

ESTUDIO DE FACTIBILIDAD DE LA UTILIZACIÓN DE ENZIMAS VEGETALES EN LA ELABORACIÓN DEL QUESO TIPO FRESCO DE ALTA HUMEDAD

*Claudio E. Sánchez-Jáuregui**, *Diana N. Juca-Villalta* y *Diego H. Montero-Flor*

Laboratorio de Biotecnología, Laboratorio de Tecnología de Lácteos, UDALAB, Facultad de Ciencia y Tecnología, Universidad del Azuay. Av. 24 de Mayo 7-77 y Hernán Malo, Cuenca, Ecuador.

E-mail: csanchez@uzuay.edu.ec

RESUMEN

Con el propósito de buscar alternativas para la elaboración de productos en la industria láctea, se estudiaron dos extractos enzimáticos vegetales obtenidos del higo (*Ficus carica* L.) y chamburo (*Vasconcellea cundinamarcensis* Badillo), como coagulantes para elaborar un queso tipo fresco. Se extrajo el látex de los frutos y se les dio una purificación parcial, mejorando de esta manera su capacidad coagulante. Con los extractos obtenidos se elaboró una solución salina de cada enzima para posteriormente realizar una mezcla mediante diseño experimental y obtener un queso tipo fresco con características idóneas para el consumo. Tomando el producto final con mayor aceptación se determinó su vida útil, probando finalmente la factibilidad de sustituir el cuajo quimosina por las enzimas estudiadas, a través de pruebas físico-químicas, microbiológicas y sensoriales.

Palabras clave: higo, chamburo, enzimas vegetales, queso fresco, vida útil.

ABSTRACT

Feasibility study of plant enzymes used in the production of fresh type cheese

In order to find alternatives for the processing of products in the dairy industry, two plant enzyme extracts obtained from fig (*Ficus carica* L.) and mountain papaya (*Vasconcellea cundinamarcensis* Badillo) were studied as coagulants to produce a fresh type cheese. The latex of the fruit was removed and given a partial purification, improving its coagulant capacity. A saline solution from each enzyme was developed from the extract obtained; afterwards, a mixture by experimental design was carried out, and thus obtained a fresh type cheese with ideal characteristics for consumption. After choosing the more accepted final product, its shelf life was determined by testing the feasibility of substituting chymosin rennet with the enzymes studied, through physicochemical, microbiological and sensory or acceptance test.

Keywords: fig, mountain papaya, plant enzymes, cheese, shelf life.

INTRODUCCIÓN

La diversidad de especies vegetales en nuestro país, y la innovación que se busca día a día en las industrias impulsan la búsqueda de nuevas fuentes de enzimas proteolíticas, por su uso potencial en procesos biotecnológicos en el área de alimentos, medicina, industria textil, cosmetología, etc. En la industria de alimentos, las enzimas extraídas de frutos y plantas se han considerado sustitutos adecuados del cuajo para la elaboración de quesos, así como en la producción de ablandadores de carne, agentes digestivos, clarificación de jugos, industria cervecera, etc. (1).

***Claudio E. Sánchez Jáuregui:** Ingeniero en Alimentos, ostenta la categoría docente de Profesor Titular y Máster en Administración de Empresas. Es docente a tiempo completo y Director de Proyectos de UDALAB en la Carrera de Ingeniería de Alimentos de la Universidad del Azuay, tiene vasta experiencia docente tanto en pre grado como post grado en el campo de Ciencia y Tecnología de la Leche, Tecnología de bebidas, Biotecnología y Biomolecular aplicado al ADN recombinante en bacterias lácticas, Bioestadística, Nutrición, Gerencia de plantas y diseño de equipos.

El cuajo y los coagulantes son preparaciones de enzimas proteolíticas, las cuales han sido utilizadas en la industria quesera por miles de años, siendo esta la enzima más antigua conocida. Los quesos son producidos por enzimas coagulantes de la leche de diferentes orígenes. Las enzimas activas en todos los cuajos y coagulantes, las cuales han sido utilizadas para la elaboración de quesos, son proteasas del ácido aspártico. La preparación original del cuajo, es un extracto del abomaso de rumiantes. Esta definición ha sido confirmada por la Federación Internacional de Lechería (IDF) que determinó que el nombre cuajo (*rennet*) debe ser reservado para la preparación de enzimas de estómagos de rumiantes y que las otras enzimas coagulantes de la leche se denominen coagulantes. Actualmente, también ha sido generalmente aceptado que la quimosina producida por un organismo modificado genéticamente (GMO) debe ser denominada quimosina producida por fermentación (FPC) (2).

Las enzimas proteolíticas presente en el látex de la higuera, han sido extensamente estudiadas y son las denominadas «ficinas», comparando su actividad con la bromelina y la papaína (3). Las papayuelas de aroma contienen látex que exudan 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 Caricaceae (4).

No todas las proteasas existentes son óptimas para la coagulación de la leche, debido a que su sitio activo no es el adecuado para la hidrólisis de la caseína o en el caso de que haya una hidrólisis, esta podría no ser la adecuada para el objetivo que se persigue, el cual es obtener una cuajada con características adecuadas para elaborar quesos.

El queso es el producto que resulta de la precipitación de las caseínas, que deja como residuo el llamado suero de la leche. Para realizar este proceso se emplean básicamente dos métodos: por medio de la renina o cuajo, o bien, acidificar hasta el punto isoeléctrico de las caseínas (pH 4,6) (5). Aunque como se mencionó anteriormente, también se pueden utilizar otras enzimas como la papaína y ficina, con el objetivo de obtener quesos con características específicas.

Durante la elaboración o almacenamiento de quesos suelen aparecer efectos positivos o negativos, de carácter organoléptico y quizá al utilizar enzimas bastante

proteolíticas como la papaína y la ficina para la coagulación de la leche, sea aún más probable que aparezcan, como es el caso del sabor amargo por la presencia de péptidos producidos por las enzimas vegetales antes mencionadas, que continúan hidrolizando las proteínas lácteas.

La proteólisis produce un aumento de digestibilidad, pudiendo obtenerse también péptidos «activos», con determinadas propiedades fisiológicas (6).

Diversos estudios han reportado que mediante la hidrólisis controlada *in vitro* de proteínas alimentarias es posible generar este tipo de péptidos. Se han aislado péptidos antimicrobianos principalmente a partir de hidrolizados enzimáticos limitados, de proteínas de origen animal como la leche, el huevo y algunas especies marinas de peces. Recientemente se han aislado hidrolizados limitados, con grados menores al 10 % de proteínas de origen vegetal como la soya y el maíz. Los péptidos con actividad antimicrobiana inhiben el crecimiento bacteriano y fúngico y actúan frente a bacterias gram positivas y gram negativas (7).

El objetivo de este trabajo fue evaluar las características físico-químicas, microbiológicas y sensoriales del queso tipo fresco, elaborado con extractos enzimáticos vegetales extraídos a partir de higo (*Ficus carica* L.) y chamburo (*Vasconcellea cundinamarcensis* Badillo), a fin de determinar la vida útil y estandarizar su adición durante la elaboración de quesos tipo fresco.

MATERIALES Y MÉTODOS

La leche utilizada para el desarrollo de este trabajo fue analizada y contó con los estándares de calidad indicados en la norma correspondiente (8).

Los frutos utilizados para la extracción de las enzimas papaína y ficina, fueron el chamburo e higo, respectivamente; en estado inmaduro para obtener mayor cantidad de látex fluido. Se deshidrató el látex a 40 °C y se preparó una solución con látex deshidratado en fosfato de sodio (5 mM y pH 7,5) a una concentración del 0,5 %, se dejó macerar durante 24 h para luego centrifugar a 2700 g durante 10 min, desechando finalmente los sólidos y tener una solución denominada extracto acuoso. Para obtener el extracto semipurificado de enzimas se utilizó el método de precipitación con disolvente orgánico, con el fin de obtener enzimas con mayor poder proteolítico

(9) se tomaron 250 mL de extracto acuoso y se adicionaron 12,5 mL de NaCl 4 M, se homogenizó y se añadieron 500 mL de etanol al 96 %, se mezcló lentamente para evitar desnaturalización y se centrifugó a 2700 g durante 5 min, se desechó el sobrenadante y el extracto semiseco se resuspendió en NaCl al 13 %, para obtener una solución de proteína al 25 %.

Para la determinación de la fuerza de coagulación se utilizó el método Soxhlet (10). En un vaso de precipitación se colocaron 25 mL de leche previamente pasteurizada y se calentó hasta 40 °C, se adicionó cloruro de calcio 0,0175 g (0,07 %) y se ubicó en baño de agua a 35 °C, se agregaron 0,5 mL de solución de proteínas del higo, se controló el tiempo que tardó en coagular la leche para de esta manera calcular la fuerza de coagulación de la solución enzimática. El mismo procedimiento se realizó para determinar la fuerza de coagulación de la solución enzimática de chamburo, así como del cuajo comercial quimosina CHY-MAX II que se utilizó como muestra testigo.

Para elaborar el queso con enzimas vegetales se tomó como base el proceso tecnológico del queso tipo fresco (10). Teniendo en cuenta que para coagular 1 L de leche se requiere 0,25 mL de ficina y 0,5 mL para el caso de la papaína, se desarrolló la fórmula base para la elaboración del queso con una mezcla de las enzimas, se propuso la adición de cantidades iguales de las soluciones enzimáticas a la leche, para que posteriormente en el diseño experimental se realicen las variaciones necesarias y lograr obtener una fórmula mejorada; se efectuaron tres pruebas que representan volúmenes menores, mayores e iguales a los de la fuerza de coagulación enzimática establecidas, con el fin de verificar su coagulación al mezclarlas.

Para mejorar la aceptabilidad de nuestro producto se utilizó un diseño factorial 2^3 (11), en este caso se decidió variar en un 20 % los volúmenes de enzima y tiempo para definir los niveles máximos y mínimos, en este caso el nivel mínimo es de 1,2 y el máximo 1,8 para las enzimas y de 40 min como mínimo y de 60 min como máximo para el tiempo.

Se determinó el rendimiento pesando el queso al final del proceso tecnológico para calcular luego el porcentaje de queso obtenido a partir de una determinada cantidad de leche. Para determinar el tiempo de vida del producto se utilizó el método a tiempo real (12).

Se almacenaron los quesos entre 2 y 4 °C durante cuatro semanas y se tomaron muestras representativas una vez cada semana, para realizar los análisis sensoriales, químicos y microbiológicos. Los análisis sensoriales fueron hechos por 10 catadores entrenados una vez por semana durante las cuatro semanas de almacenamiento del producto, para esto se utilizaron fichas de cata que evaluaron las características olfato-gustativas y de textura (13). Para el caso de los análisis químicos y microbiológicos se realizaron los que indica la norma correspondiente (8), con los métodos señalados en dicha norma, estos análisis se realizaron por triplicado para asegurar su fiabilidad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para el caso de los frutos de chamburo se obtuvo un promedio de 0,5 a 1 g de látex fluido, mientras que los higos aportaron un promedio de 0,1 mL de látex fluido. Para ambos casos la cantidad de látex extraído están directamente relacionados con el tamaño de los frutos, debido a que en frutos más grandes se encontrará mayor cantidad de látex. En cuanto a la cantidad de látex deshidratado, se obtuvo un promedio de 0,05 a 0,1 g en ambos casos; el contenido de humedad en el caso del látex de chamburo fue de 90 % y del higo de 70 %, en cuanto al rendimiento de látex seco se obtuvo un 29 % en el higo y un 8 % en el de chamburo.

La semipurificación reveló que se obtuvo de 3 a 5 g de enzima semiseca, con un rendimiento cercano a los 75 a 85 %, teniendo en cuenta que aún pueden existir proteínas distintas a las proteolíticas, pero en cantidades mínimas.

La Tabla 1 muestra que la fuerza de coagulación para las enzimas vegetales fue menor que la fuerza de cuajo de la quimosina (cuajo comercial), debido a que la quimosina comercial tiene mayor especificidad para la caseína, además tiene una purificación alta; al hacer las pruebas esta coagula en menor tiempo que las enzimas vegetales, respecto a las enzimas vegetales la ficina tiene mayor poder de coagulación que la papaína.

En cuanto a la fórmula base, al mezclar las enzimas con un volumen menor al de su fuerza estas no coagularon la leche, los valores iguales y mayores si coagularon, esto verifica la fuerza de coagulación determinada anteriormente; sobre las muestras coaguladas se desarrollaron las pruebas de aceptabilidad y los cálculos de

Tabla 1. Fuerza de cuajo (F) de papaína (chamburo), ficina (higo) y quimosina (cuajo comercial)

Enzima	Leche (mL)	Enzima (mL)	Tiempo de coagulación (s)	F (mL/mL enzima)
Papaína	25	0,5	60	2000
Ficina	25	0,5	30	4000
Quimosina	25	0,5	9	13333

rendimiento, definiendo la mezcla de 1,5 mL de papaína y 1,5 mL de ficina con 50 min de tiempo de coagulación (Tabla 2). Con estos datos se realizó el diseño experimental y posteriormente las pruebas de cata y rendimiento para determinar el mejor experimento y sobre éste efectuar las pruebas de aceptabilidad así como los análisis químicos y microbiológicos para determinar la vida útil en base a estos parámetros; en este caso el experimento 7 fue el utilizado para el análisis de los parámetros antes mencionados (Tabla 3).

El análisis de los datos para obtener el mejor experimento demuestra que las variables que tuvieron mayor significación sobre las características organolépticas son: la combinación de enzimas papaína-ficina (AB), la

papaína (A) y la combinación ficina-tiempo (BC); en el caso de AB esta tuvo un valor negativo, el cual indica que dicha combinación disminuye las características organolépticas; se entiende entonces que no se debe incrementar el volumen de esta mezcla. De igual manera la variable A afectó negativamente al producto y solo BC obtuvo una significación positiva.

Entonces para no afectar las características organolépticas es necesario mantener o disminuir el volumen de papaína y conservar constante el volumen de ficina así como el tiempo (Fig. 1). En el caso del rendimiento, las variables con mayor significación fueron las combinaciones binarias de papaína-ficina (AB), papaína-tiempo (AC) y ficina-tiempo (BC).

Tabla 2. Rendimiento y aceptación del queso elaborado con enzimas vegetales en la elaboración de la fórmula base

Experimento	Papaína (mL)	Ficina (mL)	Leche (mL)	Tiempo (min)	Masa de queso (g)	Aceptación (%)
1	0,5	0,5	2000	No coaguló	Descartado	Descartado
2	0,5	0,5	2000	No coaguló	Descartado	Descartado
3	1,0	1,0	2000	90	195	30
4	1,0	1,0	2000	85	230	32
5	1,5	1,5	2000	70	307	51
6	1,5	1,5	2000	50	250	55

Tabla 3. Diseño experimental

Experimento	A	B	C	AB	AC	BC	ABC	Aceptación (%)	Peso (g)	Rendimiento (%)
1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	70,9	365,6	13,8
2	1	-1	-1	-1	-1	1	1	68,9	338,7	12,8
3	-1	1	-1	-1	1	-1	1	70,3	334,9	12,6
4	1	1	-1	1	-1	-1	-1	66,0	331,4	12,5
5	-1	-1	1	1	-1	-1	1	67,2	312,3	11,8
6	1	-1	1	-1	1	-1	-1	68,8	353,7	13,4
7	-1	1	1	-1	-1	1	-1	72,2	374,4	14,2
8	1	1	1	1	1	1	1	69,1	347,5	13,1

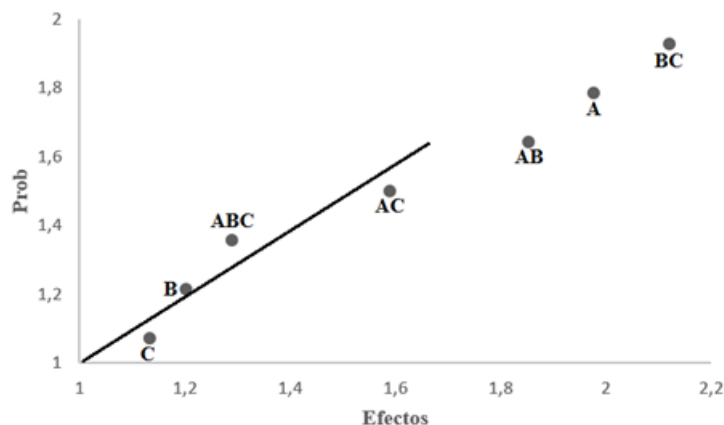


Fig. 1. Efecto de las variables sobre las características organolépticas del queso.

Las dos primeras tuvieron signo negativo, por lo tanto son las que disminuyen el rendimiento, mientras que la combinación BC influyó de manera positiva sobre este parámetro (Fig. 2). Es así que para no afectar las características organolépticas ni el rendimiento no se debe variar el volumen de papaína (A) y mantener el resto de las variables.

La determinación de la vida útil se hizo en función de las características físico-químicas, microbiológicas y sensoriales. En cuanto a las características físico-químicas

(Tabla 4) no se observan grandes diferencias entre el queso elaborado con enzimas vegetales (papaína-ficina) con el queso elaborado con cuajo comercial (quimosina), en referencia a la humedad esta se encuentra en un rango de 55,5 a 58,2 % en los dos quesos, lo cual está dentro de la norma para queso fresco, el contenido de grasa es de 22,5 a 24 % que es un promedio apto para el queso tipo fresco; por esto decimos que los dos tipos de queso tendrán una vida útil igual en función de sus características físico-químicas. En referencia a las características microbiológicas, el queso elaborado con

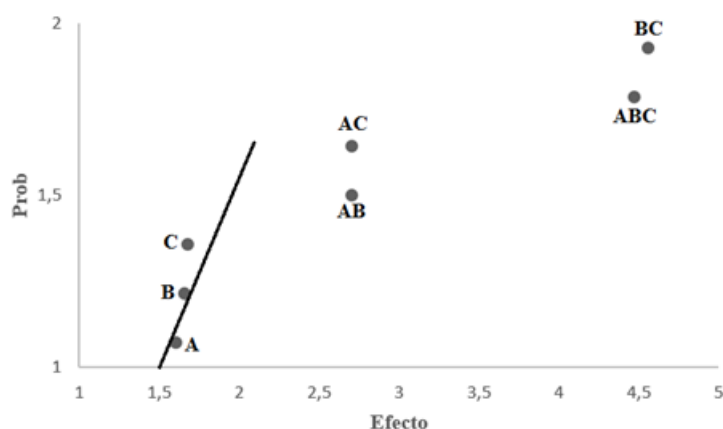


Fig. 2. Efecto de las variables y su combinación sobre el porcentaje de rendimiento del queso.

Tabla 4. Análisis bromatológicos

Semana	Quimosina	Papaína-Ficina	Quimosina	Papaína-Ficina
	Grasa (%)		Humedad (%)	
1	24,0	23,0	55,52	56,91
2	24,0	23,0	55,89	57,12
3	24,0	22,5	55,99	57,36
4	23,5	22,5	56,19	58,14

enzimas vegetales (Tabla 5) presentó menor presencia de microorganismos que el queso elaborado con cuajo comercial (Tabla 6) durante el tiempo de almacenamiento; esto probablemente debido a la presencia de péptidos amargos producidos por la hidrólisis de la caseína por parte de las enzimas vegetales; en el caso de las enterobacterias, a la cuarta semana de almacenamiento el queso con enzimas vegetales presentó 28×10^3 UFC/g que es inferior al permitido en la norma para que el producto sea apto para consumo; mientras que el queso elaborado con cuajo tuvo 13×10^4 UFC/g que es

superior al que indica la norma (Fig. 3); para *Staphylococcus aureus* se obtuvo un resultado similar al anterior, así para queso con enzimas vegetales se obtuvo 63×10^2 UFC/g y para queso con cuajo 15×10^3 UFC/g (Fig. 4). Finalmente, para *E. coli*, *Salmonella* y *L. monocytogenes* el resultado fue ausencia en los dos tipos de queso. Entonces la vida útil en función de este parámetro es mayor para el queso con enzimas vegetales, ya que al existir menor proliferación de microorganismos el queso tendrá más tiempo hasta que el número de microorganismos supere los

Tabla 5. Análisis microbiológicos del queso con enzimas vegetales durante cuatro semanas

Semana	Enterobacteriaceas (UFC/g)	<i>Escherichia coli</i> (UFC/g)	<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)	<i>Listeria monocytogenes</i> en 25 g	<i>Salmonella</i> en 25 g
1	31×10	Ausencia	18×10^1	Ausencia	Ausencia
2	37×10	Ausencia	22×10^1	Ausencia	Ausencia
3	26×10^2	Ausencia	41×10^1	Ausencia	Ausencia
4	28×10^3	Ausencia	63×10^2	Ausencia	Ausencia

Tabla 6. Análisis microbiológicos del queso comercial durante cuatro semanas

Semana	Enterobacteriaceas (UFC/g)	<i>Escherichia coli</i> (UFC/g)	<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)	<i>Listeria monocytogenes</i> en 25 g	<i>Salmonella</i> en 25 g
1	32×10	Ausencia	20×10	Ausencia	Ausencia
2	46×10	Ausencia	21×10	Ausencia	Ausencia
3	18×10^3	Ausencia	13×10^2	Ausencia	Ausencia
4	13×10^4	Ausencia	15×10^3	Ausencia	Ausencia

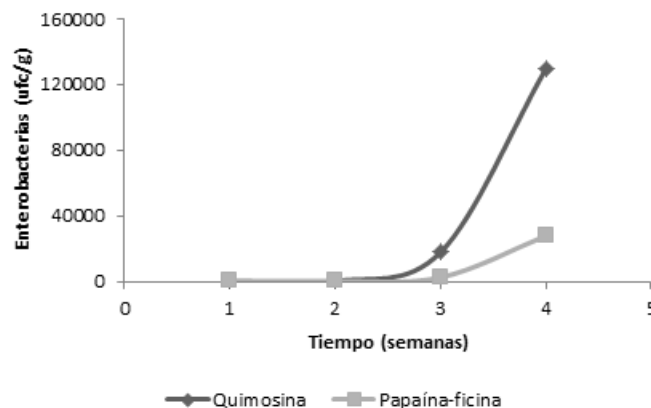


Fig. 3. Crecimiento de enterobacterias en quesos, quimosina vs. papaína-ficina.

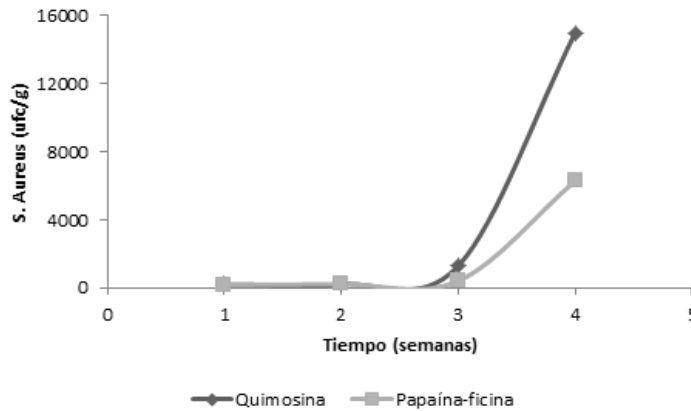


Fig. 4. Crecimiento de *Staphylococcus aureus* en quesos, quimosina vs papaína-ficina.

establecidos en la norma y no sea apto para el consumo. Para las características sensoriales, el producto elaborado con coagulantes vegetales aunque posee características diferenciadas en comparación con el producto elaborado con cuajo comercial, durante el tiempo de almacenamiento pierde mayor aceptación por la presencia de sabores amargos ya

que al final de su almacenamiento tiene un nivel de aceptación inferior al 50 % (Fig. 5) y por lo mismo su tiempo de vida es menor que la del queso con cuajo que al término de su vida tiene una aceptación superior al 65 % (Fig. 6). Aunque el queso elaborado con enzimas vegetales pierde con mayor rapidez su aceptabilidad, la mayor o menor presencia de

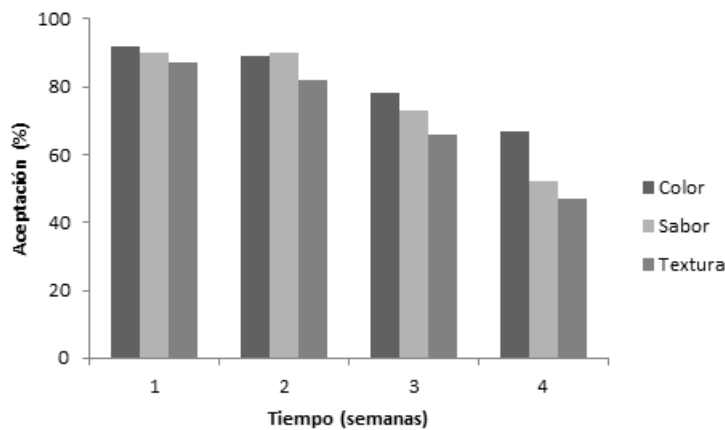


Fig. 5. Nivel de aceptación en función del tiempo de almacenamiento, para el queso elaborado con quimosina.

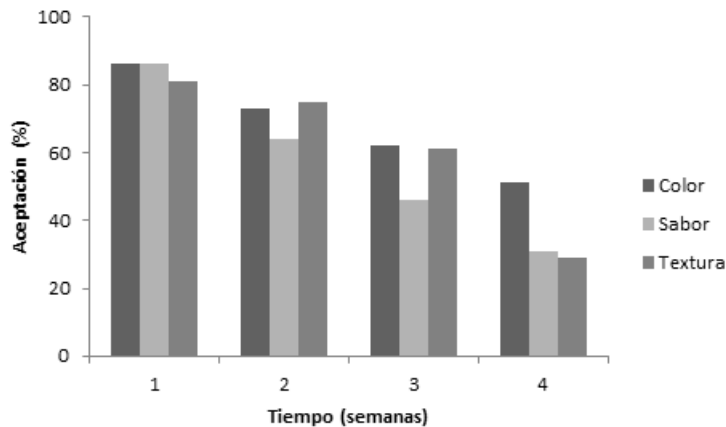


Fig. 6. Nivel de aceptación en función del tiempo de almacenamiento para el queso elaborado con papaína-ficina.

microorganismos es fundamental para determinar que un producto es apto para el consumo humano; por esta razón el queso elaborado con enzimas vegetales tiene mayor tiempo de vida que un queso elaborado con cuajo comercial, ya que sus características sensoriales se pueden estabilizar por más tiempo con la sustitución parcial de las enzimas vegetales por cuajo comercial, además que estas ayudarían a evitar la proliferación de microorganismos indeseables, alargando aún más su vida en estante.

CONCLUSIONES

Se elaboró un queso tipo fresco con enzimas vegetales dándole características sensoriales propias. Se determinó que la utilización de enzimas vegetales (papaína-ficina) le da un tiempo de vida de tres semanas aproximadamente almacenado a 4 °C, pero que se puede incrementar al realizar una sustitución parcial de las enzimas por cuajo y de esta manera estabilizar las características sensoriales.

REFERENCIAS

1. ARGENBIO. *PQBio Porqué Biotecnología* [en línea]. Consultado 5 octubre 2014 en <http://porquebiotecnologia.com.ar/index.php?action=cuaderno&opt=5&tipo=1¬e=30>
2. CHR Hansen. *Industria Alimenticia* [en línea]. Consultado 5 octubre 2014 en <http://www.industriaalimenticia.com/articulos/83036-enzimas-coagulantes>
3. Instituto Politécnico Nacional. *Determinación de enzimas proteolíticas en higo*. [en línea]. Consultado 5 octubre 2014 en <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:lpuBSwakJj0J:www.respyn.uanl.mx/especiales/2006/ee-14-2006/documentos/Art80.pdf+&cd=1&hl=en&ct=clnk&gl=ec>
4. Proaño-Cabezas, E. *Fotoquímica y agroindustrialización de dos genotipos de vasconsellea, Chamburo (Vasconsellea cundinamarcensis V Badillo) y toronche (Vasconsellea stipulata V Badillo)*. [en línea]. Consultado 5 octubre 2014 en <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2537/1/T-ESPE-IASA%20I-003294.pdf>
5. Badui-Dergal, S. *Química de los Alimentos*. 4 ed. México D.F., Pearson Educación de México, S.A. de C.V., 2006.
6. Lupano, C. *Modificaciones de componentes de los alimentos: cambios químicos y bioquímicos por procesamiento y almacenamiento*. [en línea]. Consultado 5 octubre 2014 en <https://www.biol.unlp.edu.ar/nutricionybromatologiaF/ModificacionesComponentes.pdf>
7. Segura-Campos, M.; Chel-Gerrero, L. y Betancur-Ancona, D. Bioactividad de péptidos derivados de proteínas alimentarias [en línea]. Consultado 5 octubre 2014 en <http://dx.doi.org/10.3926/oms.136>
8. IEN 1528: 2012. *Norma general para quesos frescos no madurados. Requisitos*. Ecuador.
9. Sinche-Serra, M. *Aislamiento, purificación parcial y caracterización cinética de las proteasas presentes en el látex de los frutos de una planta del género Vasconsella* [en línea]. Consultado 5 octubre 2014 en <http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/1661/1/CD-2218.pdf>
10. Alba-Cuéllar, N. *Ciencia Tecnología e Industria de los Alimentos*. (Tomo 1). Bogotá, Grupo Latino Editores, 2008.
11. Gutiérrez-Pulido, H. y De la Vara-Salazar, R. *Análisis y Diseño de Experimentos*. 3 ed. México DF, Mc Graw Hill/ Interamericana, 2012.
12. Restrepo-Ángel, A. F. y Montoya-Gómez, C. A. *Implementación y diseño de procedimiento para determinación de vida útil de queso fresco, chorizos frescos y aguas en bolsa. Pereira* [en línea]. Consultado 5 octubre 2014 en <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/11059/1787/1/6640286R436.pdf>
13. Consejo Superior de Investigación Científica. Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación. *Curso de análisis sensorial de alimentos, 2011* [en línea]. Consultado 5 octubre 2014 en [file:///C:/Users/Usuario/Downloads/358508%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/Usuario/Downloads/358508%20(2).pdf)