

Determinación de la actividad proteolítica de seis marcas de queso asadero comercial del estado de Guanajuato

N. Aguilar-Ruiz¹, S. Rojas-González², G. Rodríguez-Hernández³.

¹Licenciatura en Ingeniería en Alimentos, División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato, Campus Irapuato-Salamanca. ² Departamento de medicina veterinaria, División de Ciencias de la vida, Universidad de Guanajuato, Campus Irapuato-Salamanca. ³ Departamento de alimentos, División de ciencias de la vida, Universidad de Guanajuato, Campus Irapuato-Salamanca. n.aguilarruiz@ugto.mx

RESUMEN: Los procesos proteolíticos contribuyen al gusto y al aroma del queso, potencian el sabor y determinan la textura del mismo al romper las proteínas y aumentar el pH. En el estudio realizado, se determinó la actividad proteolítica de seis muestras de queso asadero del estado de Guanajuato, con el fin de establecer las diferencias estadísticamente significativas entre las muestras obtenidas de los filtrados del queso. Se encontraron diferencias significativas ($P < 0.0001$) entre muestras lo cual era lo esperado. La muestra que presentó una mayor actividad proteolítica fue el número uno.

Palabras clave: bacterias ácido-lácticas, proteólisis, queso asadero.

ABSTRACT: The proteolytic processes contribute to the taste and bouquet of the cheese, maximize the flavor and determine its texture by breaking proteins and increasing the pH. The study conducted, the proteolytic activity of six samples of asadero cheese from the state of Guanajuato was determined, in order to establish the statistically significant differences between the samples obtained from the cheese filtrates. Significant differences ($P < 0.0001$) between the samples were found, which was expected. The sample that showed the highest proteolytic activity was number one.

Keywords: asadero cheese, lactic acid bacteria, proteolysis.

Área: Lácteos

INTRODUCCIÓN

De acuerdo a la FAO/OMS: El queso es el producto fresco o madurado obtenido por la coagulación y separación del suero de la leche, nata, leche parcialmente desnatada, mazada o por una mezcla de estos productos. De acuerdo a la composición: es el producto, fermentado o no, constituido esencialmente por la caseína de la leche, en forma de gel más o menos deshidratado que retiene casi toda la materia grasa, si se trata de queso graso, un poco de lactosa en forma de ácido láctico y una fracción variable de sustancias minerales (Villarreal, 2002). El mecanismo por el cual la cuajada, relativamente insípida, se transforma en queso con texturas, aromas y sabores diferentes, es un proceso bioquímicamente complejo. Los procesos proteolíticos, además de contribuir tanto en forma directa como indirecta (a través del catabolismo de los aminoácidos) al gusto y aroma del queso, potencian el sabor al favorecer la liberación de compuestos sápidos durante el procesamiento y maduración. Por otra parte, determinan de modo decisivo el desarrollo de la textura, debido a la ruptura de la red de caseína y al aumento de pH que originan a través de la formación de múltiples compuestos (Mesa, 1996). Las Bacterias Ácido Lácticas (BAL), además de ser muy utilizadas como probióticos, desempeñan un papel importante en los procesos de fermentación; son muy utilizadas en la industria, no solamente por su habilidad de acidificar y sino también por su contribución en preservar alimentos y principalmente en su implicación en la textura, sabor, olor y desarrollo de aroma. En los quesos, las BAL, son especialmente importantes por la producción de gas requerida para la formación de “ojos”, la generación de proteólisis requerida en la maduración de los quesos (Huertas, 2010). La degradación de la matriz proteica producida, influye en los cambios del perfil de textura del queso -elasticidad, fragilidad, adhesividad, dureza, gomosidad, masticabilidad- en el desarrollo de sabores básicos (amargo, dulce, salado, ácido y humámico)

(Banchero, 2006). La proteólisis primaria es la responsable de la textura blanda característica al principio de la obtención de la cuajada, y la proteólisis secundaria, al generar péptidos de pequeño tamaño y alta hidrofobicidad que son detectados por los receptores del sabor, producen amargor principalmente. Los péptidos sirven como substratos precursores para las proteinasas y peptidasas bacterianas que los transforman en péptidos más pequeños y aminoácidos libres. La alteración de la textura del queso durante la masticación, influye en la liberación de compuestos aromáticos (Banchero, 2006). El objetivo del presente estudio fue evaluar la actividad proteolítica en filtrados obtenidos de muestras de queso asadero comerciales. En dicho estudio se encontraron diferencias estadísticas significativas entre muestras y la muestra de queso uno fue la de mayor actividad proteolítica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Toma de Muestras. Se tomaron 6 muestras de marcas comerciales del estado de Guanajuato, de diferentes puntos de venta.

Preparación de los filtrados

Las muestras se trataron según lo descrito por Donkor et al. (2007), con algunas modificaciones, se tomaron 7.5 g de queso y se mezclaron con 30 mL de ácido tricloroacético (ATC) al 0.75%, pasándose la mezcla a través del papel filtro (Whatman no. 1 de 150 mm), obteniéndose los filtrados de los quesos (FQ), mismos que fueron congelados (-20°C) hasta su análisis. Este filtrado permitió solo el paso de los péptidos y a la vez concentrarlos en los FQ.

Actividad proteolítica

La proteólisis de cada uno de los FQ se determinó por triplicado con base a la reacción de las aminas primarias (NH₃) libres con el O-phthaldialdehído (OPA) y el β-mercaptoetanol, según el método de Church et. al. (1983). El reactivo OPA se preparó de la siguiente manera: 25 mL de tetraborato de sodio 100mM, 2.5 mL de Sodio Duodecil Sulfato (SDS) al 20%, 40 mg de OPA en 1 mL de metanol, 100 μL de β-mercaptoetanol, y se aforó a 50 mL con agua grado HPLC (High Performance Liquid Chromatography). Para las lecturas se tomaron 1000 μL de cada muestra, y se mezclaron con 2 mL del reactivo OPA por inversión de la celda de cuarzo, con 2 minutos de incubación a temperatura ambiente y dentro del equipo para evitar la exposición a la luz, se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 340 nm.

Análisis estadístico. Los análisis se llevaron a cabo utilizando el paquete estadístico SAS. Primeramente se llevó a cabo un análisis de varianza con el PROC GLM y para la comparación de medias entre muestras, se utilizó la prueba de TUKEY, usando como variables clasificatorias los tipos de quesos y sus repeticiones, considerando la Ecuación 1.

$$\text{Ecuación 1: } y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

y_{ij} = variable de respuesta (proteólisis) en la j -ésima repetición de la i -ésima muestra de queso.

μ = media general.

τ_i = efecto fijo de la i -ésimo quesería.

ε_{ij} = error aleatorio distribuido en forma normal con media cero y varianza donde $\varepsilon_{ij} \sim (0, \sigma^2)$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de la actividad proteolítica se llevó a cabo a una longitud de onda de 340 nm, las mediciones se realizaron por triplicado. De acuerdo con los datos obtenidos como se observa en la Tabla 1, existieron diferencias significativas ($P < 0.0001$), entre las seis muestras analizadas de los quesos. El queso uno y dos presentaron la mayor actividad proteolítica y el queso de menor actividad proteolítica fue el queso seis.

Tabla I. Actividad proteolítica medida en filtrados de muestras de queso asadero comercial	
Queso	Absorbencia ($\lambda=340$ nm)
1	0.8363\pm0.0095^a
2	0.6716\pm0.0071^{ba}
3	0.6270\pm0.0170^{bc}
4	0.4503\pm0.0070^{dc}
5	0.2550\pm0.0015^{de}
6	0.1573\pm0.0165^e

^{abc} Literales diferentes en una misma columna indican diferencias significativas en las muestras (P<0.0001)

Si la actividad proteolítica es excesiva, el rendimiento del queso y la retención de grasa por la cuajada pueden ser disminuidos. Si la proteólisis es excesiva durante la maduración presenta efectos indeseables en el cuerpo y sabor del queso terminado. (Torales S. A., 2004)

Las proporciones relativas de las proporciones α_{s1} y β -caseína por los coagulantes, son importantes en la determinación de sabor y dureza. Por el contrario, la sal controla tanto, la proteólisis de la β -caseína como el desarrollo de amargor en queso cheddar; por consiguiente los péptidos amargos son derivados de ambas α_{s1} y β -caseína por la acción del cuajo puede ser que la hidrólisis de ambas caseínas contribuya al sabor amargo en el queso. (Torales S. A., 2004)

Los aminoácidos pueden contribuir al sabor directo o indirectamente sirviendo como precursores de compuestos aromáticos volátiles tales como aldehídos, ácidos, alcoholes, ésteres y compuestos de azufre durante mecanismos enzimáticos como reacciones de transaminación o eliminación. En los últimos años, ha quedado claro que la conversión de aminoácidos en compuestos volátiles juega un papel importante en la formación de sabor durante el proceso de maduración (Pérez, 2017).

Comparando los resultados con un Estudio de la actividad proteolítica y perfil de péptidos de *Lactococcus lactis* UQ2 Rif L+ como cultivo protector incorporado en el proceso de queso tipo panela, en el cual se realizó una curva estándar de tirosina para calcular la concentración de tirosina soluble en queso, se determinó la actividad proteolítica en quesos tipo panela con y sin cultivo protector, en el caso de la actividad máxima sin *Lactococcus lactis* fue de 0.165mg de tirosina soluble/100 g de queso (Pérez, 2017).

En otro estudio, donde se aislaron y caracterizaron cepas de *Penicillium roqueforti* a partir de distintas variedades de queso azul, se cuantificó la actividad proteolítica. En donde se demostró que la hidrólisis de caseína en esta variedad de quesos es mucho más intensa en comparación con otras variedades de quesos madurados (Bodega, 2010).

BIBLIOGRAFÍA

- Banchero, E. F. (2006). Elaboración de queso de Murcia al vino con cuajo natural en pasta. *Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología*, 24-25.
- Bodega, M. Á. (2010). Aislamiento y caracterización de cepas de *Penicillium roqueforti* a partir de distintas variedades de queso azul. *Instituto de Biotecnología de León*, 104-107.
- Huertas, R. A. (2010). Bacterias Ácido Lácticas: Papel Funcional en los Alimentos. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 94-95.
- Mesa, A. J. (1996). Procesos de proteólisis primaria que intervienen en la maduración del queso de cabra. *Universidad Autónoma de Barcelona*, 21-24.
- Panizzolo, L. (2011). Evolución de la proteólisis durante la maduración de quesos Danbo elaborados con distintos cultivos iniciadores. *Revista del Laboratorio Tecnológico de Uruguay*, 24-25.
- Pérez, A. L. (2017). "Estudio de la actividad proteolítica y perfil de péptidos de *Lactococcus lactis* UQ2 Rif L+ como cultivo protector incorporado en el proceso de queso tipo panela". *Departamento de Investigación*, 56-59.
- Villarreal, M. G. (2002). "Tecnología para la elaboración de queso blanco, amarillo y yogurt". *Secretaría Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación*, 12-16.
- Torales, S. A. (2004). Caracterización de la actividad coagulante de la planta trompillo (*Solanum elaeagnifolium*) sobre la leche. *Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro"*, 20-22.