

CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS, MICROBIOLÓGICAS Y SENSORIALES DE QUESO SARDO TRATADO CON ENZIMAS PROTEOLÍTICAS

A.I. Mireles Arriaga^{a*}, I. Nieto^b, E. Schmith^b, M. de Maria^b, J. Hajduzik^b

^a Departamento de Agronomía, División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato Campus Irapuato-Salamanca. ^b INTI Lácteos sede Rafaela RN34, Rafaela, provincia de Santa Fe, Argentina.*ana.mireles@ugto.mx

RESUMEN:

La enzima papaína (EC 3.4.22.2) es una proteasa comercial que puede ayudar en la coagulación o en la aceleración de la maduración de quesos. El presente trabajo evaluó los tratamientos C0, C5 y C10 con la adición de 0, 5 y 10g/100L de leche, de papaína comercial con 95 UTR (unidades de actividad tirosinasa) adicionada antes de la coagulación, en las características microbiológicas físicoquímicas y sensoriales durante los días 30 60 y 120 de la maduración de queso sardo argentino. No se encontró diferencia en el análisis microbiológico. Se encontraron diferencias estadísticas significativas en el índice de maduración especialmente al día 120 de 15.89, 13.91 y 20.63 %, nitrógeno soluble de 0.76, 0.64 y 0.91 (g/100g), así como en proteínas totales de 30.12, 29.37 y 28.15 (g/100g) para C0, C5 y C10 respectivamente. Se observó el aumento del sabor dulce para ambas concentraciones, así como la similitud de las características de friabilidad, impresión, adherencia, deformabilidad, solubilidad y olor del tratamiento C10 en función del control C0. Aun cuando ambas concentraciones incrementan el índice de maduración y la percepción del gusto dulce, no es factible utilizarlas en la aceleración de la maduración debido al aumento del gusto amargo.

ABSTRACT:

The enzyme papain (EC 3.4.22.2) is a commercial protease that can assist in coagulation or accelerated ripening of cheese. This study evaluated the C0, C5 and C10 treatment with the addition of 0, 5 and 10 g / 100L milk, commercial papain with 95 UTR (units of tyrosinase activity) added before coagulation, in the microbiological characteristics physicochemical and sensory during the days 30 60 and 120 of the Argentine Sardinian cheese ripening. No difference was found in the microbiological analysis. Statistically significant differences in the rate of maturation especially at day 120 of 15.89, 13.91 and 20.63%, soluble nitrogen of 0.76, 0.64 y 0.91 (g / 100g) and total protein of 30.12, 29.37 and 28.15 were found (g / 100g) for C0, C5 and C10 respectively. It is increasing the sweet taste for both concentrations, and the similarity of the characteristics of friability, printing, adhesion, deformability, solubility and odor treatment control function C10 observed C0. Although both concentrations increase the rate of maturation, sweet taste perception and appreciation of cheese generally, these concentrations in accelerating ripening due to increased bitter taste is not feasible.

Palabras clave: análisis sensorial, queso sardo, proteasa vegetal.

Keywords: sensory profile, sardo cheese, vegetal protease

Área: análisis sensorial

INTRODUCCIÓN

El proceso de maduración en los quesos implica una serie compleja de reacciones bioquímicas a través del tiempo, que de acuerdo con el tipo de queso puede variar

desde cuatro semanas para quesos de pasta suave, hasta tres años para quesos de pasta dura. Este periodo de espera, representa una proporción importante en el proceso de la producción en términos económicos, por lo que la inclusión de tecnologías que contribuyan a la disminución del tiempo de espera, puede proveer ventajas económicas como el ahorro en los costos de refrigeración, así como la disminución del riesgo microbiológico asociado a tiempos prolongados de espera (Kheadr *et al.*, 2000). Con el fin de disminuir el tiempo de maduración en la industria quesera, se han investigado diversos métodos como el uso de temperaturas elevadas, desarrollo de cultivos iniciadores (incluida la ingeniería genética), cultivos adjuntos, adición de aminoácidos, altas presiones y el uso de enzimas exógenas (Kilcawley *et al.*, 2012).

La adición de enzimas exógenas permite la aceleración de los procesos más importantes ocurridos durante la maduración, como es el caso de las reacciones bioquímicas de conversión de carbohidratos a ácidos orgánicos, grasas a ácidos grasos libres (lipólisis) y la conversión de proteínas a aminoácidos libres (proteólisis) (McSweeney, 2004). El uso de proteasas para acelerar los procesos de proteólisis durante la maduración es prometedora ya pueden ser obtenidas de distintas fuentes. Entre las enzimas de origen vegetal que pueden ser utilizadas para este propósito se encuentran aquellas obtenidas de diversos frutos como el higo (*Ficus carica*), cardo (*Cynara cardunculus* L.), piña (*Ananas sativa*) semillas de aceite de castor (*Ricinus communis*) y de la papaya (*Carica papaya*) (Low *et al.*, 2006).

La enzima papaína (EC 3.4.22.2) es una proteasa comercial derivada del fruto de *Carica papaya* ampliamente utilizada en la industria cárnica, no obstante tiene el potencial de usarse la aceleración de la maduración de quesos debido a su a su bajo costo y potencial para degradar proteínas. Si bien esta enzima ha sido probada como agente coagulante en la elaboración de queso cremoso tipo “Dangke” (Prasetyo *et al.*, 2015), su utilización en la industria quesera es poco frecuente debido a que su acción proteolítica excesiva conduce a una textura suave y a un sabor desequilibrado por la producción de péptidos amargos, no obstante es posible que pueda catalizar la formación de otros aminoácidos libres precursores de sabor en quesos maduros tal como el ácido glutámico leucina y metionina (Raksakulthai *et al.*, 2001).

Para evaluar si esta hipótesis es posible, el presente trabajo utilizó tres tratamientos identificados como C0, C5 y C10 con la adición de 0, 5 y 10g/100L de leche, de papaína comercial (95 UTyR unidades de actividad tirosinasa) adicionada un minuto antes de la coagulación en la elaboración de queso sardo argentino. Al finalizar el experimento, el análisis sensorial mostró diferencias significativas en el índice de maduración y de las fracciones proteicas para ambas concentraciones. El sabor amargo incrementó en función de la concentración de enzima y del periodo de prueba.

No obstante, se destaca el incremento del sabor dulce y la similitud de las características de friabilidad, impresión, adherencia, deformabilidad, solubilidad y olor del tratamiento C10 en función del control C0. Aun cuando esta similitud y el

aumento del sabor dulce es una característica positiva, aun no es factible utilizarlas en la aceleración de la maduración, debido al aumento del gusto amargo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la elaboración del queso tipo sardo se utilizó leche entera de vaca sometida a pasteurización a 63°C por 30 min, la cual fue dividida en tres lotes de elaboración. El tratamiento enzimático C0 (sin enzima añadida), C5 (5g/100L) y C10 (10g/100L) de papaina identificada con 95 UTyR, aplicada previo a la coagulación (1 min) en agitación constante. Posterior a este tiempo se procedió de manera habitual en la elaboración del queso sardo acorde a la metodología empleada en INTI (Instituto de tecnología Industrial) Lácteos sede Rafaela.

Análisis fisicoquímicos

Nitrógeno soluble (NS), nitrógeno soluble al ácido fosfotúngstico (NSAF), nitrógeno total (NT), nitrógeno no proteico (NNP) acorde a lo reportado por Gripon y colaboradores en 1975. Para la obtención del coeficiente de maduración, se utilizó cociente entre el NS/NT. El contenido de humedad, materia grasa y proteínas totales fueron determinados mediante método de infrarrojo cercano (NIR) en el equipo FoodScan®.

Análisis microbiológicos

En cuanto al análisis microbiológico se utilizó la metodología de recuento de coliformes y E. coli (Petrifilm™) (AOAC, 2001), y solo se realizó a la salida de salmuera, 30 y 60 días.

Análisis sensorial

El estudio fue llevado a cabo con un panel constituido por siete jueces entrenados en la utilización del análisis cuantitativo descriptivo (QDA) contemplado en las Normas IRAM 20012 (1998) y 20013 (2001). Se utilizaron las definiciones y procedimientos indicados en las técnicas propuestas por el Programa FLAIR (COST 902) y AIR-CT 94-2039 de la Unión Europea según la “*Guide D’Evaluation Sensorielle de la Texture des fromages a pâte dure ou semidure*” (Lavanchy *et al.*, 1997) para el perfil de textura. Así como las técnicas propuestas por el grupo de análisis sensorial del Programa AIR-CT 94-2039 según la “*Guía para la Evaluación olfato-gustativa de los quesos de pasta dura y semidura*” (Berrodier *et al.*, 1997). Para el perfil de flavor.-se empleó una escala de valor de uno-cinco (tomando el cinco como valor del control) para expresar la intensidad percibida en cada propiedad, las características físicas, visuales y táctiles evaluadas fueron: Firmeza: resistencia que presenta la muestra a una deformación dada.

Deformabilidad: facilidad que presenta la muestra en la boca, al morder, para deformarse o estirarse antes de romperse. Friabilidad: característica de un producto que puede ser reducido a trozos fácilmente. Adherencia: es definida como el trabajo necesario que hay que realizar con la lengua para despegar un producto de la boca (en el paladar y los dientes). Impresión (global): referencia al final de la cata para que el catador pueda apreciar la textura del queso en su globalidad.

Olor: es la fuerza del estímulo percibido por encima de la porción de queso, ya sea directamente cuando nos acercamos éste, o cuando lo rompemos en dos cerca de la nariz.

Aroma: es la fuerza del estímulo percibido por vía retronasal cuando el queso se sitúa en la boca.

Dulce: califica la percepción sensorial captada en la lengua por soluciones acuosas de sustancias tales como la sacarosa.

Salado: califica la percepción sensorial captada en la lengua por tales como el cloruro de sodio.

Amargo: califica la percepción sensorial captada en la lengua producida por diversas sustancias tales como la quinina y la cafeína.

Ácido: califica la percepción sensorial captada en la lengua producido por soluciones acuosas diluidas de la mayoría de los cuerpos ácidos como el ácido cítrico o láctico.

Picante: califica la sensación trigeminal que se manifiesta dentro de la boca en forma de picores.

Gusto residual o regusto: sensación olfato-gustativa que aparece después de la eliminación del producto por deglución. Todos los resultados obtenidos (excepto sensorial) fueron analizados mediante el ANOVA de una vía ($p < 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis microbiológico

Los resultados no muestran diferencias significativas en ningún día de muestreo. Los resultados están dentro de los límites permitidos en el código alimentario argentino con 10 UFC/g de coliformes totales y E.coli en los tres tiempos de medición, esto indica la inocuidad de la elaboración y permite descartar los cambios en la percepción sensorial atribuibles a la carga microbiana.

Análisis fisicoquímico

Los datos obtenidos del análisis fisicoquímico de queso sardo en diferentes etapas de la maduración se muestran en la Tabla II. La adición de enzima proteolítica no mostro efectos significativos en la humedad, materia grasa, ni en el pH. No obstante, al final del tiempo de maduración, se observa el aumento NS de 0.76, 0.64 y 0.91 (g/100g), PT de 30.12, 29.37 y 28.15 (g/100g). El CM aumenta en todas las concentraciones en función de los días de muestreo y de la enzima añadida, con un incremento del 10% para el C5 y del 48% para C10, comparado con el control en el día final de muestreo. El aumento en las fracciones de nitrógeno y el CM, sugieren el aumento de la proteólisis por efecto de la adición de la enzima (Kheadr *et al.*, 2000).

TABLA II. CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE QUESO SARDO SOMETIDO A TRATAMIENTO PROTEOLÍTICO

DIA	TRAT	H	MGbs	PT	NT	NS	NNP	NSA F	pH	CM
		(g/100g)								
30	C0	37.67 ^a	46.74 ^a	26.43 ^a	4.14 ^a	0.46 ^a	0.26 _a	0.07 ^a	4.96 ^a	11.08 ^a
	C5	37.25 ^a	52.78 ^a	25.32 ^b	3.97 ^b	0.43 ^b	0.25 _a	0.06 ^a	5.12 ^a	10.93 ^a
	C10	33.21 ^c	48.97 ^b	25.34 ^b	3.97 ^b	0.61 ^c	0.35 _a	0.09 ^a	4.88 ^a	15.31 ^b
60	C0	30.33 ^a	32.25 ^a	29.08 ^{ab}	4.56 ^a	0.50 ^a	0.29 _a	0.04 ^a	4.96 ^a	11.05 ^a
	C5	31.13 ^a	33.04 ^b	27.15 ^b	4.25 ^b	0.50 ^a	0.28 _a	0.04 ^a	5.12 ^a	11.78 ^a
	C10	28.61 ^b	37.27 ^c	26.68 ^b	4.18 ^b	0.68 ^b	0.39 _a	0.07 ^b	4.92 ^a	16.27 ^b
120	C0	27.72 ^a	36.70 ^a	30.12 ^a	4.72 ^a	0.76 ^a	0.46 _a	0.14	5.02 ^a	13.91 ^a
	C5	24.51 ^b	36.09 ^a	29.37 ^a	4.60 ^a	0.64 ^a	0.40 _a	0.11	5.18 ^a	15.31 ^b
	C10	24.91 ^b	38.88 ^b	28.15 ^a	4.41 ^a	0.91 ^c	0.59	0.19	5.10 ^a	20.63 ^a

H: humedad, MGbs: materia grasa en base seca, PT: proteína total, NT: nitrógeno total, NS: nitrógeno soluble, NNP: nitrógeno no proteico, NSAF: nitrógeno no soluble al ácido fosfotúngico CM: coeficiente de maduración.

Análisis sensorial

En los resultados obtenidos del análisis sensorial (Figura 1 y 2), se observa el incremento del gusto amargo en función de los días de maduración y de la concentración de enzima. Cabe mencionar el marcado incremento del tratamiento C10 en el día 120, en comparación con el tratamiento C5. Las características de friabilidad, impresión, adherencia y deformabilidad del tratamiento C10 son similares al control C0, al final de los días de maduración. Esta similitud puede considerarse positiva al no observar defectos relativos a la textura del queso. Otro efecto considerado positivo, es el aumento de sabor dulce para C10 y C5 durante la maduración lo cual puede ser un indicativo de la liberación de aminoácidos Alanina, Glicina, Serina y Threonina (McSweeney 1997).

Uno de los principales inconvenientes de uso de la papaina en la elaboración de quesos, está relacionada la proteólisis excesiva, que además de generar péptidos hidrofóbicos amargos también se asocia con la pérdida de estructura en los quesos provocando defectos en la textura (Mazorra-Manzano *et al.*, 2013). No obstante, esta enzima es utilizada en la cultura del medio oriente en la elaboración de quesos regionales como el tipo “Dali” y “Dangke”, donde de manera tradicional se utilizan soluciones saladas o cubiertas de hojas de plantas locales para disminuir el gusto amargo (Surono *et al.*, 2015), de hecho, Prasetyo y colaboradores en 2015 han sugerido la utilización de CaCl como un medida de disminución de los péptidos amargos producidos por la hidrólisis de esta enzima, sin embargo es necesaria más investigación al respecto. En conclusión; la utilización de papaina en este trabajo

sugiere cambios positivos, especialmente en el análisis sensorial durante la maduración del queso tipo sardo argentino, no obstante, no es factible utilizarla para acelerar la maduración del mismo en las concentraciones propuestas, debido al incremento del gusto amargo.

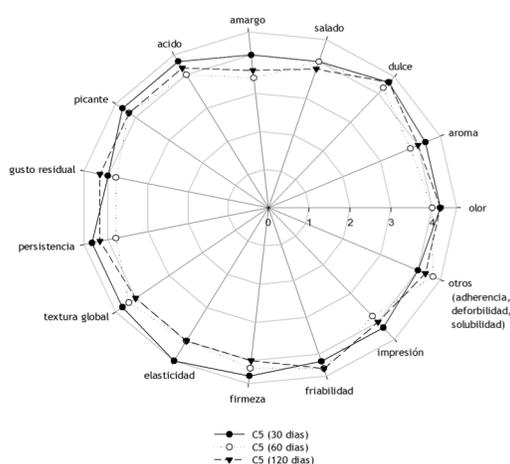


Figura 1. Análisis sensorial a 30, 60 y 120 días de queso sardo tratado con proteasa vegetal C5 (5g/100L)

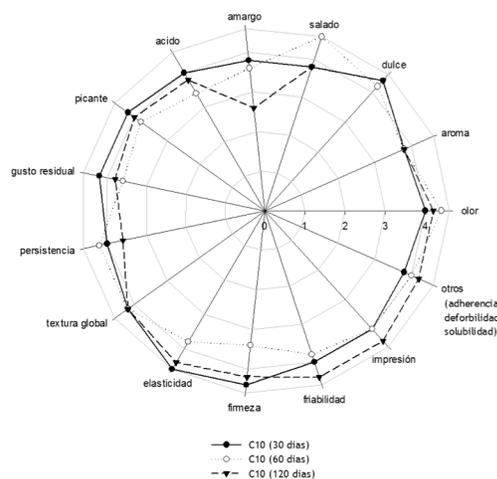


Figura 2. Análisis sensorial a 30, 60 y 120 días de queso sardo tratado con proteasa vegetal C5 (10g/100L)

Agradecimientos: Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) en México y Al INTI-Lacteos, sede Rafaela, Argentina.

BIBLIOGRAFÍA

- Surono, I. S. 2015. Traditional Indonesian dairy foods. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*, 24(Supplement), S26.
- Prasetyo, Irvan, S., Kartawiriab, & Marpaung, A. M. 2015. Optimization of Papain Enzyme Utilization in Non-Rennet Cream Cheese Production, *Proceedings of the International Conference on Innovation, Entrepreneurship and Technology*, 25-26 November 2015, BSD City, Indonesia, ISSN: 2477-1538.
- Low, Y. H., Agboola, S., Zhao, J., & Lim, M. Y. 2006. Clotting and proteolytic properties of plant coagulants in regular and ultrafiltered bovine skim milk. *International dairy journal*, 16(4), 335-343.
- Lavanchy, P., Bérodiér, F., & Zannoni, M. 1994. Guide d'évaluation sensorielle de la texture des fromages à pâte dure ou semi-dure. INRA.
- Berodier, F.; Lavanchy, P.; Zannoni, M.; Casals, J.; Corrado Adamo, Herrero, L. 1997. Guía para la evaluación olfato-gustativa de los quesos de pasta dura y semidura. Programa Europeo AIR-CT-94-2039. *Lebens-Wiss. U-Technology*, 30, p. 653-664
- Kheadr, E. E., Vuilleumard, J. C., & El Deeb, S. A. 2000. Accelerated Cheddar cheese ripening with encapsulated proteinases. *International Journal of Food Science & technology*, 35(5), 483-495.

- Kilcawley, K. N., Nongonierma, A. B., Hannon, J. A., Doolan, I. A., & Wilkinson, M. G. 2012. Evaluation of commercial enzyme systems to accelerate Cheddar cheese ripening. *International Dairy Journal*, 26(1), 50-57.
- Raksakulthai, R., Rosenberg, M., & Haard, N. F. 2002. Accelerated cheddar cheese ripening with an aminopeptidase fraction from squid hepatopancreas. *JOURNAL OF FOOD SCIENCE-CHICAGO-*, 67(3), 923-929.
- McSweeney, P. L. H. 1997. The flavour of milk and dairy products: III. Cheese: taste. *International Journal of Dairy Technology*, 50(4), 123-128.
- IRAM 20012:1998(ISO 6564:1985) Análisis sensorial – Metodología - Método para determinar el perfil flavor.
- IRAM 20013:2001 (ISO 11036:1985) Análisis sensorial – Metodología - Perfil de textura
- AOAC. Official Method 2001.05. Petrifilm™ Rapid count plate method for the rapid enumeration of E. Coli/ Coliform Count Plates in selected foods
- Gripon, J. C., Desmazeaud, M. J., Le Bars, D., & Bergere, J. L. (1975). Etude du rôle des micro-organismes et des enzymes au cours de la maturation des fromages. II.-Influence de la présure commerciale. *Le lait*, 55(548), 502-516.