

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI



FACULTAD DE INDUSTRIAS AGROPECUARIAS Y CIENCIAS AMBIENTALES

CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

Tema: “Extracción de la enzima papaína presente en el chilacuan (*Vasconcellea pubescens*) como alternativa de cuajo vegetal”

Trabajo de titulación previa la obtención del título de Ingeniero en Alimentos

AUTOR: Arellano Tobar Jefferson Vladimir.

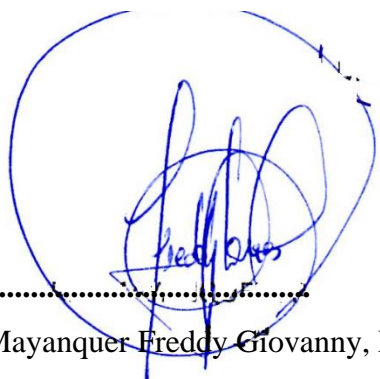
TUTOR: Torres Mayanquer Freddy Giovanny, MSc.

TULCÁN, 2019

CERTIFICADO JURADO EXAMINADOR

Certificamos que el estudiante Jefferson Vladimir Arellano Tobar con el número de cédula 0402053359 ha elaborado el trabajo de titulación: “Extracción de la enzima papaína presente en el chilacuan (*Vasconcellea pubescens*) como alternativa de cuajo vegetal”

Este trabajo se sujeta a las normas y metodología dispuesta en el Reglamento de Titulación, Sustentación e Incorporación de la UPEC, por lo tanto, autorizamos la presentación de la sustentación para la calificación respectiva.



f.....

Torres Mayanquer Freddy Giovanni, MSc.

TUTOR



f.....

Yambay Vallejo Wilman Jenny, Dra.

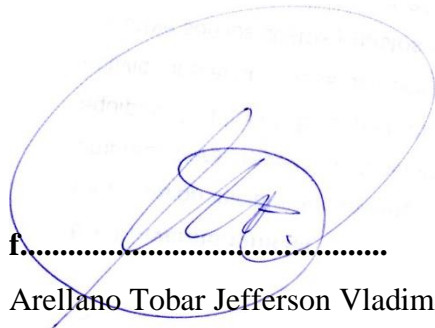
LECTOR

Tulcán, septiembre de 2019

AUTORÍA DE TRABAJO

El presente trabajo de titulación constituye un requisito previo para la obtención del título de Ingeniero en Alimentos de la Facultad de Industrias Agropecuarias y Ciencias Ambientales.

Yo, Jefferson Vladimir Arellano Tobar con cédula de identidad número 0402053359 declaro: que la investigación es absolutamente original, auténtica, personal. Los resultados y conclusiones a los que he llegado son de mi absoluta responsabilidad.



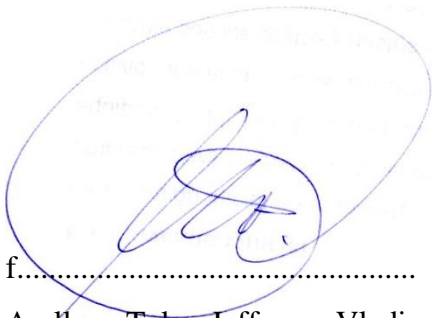
.....

Arellano Tobar Jefferson Vladimir
AUTOR

Tulcán, septiembre de 2019

ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Jefferson Vladimir Arellano Tobar declaro ser autor de los criterios emitidos en el trabajo de investigación: “Extracción de la enzima papaína presente en el chilacuan (*Vasconcellea pubescens*) como alternativa de cuajo vegetal” y eximo expresamente a la Universidad Politécnica Estatal del Carchi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.



f.....

Arellano Tobar Jefferson Vladimir

AUTOR

Tulcán, septiembre de 2019

AGRADECIMIENTO

Agradezco de manera especial a Dios por darme fuerza, que fue necesaria para terminar la carrera universitaria.

A los docentes y demás personal administrativo de la carrera que me supieron brindar su apoyo incondicional en diferentes momentos de la vida estudiantil.

Un agradecimiento especial al tutor de la tesis Msc. Freddy Torres y también a la lectora Dra. Jenny Yambay, gracias por guiar y aportar conocimiento a mi proyecto de tesis de grado. También agradezco de manera especial al MSc. Miguel Anchundia por aportar su paciencia y conocimiento a mi investigación. Mil gracias....

A todos mis amigos que también fueron apoyo fundamental en el desarrollo de mi proyecto de tesis de grado.

DEDICATORIA

A Dios, por haberme dado las fuerzas necesarias para culminar este sueño el de una carrera, porque a pesar de todos los inconvenientes habidos, él supo guiar mi camino de coraje y valor.

Quiero dejar también testimonio de infinita gratitud a mis Madres, por ser mi soporte principal en todo este tiempo, llenándome de aspiración y esperanza. A ellas les debo lo que soy, pese a muchos inconvenientes que se presentaron durante toda mi vida supieron aconsejarme y llenarme de coraje para siempre salir adelante, especialmente en toda mi vida estudiantil, la presente se los dedico de todo corazón.

A todas las personas que forman parte de mi vida y que han aportado un granito de arena a mi vida y a mi carrera universitaria, gracias por siempre aconsejarme y estar presentes en los momentos difíciles y de alegría, de igual manera a mis compañeras las cuales se han convertido en mi segunda familia.

A mis entrañables hermanos por las fuerzas que me dieron cuando me veían desfallecer.

Esfuerzo, constancia y perseverancia fueron mis aliados para la lucha y llegar a culminar la meta más preciada de la vida, un escalón más, nunca desmaye y este es el ejemplo de lo que todo ser humano puede hacer de acuerdo a la superación personal y profesional, de esta manera se puede llegar alcanzar cultivando la persistencia y el amor por todo lo que haces y que verdaderamente importa.

ÍNDICE

CERTIFICADO JURADO EXAMINADOR	3
AUTORÍA DE TRABAJO	4
ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	5
AGRADECIMIENTO	6
DEDICATORIA	7
RESUMEN.....	16
ABSTRACT.....	17
INTRODUCCIÓN	18
I. PROBLEMA.....	20
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	20
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	21
1.3. JUSTIFICACIÓN	21
1.4. OBJETIVOS Y PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	22
1.4.1. Objetivo General.....	22
1.4.2. Objetivos Específicos	22
1.4.3. Preguntas de Investigación	22
II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	24
2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS	24
2.2. MARCO TEÓRICO.....	26
2.2.1. El Chilacuan (<i>Vasconcellea pubescens</i>).....	26
2.2.2.1. Origen del Chilacuan.....	26
2.2.1.2. Taxonomía.....	27
2.2.1.3. Características morfológicas generales de la familia Caricaceae presente en el Ecuador	28
2.2.1.4. Denominación.....	28
2.2.1.5. Zonas de cultivo de chilacuan en el Ecuador.....	29

2.2.1.6. Usos y aplicaciones	29
2.2.1.7. Tiempo de vida útil y medidas de almacenamiento del fruto.....	29
2.2.1.8. Valor nutricional	30
2.2.2. Cuajo vegetal.....	31
2.2.2.1. Función del cuajo vegetal.....	32
2.2.2.2. Látex.....	32
2.2.2.3. Liofilización	32
2.2.2.3.1. Proceso de la liofilización	33
2.2.2.3.2. Desventaja	33
2.2.2.4. Ventajas de uso de cuajo vegetal.....	34
2.2.2.5. Propiedades de coagulación	34
2.2.2.6. Enzimas	35
2.2.2.6.1. Estructura de las enzimas	35
2.2.2.6.2. Tipos de enzimas.....	35
2.2.2.7. Coagulantes de origen vegetal.....	37
2.2.2.8. Enzimas presentes en el látex de chilacuan.....	37
2.2.2.9. Precipitación de la caseína por enzimas	38
2.2.2.10. Papaína	38
2.2.2.11. Obtención del cuajo.....	38
III. METODOLOGÍA.....	39
3.1. ENFOQUE METODOLÓGICO	39
3.1.1. Enfoque	39
3.1.2. Tipo de Investigación	39
3.2. HIPÓTESIS	40
3.3. DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	41
3.4. MÉTODOS UTILIZADOS	42

3.4.1. Materia prima.....	42
3.4. 2. Caracterización biométrica y física del chilacuan	42
3.4.3. Procedimiento de extracción de látex del fruto chilacuan	42
3.4.3.1. Recepción y tratamiento de frutos	42
3.4.3.3. Extracción del látex de chilacuan	42
3.4.4. Precipitación y desalinización de la enzima	42
3.4.5. Acondicionamiento y liofilizado del látex.....	43
3.4.6. Procedimiento para determinar la actividad enzimática por el método coagulación de la leche (Halls y Haber)	43
3.4.6.1. Método coagulación de la leche (Halls y Haber).....	43
3.4.7. Procedimientos para establecer los parámetros físicos y químicos de la enzima papaína.	44
3.4.7.1. Determinación del pH - método potenciómetro	44
3.4.7.2. Determinación de sólidos solubles totales (Refractómetro)	44
3.4.7.3. Determinación del porcentaje de humedad - método analizador automático de humedad.....	44
3.4.7.4. Determinación del porcentaje de cenizas	44
3.4.7.5. Determinación del porcentaje de Acidez titulable.....	44
3.4.8. Procedimiento para la elaboración de queso fresco prensado	45
3.4.9. Descripción del proceso de elaboración de queso fresco prensado	47
3.4.9.1. Recepción	47
3.4.9.2. Filtración.....	47
3.4.9.3. Pasteurización	47
3.4.9.4. Enfriamiento	48
3.4.9.5. Adición de Cloruro de calcio.....	48
3.4.9.6. Adición del Cuajo	48

3.4.9.7. Coagulación.....	48
3.4.9.8. Corte de la cuajada	48
3.4.9.9. Reposo	48
3.4.9.10. Batido	48
3.4.9.11. Desuerado.....	48
3.4.9.12. Salado	49
3.4.9.13. Moldeado.....	49
3.4.9.14. Prensado	49
3.4.9.15. Empacado.....	49
3.4.9.16. Almacenamiento.....	49
3.5. Procedimiento para establecer los parámetros físicos y químicos del queso fresco prensado	49
3.5.1. Determinación del porcentaje de humedad - método automático mediante una estufa.....	49
3.5.2. Determinación del porcentaje de cenizas	50
3.5.3. Determinación del porcentaje de Acidez titulable	50
3.5.4. Determinación del pH - método potenciómetro	51
3.5.5. Determinación de grasa aplicando el método GERBER.....	51
3.5.6. Determinación de proteína aplicando el método Kjeldahl.	51
3.5.6.1. Preparación de la muestra	51
3.5.6.2. Digestión	52
3.5.6.3. Destilación.....	52
3.5.6.4. Valoración y cálculo.....	52
3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	52
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	54
4.1 RESULTADOS.....	54
4.1.1. Características biométricas y físicas del fruto Chilacuan (<i>Vasconcellea pubescens</i>) ..	54

4.1.2. Purificación de la enzima papaína presente en el Chilacuan (<i>Vasconcellea pubescens</i>)	54
4.1.3. Actividad enzimática	55
4.1.4. Caracterización fisicoquímica de la enzima papaína obtenida del chilacuan	55
4.1.5. Elaboración de queso fresco utilizando cuajo vegetal	56
4.1.6. Evaluación sensorial del queso prensado	56
4.1.7. Características fisicoquímicas del queso fresco prensado	57
4.2. DISCUSIÓN	57
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	59
5.1. CONCLUSIONES	59
5.2. RECOMENDACIONES	60
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
VII. ANEXOS	66

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica del género <i>Vasconcella</i>	27
Tabla 2. Características morfológicas de la familia Caricaceae presente en el Ecuador.....	28
Tabla 3. Composición bioquímica del chilacuan.....	30
Tabla 4. Tipos de enzimas	36
Tabla 5. Definición y Operalización de variables.	41
Tabla 6. Características biométricas del Chilacuan (<i>Vasconcella pubescens</i>)	54
Tabla 7. Composición porcentual del fruto Chilacuan (<i>Vasconcella pubescens</i>).....	54
Tabla 8. Purificación de la enzima presente en el Chilacuan (<i>Vasconcella pubescens</i>).....	55
Tabla 9. Actividad enzimática	55
Tabla 10. Parámetros fisicoquímicos de la enzima papaína.....	55
Tabla 11. Formulación para la elaboración de queso fresco prensado.....	56
Tabla 12. Evaluación sensorial del queso fresco prensado	56
Tabla 13. Resultados del análisis proximal del queso fresco prensado.....	57
Tabla 14. Caracterización biométrica del chilacuan (<i>Vasconcella pubescens</i>)	66
Tabla 15. Composición porcentual del fruto chilacuan (<i>Vasconcella pubescens</i>)	69
Tabla 16. Análisis de varianza del atributo olor en los tres tratamientos de queso.....	85
Tabla 17. Medias obtenidas del atributo olor en los tres tratamientos de queso.	85
Tabla 18. Comparaciones en parejas de Tukey.	85
Tabla 19. Análisis de varianza del atributo color en los tres tratamientos de queso.	86
Tabla 20. Medias obtenidas del atributo color en los tres tratamientos de queso.	86
Tabla 21. Comparaciones en parejas de Tukey.	86
Tabla 22. Análisis de varianza del atributo textura en los tres tratamientos de queso.	87
Tabla 23. Medias obtenidas del atributo textura en los tres tratamientos de queso.	87
Tabla 24. Comparaciones en parejas de Tukey	87
Tabla 25. Análisis de varianza del atributo sabor en los tres tratamientos de queso.....	88
Tabla 26. Medias obtenidas del atributo sabor en los tres tratamientos de queso.	88
Tabla 27. Comparaciones en parejas de Tukey.	88

INDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1.</i> Chilacuan (<i>Vasconcellea pubescens</i>).....	26
<i>Figura 2.</i> Flujograma de la elaboración de queso fresco prensado	47
<i>Figura 3.</i> Árbol de chilacuan	74
<i>Figura 4.</i> Fruto (Chilacuan).....	74
<i>Figura 5.</i> Selección del Chilacuan.....	75
<i>Figura 6.</i> Caracterización biométrica del Chilacuan (largo)	75
<i>Figura 7.</i> Caracterización biométrica del chilacuan (ancho).....	76
<i>Figura 8.</i> Extracción del látex.....	76
<i>Figura 9.</i> Liofilizador	77
<i>Figura 10.</i> Centrifuga	77
<i>Figura 11.</i> Lavado de la enzima	78
<i>Figura 12.</i> Filtrado de la enzima.....	78
<i>Figura 13.</i> Triturado de la enzima liofilizada	79
<i>Figura 14.</i> Papaína liofilizada.....	79
<i>Figura 15.</i> Caracterización fisicoquímica del látex del chilacuan (cenizas)	80
<i>Figura 16.</i> Caracterización fisicoquímica del látex del chilacuan (°Brix)	80
<i>Figura 17.</i> Caracterización fisicoquímica del látex del chilacuan (pH)	81
<i>Figura 18.</i> Caracterización fisicoquímica del látex del chilacuan (Acidez titulable).....	81
<i>Figura 19.</i> Caracterización fisicoquímica del látex del chilacuan (humedad)	82
<i>Figura 20.</i> Activación enzimática.....	82
<i>Figura 21.</i> Separación de dos fases (Activación enzimática).....	83
<i>Figura 22.</i> Balanza analítica	83
<i>Figura 23.</i> Análisis de la leche (Ekomilk).....	84
<i>Figura 24.</i> Intervalos de olor vs tratamiento.....	85
<i>Figura 25.</i> Intervalos de color vs tratamiento.....	86
<i>Figura 26.</i> Intervalos de textura vs tratamiento.....	87
<i>Figura 27.</i> Intervalos de sabor vs tratamiento	88

INDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. Caracterización biométrica del Chilacuan.....	66
ANEXO 2. Hoja de evaluación sensorial.	72
ANEXO 3. Fotografías de la investigación.	74
ANEXO 4. Estadístico (Evaluación sensorial del queso fresco prensado).	85
ANEXO 5. Norma INEN 1528:87. Queso fresco (Requisitos).	89
ANEXO 6. Certificado o acta del Perfil de Investigación.....	93

RESUMEN

En esta investigación se trabajó con chilacuan (*Vasconcellea pubescens*), un fruto de poca industrialización que crece de forma silvestre en la región interandina del Ecuador. Al contener esta fruta una enzima proteolítica denominada papaína, fue motivo de estudio, especialmente como uso de cuajo en la industria láctea. Se realizó la recolección de la materia prima (chilacuan) en las zonas aledañas de la provincia del Carchi específicamente en la parroquia Santa Marta de Cuba, para después caracterizar biométricamente al fruto en donde se obtuvo un peso de 176,43 g; 9,55 x 6,31 cm de largo y ancho respectivamente, esta evaluación se realizó a 100 frutos, encontrándose un rendimiento de látex de 1,11 %. La investigación se centró en extraer la enzima del fruto antes mencionado para posteriormente purificarla con la adición de sustancias químicas como etanol, sulfato de amonio y cloruro de sodio. También se evaluaron las características fisicoquímicas de la misma, dando como resultado; humedad 14 %; pH 4,35; cenizas 8,73 %, acidez titulable 0,30 % y sólidos solubles totales de 6,67 °Brix respectivamente. Posteriormente, se realizó la actividad enzimática mediante el método de Halls y Haber, obteniendo como resultado un rango entre 251-257 Upe. Finalmente se comparó el poder coagulante de la enzima mediante la elaboración de quesos frescos prensados con cuajos (animal, vegetal, microbiano), con los cuales se realizó la evaluación sensorial en los atributos de sabor, color, olor y textura, y se evaluaron sus características fisicoquímicas, obteniendo humedades entre 60,58 y 61,40 %, grasa entre 15,33 y 18 %, pH entre 6,90 a 7,08, acidez 0,027 a 0,033 %, cenizas 2,38 a 2,86 %, y proteína 6,65 a 7,45 %, cuyos resultados se encontraron dentro de los rangos establecidos por la normativa INEN.

Palabras claves: Enzima, papaína, actividad enzimática, cuajo, caracterización biométrica.

ABSTRACT

In this research we worked with chilacuan (*Vasconcellea pubescens*), a fruit of little industrialization that grows wild in the inter-Andean region of Ecuador. This fruit was studied since it contains a proteolytic enzyme called papain; it was studied, especially as rennet in the dairy industry. The raw material (chilacuan) was collected in the surrounding areas of the province of Carchi specifically in the parish of Santa Marta de Cuba, and subsequently characterize the fruit biometrically, obtaining a weight of 176.43 g, and a size of 9.55 x 6.31 cm long and wide respectively, this assessment was made to 100 fruits, in terms of latex yield it was a 1.11%. The research focused on extracting the enzyme from the fruit mentioned above and then purifying it by adding of chemical substances such as ethanol, ammonium sulfate and sodium chloride, also the physical-chemical characteristics were evaluated, giving as a result; humidity 14 %; pH 4,35; ashes 8,73 %, titratable acidity 0,30 % and total solids of 6,67 °Brix respectively. Later, the enzymatic activity was carried out by means of the method of Halls y Haber obtaining as a result a value between 150-210 Upe. Finally the coagulant power of the enzyme was compared by elaboration of fresh cheeses pressed with rennet (animal, vegetable, microbial), the sensorial evaluation was made to the attributes of flavor, color, odor and texture, and their physical-chemical characteristics of the same were evaluated, obtaining humidity between (60,58 to 61,409) %, fat of (15,33 to 18) %, pH between (6,90 to 7,08), acidity (0,027 to 0,033) %, ashes (2,38 to 2,86) %, and protein (6,65 to 7,45) %, whose results were within the ranges established by the INEN regulations.

Keywords: Enzyme, papain, enzymatic activity, rennet, biometric characterization.

INTRODUCCIÓN

Pérez (2017), manifiesta que el queso es un alimento antiguo cuyos orígenes se puede remontar antes de que apareciera la escritura, siendo uno de los productos principales de los ganaderos de todo el mundo especialmente en el Ecuador y provincia del Carchi. Desde tiempos pasados se elaboraban quesos en forma artesanal por no existir una globalización tecnológica, pero en la actualidad existen empresas que tienen implementando maquinaria de última tecnología automatizando todo el proceso en la elaboración del producto.

Alban (2006), afirma que el queso es un producto alimenticio sólido o semisólido que se obtiene separando los componentes sólidos de la leche (cuajada) de los líquidos (suero). Es un alimento elaborado a partir de la leche coagulada, la leche es inducida a cuajarse usando cuajo de diferente naturaleza que actúa sobre la caseína (proteína soluble). Los quesos actualmente se los puede encontrar en el mercado en diferentes presentaciones y variedades, siendo el queso fresco el más apetecido por la mayoría de los consumidores. Una de las principales ventajas del queso fresco es que se lo puede consumir inmediatamente después de haber sido procesado.

Ramírez (s.f), define al cuajo como “una sustancia que tiene la propiedad de coagular la leche y se presenta corrientemente en polvo o líquido”. El cuajo en la actualidad se lo puede encontrar de diferente naturaleza puede ser de origen animal, microbiano y uno de los más actuales e importantes es el vegetal. También Gasteiz (2007), menciona que el cuajo animal es obtenido de la mucosa del cuarto estomago de crías lactantes de algunos mamíferos rumiantes. El de origen vegetal se extrae principalmente de algunas plantas como el cardo pero también se lo puede obtener de algunas frutas que contienen enzimas como la papaya, chilacuan, piña, el higo entre otras frutas, siendo este muy poco conocido e industrializado desconocido por la mayoría de productores industriales entre ellos los que procesan lácteos y sus derivados como el queso. Otro de los cuajos que es de realce es el microbiano obtenido de algunas fermentaciones biotecnológicas de microorganismos. Muchas son las naturalezas de los cuajos que existen desde años remotos uno de los más utilizados es el de origen animal en todo el mundo.

Santín (2011), menciona que 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 de reacciones químicas específicas en los seres vivos o sistemas biológicos. Una de las enzimas más importantes en la historia son las proteasas cuya función principal es romper los enlaces peptídicos de las proteínas. Estas pueden ser extraídas de los animales y plantas, un ejemplo claro es la papaína, una enzima obtenida de las plantas y varias frutas especialmente de la familia *Vasconcellea*, ya que esta presenta gran actividad enzimática, y es utilizada en el campo alimentario, textil, farmacéutico. Esta enzima puede ser aplicada en varias ramas de la industria, nuevas investigaciones denotan la importancia de la misma.

El objetivo de esta investigación fue extraer la enzima papaína presente en el chilacuan (*Vasconcellea pubescens*) como alternativa de cuajo vegetal, para lograr dicho objetivo se establecieron parámetros de extracción, purificación, características físico-químicas de la enzima y para comprobar el poder coagulante se elaboraron quesos frescos prensados con diferentes tipos de cuajos para luego ser evaluados mediante análisis físico-químicos y sensoriales y determinar que si son aptos para el consumo humano de ahí la importancia en la actualidad de las enzimas en la industria alimentaria que cada día es más notoria, por su gran aporte en todos los ámbitos especialmente en la tecnología de lácteos en particular en la fabricación de quesos.

I. PROBLEMA

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Según Calvo (2013), manifiesta que en el mundo desde la antigüedad siempre han existido problemas de suministro de cuajo animal y la expansión de la industria del queso a partir de la década de 1940 forzó la búsqueda de enzimas alternativas al cuajo animal. En la fabricación de quesos industriales se utilizan habitualmente proteinasas obtenidas de microorganismos en lugar del cuajo animal, desconociéndose la alternativa de cuajante vegetal. Muchos vegetales contienen proteinasas capaces de coagular las caseínas, algunas de estas proteinasas se utilizan en la industria.

Nolivos (2011), menciona que el empleo de cuajo animal presenta ciertas desventajas en comparación con el cuajo vegetal, como un menor contenido de enzimas proteasas, por lo que no produce una cuajada suave y cremosa como lo hacen las enzimas vegetales, así mismo la transformación de las proteínas presentes en la leche es más lenta y menos intensa.

Además, afirma el autor que el consumo de queso elaborado con cuajo animal, no siempre es recibido por aquellas personas lacto veganas, debido a que el cuajo se obtiene de la mucosa del cuarto estómago o cuajar de los mamíferos rumiantes lactantes sacrificados, con menos de 30 días de vida. En el Carchi desde hace muchos años, se realizan quesos que son elaborados con cuajo animal y microbiano hasta el momento se desconoce de quesos en el mercado que sean elaborados con cuajo vegetal.

Generalmente en la provincia siempre se ha utilizado cuajo animal, desconociéndose la existencia del cuajo vegetal. O si bien, si existe la información a los productores sobre este cuajo, deciden no utilizarlo por la comodidad de precios que se tienen en la adquisición de enzimas industriales procedentes de cuajo animal. Sin embargo, se han realizado distintos proyectos para reemplazar el cuajo animal por uno vegetal, pero estos no han sido lanzados al mercado.

El chilacuan (*Vasconcellea pubescens*) es un fruto que crece en forma silvestre en el cantón Tulcán y en sus alrededores como también en varias zonas de la provincia del Carchi y Ecuador. Este fruto generalmente no es cosechado por lo que cae al piso como desecho debido a su bajo nivel de

procesamiento y por la deficiente investigación científica que permita plantear alternativas para sustentar su utilización y promover el desarrollo de cultivos de esta fruta endémica.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Es posible obtener cuajo vegetal del chilacuan (*Vasconcellea pubescens*) como alternativa del cuajo de origen animal para la producción de queso?

1.3. JUSTIFICACIÓN

El chilacuan (*Vasconcellea pubescens*) al ser de la familia Caricaceae posee un conjunto de enzimas, tales como la quimiopapaína, la pectin estearasa, invertasa y peroxidasa. Dentro del contenido de enzimas destacan la papaína la cual puede ser extraída para diferentes usos en la industria alimentaria. Según Vanguardia (2017), afirma que “hoy en día se utiliza a la enzima papaína como ablandador de carnes, en la clarificación de cervezas y otras bebidas, así como también en la producción de lácteos”. Actualmente los fermentos utilizados para la fabricación de quesos son cuajo vegetal, microbiano, genético dentro de lo que destacan los de origen animal.

Una alternativa para la elaboración de queso es la utilización del cuajo vegetal, que tiene la ventaja de poseer un gran contenido de proteinasas capaces de coagular las caseínas, produciendo una cuajada más suave y cremosa que el de procedencia animal, es un cuajo muy proteolítico, lo que significa que produce una transformación más rápida e inmediata de las proteínas presentes en la leche. También es bueno para la elaboración de quesos frescos y tiernos, aunque da excelentes resultados también en queso duros. (Agroindustria, 2018)

El tema de investigación es de importancia ya que contribuye al desarrollo de una alternativa en la elaboración de quesos empleando cuajo vegetal (leche de chilacuan verde), ya que tradicionalmente se elabora quesos con cuajo de procedencia animal, el cual es un extracto del abomaso de rumiantes, de donde se obtiene la quimosina, una enzima con actividad proteolítica baja, a diferencia de los coagulantes vegetales, generando así una alternativa para dietas vegetarianas en las que no se quiera consumir ningún producto derivado del sacrificio animal.

La presente investigación tendrá impacto en la región, debido a la gran producción de leche y la rentabilidad que ofrece la comercialización del queso en la provincia del Carchi, al igual que la fácil obtención del chilacuan, lo cual es positivo para la obtención de cuajo vegetal.

Además, la metodología utilizada tiende a ser de fácil aplicación, lo que propende a que la información de la investigación sea utilizada por futuras generaciones de investigadores que pretendan aplicar metodologías compatibles de manera que sean posible los análisis conjuntos. La presente investigación es viable, debido a que se cuenta con los recursos necesarios para la ejecución del mismo.

1.4. OBJETIVOS Y PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

1.4.1. Objetivo General

Extraer la enzima papaína presente en el chilacuan (*Vasconcellea pubescens*) como alternativa de cuajo vegetal.

1.4.2. Objetivos Específicos

- Realizar la caracterización biométrica y física del chilacuan.
- Purificar la enzima papaína presente en látex del chilacuan.
- Determinar la actividad enzimática de la papaína.
- Establecer parámetros físicos y químicos de la enzima papaína: pH, solubilidad, humedad, cenizas y acidez titulable.
- Elaborar queso fresco utilizando cuajo vegetal y evaluarlo sensorialmente.

1.4.3. Preguntas de Investigación

¿Cómo extraer la enzima papaína presente en el chilacuan?

¿Qué características biométricas y físicas tiene en chilacuan?

¿Cómo será el rendimiento obtenido en cada una de las fases de extracción de la papaína?

¿Cómo serán las características físicas químicas del cuajo obtenido?

¿Cuál es la actividad enzimática del cuajo?

¿Qué dosificación es la ideal para la elaboración de queso fresco prensado?

¿Cómo serán las características físicas químicas del queso?

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

Referente a la utilización de las enzimas vegetales, existe una investigación acerca del “Estudio de factibilidad de la utilización de enzimas vegetales en la elaboración del queso tipo fresco”, realizado por Sánchez, Juca y Naomí (2015), en la que se evidencia el desarrollo de la extracción de látex y su utilización en la elaboración de queso fresco. La investigación se la realizó en la Universidad de Cuenca y tuvo como propósito la búsqueda de alternativas para la elaboración de productos de la industria láctea, estudiando dos extractos enzimáticos vegetales (*ficus* y *vasconcella cundinamarcensis*) del higo y chamburo respectivamente. La investigación obtuvo como resultados que la actividad proteolítica de las enzimas vegetales es factible, favoreciendo en el rendimiento de los quesos elaborados a partir de la coagulación de la papaína, sin embargo, la ficina es mucho más proteolítica por lo que requiere menor tiempo para coagular la misma cantidad de leche.

En cuanto al uso del cuajo vegetal en la elaboración de queso fresco, hay una investigación denominada “Uso de cuajo vegetal (leche de higo verde - *ficus carica linnaeus*) para la elaboración de queso fresco” realizado por Nolivos (2011), en la que se evidencia la elaboración de queso fresco utilizando como ingrediente cuajo vegetal a temperatura de 35 a 40 °C, logrando la precipitación de la caseína por la presencia de enzimas como la esterasa, ficina y fucomarina que son un medio precipitante. También en la investigación se evaluaron las características organolépticas mediante un análisis sensorial, determinando que la mejor aceptabilidad tiene el tratamiento (leche pasteurizada con 8 mL/L de cuajo vegetal con adición de 20 g/L de cloruro de calcio). Finalmente analizaron al producto final de acuerdo a la Norma INEN 1528 con el fin de tener un control de la cantidad de leche utilizada y la cantidad de queso obtenido.

Kure y Yugcha (2012), en su investigación denominada “Estudio del proceso de secado de látex de papaya (*Carica papaya L.*) deshidratado por aspersion”, en cuya investigación se denota la extracción de látex y su análisis de secado por aspersion. La investigación fue desarrollada en la Escuela Superior Politécnica del Litoral y tuvo como objetivo determinar la temperatura idónea a la cual se debe deshidratar el látex de *Carica papaya L.* en un secador de aspersion, con la finalidad de obtener papaína cruda con elevada actividad proteolítica. Para cumplir el objetivo procedieron

a extraer el látex de papaya para luego encapsularlo para realizar el secado por aspersión, se procedió a determinar la actividad enzimática del mismo hasta obtener una humedad de 5 %-8 %, utilizando varias temperaturas de secado, la muestra secada a 110 °C obtuvo un valor de 7,89 %, con lo cual se encuentra dentro del rango recomendado. Concluyendo así que para obtener una elevada actividad proteolítica y un adecuado porcentaje de humedad se debe de secar por aspersión el látex de *Carica papaya* L microencapsulado con goma arábiga con una temperatura de entrada de aire de 120 °C.

En la investigación presentada por Herrera y Ruiz (2014), se estudió el efecto del tiempo de congelación y temperatura de liofilizado del látex del fruto papayita de monte (*Carica pubescens*) para obtener látex liofilizado con mayor actividad proteolítica, para lo cual recolectaron los frutos de papayita de monte provenientes de la provincia de Luya distrito de San Juan de Lopecancha, región Amazonas. Para la extracción del látex realizaron incisiones de 2 a 3 mm de espesor a la cutícula del fruto, sometieron a un proceso de congelación a tres tiempos 8, 12 y 16 horas y tres temperaturas de liofilizado (-50, -55 y -60) °C, después de liofilizar pulverizaron y determinaron la cantidad de UTP haciendo uso de un sustrato rico en proteína la leche de vaca, para esta prueba siguieron el método modificado de kunitz; realizaron las lecturas correspondientes a la absorbancia para diseñar un modelo matemático y determinar la UTP. Finalmente realizaron el análisis fisicoquímico del látex dando como resultado 10,4 % de humedad, pH 7,6; de acidez total titulable 1,76 %; sólidos solubles totales 30 °Brix y 1,2 % de cenizas.

Tovar, Ávila, Piere, y Golzáles (2018), en su investigación “Purificación de la papaína del látex de la lechosa y cuantificación de la actividad enzimática”, referente a la purificación y actividad enzimática de la papaína obtenida de la lechosa nos mencionan que la investigación se centró en purificar la papaína del látex de la lechosa y se evaluar el efecto de dos condiciones de secado sobre la actividad enzimática, extrayendo el látex del exocarpo de la fruta, deshidratándolo bajo dos condiciones (C), C1: 25 °C y 20 h y C2: 60 °C y 4 h, calcularon el rendimiento seco y caracterizaron. También purificaron la papaína y cuantificaron la actividad enzimática; luego estimaron el factor de purificación (FP) y finalmente, determinaron la actividad proteolítica evaluando la eficiencia de remoción de proteínas de un efluente industrial. Finalmente, demostraron el poder de la enzima al determinar la eficiencia de remoción del contenido proteico de un efluente lácteo obteniéndose que, con la papaína purificada, se removió en promedio 60,03 %.

2.2. MARCO TEÓRICO

2.2.1. El Chilacuan (*Vasconcellea pubescens*)

Vázquez, (2015), menciona que el chilacuan (*Vasconcellea pubescens*) es una planta herbácea perenne de porte alto perteneciente a la familia de las caricáceas. Conocida como papaya de montaña, en cada región adquiere un nombre particular; en Ecuador se le denomina papaya de olor, chilhuacán, chamburu o chiglacón. En Bolivia se denomina huanarpu hembra; en Chile, papaya; y en Perú, papaya arequipeña. En la Figura 1 se observa al chilacuan en su fuerte madre.



Figura 1. Chilacuan (*Vasconcellea pubescens*)

Tomado de Nazate (2013)

2.2.2.1. Origen del Chilacuan

El chilacuan conocido como (*Carica pubescens*), es una especie de planta con flor de la familia de las *Caricaceae*. Posee una sabrosa fruta; originaria de Suramérica, se cultiva desde Colombia hasta Chile en ecosistemas de montaña sobre niveles altitudinales superiores a los 1.200 msnm., se encuentra en elevaciones sobre los 1000 metros de altitud hasta los 3300 metros. (Neill, 2011)

Carica pubescens, llamada también papaya de la sierra, papayita arequipeña o papaya de monte. Requiere de climas templado - cálido. El fruto es una baya, de pericarpio delgado, jugoso, de color amarillo (pulpa y piel), pasando por color verde durante la madurez. El centro es hueco y se encuentra totalmente ocupado por las semillas envueltas en un tejido mucilaginoso; presenta una

forma oblongo - ovoide de 5 a 10 centímetros de largo por 3 a 6 centímetros de ancho y tiende a ser ovalada, con los extremos aguzados. (Craasco, 2008)

La planta de chilacuan inicia su producción a los 10 ó 15 meses, con una producción permanente durante todo el año, se recolecta manualmente cuando la fruta pasa de su coloración verde oscura a amarillo verdosa, con estrías amarilladas que parten de la base del pedúnculo, los frutos recogidos se colocan con el pedúnculo hacia abajo para que el látex no manche a la fruta, este látex puede afectar a la piel del recolector, se recomienda usar guantes y camisas. El rendimiento de la fruta en el Ecuador va desde 3,300 kg/ha en el primer año productivo hasta estabilizarse en 10,000 kg/ha a partir del segundo o tercer año, el cultivo puede durar hasta 25 años. (Agroinformación, 2010)

2.2.1.2. Taxonomía

El género *Vasconcellea* pertenece a la familia de las caricáceas junto con los géneros *Carica*, *Cylicomorpha*, *Horovitzia*, *Jacaratia* y *Jarilla*.

Los géneros *Carica* y *Vasconcellea* presentan características fenotípicas similares, motivo por el cual comparten el nombre común de “papaya” en diferentes regiones. De las 21 especies que conforman el género *Vasconcellea*, 19 son árboles conocidos comúnmente como “papaya de montaña alta”. Se localizan principalmente en las zonas altas de las regiones andinas de Suramérica y constituyen el género más numeroso de la familia caricácea (Vázquez, 2015).

En la Tabla 1 se indica la clasificación taxonómica del género *Vasconcella*.

Tabla 1. Clasificación taxonómica del género *Vasconcella*

Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
Superdivisión	Spermatophyta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Dilleniidae
Orden	Violales

Familia

Caricaceae

Género

Vasconcella

Tomado de Sinche (2009)

2.2.1.3. Características morfológicas generales de la familia Caricaceae presente en el Ecuador

En la Tabla 2 se indican las características morfológicas de la familia Caricaceae presente en el Ecuador.

Tabla 2. Características morfológicas de la familia Caricaceae presente en el Ecuador

Aspecto	Árboles o arbustos con tallos blandos, poseen látex lechoso, dioicos, raro monoicos
Hojas	Alternas, grandes, palmadas, largamente pecioladas, sin estípulas
Flores	Solitarias o en cimas, imperfectas, raro perfectas, hipóginas
Perianto	Cáliz, cinco sépalos soldados, corola, cinco pétalos libres o soldados
Androceo	Estambres, 5-10 libres, soldados a los pétalos
Gineceo	Ovario súpero, carpelos, cinco soldados, óvulos α , parietales, estilo corto con cinco estigmas
Fruto	Baya
Semillas	Endosperma oleoso, embrión recto.

Tomado de Sinche (2009)

2.2.1.4. Denominación

Se lo denomina principalmente como chamburo, su apelativo en inglés es mountain papaya, conocido también con los seudónimos de papaya de altura o de frío, papaya de monte, papayuela, chilguacán, chigualcán, chiblacan.

En algunas provincias del país, por ejemplo, en Azuay se lo denomina como siglolón, siglalón o sigloalón, en Tungurahua como jigacho y en Loja como toronchi.

En algunos países de Sudamérica, como en Colombia se lo conoce como papayuela, en Perú y Bolivia como chamburu, papaya de monte, papaya de altura y en Ecuador también se lo conoce al chamburo con los nombres de chilacuán, chilhuacán y chiglacón. (Sinche, 2009)

2.2.1.5. Zonas de cultivo de chilacuan en el Ecuador

Las zonas más aptas para la producción de esta fruta o el mayor centro de diversidad se localizan en el Ecuador y el norte de Perú. Especialmente en las provincias del Callejón Interandino como Loja, Tungurahua, Bolívar, Pichincha, Azuay, Imbabura y Carchi. Actualmente los volúmenes producidos en el país son bajos y si bien se satisface el mercado nacional, no se han reportado exportaciones de esta fruta (Bosmediano y Coronel, 2014).

Otras zonas en las que se podría desarrollar los cultivos del chilacuan se encuentran en los valles bajos del callejón interandino. Así como en Pifo, Tumbaco, Tambillo, Pastocalle, Pujíli, Penipe, Valle del Patate, Catamayo y Vilcabamba.

2.2.1.6. Usos y aplicaciones

Agroinformación (2010), menciona el fruto de *Vasconcella Carica pubescens* (papaya de monte) es casi idéntico al babaco, se lo considera un híbrido de fruta dulce y aromática, con un sabor entre fresa y pina tropical, papaya, naranja y melón.

- Los frutos maduros se utilizan en la repostería, en la elaboración de mermeladas y bebidas, jaleas, flameados, jugos, batidos, ensaladas de frutas y platos con carnes.
- En estado verde constituye un recurso para la obtención de látex y por su contenido de papaína tiene aceptación en el mercado internacional para uso en la industria farmacológica y como ablandador de carnes.
- Se indica además que el látex de la papaya de monte es empleado en contacto de la piel para quitar verrugas y el fruto en tratamientos de la arteriosclerosis.
- En la industria textil, impide el encogimiento y se ha utilizado los colorantes carotenoides en la producción de cosméticos y alimentos concentrados para animales.

2.2.1.7. Tiempo de vida útil y medidas de almacenamiento del fruto

La fruta necesita estar almacenada en lugares aireados y limpios, ya que su vida útil no es larga, cuando la fruta llega a su madurez esta se empieza a ablandar y se pudre rápidamente.

Cuando la fruta es empacada se debe almacenar en cuartos fríos con temperaturas no menores a 12 °C, es recomendable una temperatura de 13 °C con una humedad relativa de 85-90 % con estas condiciones la duración del chamburo se prolonga de una a dos semanas. (Bosmediano y Coronel, 2014)

2.2.1.8. Valor nutricional

Campozano y Saltos (2013), mencionan el valor nutricional que posee el chilacuan.

- **Minerales:** Ca (Calcio), P (Fósforo) y Fe (Hierro).
- **Ácidos:** Ácido Ascórbico, el cítrico, málico, galacturónico y cetoglutárico.
- **Pigmentos:** El color de la pulpa del Chilacuan se debe a la presencia de carotenoides; entre los terpenoides carotenoides característicos del chamburo se encuentran la violaxantina, la caricaxantina, criptoxantina, beta – carotenos, gamma – carotenos y en muy poca frecuencia licopenos.
- **Enzimas:** En el látex del Chilacuan se encuentra como enzima proteolítica la papaína y cuyo grado de pureza y concentración es determinado por la presencia de bencilglucosinolato, además de otras enzimas de importancia digestiva tales como: la quimiopapaína, la pectin estearasa, invertasa y peroxidasa. La pectin estearasa actúa sobre la pectina formando geles de aglutinamiento o floculación gastrointestinal, la invertasa promueve la conversión de la sacarosa glucosa y fructosa.
- **Vitaminas:** vitamina C, vitamina A, además de algunas del complejo B.
- **Alcaloides:** Entre otros de los compuestos característicos del Chilacuan se encuentra la carpaína que es un alcaloide presente principalmente en las semillas y las hojas, y en menores porcentajes en la pulpa del fruto. La carpaína presenta propiedades farmacéuticas de carácter cardiotónico. La Tabla 3 muestra la composición bioquímica del chilacuan en cuanto a todo los parametros observados.

Tabla 3. Composición bioquímica del chilacuan.

Análisis	Unidad	Medida
pH	4.64	pH
Agua	93.43	%
Cenizas	12.75	%
Proteína	1.01	%
Fibra	1.24	%
Azúcares tot.	1.66	%
Calcio	0.21	%
Fosforo	0.33	%
Magnesio	0.33	%
Potasio	5.92	%
Sodio	0.05	%
Acidez titul.	0.55	% de ácido cítrico
Carbohidratos	6000	mg
Grasa	200	mg
Azufre	12.00	mg
Riboflavina	0.03	mg
Carotenos	0.09	mg
Tiamina	0.02	mg
Piridoxina	0.05	mg
Ácido ascórbico	39.4	mg
Cobre	1.90	mg
Hierro	4.80	mg
Manganeso	0.30	mg
Zinc	1.40	mg
Calorías	8	Kcal

Tomado de Coronel (2010)

2.2.2. Cuajo vegetal

De acuerdo con Sánches, Juca y Naomí (2015), mencionan, “el cuajo vegetal es una sustancia que tiene la propiedad de coagular la caseína de la leche y separar la fase líquida (suero)”.

También mencionan que el látex se extrae de las plantas que poseen enzimas proteolíticas y ayuda a la precipitación de la caseína, se inicia la formación de un gel que atrapa la mayoría de los componentes sólidos de la leche; este gel se contrae poco a poco, y al contraerse va

expulsando suero. Al cortar el gel en cubitos, se logra separar entre un 50 y un 90 % del contenido inicial del suero de la leche.

La efectividad del cuajo es función de la temperatura, la concentración del sustrato (la leche), concentración de calcio y la acidez. Las temperaturas usuales de coagulación pueden variar entre los 35 °C y los 40 °C, aunque lo más usual es una temperatura de 38 °C.

2.2.2.1. Función del cuajo vegetal

Según Sánchez, Juca y Naomí (2015), mencionan que la función del cuajo vegetal es separar la caseína (el 80 % aproximadamente del total de proteínas) de su fase líquida (agua, proteínas del lactosuero y carbohidratos), llamado suero. Por acción del cuajo la caseína pierde una parte de su molécula y como consecuencia sus sales de calcio se vuelven insolubles. El uso del cuajo vegetal produce la precipitación de la caseína y el calcio disuelto en la leche para formar paracaseinato de calcio, comúnmente llamado cuajo. Las partículas de caseína se unen para formar un gel sólido, lo que se puede denominar cuajada, ya que anula los segmentos de carga negativa (k-caseína) que hace que las partículas de caseína se repelan. El suero también contiene proteínas, pero estas tienen otras funciones y se mantienen suspendidas en el líquido.

2.2.2.2. Látex

El látex fue definido por Marcillo (2005), como “un fluido lechoso de color blanquecino, no muy denso, presente en hojas, tallo y frutos”, descripción que puede aplicarse al látex de las demás plantas del género *Vasconcella*.

2.2.2.3. Liofilización

De acuerdo con García (2010), menciona que “La liofilización es una técnica de deshidratación por frío, un proceso común en la industria alimentaria conocido como deshidrocongelación, el cual tiene la virtud de mantener al máximo las propiedades organolépticas de los alimentos, este método se realiza al vacío”.

En el liofilizador se genera un entorno al vacío, donde las bajas temperaturas de -40 °C, subliman el agua del producto, haciendo que pase directamente del estado sólido a gas sin pasar por líquido.

Eso básicamente se aplica al contenido acuoso del alimento, el cual sublima terminando con materia sólida sin ningún remanente líquido, absolutamente seco. (Heinz, 2010)

2.2.2.3.1. Proceso de la liofilización

Según Heinz (2010), afirma que el primer paso del proceso de liofilización debe ser el establecimiento de una formulación o un producto reproducible, es decir, en la cual exista un control cuidadoso sobre la composición química y las concentraciones de los constituyentes activos e inactivos. Considerando los medios a través de los cuales las propiedades físicas, ópticas y eléctricas pueden ser usadas para determinar si la naturaleza de la formulación cae dentro de límites predeterminados. El punto clave en la preparación de un producto a liofilizar es la reproductibilidad. Un producto liofilizado reproducible debe comenzar con una formulación reproducible o una composición conocida.

También el autor nos menciona que el conocimiento de la formulación o composición del producto a liofilizar es el paso más importante en el proceso. La naturaleza, tiempo y gasto del proceso de liofilización son directamente dependientes de la naturaleza química y física del producto, su impacto sobre el proceso de secado y sobre la naturaleza del producto final no es frecuentemente bien entendido.

Además nos señala que antes de realizar el proceso de liofilización se debe tomar en cuenta las siguientes características: en lo relacionado a la composición y formulación del producto es necesario conocer lo o los ingredientes activos y los constituyentes del producto, con la finalidad de analizar sus límites de concentración y propiedades tales como el calor, la conductividad, turbidez, etc. que al liofilizar pueden cambiar.

Finalmente nos comenta que es muy importante el agua contenida en el producto a liofilizar, por la formación de los cristales de hielo durante la congelación, el súper enfriamiento, el grado de cristalización y la conductividad del hielo. En lo referente a los cambios de fase se debe determinar qué tan homogéneo o heterogéneo son sus componentes y cuáles son las variables de estado intensivas. Se debe realizar un análisis térmico, y electrotérmico.

2.2.2.3.2. Desventaja

Puede que la única desventaja de la liofilización es que es un proceso caro, solo accesible para la industria alimentaria, ya que la maquinaria es costosa y los procesos y mano de obra también. Además de que demora más que una sencilla deshidratación, pero afortunadamente los productos liofilizados continúan siendo baratos. (Heinz, 2010)

2.2.2.4. Ventajas de uso de cuajo vegetal

Según Robinson & Wilbey (2002), afirma que “El cuajo vegetal posee la propiedad de cuajar la leche, gracias a las enzimas naturales proteolíticas”

Sánchez, Juca y Naomí (2015), menciona que produce una cuajada más suave y cremosa que el de procedencia animal, si bien es cierto que el coágulo resulta más delicado a la hora de trabajar el queso. Es un cuajo muy proteolítico, lo que significa que produce una transformación más rápida e intensa de las proteínas presentes en la leche

Es un cuajo muy bueno para quesos frescos y tiernos, aunque da excelentes resultados también en queso duros. No conviene, sin embargo, para las coagulaciones lácticas, ya que provoca unas cuajadas muy blandas y difíciles de escurrir.

2.2.2.5. Propiedades de coagulación

Según Sánchez, Juca y Naomí (2015), afirman que la coagulación enzimática consiste en la adición de cuajo para lograr la coagulación de las caseínas. La actividad enzimática del cuajo provoca que la leche coagule y pase a formar un gel irreversible (cuajada). El principio activo del cuajo es la quimosina.

Este proceso consiste en una serie de modificaciones fisicoquímicas de la caseína (proteína de la leche), que conducen a la formación de un coágulo. Tiene lugar debido a la actividad del cuajo (coagulación enzimática).

El gel formado incluye a las grasas y a la fase líquida de la leche. La coagulación se logra por una proteólisis parcial (catalizada por el cuajo) y las condiciones en que la coagulación enzimática se verifica tienen efecto directo sobre las características fisicoquímicas del gel resultante, tales como su firmeza, su capacidad de retención de grasas, etc.

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

2.2.2.6. Enzimas

El nombre "enzima" fue acuñado en 1878 por Fredrich Wilhelm Kühne. Proviene del griego: *en* (dentro de) + *zima* (levadura). Enfatiza que hay algo en la levadura, por oposición a la levadura misma, que cataliza los procesos, y distingue las enzimas de los organismos que las producen. La mayoría de los procesos biotecnológicos tradicionales como la obtención de yogur, la producción de cerveza o la fermentación de la uva para fabricar vino, son realizados por las enzimas que cada microorganismo produce para su particular metabolismo. Sin embargo, también es posible realizar los procesos biotecnológicos con las enzimas, en ausencia de los microorganismos. (Sánchez, Juca y Naomí, 2015)

2.2.2.6.1. Estructura de las enzimas

Las enzimas son proteínas globulares formadas por una o más cadenas polipeptídicas plegadas, creando una "hondonada" donde encaja el sustrato y tiene lugar la reacción. Esta zona de la enzima se denomina centro activo y sólo unos pocos aminoácidos están implicados en él. La proximidad de los aminoácidos en el centro activo está determinada por la estructura terciaria, aunque también pueden ocupar posiciones adyacentes en la estructura primaria. En una enzima con estructura cuaternaria, los aminoácidos del centro activo pueden encontrarse incluso en diferentes cadenas. (Santín, 2011)

2.2.2.6.2. Tipos de enzimas

Villavicencio (2011), menciona el nombre de una enzima suele derivarse del sustrato o de la reacción química que cataliza, con la palabra terminada en -asa. Por ejemplo, lactasa proviene de su sustrato lactosa; alcohol deshidrogenasa proviene de la reacción que cataliza que consiste en "deshidrogenar" el alcohol; ADN polimerasa proviene también de la reacción que cataliza que consiste en polimerizar el ADN.

La Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular ha desarrollado una nomenclatura para identificar a las enzimas basadas en los denominados Números EC. De este modo, cada enzima queda registrada por una secuencia de cuatro números precedidos por las letras "EC". El primer número clasifica a la enzima según su mecanismo de acción. Como se aprecia en la Tabla 4 los tipos de enzimas en cuanto a su acción y también sus ejemplos.

Tabla 4. Tipos de enzimas

Grupo	Acción	Ejemplos
EC1. Oxidoreductasas	Catalizan reacciones de oxidorreducción. Tras la acción catálica quedan modificados en su grado de oxidación por lo que debe ser transformado antes de volver a actuar de nuevo.	Dehidrogenasas
		Aminooxidasa
		Deaminasas
		Catalasas
EC2. Transferasas	Transfieren grupos activos (obtenidos de la ruptura de ciertas moléculas) a otras sustancias receptoras. Suelen actuar en procesos de interconversiones de azúcares, de aminoácidos, etc	Transaldolasas
		Transcetolasas
		Transaminasas
EC3. Hidrolasas	Verifican reacciones de hidrólisis con la consiguiente obtención de monómeros a partir de polímeros. Suele ser de tipo digestivo, por lo que normalmente actúan en primer lugar	Glucosidasas
		Lipasas
		Peptidasas
		Esterasas
EC4. Isomerasas	Actúan sobre determinadas moléculas obteniendo de ellas sus isómeros de función o de posición. Suelen actuar en procesos de interconversion	Isomerasas de azúcar
		Epimerasas
		Mutasas
	Realizan la degradación o síntesis (entonces se llaman sintetasas) de los	Aldolasas

Grupo	Acción	Ejemplos
EC5. Liasas	enlaces denominados fuertes sin ir acoplados a sustancias de alto valor energético.	Decarboxilasas
EC6. Ligasas	Realizan la degradación o síntesis de los enlaces fuertes mediante el acoplamiento a sustancias ricas en energía como los nucleosidos del ATP	Carboxilasas Peptidosintetasas

Tomado de Villavicencio (2011)

2.2.2.7. Coagulantes de origen vegetal

Un gran número de enzimas vegetales han sido utilizadas como coagulantes de la leche, se trata de un extracto de *Cynara cardunculus* (L.), que es especialmente popular, dado que es utilizado para la elaboración quesos artesanales y principalmente en Portugal para la elaboración de quesos Serra y Serpa. Cardoon contiene una mezcla de enzimas, las cuales parecen ser proteasas aspárticas, algunas de ellas para cortar la Kapa caseína en forma más específica que la quimosina. (Industria Alimenticia, 2008)

2.2.2.8. Enzimas presentes en el látex de chilacuan

El chilacuan contiene látex que exuda de su epicarpio al ser lacerado o punzado, este látex contiene en mayor concentración a la papaína, enzima proteolítica de acción semejante a la pepsina del jugo gástrico, característica de la familia *Caricácea* (Sánchez, Juca y Naomí, 2015).

Para obtener mejores resultados en la obtención de la enzima papaína del chamburo, los frutos deben ser inmaduros ya que a medida que van avanzando en la maduración también las enzimas disminuyen su concentración. En el caso del látex que exudan estos frutos y que es en donde se encuentra mayormente las enzimas van disminuyendo; y cuando ya están completamente maduras el látex es mínimo y por consiguiente las enzimas. (Sánchez, Juca y Naomí, 2015)

2.2.2.9. Precipitación de la caseína por enzimas

En este caso se produce una hidrólisis enzimática de las caseínas. El proceso, entre otras diferencias, es más lento ya que la enzima tarda varios minutos u horas en hacer efecto. En el cuajo se usan enzimas como la quimosina que se puede obtener del estómago de rumiantes jóvenes o bien de una especie de cardo (*Cynara cardunculus*). Esta quimosina es específica de la caseína. (Grupo Latino Editores, 2008)

2.2.2.10. Papaína

La papaína es una enzima proteolítica que se obtiene del látex de frutos verdes de papaya (*Carica papaya*). Posee un peso molecular de 23 kDa y está formada por una cadena peptídica de 211 residuos de aminoácidos. (Sánchez, Juca y Naomí, 2015)

La papaína se activa mediante agentes reductores, como cisteína, cianuro de sodio o sulfitos y es inactivada por agentes oxidantes, como los iones de metales pesados e incluso el oxígeno atmosférico.

El pH óptimo de esta proteasa se encuentra entre 6 y 7; mientras que su punto isoeléctrico corresponde a un pH de 9,6 y La temperatura óptima para la acción de la papaína es de 65 ° C. (Worthington, 2008)

2.2.2.11. Obtención del cuajo

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

Para extraer el látex se realiza cortes horizontales en la parte superior del fruto que va unida a la rama de 1 a 2 mm de espacio; se recoge en frascos previamente esterilizados y el látex se congela para su conservación.

III. METODOLOGÍA

3.1. ENFOQUE METODOLÓGICO

3.1.1. Enfoque

La investigación es cuantitativa y cualitativa ya que se recolectó información basada en la observación de comportamientos naturales como también se obtuvo datos para probar la hipótesis planteada (suposiciones o probabilidades acerca de la naturaleza y explicación de un problema), posteriormente se realizó una medición numérica para comprobar la hipótesis, se interpretaron los datos obtenidos en la investigación de forma estadística y se formularon las conclusiones que darán respuesta al problema.

3.1.2. Tipo de Investigación

Los tipos de investigación que se desarrollaron fueron documental, experimental y aplicada. Estos tipos de investigación se definen de la siguiente manera; Según Rodríguez (2019), menciona que la investigación aplicada es el tipo de investigación en la cual el problema está establecido y es conocido por el investigador, por lo que utiliza la investigación para dar respuesta a preguntas específicas.

Según Castellero (2018), afirma que la investigación experimental se basa en la manipulación de variables en condiciones altamente controladas, replicando un fenómeno concreto y observando el grado en que la o las variables implicadas y manipuladas producen un efecto determinado. Los datos se obtienen de muestras aleatorias, de manera que se presupone que la muestra de la cual se obtienen es representativa de la realidad. Permite establecer diferentes hipótesis y contrastarlas a través de un método científico.

Según los autores Stracuzzi y Martins (2012), mencionan que “La investigación documental se concreta exclusivamente en la recopilación de información en diversas fuentes”.

Se empleó estos tipos de investigación porque el proyecto se lo realizó en un tiempo y lugar determinado, es decir, se lo llevo a cabo en los laboratorios de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi.

Además, para este trabajo se utilizó varios métodos de investigación, como el analítico, sintético y observación. Debido a que la investigación tiene que ver con la descomposición de un todo en sus partes para evaluar sus causas y efectos, también porque se realiza el razonamiento que tiende a reconstruir las causas y efectos de un todo. Así mismo, se fundamenta en la observación detallada de un fenómeno, registrando toda la información posible sobre el mismo para su posterior análisis.

3.2. HIPÓTESIS

H₀ = No es factible obtener cuajo vegetal del chilacuan (*Vasconcellea pubescens*) como alternativa del cuajo de origen animal para la producción de queso con buenas características sensoriales y fisicoquímicas.

H₁= Es factible obtener cuajo vegetal del chilacuan (*Vasconcellea pubescens*) como alternativa del cuajo de origen animal para la producción de queso con buenas características sensoriales y fisicoquímicas.

3.3. DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

En la Tabla 5 se muestran las variables con sus respectivas dimensiones, indicadores, técnicas e instrumentos.

Tabla 5. Definición y Operalización de variables.

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	TÉCNICA	INSTRUMENTO
V.I				
Porcentaje de rendimiento de la enzima en cada una de las fases de purificación	Porcentajes de rendimiento	30%	Método gravimétrico	Hojas de registro
V.D				
Enzima purificada	Porcentaje de impurezas	70 %	Método gravimétrico	Hojas de registro
Características fisicoquímicas del queso fresco prensado.	Porcentaje de Proteína	16,15 %	Método Kjeldahl	Hojas de registros
	Porcentaje de Grasa	21,1 %	Método Gerber	
	pH	6,9	Método potenciómetro	
	Porcentaje de Acidez	0.033 %	Método Acidez Titulante	
	Porcentaje de Humedad	60,00 %	Método mediante estufa	
Características sensoriales del queso fresco prensado.	Porcentaje de Cenizas	3.58 %	Método diferencia de pesos	Hoja de catación
	Atributos	Olor: agradable Sabor: característico Color: blanco Textura: suave	Prueba de preferencia	

3.4. MÉTODOS UTILIZADOS

3.4.1. Materia prima

La recolección de los chilacuanes se la realizó en zonas aledañas a la ciudad de Tulcán, específicamente en la parroquia de Santa Marta de Cuba con cierto grado de madurez fisiológica manteniendo su coloración verde en la totalidad del fruto.

3.4.2. Caracterización biométrica y física del chilacuan

La caracterización biométrica y física del fruto se realizó utilizando la metodología propuesta por Ruiz (2014), con la variación de que, en la presente investigación se tomó una muestra de 100 frutos para medir su largo y ancho con ayuda de un calibrador vernier (Pie de Rey), desde la unión del pedúnculo al extremo distal del fruto. Con una balanza digital se evaluó el peso de cada fruto.

3.4.3. Procedimiento de extracción de látex del fruto chilacuan

Para la extracción del látex del chilacuan se consideró la metodología del proyecto de producción de fruto y látex de papaya realizada por Barahona (1983). Se desarrollaron las siguientes etapas:

3.4.3.1. Recepción y tratamiento de frutos

Los frutos seleccionados y caracterizados se lavaron en agua potable corriente hasta que se elimine las impurezas presentes, seguidamente se sumergieron durante 10 minutos en una solución de 200 ppm de hipoclorito de sodio para su desinfección. Luego fueron secados con un paño.

3.4.3.3. Extracción del látex de chilacuan

Se colocaron los frutos en posición vertical sobre un vaso de precipitación y se realizaron cuatro cortes longitudinales en la superficie del chilacuan de aproximadamente 1,5 mm de profundidad desde la unión del pedúnculo al extremo distal del fruto en la parte cóncava, el látex recolectado se almacenó en congelación.

3.4.4. Precipitación y desalinización de la enzima

En cuanto a la purificación de la enzima se utilizó la metodología de Manosroi, Chankhampan, Pattamapun, Manosroi, & Manosroi (2014). Se realizó lo siguiente.

Para purificar la enzima se procedió a precipitarla usando el látex de chilacuan y las siguientes sustancias químicas: etanol al 95%, NaCl, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, en una relación (1:3:3:2,5), inicialmente se mezcló el látex de papaya y el etanol al 95 %, luego se fueron adicionando el NaCl y $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ paulatinamente, posteriormente se agitó constantemente durante un periodo de 30 minutos, la mezcla se colocó en tubos EPPENDORF de 10 mL para proceder a centrifugar a 6.000 rpm por 15 minutos y 20 °C, con la finalidad de separar el precipitado. Se retira el sobrenadante y se agrega agua destilada al precipitado se agita para eliminar las impurezas de la enzima y se vuelve a centrifugar, dicho proceso se realizó hasta que el sobrenadante del centrifugado sea traslucido (5 veces).

3.4.5. Acondicionamiento y liofilizado del látex

Previo al proceso de liofilización se procedió a congelar el látex a -4 °C durante 4 horas, seguido a esto se colocó el látex al equipo liofilizador a temperatura de -59 °C, 0.150 Torr durante 120 horas. Una vez liofilizado se sacó el látex del equipo y se almacenó en un frasco de vidrio Ámbar a 4 °C.

3.4.6. Procedimiento para determinar la actividad enzimática por el método coagulación de la leche (Halls y Haber)

Se determinó la actividad enzimática mediante el método de coagulación de la leche propuesto por Ming (2002), en cuya investigación detalla lo siguiente:

3.4.6.1. Método coagulación de la leche (Halls y Haber)

Esta prueba mide la potencia de una enzima para romper la estructura de la proteína de la leche (sustrato). En este método, se tomaron 10 mg de solución de papaína en una concentración de 1 g de enzima en 10 g de ácido acético (0,01 %) a 10 ml de solución de leche (2,5 g de leche en polvo en 100 g de agua) que se calentó en un baño de agua a 50 °C. El tubo de ensayo se agitó hasta el primer signo de coagulación. El tiempo utilizado para formar un coágulo se registró y se utilizó en la ecuación. La actividad de la enzima se expresó en unidades de potencia para coagular la leche por gramo de enzima seca.

$$U_{pe} = (1000 / E * t)$$

Donde:

U_{pe}: Unidades de potencia de coagulación de la leche por gramo de enzima seca.

E: miligramos de papaína utilizada para precipitar 10 mL de sustrato (leche) en el tiempo t (min).

3.4.7. Procedimientos para establecer los parámetros físicos y químicos de la enzima papaína.

Para establecer los parámetros físicos y químicos se utilizó la metodología propuesta por Ruiz (2014).

3.4.7.1. Determinación del pH - método potenciómetro

En un vaso de precipitación de 50 mL se colocó 1 g de muestra (enzima) y se añadió 10 mL de agua destilada para posteriormente medir el pH y se registró el resultado.

3.4.7.2. Determinación de sólidos solubles totales (Refractómetro)

Se colocó una gota de la muestra a 20 °C en el prisma del refractómetro de escala (0 a 28 °Brix) de la marca Bacon y se tomó la lectura del % de sólidos solubles.

3.4.7.3. Determinación del porcentaje de humedad - método analizador automático de humedad

Se determinó mediante un analizador automático colocando una muestra de 1 (g), y se registró la lectura al finalizar el secado.

3.4.7.4. Determinación del porcentaje de cenizas

En un crisol previamente tarado se colocó un gramo de enzima de papaína y se llevó a la mufla por un tiempo de 3 horas, a una temperatura de 600 °C. Luego se retiró y se colocó en un desecador durante 15-20 para que se enfríe, se pesó en una balanza analítica (registrar los pesos).

Para realizar el cálculo de las cenizas se utilizó la ecuación:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{P_3 - P_1}{P_2} \times 100$$

3.4.7.5. Determinación del porcentaje de Acidez titulable

La determinación se la realizó mediante titulación ácido-base, se utilizó fenolftaleína como sustancia indicadora y como titulante hidróxido de sodio (0,1 N).

$$\% \text{ Acides titulable} = \frac{V \times N \times F}{V_m} \times 100$$

Donde:

V = Es el volumen gastado del Hidróxido de Sodio

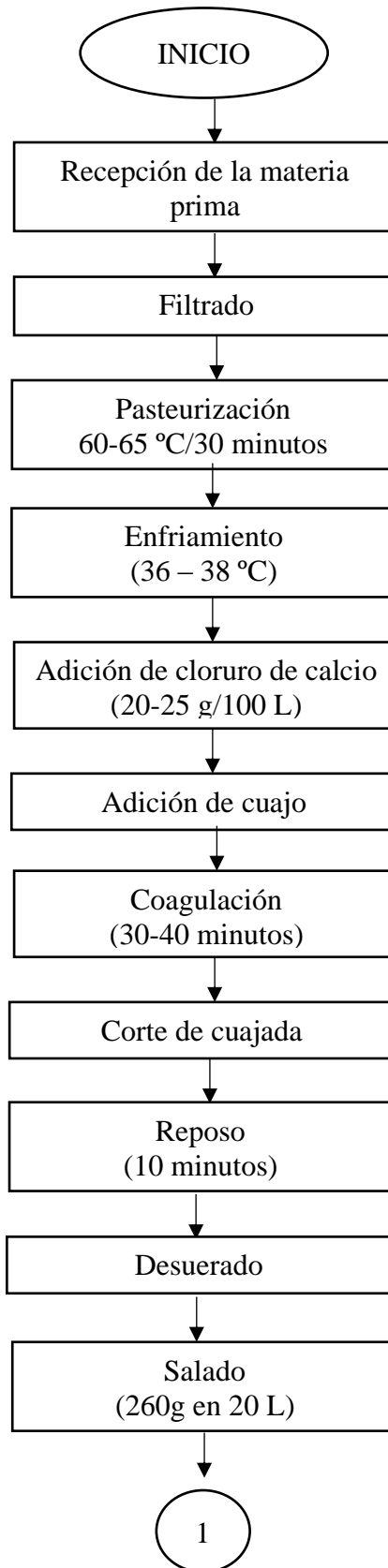
N = Normalidad del Hidróxido de Sodio

F = Factor de acidez de la muestra (Ácido cítrico: 0.064)

V_m = Volumen de la muestra

3.4.8. Procedimiento para la elaboración de queso fresco prensado

En la elaboración de queso fresco prensado se tomó en cuenta la metodología descrita por Nolivos (2011). En la Figura 2 se describe el proceso de elaboración de queso fresco prensado.



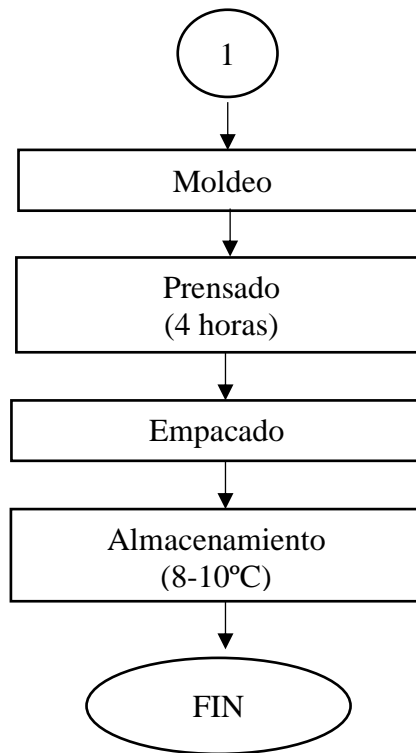


Figura 2. Flujograma de la elaboración de queso fresco prensado

Tomado de Nolivos (2011)

3.4.9. Descripción del proceso de elaboración de queso fresco prensado

3.4.9.1. Recepción

Se realizó la recepción de la materia prima (leche) para posteriormente someterla a análisis de laboratorio. Se realizaron los análisis de andén, en el Ekomilk que nos arroja densidad, grasa, agua, proteína y sólidos no grasos.

3.4.9.2. Filtración

Se realizó la filtración o depuración donde se removieron las impurezas que pueden haber tenido acceso a la leche en forma involuntaria, este proceso se la realizó mediante el uso de un lienzo.

3.4.9.3. Pasteurización

La pasteurización se realizó a una temperatura de 65 °C por 30 minutos, no se aconseja un tratamiento térmico muy fuerte, pues causa una disminución de la aptitud de la leche para coagular con el cuajo.

3.4.9.4. Enfriamiento

Luego de la pasteurización la leche fue enfriada a 38 °C que es la temperatura a la que actúa el cuajo.

3.4.9.5. Adición de Cloruro de calcio

En la elaboración de queso fresco prensado se agregó 0,20 gramos de cloruro de calcio por litro de leche, según la norma del Queso fresco. Requisitos INEN 1528:87.

3.4.9.6. Adición del Cuajo

Se adicionó una concentración de cuajo vegetal de Chilacuan (*Vasconcellea pubescens*): 0.10 gramos por litro de leche, para cada tratamiento la cantidad a utilizarse depende del tipo de cuajo.

3.4.9.7. Coagulación

Se dejó actuar el cuajo por un rango de tiempo comprendido entre 30 a 40 minutos al cabo de este tiempo la cuajada se formó tomando la apariencia muy blanda.

3.4.9.8. Corte de la cuajada

La división de la cuajada se la realizó lenta y cuidadosamente, los cortes son de forma cuadrículada, para obtener pequeños cubitos; tienen que ser netos y completos. Del tamaño de los granos de cuajada depende el contenido de agua que se desea en el queso.

3.4.9.9. Reposo

Después del corte se dejó reposar la cuajada por 10 minutos para facilitar la extracción del suero.

3.4.9.10. Batido

Se agitó los granos de la cuajada de 5 a 10 minutos dentro del suero caliente para que comience el desuerado desde el interior. Conforme avanza el batido, el grano disminuye en volumen y aumenta la densidad por la pérdida paulatina de suero; por esta razón, es necesario batir el granulo con mayor fuerza.

3.4.9.11. Desuerado

Consiste en separar el suero de los granos de cuajada, para el desuerado se lo realizo con lienzos.

3.4.9.12. Salado

La salmuera se preparó disolviendo 260 gramos en 3 litros de agua a temperatura de 40 °C, la preparación se enfrió hasta los 20°C aproximadamente para posteriormente colocar la solución en la cuajada.

3.4.9.13. Moldeado

La cuajada se colocó en los moldes de forma esférica se revistieron con un lienzo para facilitar la salida del suero y formar la corteza.

3.4.9.14. Prensado

El prensado se lo realizó ejerciendo presión para que el suero que se encuentra dentro de la estructura del queso salga al exterior de él, el tiempo de prensado fue de 4 horas para darle una mejor forma.

3.4.9.15. Empacado

El objetivo del empacado es dar al queso una apariencia agradable, protegerlo contra el ataque de microorganismos y perturbaciones mecánicas. El material utilizado para el empacado fueron fundas plásticas de polietileno.

3.4.9.16. Almacenamiento

Los quesos una vez empacados pueden ser consumidos enseguida, el queso se almacenó en refrigeración a una temperatura de 8 a 10 °C.

3.5. Procedimiento para establecer los parámetros físicos y químicos del queso fresco prensado

Para establecer los parámetros físicos y químicos de Humedad y Cenizas se utilizó la metodología propuesta por Zuares (2006).

3.5.1. Determinación del porcentaje de humedad - método automático mediante una estufa

La determinación del porcentaje de humedad se la realizó mediante la diferencia de pesos utilizando una estufa marca Ecocell, se tomó 3 g de una muestra de queso previamente triturado, para luego ser colocado en un crisol de porcelana tarado, este fue llevado a una estufa y se

calentó a 100 ± 2 °C por 24 horas, transcurrido el tiempo se sacó el crisol y se llevó al desecador para enfriarlo, posteriormente se pesó en la balanza analítica y se registró el pesos final, dicho proceso se realizó hasta peso constante.

Para realizar el cálculo del porcentaje de humedad se utilizó la ecuación:

$$\%Humedad = \frac{m1 - m2}{m1} \times 100$$

Donde:

$m1$ = Peso de la muestra inicial

$m2$ =Peso de la muestra final

3.5.2. Determinación del porcentaje de cenizas

La determinación del porcentaje de cenizas se realizó mediante el método de la mufla, el cual se basa en la destrucción de la materia orgánica presente en la muestra por calcinación y determinación gravimétrica del residuo. Se tomó una muestra de 3 g de queso ($m1$) previamente triturado, colocándolo en un crisol tarado, posteriormente se llevó el crisol a la mufla a 500 °C por 4 horas, transcurrido el tiempo se sacó la muestra al desecador hasta enfriarlo para luego pesar en la balanza analítica y registrar los pesos finales. Dicho proceso se realizó hasta obtener un peso constante.

Para realizar el cálculo del porcentaje de cenizas se utilizó la ecuación:

$$\% Cenizas = \frac{\text{Peso de la cenizas (g)}}{\text{Peso de la muestra (g)}} \times 100$$

3.5.3. Determinación del porcentaje de Acidez titulable

Para el análisis de la acidez titulable se utilizó la metodología propuesta por Ruiz (2014).

La determinación se realizó mediante titulación ácido-base, con la ayuda de fenolftaleína como sustancia indicadora y como titulante hidróxido de sodio (0, 1N).

$$\% Acides titulable = \frac{V \times N \times F}{Vm} \times 100$$

Donde:

V = Es el volumen gastado del Hidróxido de Sodio

N = Normalidad del Hidróxido de Sodio

F = Factor de acidez de la muestra (Ácido láctico: 0.09)

V_m = Volumen de la muestra

3.5.4. Determinación del pH - método potenciómetro

En la determinación del pH se empleó la metodología propuesta por López, Ruz, y Barriga (2015).

Inicialmente se calibró el potenciómetro con las soluciones tampón de referencia empezando siempre con la de pH 7 y después con la de 4,4. Se pesó en un vaso de precipitados 10 g de queso triturado, se añadió 20 mL de H₂O destilada, posteriormente se midió el pH de la muestra preparada y se leyó directamente en el visor del potenciómetro para registrar dicho valor.

3.5.5. Determinación de grasa aplicando el método GERBER

Para esta determinación se trituró el queso en un mortero, se pesó 3 g para introducirlo en el butirómetro, luego se añadió 15 mL de ácido sulfúrico previamente preparado al 50% para llevarlo a baño María a 65-70 °C hasta obtener una completa disolución del queso para ello se agitó cada 10 minutos. Después se retiró el butirómetro del baño María y se añadió 1 mL de alcohol isoamílico, se tapó y agitó, posteriormente se colocó el butirómetro en la centrífuga con la copa de vidrio hacia abajo. Se centrifugó durante 5-7 minutos a 1.200 rpm a temperatura de 20 °C. Terminada la centrifugación se sacó el butirómetro con cuidado para no mover la capa superior de la grasa ya separada. Se realizó la lectura inmediatamente antes de que el butirómetro se enfríe (mantener a 60-65 °C).

3.5.6. Determinación de proteína aplicando el método Kjeldahl.

Este método consta de las siguientes etapas:

3.5.6.1. Preparación de la muestra

Se procedió a triturar la muestra para luego pesar entre 1 y 2 gramos. En muestras con contenidos de nitrógeno muy pequeño, tomar la muestra suficiente para que contenga como mínimo 5 mg de nitrógeno).

3.5.6.2. Digestión

En el (tubo macro) se añadió 20 mL de H_2SO_4 96-98 % y 1 pastilla de digestión como catalizador, luego se programó el equipo para empezar con la digestión, luego pasamos al proceso de destilación.

3.5.6.3. Destilación

Se introdujo el tubo de digestión con la muestra en el destilador y se programó la dosificación de 50 a 75 mL de NaOH. Al mismo tiempo se colocó el Erlenmeyer de 250 mL a la salida del destilador con 50 mL de ácido Bórico y unas gotas de indicador. Se destiló hasta recoger la muestra en el Erlenmeyer de 250 mL (50mL Bórico + muestra destilada), luego de lo cual se procedió a la valoración.

3.5.6.4. Valoración y cálculo

La valoración del destilado se lo realizó con HCl hasta que la solución vire de verde a violeta.

Se realizó el cálculo con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Nitrogeno} = \frac{C(HCl) \times V(HCl) \times Peq(N)}{\text{Peso de la muestra (g)}} \times 100$$

Donde:

$C(HCl)$ = Concentración del Ácido Clorhídrico en la titulación.

$V(HCl)$ = Volumen de Ácido Clorhídrico gastado en la titulación, este valor debe estar en litros.

$Peq(N)$ = Peso equivalente de Nitrógeno es 14.

$$\% \text{ Proteína} = \% \text{ Nitrogeno} \times Fc$$

En donde:

Fc = Es el factor de proteína en lácteos (6,38).

3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se formularon tres quesos frescos utilizando cuajo de origen animal, microbiano y papaína obtenida del chilacuan, las formulaciones obtenidas se analizaron sensorialmente en los parámetros de sabor, olor, color y textura utilizando una escala hedónica de 5 puntos para determinar su aceptación por parte de un panel sensorial no entrenado y determinar las

diferencias obtenidas por los tipos de cuajos. Para determinar las estadísticas entre medias se llevó a cabo un análisis de varianza (ANOVA), seguido por la prueba de Tukey para la diferencia entre medias, se utilizó un 95% de confianza. Los datos fueron analizados a través del programa MINITAB.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 RESULTADOS

4.1.1. Características biométricas y físicas del fruto Chilacuan (*Vasconcellea pubescens*)

El análisis biométrico del fruto de chilacuan realizado se muestra en la Tabla 6, dichos datos son los valores promedios 100 frutos evaluados, para ello se utilizó un calibrador (Pie de rey) como instrumento de medida. Ver (ANEXO 1).

Tabla 6. Características biométricas del Chilacuan (*Vasconcellea pubescens*)

Características	Valores promedios
Peso (g)	176,432
Largo (cm)	9,554
Ancho (cm)	6,319

Nota: Se presentan en la tabla los valores pertenecientes a la caracterización biométrica del chilacuan en cuanto al peso en g, largo en cm y ancho en cm, después de realizar la experimentación en 100 frutos escogidos en forma aleatoria.

En la Tabla 7, se establece el porcentaje del látex el cual fue calculado considerando el peso del fruto como tal, para ello se emplearon 100 frutos, evidenciando que el contenido de látex está relacionado directamente con el tamaño. Ver (ANEXO 1).

Tabla 7. Composición porcentual del fruto Chilacuan (*Vasconcellea pubescens*)

Composición	Peso promedio (g)	%
Látex	1,97	1,11
Resto del fruto	174,47	98,88
Composición Total.	176,43	100

Nota: En la siguiente tabla se presentan los resultados después de la experimentación en cuanto a la composición porcentual del chilacuan, esta evaluación fue realizada a 100 frutos anteriormente caracterizados.

4.1.2. Purificación de la enzima papaína presente en el Chilacuan (*Vasconcellea pubescens*)

En el proceso de extracción y purificación se obtuvo un polvo blanco-grisáceo. Dicho proceso consto de etapas como extracción, liofilización, purificación y precipitación de la enzima, finalmente el producto resultante fue liofilización. Las cantidades de partida en cada una de las etapas se detallan en la Tabla 8.

Tabla 8. Purificación de la enzima presente en el Chilacuan (*Vasconcellea pubescens*)

Cantidad de chilacuan	Gramos de látex crudo	Gramos de látex liofilizado	Gramos de látex purificado	Gramos de papaína liofilizada
109 kg	712,5 g	137,1 g	137,1 g	7,25 g
58,03 kg	444,74 g	88,23 g	88,23 g	4,7 g

Nota: En la presente tabla se observan los resultados obtenidos en la experimentación en cuanto a la purificación de la enzima en todas sus etapas desde la extracción del látex hasta obtener la enzima como tal purificada y liofilizada a -59 °C por 120 horas y 0.150 Torr de presión.

4.1.3. Actividad enzimática

Mediante el método de Halls y Haber, se mide la potencia de una enzima para romper la estructura de la proteína de la leche (sustrato), dicho parámetro se mide en unidades de potencia enzimática (Upe). En la Tabla 9 se evidencia que la actividad enzimática de la papaína extraída del chilacuan está comprendida entre un rango de 251-257 Upe.

Tabla 9. Actividad enzimática

Repeticiones	Tiempo (min)	Activación enzimática
R 1	2,53	253 Upe
R 2	2,51	251 Upe
R 3	2,57	257 Upe

Nota: Los valores presentados en esta tabla pertenecen a la activación enzimática realizada por el método Halls y Haber obteniendo resultados satisfactorios empleando la fórmula para obtener las unidades de potencia de coagulación (Upe) que relación el (t) en minutos y la constante.

4.1.4. Caracterización fisicoquímica de la enzima papaína obtenida del chilacuan

La enzima papaína extraída del chilacuan fue caracterizada en los parámetros: humedad, cenizas, pH, acidez titulable y sólidos solubles, los resultados se observan en la Tabla 10.

Tabla 10. Parámetros fisicoquímicos de la enzima papaína

Parámetro	Unidad	Resultado
Humedad	(%)	14,00±0,000 a
Cenizas	(%)	8,733±0,643 a
pH		4,353±0,010 a
Acidez total titulable	(%)	0,303±0,046 a
Sólidos solubles totales	°Brix	6,667±0,577 a

Nota: Los valores presentados en esta tabla corresponden al análisis fisicoquímico realizado a la enzima papaína extraída del látex del chilacuan en los parámetros (humedad, cenizas, pH, acidez titulable y sólidos solubles), las determinaciones por cada parámetro se las realizó por triplicado.

4.1.5. Elaboración de queso fresco utilizando cuajo vegetal

Para la elaboración del queso fresco prensado se utilizaron tres tipos de cuajo, las formulaciones se describen en la Tabla 11.

Tabla 11. Formulación para la elaboración de queso fresco prensado

Tratamiento	Ingredientes			
	Cuajo (g)	Leche (L)	Cloruro de calcio (g)	Sal (g)
T 1 (279)	Vegetal (0.5)	5	1	65
T 2 (366)	Animal (0.070)	5	1	65
T 3 (117)	Microbiano (0.15)	5	1	65

Nota: En la tabla presentada se observan los datos de acuerdo a la elaboración de queso fresco prensado, cuyos datos corresponden a las formulaciones con tres tipos de cuajos, en 5 L de leche.

4.1.6. Evaluación sensorial del queso prensado

Se realizó la evaluación sensorial de los quesos frescos prensados obtenidos en los tres tratamientos (cuajo animal, vegetal, microbiano) con 50 jueces no entrenados, los resultados fueron analizados en el programa MINITAB, mediante un análisis de varianza analizando las medias resultantes para encontrar si existe diferencia estadística significativa, con un intervalo de confianza del 95 % y utilizando la prueba de comparación de TUKEY.

En la evaluación sensorial después del realizar el análisis de varianzas y de medias, se estableció que no existió diferencia significativa en cuanto a los atributos color, olor y textura, debido a que obtuvieron calificación en los atributos de 4 en la escala planteada (Agradable). En el atributo sabor existe diferencia estadística significativa cuando se usó cuajo vegetal, cuya valoración fue de 3 en la escala (Ni me agrada ni me desagrada). La Tabla 12 muestra los resultados obtenidos en la evaluación sensorial.

Tabla 12. Evaluación sensorial del queso fresco prensado

TRATAMIENTO	FACTOR			
	Olor	Color	Textura	Sabor
	M	M	M	M
Tratamiento (Papaína vegetal)	4 a (Agradable)	4 a (Agradable)	4 a (Agradable)	3 a (Ni agrada ni desagrada)
Tratamiento (Cuajo animal)	4 a (Agradable)	4 a (Agradable)	4 a (Agradable)	4 b (Agradable)
Tratamiento (Cuajo microbiano)	4 a (Agradable)	4 a (Agradable)	4 a (Agradable)	4 b (Agradable)

Nota: En la tabla se detallan los valores obtenidos en el análisis estadístico realizado a la evaluación sensorial a la cual se sometieron tres tratamientos de queso elaborados en la investigación para comparar mediante una prueba de Tukey si existe o no diferencia significativa entre tratamientos en los atributos (olor, color, sabor y textura). También dichos valores corresponden a las medias y agrupaciones para dicho análisis. Ver (ANEXO 3)

4.1.7. Características fisicoquímicas del queso fresco prensado

Se realizó el análisis fisicoquímico de los quesos obtenidos en los tres tratamientos cuyos resultados se detallan en la Tabla 13. En cuanto a los parámetros pH, acidez, humedad y proteína, se establece que no existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos. Además se evidencia que existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos para los parámetros cenizas y grasa.

Tabla 13. Resultados del análisis proximal del queso fresco prensado

Tra	pH	Acidez	Cenizas	Humedad	Grasa	Proteína
279	6,9060±0,04a	0,0270±0,000a	2,8627±0,153a	60,58300,218a	18,00±0,00 a	7,453±0,22 ^a
366	7,0873±0,01a	0,0330±0,005a	2,4056±0,060b	60,855±0,105a	15,33±0,57 b	6,945±0,29 ^a
117	6,9823±0,04a	0,0300±0,005a	2,3519±0,068b	61,405±1,382a	18,00±0,00 a	6,655±0,04 ^a

Nota: Los valores presentados en esta tabla corresponden al análisis realizado a los quesos prensados de acuerdo a los siguientes parámetros (pH, acidez, humedad, proteína, cenizas y grasa) cada determinación se la realizó por triplicado. También se muestran las medias con su respectiva desviación estándar (\pm).

4.2. DISCUSIÓN

En la caracterización biométrica realizada a 100 frutos de chilacuan (*Vasconcellea pubescens*) se obtuvo un peso promedio de 176,43 g; 9,55 cm x 6,31 cm de largo y de ancho respectivamente; valores que se encuentran dentro del promedio presentado por Ruiz (2014), en su investigación en la cual utilizó 30 frutos arrojando valores de peso 167,56 g; 9,94 x 6,26 cm largo y ancho respectivamente, dichos valores son inferiores a los obtenidos en la investigación.

En cuanto al rendimiento de la materia prima y el látex obtenido de cada uno de los frutos (chilacuanes) existe un rendimiento de 1,11 % de látex promedio de los frutos, cuyos valores fueron superiores a los presentados en la investigación de Ruiz (2014), cuyo rendimiento de materia prima aprovechable a partir del fruto de papayita de monte fue del 0,704 % de látex, pero difiere con el rendimiento obtenido por Diaz y Peláez (2012), quienes obtuvieron látex a partir del fruto de papayita (*Vasconcellea monoica*) y babaco (*Carica pentagona*) con un rendimiento del 0,407 % y 0,446 % respectivamente mucho menor al obtenido en la presente investigación. La papayita de monte presenta mayor rendimiento en látex debido al tipo de

especie y condiciones de manejo para la adecuada extracción indica Sinche (2009); por tanto, las cantidades de látex fluido y látex seco se relacionan directamente con el tamaño; del fruto más grande se obtiene el rendimiento más alto.

Las propiedades fisicoquímicas de la enzima fueron; humedad 14 %, cenizas 8,73 %; pH 4,35; acidez titulable 0,30 % y sólidos solubles 6,67 °Brix, estos valores se alejan de los obtenidos por Andrade, Morales y Martínez (2011), en su investigación con papaya cuyos resultados en la caracterización físico-química de la enzima fueron los siguientes; humedad 6 %, pH 5,09; cenizas 9,46 %.

La actividad enzimática de la papaína presente en el látex del chilacuan (*Vasconcellea pubescens*) estuvo en un rango de 251-257 Upe, valores superiores a los obtenidos por Tovar, Hernández, María, y Marie (2018), en su investigación realizada con papaína extraída del látex de lechosa, en la que la actividad enzimática fue 157,28 a 159,67 Upe, confrontando estos resultados con los de Andrade, Morales, y Martínez (2011), en su investigación quienes obtuvieron que la actividad enzimática estuvo entre 150 – 200 Upe, para papaína purificada, se puede decir que el método y sus resultados se consideran confiables, puesto que la enzima analizada en el presente estudio, reporta valores de actividad enzimática superior, debido a que el fruto con el cual se trabajó fue chilacuan en las investigaciones comparadas se determinó la actividad enzimática con papaína procedente de la papaya y cuyas condiciones de secado no fueron las mismas.

De acuerdo al análisis fisicoquímico realizado a los quesos obtenidos con los tres tipos de cuajos se evidenció que el parámetro de humedad fue entre 60,58 a 61,40 %; el porcentaje de grasa de 15,33 a 18 %, pH entre 6,90 a 7,08; la acidez 0,027 a 0,033 % de ácido láctico, cenizas de 2,38 a 2,86 % y proteína 6,65 a 7,45 % valores similares a los presentados por Quishpe (2009), en su investigación cuyos resultados en el análisis fisicoquímico del queso fresco fueron: humedad 59,17 %; grasa 21,1 %; cenizas 3,58 % y proteína 16,15 %, tomado en cuenta a la normativa INEN 1528:87 los valores de cada parámetro se encuentran dentro de los rangos establecidos.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- Las características biométricas obtenidas del fruto de chilacuan fueron: peso de 176,43 g; 9,55 cm x 6,31 cm de largo y ancho respectivamente; esta evaluación fue realizada a 100 frutos aleatoriamente. En cuanto a la composición porcentual del fruto chilacuan (*Vasconcellea pubescens*), fue 1,11% de látex promedio y 98,88% resto del fruto.
- Fue posible obtener un cuajo vegetal procedente del chilacuan. Se logró extraer el látex que pudo ser purificado para obtener una enzima purificada la cual presentó propiedades proteolíticas.
- La evaluación de la actividad enzimática por el método (Halls y Haber) arrojó resultados comprendidos entre 251-257 Upe, para papaína purificada, valores que se encuentran dentro de los límites establecidos para este tipo de enzima.
- Las características fisicoquímicas de la enzima papaína extraída del chilacuan (*Vasconcellea pubescens*) fueron: humedad 14 %; cenizas 8,73 %; pH 4,35; Acidez total titulable 0,30 % (ácido cítrico) y sólidos solubles totales 6,67 °Brix.
- En la evaluación sensorial de los quesos frescos prensados de los tres tratamientos, no se encontraron diferencias significativas en los atributos olor, color, textura, sin embargo, en el atributo sabor existió diferencia significativa en cuanto al tratamiento en el que se usó cuajo vegetal por presentar un leve sabor amargo lo cual no gustó a los jueces.
- Los resultados de los análisis fisicoquímicos (proteína, grasa, humedad, ceniza, pH y acidez titulable) realizados al queso fresco prensado se encuentran dentro de los rangos establecidos en la normativa INEN 1528:87, logrando un producto de calidad apto para la comercialización y el consumo humano.
- Se rechaza la hipótesis nula por lo cual se acepta la hipótesis alternativa en la que se establece que es factible obtener cuajo vegetal del chilacuan (*Vasconcellea pubescens*) como alternativa del cuajo de origen animal para la producción de queso con buenas características sensoriales y fisicoquímicas.

5.2. RECOMENDACIONES

- Almacenar la enzima liofilizada en condiciones ideales en un frasco ámbar a temperatura de 4 °C para que no haya contaminación.
- Los chilacuanes verdes en el momento de su recolección deben estar con el pedúnculo, ya que de esta manera se conserva mejor el látex hasta su extracción y se evita pérdida del mismo.
- Cosechar los chilacuanes en estado verde y en horas de la mañana 6:00 a 9:00 am para que la producción del látex sea la ideal y por ende aumente su productividad y rendimiento.
- En esta investigación se trabajó con papaína con la misma se elaboró queso, se recomienda efectuar un estudio de vida útil del producto final (queso).
- Se recomienda aplicar el “Método Analítico de la Unidad de Tirosina (TU)” con el fin de analizar la activación enzimática de la papaína.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agroindustria. (2018). *Agroindustria camino a al capitalización rural*. Recuperado de Cuajo vegetal: <http://agroindustriaunisarc.blogspot.com/p/tipos-de-cuajo.html>
- Agroinformacion. (8 de Septiembre de 2010). *Panorama agrario*. Recuperado de Propagacion de papayita andina: <http://agroinformacion.blogspot.es/1283970296/propagacion-de-papayita-andina/>
- Alban, M. (2006). ELABORACION DE UN QUESO FRESCO A PARTIR DE UNA MEZCLA DE LECHE DE OVEJAS Y LECHE DE VACA. *Ingeniero en Alimentos*. Universidad Técnica de Ambato, Ambato-Ecuador.
- Andrade, M., Morales, O., y Martínez, H. (2011). Estudio del proceso de extracción de papaína a partir de látex. Fruto de papaya (Carica papaya L.) cv. Maradol. *Ingeniería en Alimentos*. Universidad Estatal de Campinas, Brasil.
- Barahona, T. (1983). Proyecto de producción de fruta y latex de papaya. *Secretaria de recursos naturales*, 3.
- Bosmediano, B., Erwin, F., Coronel, C., y Juan, F. (2014). *Efectos del procesamiento de productos derivados del chamburo en la actividad antioxidante*. Universidad de Guayaquil, Guayaquil.
- Calvo, M. (2013). Coagulación enzimática de las caseínas. *Bioquímica de los alimentos*, 2.
- Campozano, S., y Saltos, X. (2013). DISEÑO DE UNA PROPUESTA GASTRONÓMICA DEL CARICA PUBESCENS “CHAMBURO”. *Licenciado en Gastronomía*. Universidad de Guayaquil, Guayaquil-Ecuador.
- Castillero, O. (2018). Investigación. *Psicología y mente*, 2-3.
- Craasco, R. R. (2008). Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. *Revista de la sociedad química*, 1(3), 1-3.

- Diaz, R., y Peláez, M. (2012). Efecto de la Concentración de látex de dos frutas nativas: papaiilla (Vasconcellea monoica) y babaco (carica pentagona) a diferentes tiempos y temperaturas sobre la carne de ganado vacuno (Bos taurus) . *Ingenierio Agroindustrial*. Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias de la UNTRM, Perú.
- Fernandez, H. (1 de Mayo de 2013). *Ser vegetariano en España*. Recuperado de Quesos sin cuajo animal para lactovegetarianos: <http://servegetarianoenespana.blogspot.com/2013/04/quesos-sin-cuajo-animal-para.html>
- Fernández, J., Salguero, C., y Velázquez, E. (5 de Febrero de 2012). *Dialnet*. Recuperado de Influencia de algunos factores sobre el tiempo de congelacion por cuajo vegetal: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=88785>
- Gasteiz, V. (2007). *Tipos de cuajos y sus características*. Universidad del Pais Vasco, País Vasco.
- Grupo Latino Editores. (2008). *Ciencia Tecnologia r Industria de los alimentos*. Colombia.
- Grupo Selecta. (2012). Método Kjeldahl. *JP SELECTA*, 1-5.
- Heinz, W. (18 de Mayo de 2010). *Imchef*. Recuperado de Liofilización: <http://www.imchef.org/que-es-la-liofilizacion/>
- Herrera, E., y Lord, R. (2014). "EFECTO DEL TIEMPO DE CONGELACIÓN Y TEMPERATURA DE LIOFILIZADO DEL LÁTEX DEL FRUTO PAPAYITA DE MONTE (Carica Pubescens) SOBRE SU ACTIVIDAD PROTEOLÍTICA EN LECHE DE VACA" . *Ingenierio Agroindustrial*. UNIVERSIDAD NACIONAL "TORIBIO RODRIGUEZ DE MENDOZA" DE AMAZONAS , Chachapoyas.
- Industria Alimenticia. (1 de Febrero de 2008). *Industria Alimenticia*. Recuperado de Enzimas Coagulantes: <https://www.industriaalimenticia.com/articles/83036-enzimas-coagulantes>

- Ingrid, B. (2 de Agosto de 2015). *INTA*. Recuperado de Etapas del Proceso de Elaboración de quesos : https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-etapas_del_proceso_de_elaboracin_de_quesos.pdf
- Kure, J., y Yugcha, A. (2012). Estudio del proceso de secado de látex de papaya (Carica papaya L.) deshidratado por aspersión. *Ingenieros en Alimentos*. Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil-Ecuador.
- López, A., Ruz, J., y Barriga, D. (2015). Determinaciones Analíticas en Queso. . *Consejería de Agricultura y Pesca*, 1-23.
- Manosroi, A., Chankhampan, C., Pattamapun, K., Manosroi, W., & Manosroi, J. (2014). Actividades gelificantes y antioxidantes de la papaina presente en el látex de papaya y bromelina en la piña. *Chiang Mai*, 1-2.
- Marcillo, V. (2005). Efecto de dos tipos alternativos de secado en la actividad enzimática del látex de babaco. *Ingeniera Química*. Escuela Politécnica Nacional,, Quito-Ecuador.
- Ming C, B. A. (2002). Efectos de los tensioactivos iónicos y no iónicos sobre la actividad de papaína. *Actividad de la papaina*, 71-77.
- Nazate, K. (2013). *Uso del chilacuan (Carica pubescens) como alternativa gastronómica en la repostería*. Universidad Técnica del Norte, Ibarra.
- Nolivos, M. (2011). “USO DE CUAJO VEGETAL (Leche de Higo Verde - Ficus Carica. (Tesis de Ingeniería). Universidad Técnica de Ambato, Ecuador.
- Pérez, D. (26 de Septiembre de 2017). *Degusta*. Recuperado de De un problema surgió el queso: <https://www.degustarioja.com/sabemos-de/problema-surgio-queso-20170916001728-ntvo.html>
- Quino Favero, J., Bernal Portilla, N., y Yácono Llanos, J. C. (2008). Diseño de un proceso experimental para la producción de papaína liofilizada. *Ingeniería Industrial*, 2010.

- Quishpe, C. (2009). Diseño de los procesos y rediseño de la planta de producción de queso fresco y yogurt en la Asociación Agropecuaria "El Ordeño" de la Chimba. *Ingeniera Agroindustrial*. Escuela Politécnica Nacional, Quito-Ecuador.
- Ramírez, C. (s.f.). El cuajo. *Técnico Agronomo*. Universidad de Chile, Chile.
- Robinson, R., & Wilbey, R. (2002). *Fabricacion de queso*. España: Acribia S.A.
- Rodríguez, D. (2019). Investigación Aplicada. *Lifeder*, 1-3.
- Ruiz, E. (2014). EFECTO DEL TIEMPO DE CONGELACIÓN Y TEMPERATURA DE LIOFILIZADO DEL LÁTEX DEL FRUTO PAPAYITA DE MONTE (*Carica pubescens*) SOBRE LA ACTIVIDAD PROTEOLÍTICA EN AL LECHE DE VACA. *Tesis de Ingenieria*. Universidad Naconal de Amazonas, Ecuador.
- Sánchez, J., Juca, C., y Naomí, D. (2015). Estudio de factibilidad de la utilización de enzimas vegetales en la elaboración del queso tipo fresco. *Tesis de Ingeniero*. Universidad del Azuay, Ecuador.
- Santín, L. (22 de Febrero de 2011). *Las enzimas*. Recuperado de Las enzimas: <https://addi.ehu.es/bitstream/handle/10810/14292/4-%20Cap%C3%ADtulo%20I.%20Las%20enzimas.pdf?sequence=4&isAllowed=y>
- Sinche, M. (2009). Aislamiento, purificación parcial y Caracterización cinética de las proteasas presentes en el látex de los frutos de una planta del género *Vasconcellea*. *Ingeniero Agroindustrial*. Escuela Politécnica Nacional, Quito-Ecuador.
- Sinche, S., y Vinicio, M. (2009). *Aislamiento, purificación parcial y caracterización cinética de las proteasas presentes en el látex de los frutos de una planta del género Vasconcella*. Escuela Politécnica Nacional, Quito.
- Stracuzzi, S., y Martins, F. (2012). *Metodología de la investigación cuantitativa*. Caracas: FEDUPEL.

- Tovar, Y., Ávila, R., Piere, M., y Golzáles, M. (2018). PURIFICACIÓN DE LA PAPAÍNA DEL LÁTEX DE LA LECHOSA Y CUANTIFICACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA. *Ingenieros Agroindustriales*. Unoversidad Centroccidental, Lara-Venezuela.
- Vanguardia. (12 de Septiembre de 2017). *Papaína* . Recuperado de La maravilla que contiene la papaya: <https://www.vanguardia.com.mx/papainalamaravillaquecontienelapapaya-39613.html>
- Vázquez, J. (12 de Junio de 2015). *Lifeder*. Recuperado de Chigualcan: <https://www.Lifeder.com/chigualcan/>
- Villavicencio, M. (2011). “EXTRACCIÓN, CONCENTRACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA PAPAÍNA A PARTIR DE LA PAPAYA (Carica papaya)”. *Ingeniera Bioquímica*. Universidad Técnica de Ambato, Ambato-Ecuador.
- Yugcha, A., Kure, J., y Castillo, P. (s.f). *Estudio del proceso de secado de látex de papaya (Carica papaya L.) deshidratado por asperción*. Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil. Ecuador.
- Zuares, D. (2006). *Análisi de queso y leche en polvo*. Universidad de Zulia, Maracaibo.

VII. ANEXOS

ANEXO 1. Caracterización biométrica del Chilacuan.

Tabla 14. Caracterización biométrica del chilacuan (*Vasconcellea pubescens*)

MUESTRA	Diámetro 1 (cm)	Diámetro 2 (cm)	Diámetro promedio (cm)	Largo (cm)	Peso (g)
1	6,4	6,2	6,3	10,2	192
2	6,1	6,2	6,15	9,7	178,3
3	6,7	6,8	6,75	10,4	222,6
4	7	6,7	6,85	10,1	193,7
5	5,8	5,9	5,85	9,9	156,7
6	6,7	6,6	6,65	9,8	230
7	6,8	6,6	6,7	11,8	239,3
8	5,9	5,8	5,85	10,1	173,6
9	5,5	5,6	5,55	9,4	139,6
10	6,9	6,5	6,7	10,7	243,1
11	6,5	6,4	6,45	10,4	218,1
12	6,8	6,6	6,7	10,8	238,3
13	6,5	6,4	6,45	10,2	189,4
14	6,4	6,5	6,45	9,3	181,9
15	5,7	5,9	5,8	8,7	122,3
16	6,5	6,5	6,5	9,5	170,5
17	6,3	6,6	6,45	8,4	166,9
18	6,6	6,4	6,5	9,6	177
19	6,3	6,5	6,4	9,6	172,8
20	6,2	6,4	6,3	10,4	200,1
21	6,3	6,4	6,35	9	177,6
22	6,8	6,8	6,8	10,9	240,3
23	6,7	6,6	6,65	10,4	217,7
24	5,8	6	5,9	9,9	159,7
25	5,9	6	5,95	8,5	127,4
26	6,1	6,2	6,15	10,1	172,5
27	6,3	6,2	6,25	9,2	177
28	6	6,2	6,1	9,1	163,9
29	6	6	6	8,7	146,2
30	7,5	7,2	7,35	10,3	208,3
31	6,5	6,3	6,4	9,8	173
32	6,6	6,4	6,5	9,9	185,6
33	6,5	6,4	6,45	9,2	172,4

MUESTRA	Diámetro 1 (cm)	Diámetro 2 (cm)	Diámetro promedio (cm)	Largo (cm)	Peso (g)
34	5,6	5,6	5,6	9,1	135,5
35	6	5,9	5,95	8,9	160,2
36	6	6,2	6,1	8,9	154,4
37	6	6	6	9,6	153,5
38	7,1	6,8	6,95	11,4	250,3
39	6,2	6,3	6,25	10,9	189,6
40	5,6	5,7	5,65	8,9	137
41	6,1	6,2	6,15	9,7	159,8
42	6,8	6,9	6,85	9,5	198,5
43	5,9	5,7	5,8	9,6	146,7
44	6,6	6,5	6,55	10,3	207,6
45	6,5	6,4	6,45	10	192,4
46	7,1	6,8	6,95	9	196
47	6,3	6,3	6,3	9,3	169,9
48	6,2	6,3	6,25	9,4	168
49	5,9	5,8	5,85	8	129,9
50	6,2	6,3	6,25	11,2	185,5
51	6,4	6,3	6,35	9,3	156,4
52	6,5	6,6	6,55	9	180,7
53	6,6	6,5	6,55	9	158,9
54	6	5,9	5,95	8,8	139,5
55	6,1	6,2	6,15	9,8	163,3
56	6,1	6,4	6,25	8,3	177,3
57	6,3	6,2	6,25	9,6	180,8
58	5,8	5,8	5,8	8,5	138
59	5,9	5,9	5,9	9,1	150,7
60	6,3	6,3	6,3	11,2	189,9
61	6	6	6	9,2	144,5
62	6,5	6,7	6,6	9,9	173,1
63	7	6,9	6,95	10,9	228,1
64	6,3	6,3	6,3	9,7	175
65	6,6	6,5	6,55	10,6	195,4
66	6,6	6,9	6,75	10,3	227,1
67	6,6	6,5	6,55	9,7	194
68	5,8	5,8	5,8	9	142,9
69	5,9	6,1	6	8,6	140
70	6,2	6	6,1	8,4	139

MUESTRA	Diámetro 1 (cm)	Diámetro 2 (cm)	Diámetro promedio (cm)	Largo (cm)	Peso (g)
71	5,8	6	5,9	8,9	135,7
72	6,6	6,5	6,55	8,8	173,9
73	6,1	6,2	6,15	8,9	151,2
74	6,7	6,8	6,75	10,8	211,8
75	6,1	6,1	6,1	9,2	159,3
76	6,6	6,5	6,55	10,4	209,7
77	6,3	6,5	6,4	9,6	175,3
78	5,9	6	5,95	9,5	152,2
79	5,6	5,5	5,55	8,6	121,7
80	6,7	6,6	6,65	8,8	175,5
81	7,3	7	7,15	9,4	230,8
82	6,7	6,8	6,75	10,4	237,8
83	6,7	6,8	6,75	10,6	211,3
84	6,2	5,9	6,05	7,9	190
85	6,6	6,5	6,55	10	124,5
86	5,8	5,9	5,85	8,4	129
87	5,6	5,8	5,7	8,9	128,3
88	6,1	6,3	6,2	8,6	137,5
89	6,8	6,5	6,65	8,9	194,3
90	6,5	6,6	6,55	8,6	180,4
91	6,6	6,7	6,65	8,9	222,4
92	5,7	6,1	5,9	9,7	163,7
93	6,2	6,4	6,3	10,7	181
94	6,1	6,1	6,1	9,7	157,2
95	6,1	6,3	6,2	10	178,8
96	6,6	6,5	6,55	8,5	175,5
97	6,5	6,6	6,55	9,4	175,3
98	5,7	5,9	5,8	9	141,9
99	6,5	6,3	6,4	8,3	154,2
100	6,9	7	6,95	9,4	205,8
PROMEDIO	6,318	6,32	6,319	9,554	176,432

Tabla 15. Composición porcentual del fruto chilacuan (*Vasconcellea pubescens*)

MUESTRA	Peso inicial (g)	Peso (g)	Cantidad de látex	%
1	192	189,2	2,8	1,458
2	178,3	175,6	2,7	1,514
3	222,6	220,6	2	0,898
4	193,7	190,3	3,4	1,755
5	156,7	155	1,7	1,085
6	230	227,6	2,4	1,043
7	239,3	237,3	2	0,836
8	173,6	171,7	1,9	1,094
9	139,6	137,3	2,3	1,648
10	243,1	242,4	0,7	0,288
11	218,1	216,4	1,7	0,779
12	238,3	237,3	1	0,42
13	189,4	187,3	2,1	1,109
14	181,9	180	1,9	1,045
15	122,3	120,1	2,2	1,799
16	170,5	168	2,5	1,466
17	166,9	165	1,9	1,138
18	177	174,5	2,5	1,412
19	172,8	170,7	2,1	1,215
20	200,1	198,1	2	1
21	177,6	176,5	1,1	0,619
22	240,3	237,5	2,8	1,165
23	217,7	215,5	2,2	1,011
24	159,7	157,2	2,5	1,565
25	127,4	124,4	3	2,355
26	172,5	170,3	2,2	1,275
27	177	175,7	1,3	0,734
28	163,9	161	2,9	1,769
29	146,2	144,1	2,1	1,436
30	208,3	206,3	2	0,96
31	173	170,5	2,5	1,445
32	185,6	182,9	2,7	1,455
33	172,4	170,1	2,3	1,334
34	135,5	133,4	2,1	1,55
35	160,2	157,4	2,8	1,748
36	154,4	151,7	2,7	1,749
37	153,5	150,4	3,1	2,02

MUESTRA	Peso inicial (g)	Peso (g)	Cantidad de látex	%
38	250,3	246,6	3,7	1,478
39	189,6	188,8	0,8	0,422
40	137	135,2	1,8	1,314
41	159,8	156,6	3,2	2,003
42	198,5	197,1	1,4	0,705
43	146,7	144,9	1,8	1,227
44	207,6	205,5	2,1	1,012
45	192,4	190	2,4	1,247
46	196	193,6	2,4	1,224
47	169,9	168,6	1,3	0,765
48	168	165,7	2,3	1,369
49	129,9	127,6	2,3	1,771
50	185,5	183,6	1,9	1,024
51	156,4	153,9	2,5	1,598
52	180,7	178,4	2,3	1,273
53	158,9	157,2	1,7	1,07
54	139,5	137,4	2,1	1,505
55	163,3	162	1,3	0,796
56	177,3	175,9	1,4	0,79
57	180,8	178,8	2	1,106
58	138	136,5	1,5	1,087
59	150,7	149	1,7	1,128
60	189,9	187,9	2	1,053
61	144,5	142,4	2,1	1,453
62	173,1	171	2,1	1,213
63	228,1	226,2	1,9	0,833
64	175	173,9	1,1	0,629
65	195,4	194,1	1,3	0,665
66	227,1	224,9	2,2	0,969
67	194	192	2	1,031
68	142,9	141,4	1,5	1,05
69	140	138,2	1,8	1,286
70	139	137,5	1,5	1,079
71	135,7	133,7	2	1,474
72	173,9	171,9	2	1,15
73	151,2	149	2,2	1,455
74	211,8	210,2	1,6	0,755
75	159,3	157,2	2,1	1,318

MUESTRA	Peso inicial (g)	Peso (g)	Cantidad de látex	%
76	209,7	207,7	2	0,954
77	175,3	173,3	2	1,141
78	152,2	149,9	2,3	1,511
79	121,7	119,9	1,8	1,479
80	175,5	173,9	1,6	0,912
81	230,8	230,3	0,5	0,217
82	237,8	235,7	2,1	0,883
83	211,3	210,9	0,4	0,189
84	190	188,2	1,8	0,947
85	124,5	122,5	2	1,606
86	129	127,3	1,7	1,318
87	128,3	126,5	1,8	1,403
88	137,5	135,5	2	1,455
89	194,3	192,6	1,7	0,875
90	180,4	178,8	1,6	0,887
91	222,4	220,5	1,9	0,854
92	163,7	162,6	1,1	0,672
93	181	179,6	1,4	0,773
94	157,2	155,2	2	1,272
95	178,8	176,7	2,1	1,174
96	175,5	173,7	1,8	1,026
97	175,3	173,6	1,7	0,97
98	141,9	140	1,9	1,339
99	154,2	153,8	0,4	0,259
100	205,8	204,1	1,7	0,826
PROMEDIO	176,43	174,47	1,97	1,15

ANEXO 2. Hoja de evaluación sensorial.

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI

FACULTAD DE INDUSTRIAS AGROPECUARIAS Y CIENCIAS AMBIENTALES

HOJA DE EVALUACIÓN SENSORIAL

PRODUCTO: QUESO FRESCO PRENSADO

EDAD:..... GENERO:..... FECHA:.....

La presente es parte de la tesis de investigación denominada “Extracción de la enzima papaína presente en el chilacuan (*Vasconcellea pubescens*) como alternativa de cuajo vegetal”

INDICACIONES

- Estimad@, en la presente degustación se le presentan 3 muestras de queso fresco prensado y un vaso con agua.
- Limpie con agua su paladar antes y después de cada muestra.
- Marque con una x la respuesta que usted crea conveniente.
- Antes de degustar el producto evalúe de acuerdo a su criterio los atributos de olor, color y textura.
- Seguidamente pruebe los productos y evalúe de acuerdo a su criterio el atributo de sabor y finalmente la aceptación del producto como tal:

Por favor antes de probar el queso, conteste a las siguientes preguntas:				
CARACTERISTICA	ESCALA	MUESTRA		
		279	366	117
OLOR	Muy agradable			
	Agradable			
	Ni agrada ni desagrada			
	Desagradable			
	Muy desagradable			

COLOR	Muy agradable			
	Agradable			
	Ni agrada ni desagrada			
	Desagradable			
	Muy desagradable			
Por favor antes de probar el queso, conteste a las siguientes preguntas:				
CARACTERISTICA	ESCALA	MUESTRA		
		279	366	117
TEXTURA	Muy agradable			
	Agradable			
	Ni agrada ni desagrada			
	Desagradable			
	Muy desagradable			
SABOR	Muy agradable			
	Agradable			
	Ni agrada ni desagrada			
	Desagradable			
	Muy desagradable			

Recomendaciones:

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

MIL GRACIAS POR SU COLABORACION

ANEXO 3. Fotografías de la investigación.



Figura 3. Árbol de chilacuan



Figura 4. Fruto (Chilacuan)



Figura 5. Selección del Chilacuan



Figura 6. Caracterización biométrica del Chilacuan (largo)



Figura 7. Caracterización biométrica del chilacuan (ancho)



Figura 8. Extracción del látex



Figura 9. Liofilizador



Figura 10. Centrifuga



Figura 11. Lavado de la enzima



Figura 12. Filtrado de la enzima.



Figura 13. Triturado de la enzima liofilizada



Figura 14. Papaína liofilizada



Figura 15. Caracterización fisicoquímica del látex del chilacuan (cenizas)



Figura 16. Caracterización fisicoquímica del látex del chilacuan (°Brix)

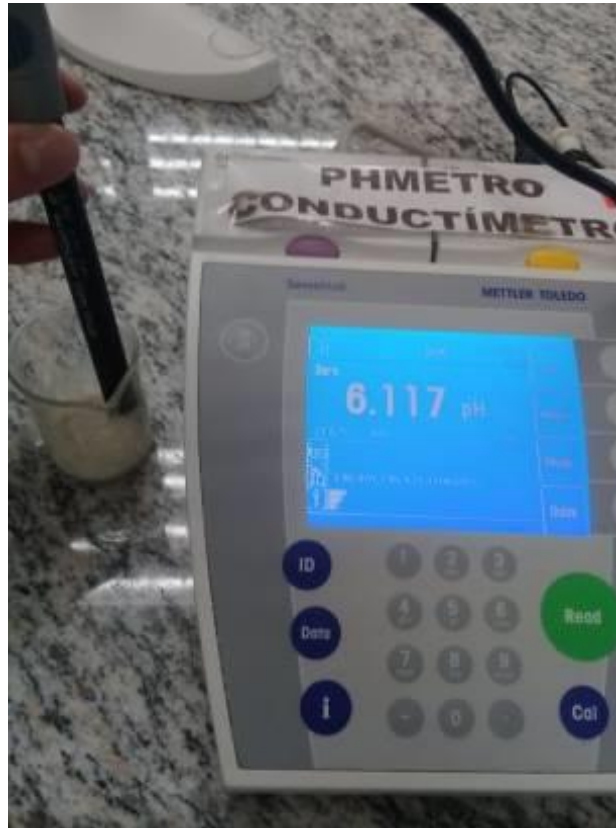


Figura 17. Caracterización fisicoquímica del látex del chilacuan (pH)



Figura 18. Caracterización fisicoquímica del látex del chilacuan (Acidez titulable)



Figura 19. Caracterización fisicoquímica del látex del chilacuan (humedad)



Figura 20. Activación enzimática



Figura 21. Separación de dos fases (Activación enzimática)



Figura 22. Balanza analítica



Figura 23. Análisis de la leche (Ekomilk)

ANEXO 4. Estadístico (Evaluación sensorial del queso fresco prensado).

Evolución sensorial del atributo olor

Tabla 16. Análisis de varianza del atributo olor en los tres tratamientos de queso.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
TRATAMIENTO	2	0,16	0,08	0,09	0,915
Error	147	131,5	0,89456		
Total	149	131,66			

Tabla 17. Medias obtenidas del atributo olor en los tres tratamientos de queso.

TRATAMIENTO	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
117	50	3,7	0,953	(3,436; 3,964)
279	50	3,66	0,872	(3,396; 3,924)
366	50	3,62	1,008	(3,356; 3,884)

Desv.Est. agrupada = 0,945811

Tabla 18. Comparaciones en parejas de Tukey.

Diferencia de niveles	Diferencia de las medias	EE de diferencia	IC de 95%	Valor T	Valor p ajustado
279 – 117	-0,04	0,189	(-0,488; 0,408)	-0,21	0,976
366 – 117	-0,08	0,189	(-0,528; 0,368)	-0,42	0,906
366 – 279	-0,04	0,189	(-0,488; 0,408)	-0,21	0,976

Nivel de confianza individual = 98,09%

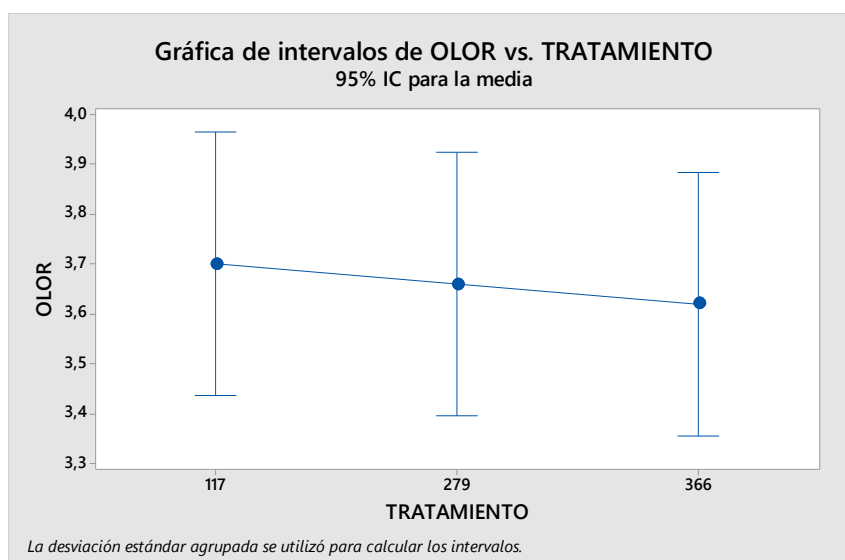


Figura 24. Intervalos de olor vs tratamiento

Evolución sensorial del atributo color

Tabla 19. Análisis de varianza del atributo color en los tres tratamientos de queso.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
TRATAMIENTO	2	1,053	0,5267	0,78	0,461
Error	147	99,54	0,6771		
Total	149	100,593			

Tabla 20. Medias obtenidas del atributo color en los tres tratamientos de queso.

TRATAMIENTO	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
117	50	4,04	0,989	(3,810; 4,270)
279	50	4,1	0,6145	(3,8700; 4,3300)
366	50	4,24	0,822	(4,010; 4,470)

Desv.Est. agrupada = 0,82288

Tabla 21. Comparaciones en parejas de Tukey.

Diferencia de niveles	Diferencia de las medias	EE de diferencia	IC de 95%	Valor T	Valor p ajustado
279 - 117	0,06	0,165	(-0,330; 0,450)	0,36	0,929
366 - 117	0,2	0,165	(-0,190; 0,590)	1,22	0,446
366 - 279	0,14	0,165	(-0,250; 0,530)	0,85	0,672

Nivel de confianza individual = 98,09%

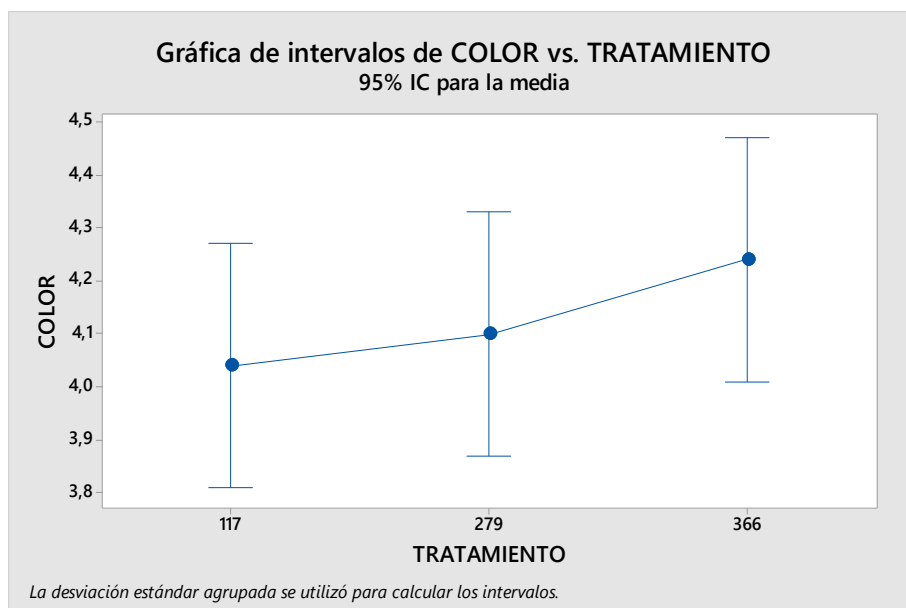


Figura 25. Intervalos de color vs tratamiento

Evaluación sensorial del atributo textura

Tabla 22. Análisis de varianza del atributo textura en los tres tratamientos de queso.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
TRATAMIENTO	2	9,12	4,56	6,61	0,002
Error	147	101,34	0,6894		
Total	149	110,46			

Tabla 23. Medias obtenidas del atributo textura en los tres tratamientos de queso.

TRATAMIENTO	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
117	50	3,98	0,869	(3,748; 4,212)
279	50	3,62	0,855	(3,388; 3,852)
366	50	4,22	0,764	(3,988; 4,452)

Desv.Est. agrupada = 0,830294

Tabla 24. Comparaciones en parejas de Tukey

Diferencia de niveles	Diferencia de las Medias	EE de diferencia	IC de 95%	Valor T	Valor p ajustado
279 – 117	-0,36	0,166	(-0,753; 0,033)	-2,17	0,08
366 – 117	0,24	0,166	(-0,153; 0,633)	1,45	0,321
366 – 279	0,6	0,166	(0,207; 0,993)	3,61	0,001

Nivel de confianza individual = 98,09

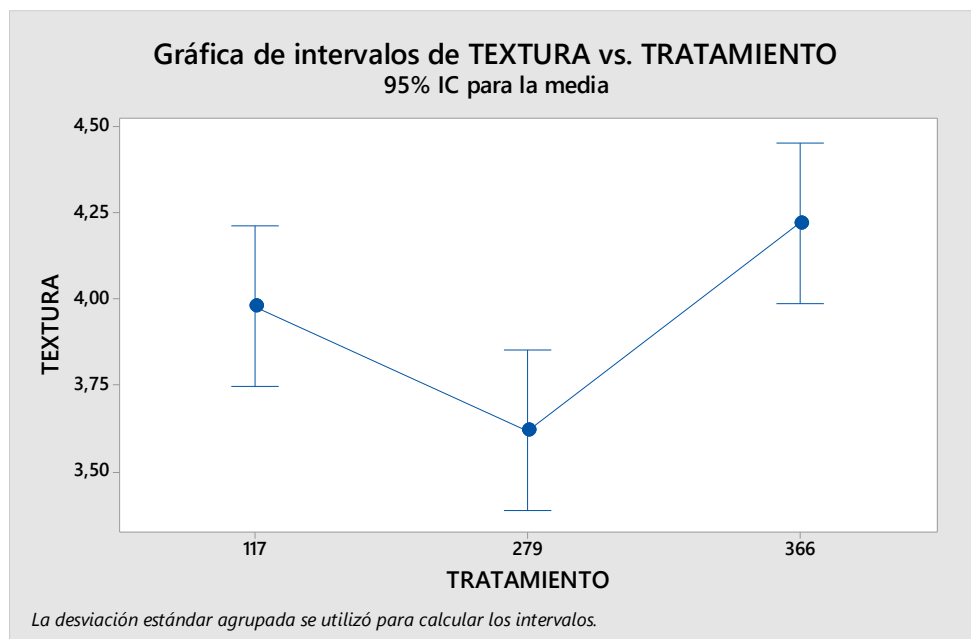


Figura 26. Intervalos de textura vs tratamiento

Evolución sensorial del atributo sabor

Tabla 25. Análisis de varianza del atributo sabor en los tres tratamientos de queso.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
TRATAMIENTO	2	44,33	22,1667	25,81	0
Error	147	126,26	0,8589		
Total	149	170,59			

Tabla 26. Medias obtenidas del atributo sabor en los tres tratamientos de queso.

TRATAMIENTO	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
117	50	4,36	0,921	(4,101; 4,619)
279	50	3,06	0,956	(2,801; 3,319)
366	50	3,96	0,903	(3,701; 4,219)

Desv.Est. agrupada = 0,926775

Tabla 27. Comparaciones en parejas de Tukey.

Diferencia de niveles	Diferencia de las medias	EE de diferencia	IC de 95%	Valor T	Valor p ajustado
279 - 117	-1,3	0,185	(-1,739; -0,861)	-7,01	0
366 - 117	-0,4	0,185	(-0,839; 0,039)	-2,16	0,082
366 - 279	0,9	0,185	(0,461; 1,339)	4,86	0

Nivel de confianza individual = 98,09

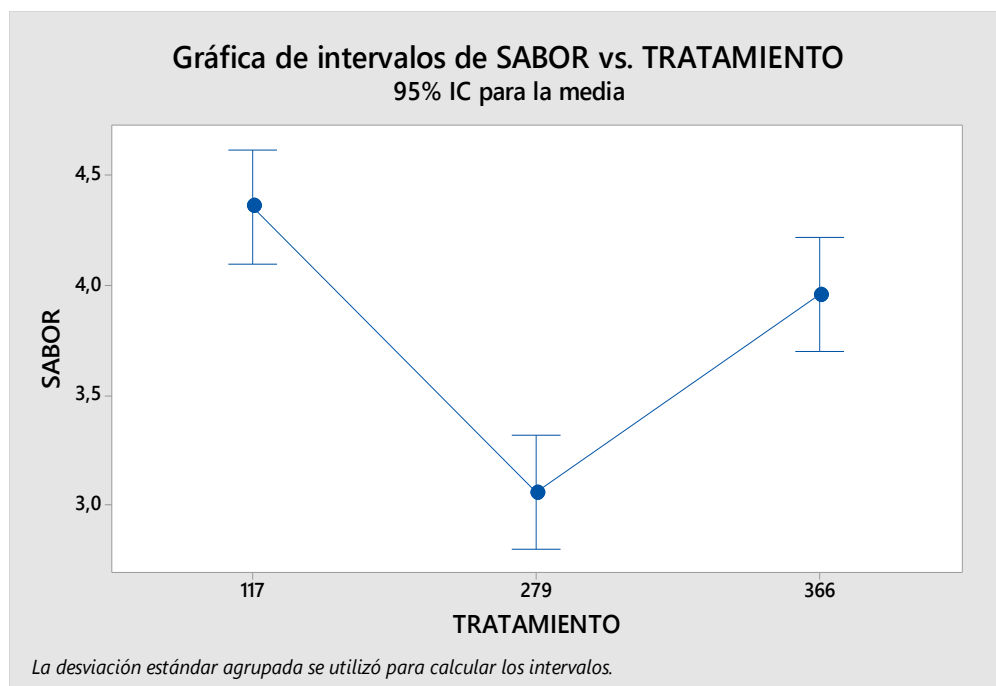


Figura 27. Intervalos de sabor vs tratamiento

ANEXO 5. Norma INEN 1528:87. Queso fresco (Requisitos).

CDU 637.3	AL 03.01-420	
Norma Ecuatoriana Obligatoria	QUESO FRESCO REQUISITOS	INEN 1528 198707
<p>1. OBJETO</p> <p>1.1 Esta norma establece los requisitos del queso fresco</p> <p style="text-align: center;">2. TERMINOLOGÍA</p> <p>2.1 Queso. Es el producto lácteo fresco o maduro que se obtiene por separación del suero de la leche entera, parcial o totalmente descremada, coagulada por acción del cuajo u otros coagulantes apropiados.</p> <p>2.2 Queso Fresco. Es un queso que está listo para el consumo después de la fabricación y no será sometido a ningún cambio físico o químico adicional.</p> <p style="text-align: center;">3. REQUISITOS DEL PRODUCTO</p> <p>3.1 Requisitos Generales</p> <p>3.1.1 Forma. El queso fresco común presentará bordes regulares y caras lisas mientras que el queso fresco extra húmedo tendrá la forma determinada por su envase. Ambos deberán cumplir con las regulaciones INEN vigentes sobre pesas y medidas.</p> <p>3.1.2 Apariencia. El queso fresco debe presentar textura suave, no esponjosa y su color puede variar del blanco al crema. Debe estar libre de colorantes. Su color y sabor deben ser los característicos del tipo de queso.</p> <p>3.2 Requisitos de Fabricación</p> <p>3.2.1 Materia prima. El queso fresco debe fabricarse con leche cruda sometida al proceso de pasteurización, proveniente de animales sanos.</p> <p>3.2.2 Proceso. El queso fresco deberá elaborarse en condiciones higiénico-sanitarias adecuadas y con buenas prácticas de fabricación, que permitan reducir al mínimo la contaminación microbiana perjudicial.</p> <p>3.2.3 Aditivos e ingredientes</p> <p>3.2.3.1 En la elaboración del queso fresco común pueden emplearse los siguientes aditivos e ingredientes:</p> <p>a) fermento láctico</p> <p>b) cuajo u otras enzimas adecuadas</p>		

- c) cloruro de sodio
- d) cloruro de calcio, con un máximo de 0,2 g/litro de leche empleada
- e) sustancias aromatizantes naturales no derivadas de la leche, tales como especias, en cantidades tecnológicamente adecuadas.

3.2.3.2 En la elaboración del queso fresco extra húmedo podrán emplearse aditivos e ingredientes permitidos según Normas INEN específicas.

3.3 Especificaciones

3.3.1 El queso fresco, de acuerdo a su clasificación, analizado según las normas técnicas correspondientes, deberá cumplir con los requisitos establecidos en la Tabla 1.

TABLA 1. Requisitos del queso fresco

Requisitos	Tipo de Queso	Unidad	Min.	Máx.	Método de Ensayo
Humedad	Queso fresco común	%	-	65	INEN 63
	Queso fresco extra húmedo	%	>65	80	INEN 63
Grasa en el extracto seco		%	>60	-	INEN 64
	Ricos en grasa	%	>45	60	INEN 64
	Grasos	%	>25	45	INEN 64
	Semigrasos	%	>10	25	INEN 64
	Pobres en grasa Desnatados	%	-	10	INEN 64

3.3.2 El queso fresco, ensayado de acuerdo con las Normas Ecuatorianas correspondientes, deberá cumplir con los requisitos microbiológicos establecidos en la Tabla 2.

TABLA 2. Requisitos microbiológicos del queso fresco

Requisitos	Unidad	Máximo	Método de Ensayo
Escherichia Coli	Colonias/g	100	INEN 1529
Staphilococcus Aureus	Colonias/g	100	INEN 1529
Mohos y Levaduras	Colonias/g	50.000	INEN 1529
Salmonella	Colonias/25g	0	INEN 1519

3.3.3 El producto deberá estar exento de otros microorganismos patógenos.

3.3.4 Para la aceptación de lotes (o partidas) de queso fresco, se debe cumplir con los requisitos microbiológicos del Anexo A.

3.3.5 El ensayo de la fosfatasa, realizado de acuerdo con la Norma INEN 65 sobre el queso fresco, deberá dar un máximo de tres unidades.

4. REQUISITOS COMPLEMENTARIOS

4.1 Envasado. El queso fresco debe acondicionarse en envases cuyo material sea resistente a la acción del producto y que no altere las características organolépticas del mismo.

4.2 Rotulado. El rótulo o la etiqueta del envase debe incluir la siguiente información de acuerdo a la Norma INEN 1334.

- a) designación del producto y tipo
- b) marca comercial
- c) identificación del lote
- d) razón social de la empresa
- e) contenido neto en unidad del SI y de acuerdo a las regulaciones P y M de 1986-01
- f) número del Registro Sanitario
- g) fecha del tiempo máximo de consumo
- h) lista de ingredientes
- i) precio de venta al público (P:V:P)
- j) país de origen
- k) forma de conservación
- l) norma técnica INEN de referencia

5. MUESTREO

5.1 El muestreo deberá realizarse de acuerdo con la Norma INEN 4.

ANEXO A

MUESTREO Y ANALISIS MICROBIOLÓGICO

A.1 Podrán ser aceptados los lotes (o partidas) de queso fresco que cumplan con los requisitos del programa de atributos constantes en la Tabla A-1.

TABLA A-1. Requisitos microbiológicos del queso fresco (lotes o partidas)

Requisitos	Clase	n	c	M	M	Método de ensayo
Escherichia Coli	3	5	2	100/g	500/g	INEN 1529
Staphilococcus Aureus	3	5	2	100/g	1000/g	INEN 1529
Salmonella	3	5	0	0/25g		INEN 1529

ANEXO 6. Certificado o acta del Perfil de Investigación.



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI
FACULTAD DE INDUSTRIAS AGROPECUARIAS Y CIENCIAS AMBIENTALES
CARRERA DE INGENIERIA EN ALIMENTOS

ACTA

DE LA SUSTENTACIÓN DE PREDEFENSA DEL INFORME DE INVESTIGACIÓN DE:

NOMBRE: ARELLANO TOBAR JEFFERSON VLADIMIR
NIVEL/PARALELO: DÉCIMO

CÉDULA DE IDENTIDAD: 0402053359
PERIODO ACADÉMICO: ABRIL - AGOSTO 2019

TEMA DE INVESTIGACIÓN: "Extracción de la enzima papaína presente en el chilacuan (*Vasconcellea pubescens*) como alternativa de cuajo vegetal"

Tribunal designado por la dirección de esta Carrera, conformado por:

PRESIDENTE: MSC. RIVAS ROSERO CARLOS ALBERTO
LECTOR: MSC. YAMBAY VALLEJO WILMAN JENNY
ASESOR: MSC. TORRES MAYANQUER FREDDY GIOVANNY

De acuerdo al artículo 21: Una vez entregados los requisitos para la realización de la pre-defensa el Director de Carrera integrará el Tribunal de Pre-defensa del informe de investigación, fijando lugar, fecha y hora para la realización de este acto:

EDIFICIO DE AULAS: 4 **AULA:** 106

FECHA: 10 DE SEPTIEMBRE DEL 2019

HORA: 11H45

Obteniendo las siguientes notas:

1) Sustentación de la predefensa: 6,05
2) Trabajo escrito 2,50
Nota final de PRE DEFENSA 8,55


Por lo tanto: **APRUEBA CON OBSERVACIONES** ; debiendo acatar el siguiente artículo:

Art. 24.- De los estudiantes que aprueban el Plan de Investigación con observaciones. - El estudiante tendrá el plazo de 10 días laborables para proceder a corregir su informe de investigación de conformidad a las observaciones y recomendaciones realizadas por los miembros Tribunal de sustentación de la pre-defensa.

Para constancia del presente, firman en la ciudad de Tulcán el 10 DE SEPTIEMBRE DEL 2019


MSC. RIVAS ROSERO CARLOS ALBERTO
PRESIDENTE


MSC. TORRES MAYANQUER FREDDY GIOVANNY
TUTOR


MSC. YAMBAY VALLEJO WILMAN JENNY
LECTOR

Adj.: Observaciones y recomendaciones