

DISTRIBUCION DEL NITROGENO SOLUBLE DEL QUESO DE MAHON

(SOLUBLE NITROGEN DISTRIBUTION IN MAHON CHEESE).

por

M. Alcalá, F.H. Beltrán de Heredia, M^a Asunción Esteban y A. Marcos.

Departamento de tecnología y bioquímica de los alimentos. Facultad de veterinaria. Universidad de Córdoba (España).

Palabras clave: Queso. Mahón. Queso rallado. Queso fundido. Nitrógeno total. Nitrógeno soluble. Nitrógeno no proteico. Nitrógeno formólico. Nitrógeno amónico. Polipéptidos solubles. Oligopéptidos. Aminoácidos. Amonio. Tirosina soluble. Triptófano soluble.

Keywords: Mahon cheese. Processed cheese. Grated cheese. Total nitrogen. Soluble nitrogen. Nonprotein nitrogen. Formol nitrogen. Ammonia nitrogen. Soluble polypeptides. Olygopeptides. Amino acids. Ammonia. Soluble tyrosine. Soluble tryptophan.

Summary

Non-processed Mahon-cheese was relatively low in soluble nitrogen (23,6 p.100 of total N) due to high salt content, that reduces the a_w to a low level and inhibits beta-casein hydrolysis. Processed cheeses and particularly the grated ones, were poorer in soluble nitrogen because of the use of green cheese in their manufacture and the inhibition of proteolysis by processing temperatures. In non-processed cheese the soluble polypeptides amount to nearly 1/2 of soluble N, and olygopeptides to about 1/3 of soluble N, while in processed cheeses the reverse was true. The levels of amino acids were similar in both processed and non-processed cheeses. The soluble tyrosine concentration in non-processed cheese was lower than normal in cow's milk cheeses due to low beta-casein hydrolysis. The presence in processed cheeses of intentional food additives interferes with the spectrophotometric measurement of soluble tyrosine and soluble tryptophan.

Recibido para publicación el 14-7-1981.

Resumen

En el queso de Mahón natural el porcentaje de nitrógeno soluble (23,6 p.100) del N total) es relativamente bajo, debido al alto contenido salino que reduce a la α_1 e inhibe la hidrólisis de la beta-caseína. En los quesos procesados (fundido en porciones y particularmente en el rallado) los porcentajes de nitrógeno soluble (16,5 y 9,7 p.100 del N total, respectivamente) son aún menores, por emplear queso verde como materia prima y ser inhibida la proteólisis por el coagulante residual y microbiana por el proceso de fusión y pasterización. En el queso no procesado los polipéptidos constituyen cerca de la mitad del nitrógeno soluble y los oligopéptidos alrededor de 1/3 del N soluble, mientras que en los quesos procesados ocurre lo contrario. El nivel de aminoácidos es similar en los tres tipos de quesos. En el queso de Mahón natural la concentración de tirosina soluble es inferior a la normal en los quesos de vaca, debido a la escasa hidrólisis de la beta-caseína. En los quesos procesados los aditivos conservadores interfieren la determinación de la tirosina y del triptófano solubles.

Durante la maduración del queso suele producirse un aumento progresivo de la proporción de nitrógeno soluble que, expresado en porcentaje del nitrógeno total, se ha utilizado como índice de maduración.

En los primeros estadios de la maduración del queso de vaca la mayor parte del nitrógeno solubilizado procede de la hidrólisis de la α_1 -caseína por la renina, que libera en primer término un polipéptido básico, soluble, compuesto por los 23-24 primeros residuos aminoterminales de la α_1 -caseína.

Posteriormente, la beta-caseína comienza a degradarse, más lentamente y en cuantía mucho menor, debido posiblemente al efecto inhibitorio de la sal añadida durante la fabricación, contribuyendo al aporte de nitrógeno soluble. El primer producto de degradación soluble de la beta-caseína liberado por la acción de la renina es un eicosapéptido C-terminal. La proteinasa alcalina de la leche contribuye quizá en mayor grado a la solubilización de la beta-caseína, de la que libera fosfopéptidos N-terminales solubles que contienen 28, 105 y 107 residuos de aminoácidos.

En los quesos intensamente madurados en los que llega a agotarse la beta-caseína, sus productos de degradación insolubles (gamma-caseínas) rinden los polipéptidos solubles constituidos por los fragmentos 29-104, 29-106 y dipéptidos His₁₀₅-Lys₁₀₆ de la beta-caseína, si es que la gamma₁-caseína es hidrolizada por la proteasa alcalina a gamma₂- y gamma₃-caseína, y la gamma es hidrolizada a gamma-caseína.

Por la acción prolongada del coagulante residual y, sobre todo, a consecuencia de la actividad endo- y aminopeptidasa de las bacterias lácticas, los polipéptidos solubles son progresivamente reducidos a péptidos menores y aminoácidos libres. Se sabe, no obstante, que la contribución del cuajo a la liberación de aminoácidos es mucho menor que la de las aminopeptidasas de las bacterias lácticas.

A partir de determinados aminoácidos libres en el queso también se forman tiramina y otras aminas biógenas debido a las aminoácido decarboxilasas bacterianas, así como con aldehídos y amoníaco, por la acción de sus deaminasas.

La degradación de la caseína representa el fenómeno primario de la maduración del queso, puesto que los compuestos nitrogenados solubles resultantes contribuyen al cuerpo, aspecto y características organolépticas del producto. Los péptidos y aminoácidos libres participan en el desarrollo tanto del sabor como del aroma o de sus precursores y a veces están implicados en determinados defectos como el amargor. El nitrógeno soluble también juega un papel esencial en el desarrollo de la flora secundaria que requiere gran cantidad de factores del crecimiento, como péptidos y aminoácidos libres.

Seguidamente se analiza la distribución del nitrógeno soluble en muestras de queso de Mahón natural, fundido y rallado, cuya composición y valor calórico ya ha sido objeto de publicación (1).

Material y métodos

Muestras de queso.

Ocho muestras de queso de Mahón comercial, cuatro cajas de queso fundido en porciones y cuatro lotes de 5 bolsas de queso rallado para gratinar fueron adquiridas en el mercado peninsular. Después de quitar

la corteza a los quesos no procesados, las muestras fueron picadas y homogeneizadas e inmediatamente analizadas. Con las cuatro cajas de queso fundido se prepararon dos muestras analíticas homogeneizando en cada muestra las porciones de queso de dos cajas. También con los cuatro lotes de bolsas de queso rallado se prepararon dos muestras analíticas mezclando íntimamente el contenido de dos lotes de bolsas.

En las muestras objeto de estudio previamente fue determinada la composición química bruta (1).

Análisis del nitrógeno.

El nitrógeno total se determinó por el método de Kjeldahl; el N soluble a pH 4,4 y el N no proteico (soluble en ATCA al 12 p.100) se determinaron por el método de Johnson; el N amínico, por el método de Sorensen; y el de las bases volátiles, por el método de Conway, según se ha descrito (3).

Todas las determinaciones se efectuaron por duplicado.

Medida espectrofotométrica de las concentraciones de tirosina y de triptófano solubles.

Se siguió el método de Vakaleris y Price (8) midiendo en espectrofotómetro Beckman mod. DB-6 las extinciones a 270 y 290 nm de los extractos de nitrógeno soluble a pH 4,4 + 0,05.

Las concentraciones de tirosina y de triptófano solubles fueron calculadas mediante las ecuaciones:

$$C_{\text{Tyr}} = (0,95 \times E_{270} - 1,31 \times E_{290}) \times 10^{-3}$$

$$C_{\text{Trp}} = (0,307 \times E_{290} - 0,02 \times E_{270}) \times 10^{-3}$$

en las que C_{Tyr} y C_{Trp} son, respectivamente, los moles de tirosina y de triptófano solubles por litro de extracto.

Resultados y discusión

En la tabla I se indica el porcentaje de nitrógeno total de las tres formas de presentación comercial del queso de Mahón (natural, fundido y rallado), así como los porcentajes de las principales fracciones nitrogenadas solubles. A partir de los últimos datos analíticos se ha calculado la distribución de los componentes nitrogenados solubles (tabla II), datos que se han representado también gráficamente (figura 1).

El porcentaje medio de nitrógeno solubilizado en el queso de Mahón natural (23,6 p.100) es relativamente pequeño; inferior incluso al del queso Tetilla (7), lo que indica escasa actividad proteolítica del cuajo residual. Esto puede ser debido a la alta tasa de sal añadida durante la fabricación de este tipo de queso (del 4 p.100 (4) y a la consiguiente baja actividad del agua ($a_w = 0,93$ (4)), que inhiben la hidrólisis de la caseína; particularmente, de la beta-caseína (2).

En los quesos procesados el nivel de nitrógeno total solubilizado es bastante menor. En el queso fundido (16,5 p.100) es similar al de los quesos frescos (7); y en el rallado, aún menor (9,7 p.100). La causa de tan escasa proteólisis en los quesos procesados probablemente sea el empleo de queso verde como materia prima y la inactivación del coagulante residual durante el proceso de fusión.

En el queso natural (tabla II) casi la mitad del nitrógeno soluble está constituida por polipéptidos; y la otra mitad, por nitrógeno no proteico (principalmente oligopéptidos), mientras que en los quesos procesados disminuye la proporción de polipéptidos (alrededor de 1/3 del NS) y aumenta la proporción relativa de oligopéptidos (a casi 1/2 del NS).

En los tres tipos de quesos la tasa de oligopéptidos es bastante superior a la observada en otros quesos españoles analizados (7).

Las proporciones relativas de aminoácidos son, sin embargo, muy similares en los tres tipos de queso, ascendiendo a más del 10 p.100 del nitrógeno soluble. La proporción de amoníaco es, en los quesos procesados (sobre todo fundido) mayor que en el queso no procesado (tabla II).

Vakaleris y Price (8) desarrollaron un método espectrofotométrico rápido para determinar el grado de proteólisis, midiendo las concentraciones de tirosina soluble y de triptófano soluble en extractos de queso obtenidos con citrato sódico-ácido clorhídrico de pH 4,4. Entre estos compuestos y el porcentaje de nitrógeno soluble encontraron relaciones

lineales altamente significativas.

Las concentraciones de tirosina soluble y de triptófano soluble no pueden, sin embargo, utilizarse indistintamente como índices de la maduración del queso o extensión de la proteólisis, ya que, a diferencia del porcentaje de nitrógeno soluble, que constituye un índice "inespecífico" de la extensión de la proteólisis, las concentraciones de tirosina y triptófano solubles constituyen índices "específicos" de distintos tipos de proteólisis (6). Así, aunque en el queso de vaca la α_{s1} -caseína suele rendir mayor cantidad de nitrógeno soluble que la beta-caseína, se ha comprobado (5) que las concentraciones de triptófano y tirosina solubles dependen más de la hidrólisis de la beta-caseína que de la hidrólisis de la α_{s1} -caseína.

La concentración de triptófano soluble del queso de Mahón natural (tabla III) es del orden de la observada en muchos quesos de vaca, pero la de tirosina soluble es claramente inferior (5). Mientras que en casi todas las variedades de queso de vaca existe un claro predominio de la tirosina soluble sobre el triptófano soluble (5), en la mayoría de las muestras de queso de Mahón no procesado predomina el triptófano soluble sobre la tirosina soluble; hecho observado también esporádicamente en otros quesos.

La escasa concentración de tirosina soluble en el queso de Mahón natural se explica por la también escasa hidrólisis de la beta-caseína (2), ya que el nitrógeno soluble del queso de Mahón procede esencialmente del polipéptido básico N-terminal de la α_{s1} -caseína, que carece de tirosina.

En los quesos procesados se observaron extinciones anormalmente altas, sobre todo a 270 nm, equivalentes a concentraciones de tirosina soluble del orden de 2-4 p.100 g de queso, que supondrían hasta la cuarta parte de la proteína bruta total de estos tipos de quesos (1). Estas extinciones anormalmente altas de los extractos de los quesos procesados, probablemente debidas a la presencia de aditivos conservadores (ácido dehidroacético incorporado como micostático a la envoltura de los quesos fundidos, ácido sórbico, etc.) interfieren con la determinación de la tirosina y del triptófano solubles y por ello las cifras figuran entre paréntesis en la tabla III.

ALCALA ET AL.: QUESO DE MAHON (II).

Tabla I. Fracciones nitrogenadas del queso de Mahón.

| Tipo de queso y número de muestras | NT g/100 g queso | NS - - - - | N:NP (g/100 g NT) | NF - - - - | N:NH - - - - |
|---------------------------------------|---------------------|---------------|----------------------|---------------|-----------------|
| No procesado | | | | | |
| 1 | 3,56 | 18,31 | 11,51 | 2,02 | 0,95 |
| 2 | 3,45 | - | 13,62 | - | 0,55 |
| 3 | 3,68 | 22,68 | 11,41 | 2,96 | 0,46 |
| 4 | 3,77 | 24,66 | 14,05 | 3,42 | 0,69 |
| 5 | 3,66 | 28,41 | 11,20 | 3,66 | 0,63 |
| 6 | 3,49 | - | 11,17 | - | 0,46 |
| 7 | 3,75 | 29,66 | 10,66 | 3,65 | 0,64 |
| 8 | 5,47 | 17,72 | 13,16 | 4,53 | 1,18 |
| - | <u>3,85</u> | <u>23,57</u> | <u>12,10</u> | <u>3,37</u> | <u>0,70</u> |
| X | | | | | |
| S | 0,66 | 4,99 | 1,30 | 0,84 | 0,25 |
| CV (p.100) | 17,14 | 21,17 | 10,74 | 24,93 | 35,71 |
| Fundido | | | | | |
| 9 | 1,90 | 15,32 | 10,26 | 3,15 | 1,31 |
| 10 | 1,96 | 17,60 | 10,71 | 3,21 | 1,32 |
| - | <u>1,93</u> | <u>16,46</u> | <u>10,49</u> | <u>3,18</u> | <u>1,32</u> |
| X | | | | | |
| Rallado | | | | | |
| 11 | 4,63 | 9,78 | 6,70 | 1,84 | 0,52 |
| 12 | 4,90 | 9,64 | 6,53 | 1,79 | 0,65 |
| - | <u>4,77</u> | <u>9,71</u> | <u>6,62</u> | <u>1,82</u> | <u>0,59</u> |
| X | | | | | |

Tabla II. Distribución del nitrógeno soluble del queso de Mahón (g/100 g NS).

| Tipo de queso y número de muestras | Polipéptidos (NS-NNP) | Oligopéptidos (NNP-NF) | Aminoácidos (NF-NNH ₃) | Amoniaco (NNH ₃) |
|------------------------------------|-----------------------|------------------------|------------------------------------|------------------------------|
| No procesado | | | | |
| 1 | 37,14 | 51,82 | 5,84 | 5,19 |
| 2 | - | - | - | - |
| 3 | 49,69 | 37,25 | 11,02 | 2,03 |
| 4 | 43,03 | 43,10 | 12,00 | 2,80 |
| 5 | 60,58 | 26,54 | 9,60 | 2,22 |
| 6 | - | - | - | - |
| 7 | 64,06 | 23,63 | 10,14 | 2,16 |
| 8 | 25,73 | 48,70 | 18,90 | 6,66 |
| - | <u>46,70</u> | <u>38,51</u> | <u>11,25</u> | <u>3,51</u> |
| X | | | | |
| S | 14,47 | 11,56 | 4,30 | 1,95 |
| CV (p.100) | 30,99 | 29,94 | 38,22 | 55,42 |
| Fundido | | | | |
| 9 | 33,03 | 46,40 | 12,01 | 8,54 |
| 10 | 39,15 | 42,61 | 10,73 | 7,50 |
| - | <u>36,09</u> | <u>44,51</u> | <u>11,37</u> | <u>8,02</u> |
| X | | | | |
| Rallado | | | | |
| 11 | 31,49 | 49,69 | 13,50 | 5,31 |
| 12 | 32,26 | 49,17 | 11,83 | 6,74 |
| - | <u>31,87</u> | <u>49,43</u> | <u>12,66</u> | <u>6,02</u> |
| X | | | | |

Tabla III. Concentración de la tirosina y del triptófano solubles del queso de Mahón (mg/100 g de queso)*.

| Tipo de queso y número de muestra | Tirosina soluble | Triptófano soluble |
|-----------------------------------|------------------|--------------------|
| No procesado | | |
| 1 | 134 | 105 |
| 2 | - | - |
| 3 | 129 | 105 |
| 4 | 89 | 118 |
| 5 | 85 | 118 |
| 6 | - | - |
| 7 | 113 | 128 |
| 8 | 106 | 114 |
| - | | |
| X | <u>109</u> | <u>115</u> |
| S | 20 | 9 |
| CV (p.100) | 18 | 8 |
| Fundido | | |
| 9 | (2097) | (147) |
| 10 | (3078) | (128) |
| - | | |
| X | <u>2588</u> | <u>138</u> |
| Rallado | | |
| 11 | (4077) | (300) |
| 12 | (4391) | (255) |
| - | | |
| X | <u>4234</u> | <u>278</u> |

* Los valores entre paréntesis, correspondientes a los quesos procesados, no representan realmente concentraciones de tirosina y de triptófano solubles.

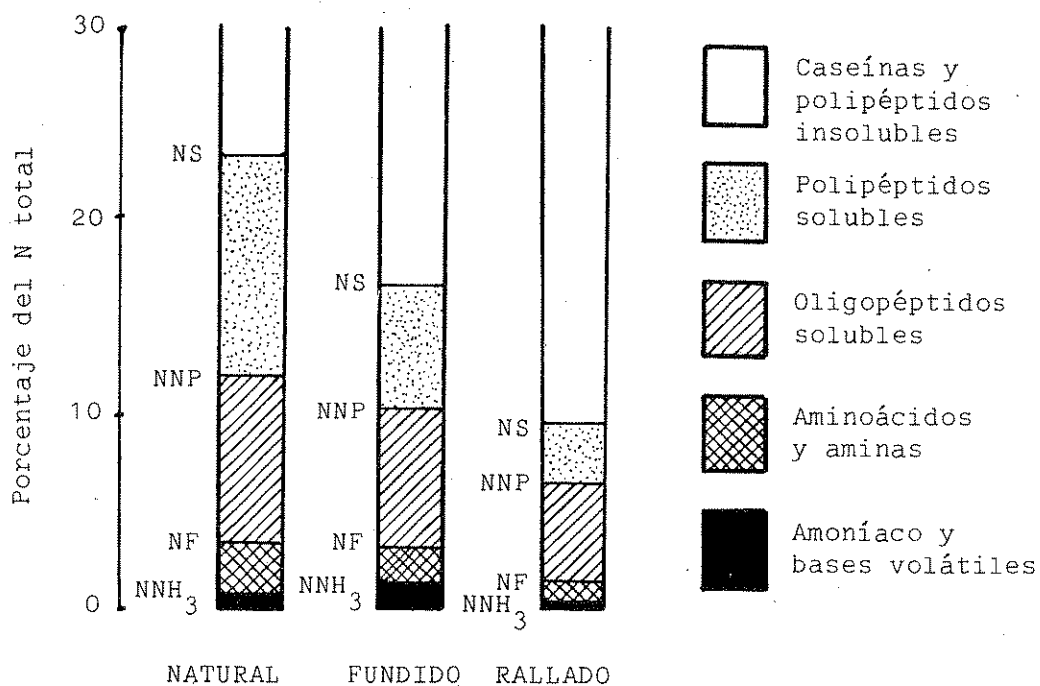


Figura 1. Distribución de los componentes nitrogenados solubles del queso de Mahón.

Bibliografía

1. Alcalá, M., F.H. Beltrán de Heredia, M^a A. Esteban y A. Marcos. Composición química y contenido energético del queso de Mahón. Arch. zootec., en prensa (1981).
2. Esteban, M^a A., A. Marcos, M. Alcalá y F.H. Beltrán de Heredia. Caseínas y polipéptidos insolubles del queso de Mahón. Arch. zootec., en prensa (1981).
3. Fernández-Salguero, J. Composición química y cambios de los compuestos nitrogenados durante la maduración del queso de los Pedroches. Tesis doctoral. Universidad de Córdoba, España (1975).
4. Marcos, A., M. A. Esteban, M. Alcalá y F.H. Beltrán de Heredia. Actividad del agua, pH y principales minerales del queso de Mahón. Arch. zootec., en prensa (1981).
5. Marcos, A., M^a A. Esteban, F. León y J. Fernández-Salguero. Electrophoretic patterns of European cheeses: Comparison and quantitation. J. Dairy Sci., 62, 892 (1979).
6. Marcos, A. y M^a T. Mora. Proteolisis del queso manchego: Primeros polipéptidos solubles. Arch. zootec., en prensa (1981).
7. Millán, R. Composición química de algunas variedades de quesos españoles. Tesis doctoral. Universidad de Córdoba, España (1981).
8. Vakaleris, D.G. y W.V. Price. A rapid spectrophotometric method for measuring cheese ripening. J. Dairy Sci., 42, 264 (1959).