa en el rendimiento del queso fresco semiduro” para optar al grado de Licenciatura en Tecnología de Alimentos, sea donado a la Biblioteca de la Universidad Técnica Nacional, Sede de Atenas.

Asimismo, hacemos entrega de una copia en formato impreso y en digital, el cual funcionará como respaldo de la información.

Finalmente, autorizamos a la Biblioteca de la UTN, Sede de Atenas, para que realice la publicación de esta investigación, a través de la página Web de dicha unidad para fines académicos y no lucrativos, sin perjuicio de la observancia del régimen de derechos de autor.

Firmamos en Atenas a los dieciséis días del mes de septiembre de 2016.

Atentamente,

Yuliana María Rodríguez Bolaños
Cédula 2-0666-0615

Dayana María Vargas López
Cédula 2-0705-0335

Ing. Ana María Bárcenas
Directora Licenciatura en Tecnología de Alimentos
UTN, Sede de Atenas

SELLO U.A.

Palmares, 31 de agosto, 2016

Señores
Universidad Técnica Nacional
Sede Atenas
Área de tecnología
Ingeniería en tecnología de alimentos

Respetables señores

Las estudiantes, Rodríguez Bolaños Yuliana y Vargas López Dayana, alumnas regulares de este Centro de Enseñanza Universitaria, me han presentado para la revisión de estilo, el trabajo final de graduación denominado:

“EFECTO DE LA ADICIÓN DE LA ENZIMA TRANSGLUTAMINASA EN EL RENDIMIENTO DEL QUESO FRESCO SEMIDURO”.

He revisado y corregido los aspectos referentes a estructura gramatical, acentuación, ortografía, puntuación, vicios de dicción que se trasladan al escrito y comprobado que se han incorporado las correcciones al presente documento.

Hago constar que este se encuentra listo para ser presentado a la Universidad Técnica Nacional, como trabajo de graduación para optar por el grado académico de *Licenciatura en Ingeniería en Tecnología de alimentos*.

Dado en Palmares, Alajuela, a los treinta y un días del mes de agosto del año dos mil dieciséis.



Lic. Filadelfo Sancho Ramírez
Filólogo Lingüista, UCR
Carné del COLYPRO 4993
Céd. 2 289 1023
Tel. 24 53 26 97 Cel. 85 94 28 13
Correo: filologo20@gmail.com

Sello

Este documento solamente es válido con la firma original del filólogo (tinta azul) y el sello blanco (relieve)