

637.35 MAR/SP

# TRABAJOS CIENTIFICOS DE LA UNIVERSIDAD DE CORDOBA

REFERENCIA

## Estado de degradación proteolítica del queso de Los Pedroches

A. Marcos, M.<sup>a</sup> Asunción Esteban  
y J. Fernández-Salguero

Universidad de Córdoba  
Instituto de Ciencias de la Educación

BIBLIOTECA

10-10-77



UNIVERSIDAD DE CORDOBA  
CAMPUS RABANALES - BIBLIOTECA

Servicio de Publicaciones  
Universidad de Córdoba (España).

R 8803
K 337823
D 229056

Trab. Cient. Univ. Córdoba No. 15 (1977)

## ESTADO DE DEGRADACION PROTEOLITICA DEL QUESO DE LOS PEDROCHES

A. Marcos, M.<sup>a</sup> Asunción Esteban y J. Fernández-Salguero (\*)

### RESUMEN

Las imágenes electroforéticas en gel de poliacrilamida de seis muestras de quesos de los Pedroches maduros, elaborados por diferentes productores, indican que la  $\alpha_3$ -caseína aparece más degradada en todos los quesos que la  $\beta$ -caseína, que apenas es hidrolizada en algunos quesos.

La hidrólisis enzimática de la  $\alpha_3$ -caseína (fundamentalmente de la  $\alpha_{S2}$ - y  $\alpha_{S3}$ -) origina cuatro productos de escisión de mayor movilidad.

La degradación proteolítica de la  $\beta$ -caseína rinde siete fragmentos polipeptídicos de alto peso molecular y baja movilidad electroforética, que se sitúan en la región de la  $\kappa$ - y  $\gamma$ -caseína. Algunos de estos polipéptidos pueden corresponder a caseínas minoritarias equivalentes a la  $\gamma$ -, TS- y R-caseína encontradas en quesos maduros elaborados con leche de vaca.

### PALABRAS CLAVE

Queso de los Pedroches, proteólisis, imágenes electroforéticas.

(\*) *Cátedra de Tecnología y Bioquímica de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Universidad de Córdoba (España).*

## INTRODUCCION

Desde que los investigadores suecos Börge Lindqvist y Torsten Storgards señalaron en 1957 que las imágenes electroforéticas de los extractos obtenidos de distintos tipos de quesos, mostraban considerables variaciones en el estado de degradación de las diferentes caseínas, se han efectuado múltiples estudios electroforéticos de análoga naturaleza. La inmensa mayoría de los trabajos publicados al respecto se refieren a variedades de queso elaboradas con leche de vacas, cuajo de ternera y cultivos lácticos. El queso Cheddar es, con mucho, el más investigado.

Por estudios electroforéticos se sabe también que las caseínas de la leche difieren de una especie a otra y que la hidrólisis enzimática de las caseínas por los diversos coagulantes de la leche de naturaleza animal, vegetal, bacteriana, fúngica, etc., origina distintos cuadros electroforéticos dependientes del tipo de cuajo utilizado.

Los extractos obtenidos de cardos del género *Cynara* raramente se emplean en queso, estando su uso restringido a limitadas áreas geográficas para elaborar determinadas variedades de quesos. Este tipo de cuajo vegetal se utiliza en algunas regiones de la península ibérica en la fabricación de queso de leche de oveja. En la elaboración del queso Serra los campesinos portugueses emplean como coagulante de la leche de oveja un extracto obtenido de los pétalos de la flor de *C. cardunculus* (Vieira de Sa' y Barbosa, 1970a). La actividad coagulante de estos extractos fue evaluada ya en 1935 por Christen y Visasoro y más recientemente por Vieira de Sa' y Barbosa (1970a, b, c).

En el Valle de los Pedroches, el Norte de la provincia de Córdoba, también se elabora artesanalmente una variedad de queso en la que se emplea leche de oveja sin pasteurizar, que se coagula con cuajo obtenido del cardo *C. humilis* y cuya maduración corre a cargo de los microorganismos contaminantes naturales de la leche. La singularidad de este tipo de queso nos indujo recientemente a abordar su estudio, habiéndose investigado los cambios que experimentan los compuestos nitrogenados durante el proceso de maduración (Fernández-Salguero, 1975), la composición química y algunos parámetros físicos de los quesos maduros (Fernández-Salguero *et al.*, 1976) y las fracciones nitrogenadas y los aminoácidos libres de los quesos maduros (Fernández-Salguero y Marcos, 1976).

Seguidamente se exponen los resultados del análisis electroforético del estado de degradación proteolítica de las caseínas de quesos de los Pedroches maduros elaborados por productores diferentes.

## MATERIAL Y METODOS

**Material experimental.** Seis quesos tomados al azar entre un lote heterogéneo de 16 quesos, de dos a tres meses de maduración, adquiridos en el Valle de los Pedroches, a otros tantos productores diferentes.

**Preparación de las muestras analíticas.** Después de proceder como recomienda la norma 34 105 hl de la UNE (1969), se homogeneizaron muestras de 20 g de cada uno de los quesos con 100 ml de H<sub>2</sub>O a 5.000 rpm/2 min. Los homogeneizados se calentaron a 35-40° C y centrifugaron a 2.000 rpm/30 min., enfriándose seguidamente a 0° C/30 min para eliminar con espátula la grasa separada. Al extracto frío se añadió bajo agitación ClH 1 N hasta ajustar el pH a 4,6. Pasados 30 min. se calentó a 30° C/30 min. y centrifugó a 2.000 rpm/30 min. El sedimento obtenido se lavó dos veces resuspendiéndolo en tampón diluido de pH 4,6 (10 ml de CH<sub>3</sub>COOH al 10 % y 10 ml CH<sub>3</sub>COONa 1 M diluidos a 1 litro con H<sub>2</sub>O) y centrifugando (2.000 rpm/30 min) tras cada lavado. El sedimento final se resuspendió en 50 ml de H<sub>2</sub>O y disolvió ajustando el pH a 6,8 con NaOH 1 N. Inmediatamente antes de la electroforesis se añadió un volumen igual de urea 7 M recién preparada.

**Electroforesis en gel de poliacrilamida.** Se siguió la modificación de Akroyd (Smith, 1968) de la técnica de Ornstein y Davis (1964), empleando un equipo de electroforesis de disco Canalco 1.200.

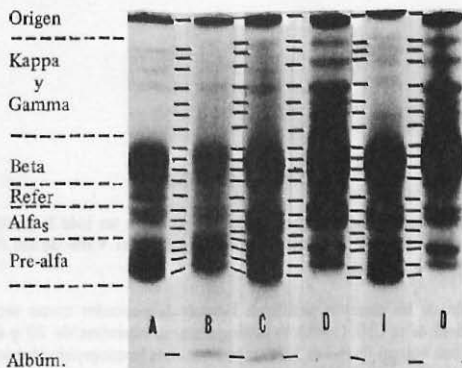
En la preparación del gel se utilizó un tampón de pH 8,9 que contenía 36,3 g de Tris, 0,46 ml de Temed, ~ 48 ml de ClH 1 N y H<sub>2</sub>O hasta 100 ml. El gel de separación contenía un 7,5 % de acrilamida y un 0,2 % de bisacrilamida y se polimerizó añadiendo, por 20 ml de solución, 2,5 ml de persulfato amónico al 0,56 % y 12,2 ml de Temed. Los geles de apilamiento y de la muestra se prepararon como indica el manual de instrucciones Canalco (1969). De cada muestra analítica se pusieron en cada una de dos columnas de gel 15  $\mu$ l.

En la separación electroforética, que se hizo con tampón de pH 8,4 conteniendo 0,60 g de Tris, 2,88 g de glicina y H<sub>2</sub>O hasta 1 litro, y en la tinción de los geles con negro amido se siguieron las instrucciones del manual Canalco (Anónimo, 1969). El perfil densitométrico de los geles teñidos se registró con un Chromoscan 200 y las planimetrías se hicieron con planímetro de Ott.

## RESULTADOS

De los extractos de queso se han separado por electroforesis de disco en gel de poliacrilamida 21 componentes de distinta movilidad, detectables en los geles teñidos con negro amido por examen visual. En la Lámina I puede verse la intensidad tintorial relativa

## REGION



LAMINA I. Fotografía de los ferogramas obtenidos de los quesos de los Pedroches maduros por electroforesis en gel de poliacrilamida. Se indica la situación regional de las zonas.

de las zonas más aparentes y su posición regional; la movilidad relativa (Rm) de todos los componentes se indica en la Tabla I.

A partir del origen, donde se observa una zona intensamente teñida ( $R_m \sim 0$ ), se detectaron 7 zonas tenues de baja movilidad ( $R_m$  0,13 a 0,63) ocupando la región de la  $\kappa$ - y  $\gamma$ -caseína. Cinco de tales bandas se aprecian con claridad en la fotografía de algunos ferogramas. En la región de la  $\beta$ -caseína se distinguieron cuatro zonas ( $R_m$  0,73 a 0,90), siendo difusas las de máxima y mínima migración y nítidas e intensas las de movilidad intermedia.

Delante de la región de la  $\beta$ -caseína se apreció una línea tenue pero bien definida que se utilizó como referencia para determinar la posición relativa de los restantes componentes, siguiendo el sistema de designación de zonas de Wake y Baldwin (1961).

TABLA I. Movilidad relativa media ( $R_m$ ) de las zonas detectadas en las diversas regiones electroforéticas.

Región	Orig.	$\kappa - \gamma$	$\beta$	Ref $R_m$	$\alpha_s$	Pre- $\alpha_s$	Alb.
Rm	0,00	0,13	0,73	1,300	1,200	1,25	1,92
"		0,22	0,77		1,13	1,30	
"		0,27	0,83		1,18	1,37	
"		0,38	0,90			1,43	
"		0,48					
"		0,55					
"		0,63					

En la región de la  $\alpha_s$ -caseína se encuentran tres zonas (Rm 1,08 a 1,18) siendo bastante intensas las dos de los componentes menos veloces. Cuatro componentes de alta movilidad electroforética aparecieron formando zonas en la región pre- $\alpha_s$ , con Rm comprendido entre 1,25 y 1,43.

El componente negro amido positivo de máxima movilidad formó una zona tenue con Rm 1,92.

Como puede verse en la Lámina I, en las imágenes electroforéticas de algunos quesos se observan notables diferencias. En los ferogramas codificados con las letras D y O aparecen bien visibles cinco de las siete zonas de escasa movilidad, las zonas de la región de la  $\beta$ -caseína muestran gran intensidad tintorial relativa, se distinguen las dos zonas menos móviles en la región de la  $\alpha_s$ -caseína que aparecen muy debilitadas en comparación con los componentes de la región de la  $\beta$ -caseína, y sólo se evidencian claramente dos de los cuatro componentes de elevada movilidad que forman zonas en la región pre- $\alpha_s$ . En los restantes ferogramas sólo se insinúan en la región de la  $\kappa$ - y  $\gamma$ -caseína algunos de los componentes poco móviles, la intensidad tintorial relativa de las zonas de la región de la  $\beta$ -caseína (aunque menor que en los ferogramas D y O) es considerablemente mayor que la del material depositado en la región de la  $\alpha_s$ -caseína y, finalmente, en situación pre- $\alpha_s$  se visualizan los cuatro componentes de alta velocidad de migración.

Las Figuras 1, 2 y 3 muestran los perfiles densitométricos de ferogramas obtenidos de los seis quesos objeto de estudio. Midiendo planimétricamente la superficie relativa delimitada por la línea base y el perfil correspondiente a las regiones de la  $\kappa$ - y  $\gamma$ -caseína, de la  $\beta$ -caseína, de la  $\alpha_s$ -caseína y de la región pre- $\alpha_s$ , se han obtenido datos objetivamente cuantificados (Tabla 2) sobre las proporciones relativas de los cuatro grupos de componentes. Tales datos indican que los componentes poco móviles suponen alrededor del 18 % del material negro amido positivo de las regiones consideradas, que los componentes de la región de la  $\beta$ -caseína son los cuantitativamente más importantes, constituyendo más de la tercera parte ( $\sim 37$  %) del material total, que las zonas de la región de la  $\alpha_s$ -caseína suponen aproximadamente el 18 % del total y que los productos de alta movilidad dan cuenta del 27 % restante.

En tres quesos (B, C, I) de los seis analizados los resultados cuantitativos son bastante similares entre sí, pese a su diferente procedencia, aproximándose también a los valores medios citados. Sus ferogramas pueden considerarse por tanto más representativos del estado de degradación proteolítica del queso de los Pedroches. En los tres restantes quesos existen considerables variaciones de distinta naturaleza. En el queso A se nota una considerablemente mayor proporción relativa de los componentes más veloces y una considerablemente menor proporción de los componentes menos móviles. En los quesos D y O la proporción relativa del material teñido presente en la región de la  $\beta$ -caseína es superior al valor medio (particularmente en D), al igual que el de la región de la  $\kappa$ - y  $\gamma$ -caseína (más aparente en O), siendo muy bajas las proporciones relativas de los componentes de la región de la  $\alpha_s$ -caseína y de los de la región pre- $\alpha_s$ . Estos resultados cuantitativos concuerdan con los deducidos del examen visual de los ferogramas expuestos anteriormente.

## DISCUSION

Las principales fracciones caseínicas de la leche,  $\kappa$ -,  $\gamma$ -,  $\beta$ - y  $\alpha_s$ -caseína, muestran una migración anódica creciente cuando se someten a electroforesis tanto en gel de almidón (Wake y Baldwin, 1961) como en gel de acrilamida, quedando la  $\kappa$ -caseína cerca del origen. Cuando la leche de vaca se coagula con cuajo de ternera para elaborar queso, la

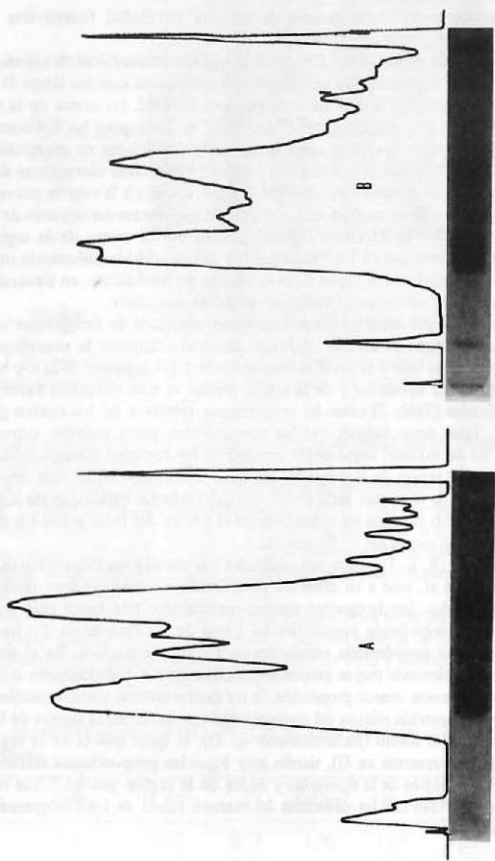


FIGURA 1. Perfiles densitométricos de los ferogramas correspondientes a los quesos A y B.

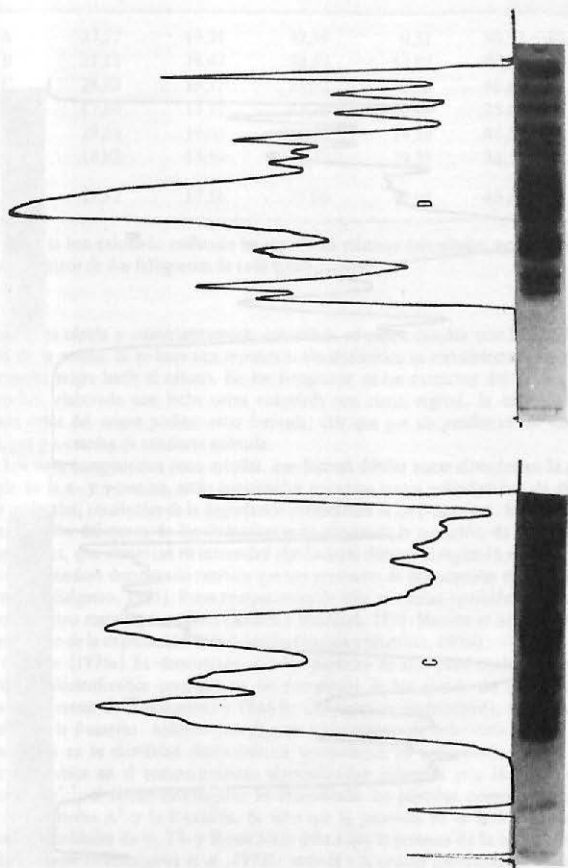


FIGURA 2. Perfiles densitométricos de los ferogramas correspondientes a los quesos C y D.



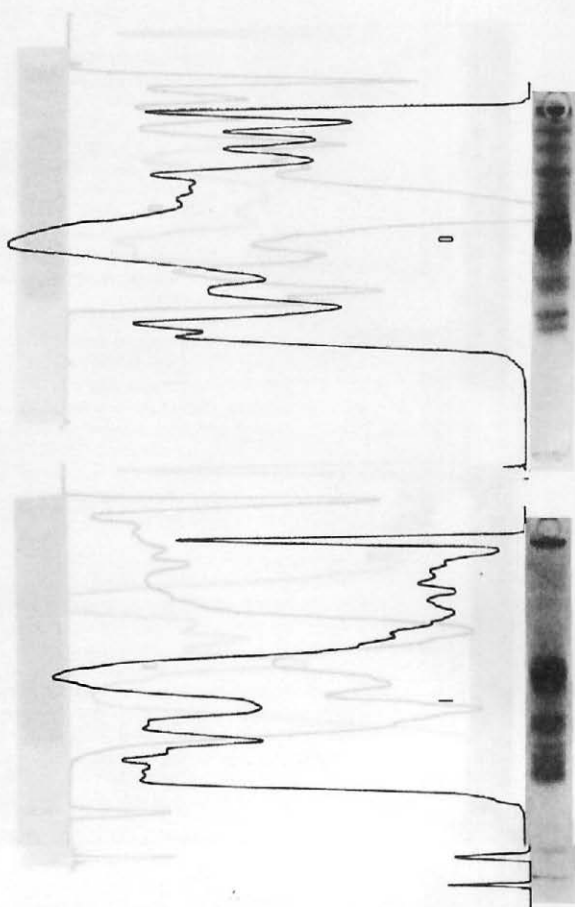


FIGURA 3. Perfiles densitométricos de los ferogramas correspondientes a los quesos 1 y 0.

TABLA 2. Proporciones relativas de los componentes situados en las regiones pre- $\alpha_s$ ,  $\alpha_s$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\kappa$  -  $\gamma$ , y relaciones pre- $\alpha_s + \alpha_s / \beta + \kappa - \gamma$ .

Queso	Pre- $\alpha_s$	$\alpha_s$	$\beta$	$\kappa - \gamma$	Pre- $\alpha_s + \alpha_s / \beta + \kappa - \gamma$
A	37,57	19,34	33,59	9,51	56,91 / 43,10
B	31,13	18,47	32,59	17,82	49,60 / 50,41
C	28,83	19,77	35,62	15,78	48,60 / 51,40
D	17,86	15,22	45,76	20,49	33,08 / 66,25
I	29,59	19,00	36,62	14,79	48,59 / 51,41
O	18,92	13,59	38,27	29,22	32,51 / 67,49
X	27,32	17,56	37,08	17,93	45,88 / 55,01

Los datos se han calculado midiendo las superficies relativas delimitadas por los perfiles densitométricos de dos ferogramas de cada queso.

$\kappa$ -caseína es rápida y cuantitativamente convertida en para- $\kappa$ -caseína por la acción primaria de la renina. Si se hace una separación electroforética en condiciones estándar la p- $\kappa$ -caseína migra hacia el cátodo. En los ferogramas de los extractos del queso de los Pedroches, elaborado con leche ovina coagulada con cuajo vegetal, la intensa banda situada cerca del origen pudiera estar formada, más que por un producto de degradación, por p- $\kappa$ -caseína de conducta anómala.

Los siete componentes poco móviles, que forman débiles zonas situadas en la región propia de la  $\kappa$ - y  $\gamma$ -caseína, están constituidos por otros tantos polipéptidos de elevado peso molecular, resultantes de la degradación proteolítica de las  $\beta$ -caseínas. En el curso de la maduración del queso de los Pedroches se ha observado la aparición de seis de estos componentes, que aumentan en intensidad rápidamente durante el segundo mes de maduración, habiéndose demostrado también que son productos de degradación de la  $\beta$ -caseína (Fernandez-Salguero, 1975). Estos componentes de baja movilidad también aparecen en los quesos tipo manchego maduros (Ramos y Martínez, 1976; Marcos *et al.*, 1976a) como resultado de la degradación de la  $\beta$ -caseína (Ramos y Martínez, 1976).

Cremer (1975a) ha demostrado que los péptidos de alto peso molecular y baja movilidad electroforética presentes en los ferogramas de los quesos de leche de vaca Gouda (11 meses de maduración) y Cheddar (30 meses de maduración), resultan de la escisión de la  $\beta$ -caseína. Aislando tres de estos componentes de cada variedad de queso y basándose en su movilidad electroforética, composición en aminoácidos, peso molecular y cambios en el comportamiento electroforético inducidos por la presencia de cationes  $Mg^{+2}$ , el citado investigador ha identificado los péptidos como la  $\gamma$ -caseína  $A^2$ , la TS-caseína  $A^2$  y la R-caseína. Se sabe que la presencia en la leche de vaca de pequeñas cantidades de  $\gamma$ -, TS- y R-caseína se debe a que la proteasa de la leche —plasmína de la sangre (Kaminogawa *et al.*, 1972)— escinde a la cadena peptídica de moléculas de  $\beta$ -caseína por los enlaces existentes entre los residuos 28 y 29, 105 y 106, y 107 y 108, originando péptidos de elevado peso molecular (20.536, 11.820 y 11.565 daltons, respectivamente) que constan de los residuos de 29 a 209, 106 a 209 y 108 a 209 de la cadena de la  $\beta$ -caseína (Gordon *et al.*, 1972; Kaminogawa y Yamauchi, 1972; Mercier *et al.*, 1972; Yamauchi y Kaminogawa, 1972). Cremer (1975a) descarta que la formación de estos polipéptidos en los quesos madurados sea debida a la acción de la renina

sobre la  $\beta$ -caseína y, sin excluir como responsables o participantes a las enzimas microbianas del *starter*, considerada más probable que la hidrólisis enzimática se deba a la acción de la proteasa de la leche.

Es posible que algunos de los componentes de escasa movilidad observados en los ferogramas de los quesos objeto de estudio correspondan a caseínas minoritarias, formadas a partir de la  $\beta$ -caseína por la acción de la proteasa natural de la leche, ya que se ha detectado actividad proteolítica intrínseca en la leche de todas las especies investigadas (Carini *et al.*, 1971; Carini y Todesco, 1974).

Dos de las cuatro zonas que se han discernido en la región de la  $\beta$ -caseína probablemente corresponden a la  $\beta_1$ -caseína y a la  $\beta_2$ -caseína no degradadas y las tres zonas de la región de la  $\alpha_s$ -caseína a la  $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$  y  $\alpha_{s3}$ -caseína (Creamer, 1975b).

Los cuatro componentes de mayor movilidad que se encuentran en situación pre- $\alpha_s$  son productos de degradación de la  $\alpha_s$ -caseína, sobre todo de la  $\alpha_{s2}$ - y  $\alpha_{s3}$ -caseína (Creamer, 1975b). Tales productos se forman precozmente durante la maduración tanto del queso de los Pedroches (Fernández-Salguero, 1975) como del queso tipo manchego (Ramos y Martínez-Castro, 1976).

Se ha comprobado que al comienzo de la maduración del queso la  $\alpha_s$ - y la  $\beta$ -caseína dan cuenta, aproximadamente a partes iguales, del 100 % del material negro amido positivo localizado en las regiones de la  $\kappa$ - y  $\gamma$ -caseína,  $\beta$ -caseína,  $\alpha_s$ -caseína y de la región pre- $\alpha_s$  (Fernández-Salguero, 1975). De lo anterior y del examen de la Lámina I y de la Tabla 2 se deduce que en los quesos maduros estudiados la proteólisis ha afectado preferentemente a la  $\alpha_s$ -caseína, ya que la proporción relativa de la misma es pequeña (~ 18 %) y la de sus primeros productos de escisión enzimática es comparativamente alta (~ 27 %), mientras que la proporción relativa de la  $\beta$ -caseína es muy elevada (~ 37 %) y la de sus productos de degradación es baja (~ 18 %).

La mayor resistencia de la  $\beta$ -caseína a la hidrólisis enzimática durante la maduración de los quesos ha sido observada por múltiples investigadores en diversas variedades elaboradas con leche de vaca y particularmente en el queso Cheddar (entre otros Ledford *et al.*, 1966; Ledford y O'Sullivan, 1966; Edwards y Kosikowsky, 1969; Creamer, 1970; Fox y Walley, 1971; Sing y Ganguli, 1972; Phelan *et al.*, 1973).

La mayor susceptibilidad de la  $\alpha_s$ -caseína a la proteólisis también ha sido observada en el queso tipo manchego (Ramos y Martínez, 1976; Marcos *et al.*, 1976a) y en los quesos Idiazabal, Cabrales, gallego de vaca, San Simón, Tetilla, Roncal y queso fresco de cabra de Cádiz (Millán, 1976), aunque casi todas las bacterias proteolíticas aisladas de dichos quesos poseen proteasas exocelulares que actúan preferentemente sobre la  $\beta$ -caseína (Marcos *et al.*, 1976b; Muñoz, 1976).

La resistencia de la  $\beta$ -caseína del queso a la proteólisis ha sido atribuida a factores tales como altos contenidos en cenizas o minerales del queso (y más concretamente a la riqueza en sal o en calcio y fósforo micelares), bajos contenidos en agua,  $a_w$  reducida y elevados contenidos en proteína. Fox y Walley (1971) observaron que la degradación de la  $\beta$ -caseína por la acción de la renina y de la pepsina se reducía considerablemente en presencia de un 5 % de ClNa y se inhibía totalmente cuando la concentración de la sal era del 10 %. El contenido salino medio de los quesos utilizados en el presente trabajo, de aproximadamente el 3,5 % del producto, podría explicar la escasa degradación de la  $\beta$ -caseína.

Creamer (1971) explica las diferencias en las velocidades de degradación de la  $\alpha$ - y de la  $\beta$ -caseína del queso Cheddar por efecto de la actividad del agua ( $a_w$ ) del producto. Este tipo de queso tiene una  $a_w$  relativamente baja (0,95 - 0,96) como resultado de la adición de sal, pero la sal *per se* no sería directamente responsable de la resistencia de la  $\beta$ -caseína a la hidrólisis, ya que si la  $a_w$  del queso se reduce con otros solutos dismi-

nuye la velocidad de degradación de la  $\beta$ -caseína. Ha comprobado que en solución muy diluida la  $\alpha$ - y la  $\beta$ -caseína se degradan a la misma velocidad, mientras que en soluciones que contienen un 30 % de sacarosa ( $a_w = 0,983$ ) la fracción  $\alpha$  se hidroliza cinco veces más que la fracción  $\beta$  y en soluciones que contienen un 60 % de sacarosa ( $a_w = 0,963$ ) la fracción  $\beta$  se hidroliza sólo muy ligeramente. En los quesos que hemos estudiado la  $a_w$  media es de 0,88, lo que concuerda con la hidrólisis preferencial observada.

Phelan: *et al.* (1973) atribuyen la resistencia de la  $\beta$ -caseína a la degradación enzimática, a algún cambio físico concentración-dependiente de la micela de caseína, que hace que la fracción  $\beta$  sea inaccesible al ataque enzimático.

En dos de los quesos estudiados (D y O) es particularmente manifiesta la resistencia de la  $\beta$ -caseína a la hidrólisis enzimática. Las proporciones de  $\alpha$ - y  $\beta$ -caseína (véase Tabla 2) son de alrededor del 15 % y del 46 % respectivamente en el queso D y del 14 % y del 38 % en el queso O. El que la  $\beta$ -caseína sea muy refractaria al ataque enzimático en el queso O puede explicarse basándose en la concentración del ClNa y la  $a_w$  del producto, factores los últimos que no explican, sin embargo, la menor hidrólisis de la  $\beta$ -caseína del queso D respecto a la de los restantes quesos estudiados, particularmente C (véase Tabla 3).

Recientemente se ha encontrado (Marcos *et al.*, 1976c) que entre los factores composicionales y físicos a que se atribuye la resistencia a la proteólisis de la  $\beta$ -caseína del queso y la cantidad de  $\beta$ -caseína residual no existe correlación estadísticamente significativa, siendo significativa en cambio su correlación con la cantidad de  $\alpha_s$ -caseína residual.

Si los primeros productos de degradación de la  $\alpha_s$ -caseína migran todos a la región pre- $\alpha_s$  y los de la  $\beta$ -caseína migran todos a la región de la  $\kappa$ - y  $\gamma$ -caseína y no son degradados ulteriormente a compuestos de bajo peso molecular sin afinidad por el colorante, o los productos resultantes de la hidrólisis de ambas fracciones son convertidos en compuestos negro amido negativos a la misma velocidad, entonces la relación  $\alpha_s + \text{pre-}\alpha_s / \beta + \kappa - \gamma$  en los quesos maduros sería igual a la relación  $\alpha_s / \beta$  existente al comienzo de la maduración, de aproximadamente 1/1.

Que la pérdida de material negro amido positivo no es copiosa se deduce de los resultados del análisis químico de las fracciones nitrogenadas del queso al término de su maduración (Fernández-Salguero, 1975; Fernández-Salguero y Marcos, 1976), según los cuales alrededor del 80 % del nitrógeno total está formado por proteínas y proteo-

TABLA 3. Concentración salina y  $a_w$  de los quesos

Queso	Molalidad del ClNa en la fase acuosa del queso	$a_w$
A	1,58	0,90
B	1,45	0,91
C	2,20	0,84
D	1,77	0,89
I	0,75	0,93
O	3,72	0,80
X	1,91	0,88

Datos tomados de Fernández-Salguero *et al.* (1975)

sas-peptonas y aproximadamente la mitad del 20 % restante de nitrógeno no proteico está constituido por péptidos. Por otra parte, la pequeña pérdida que se produce no afecta por igual a los productos de degradación de las dos principales fracciones proteicas sino que ocurre esencialmente a expensas de los primeros productos de degradación de la  $\alpha_s$ -caseína, que como se ha señalado se forman antes que los de la  $\beta$ -caseína. La hidrólisis de los primeros productos de degradación de la  $\alpha_s$ -caseína a compuestos negro amido negativos se produce principalmente durante la segunda quincena del período de maduración (Fernández-Salguero, 1975). Lo que se acaba de exponer se refleja en los resultados del presente estudio electroforético. En algunos quesos la suma de cada una de las dos principales fracciones proteicas y sus correspondientes productos de degradación apenas se desvía de la igualdad (Tabla 2), lo que indica que apenas se ha producido en ellos pérdida de material negro amido positivo. Que la producción de material negro amido negativo tiene lugar fundamentalmente a expensas de los primeros productos de degradación de la  $\alpha_s$ -caseína se confirma porque en general las desviaciones determinan el incremento relativo de  $\beta + \kappa - \gamma$  (muy evidente en D y O). El queso A constituye una chocante excepción pues los resultados aparentemente indican que a partir de la  $\beta$ -caseína se han formado productos de alta migración anódica.

## STATE OF PROTEOLYTIC BREAKDOWN IN PEDROCHES CHEESE

### SUMMARY

Polyacrylamide gel electrophoretic patterns of six ripened Pedroches cheeses of different origin revealed  $\alpha_s$ -casein to be extensively degraded and formed four degradation products of higher relative mobility, whereas  $\beta$ -casein, more resistant to hydrolysis, on enzymic proteolysis give rise to seven peptides of high molecular weight and low electrophoretic mobility, some of which can be minor caseins like the  $\gamma$ -, TS- and R- found in ripened cheeses of cow milk.

### KEY WORDS

Pedroches cheese, proteolysis, electrophoretic patterns, protein degradation products.

### AGRADECIMIENTO

Al Dr. L. K. Creamer, del *New Zealand Dairy Research Institute*, Palmerston North (Nueva Zelanda), por sus valiosas orientaciones en la identificación tentativa de las zonas electroforéticas.

## BIBLIOGRAFIA

- Anónimo (1969) "Research Disc Electrophoresis Instructions", Canalco, Rockville, Maryland.
- Carini, S., Lodi, R. y Todesco, R (1971) *Sci. Tecn. Latt. - Cas.*, 22, 391.
- Carini, S. y Todesco, R (1974) *Ind. Latte*, 10, 13.
- Creamer, L. K. (1970) *J. Dairy Sci. Technol.*, 5, 152.
- Creamer, L. K. (1971) *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.*, 6, 91.
- Creamer, L. K. (1975a) *J. Dairy Sci.*, 58, 287.
- Creamer, L. K. (1975b) Comunicación personal.
- Christen, C. y Visasoro, E. (1935) *Lait*, 15, 354, 496.
- Edwards, J. L. Jr. y Kosikowski, F. V. (1969) *J. Dairy Sci.*, 52, 1675.
- Fernández-Salguero, J. (1975) Tesis Doctoral, Universidad de Córdoba (España).
- Fernández-Salguero, J., Esteban, M.<sup>a</sup> A. y Marcos, A. (1976) *Trab. Cient. Univ. Córdoba*, en prensa.
- Fernández-Salguero, J. y Marcos, A. (1976) *Trab. Cient. Univ. Córdoba*, en prensa.
- Fox, P. F. y Walley, B. F. (1971) *J. Dairy Res.*, 38, 165.
- Gordon, W. G., Groves, M. L., Greenberg, R., Jones, B. S., Kalana, E. B., Peterson, R. F. y Townend, R. E. (1972) *J. Dairy Sci.*, 55, 261.
- Kaminogawa, S., Mizobuchi, H. y Yamauchi, K. (1972) *Agr. Biol. Chem.*, 36, 2163.
- Kaminogawa, S. y Yamauchi, K. (1972) *Agr. Biol. Chem.*, 36, 255.
- Ledford, R. A. y O'Sullivan, A. C. (1966) *Proc. Frontiers in Food Res.*, 37, 245.
- Ledford, R. A., O'Sullivan, A. C. y Nath, K. R. (1966) *J. Dairy Sci.*, 49, 1098.
- Lindqvist, B. y Storgards, T. (1957) *Milchwissenschaft*, 12, 462.
- Marcos, A., Esteban, M.<sup>a</sup> A., Espejo, J., Martínez, P. y Muñoz, M.<sup>a</sup> T. (1976b). *Arch. Zootec.*, en prensa.
- Marcos, A., Esteban, M.<sup>a</sup> A. y Fernández-Salguero, J. (1976c) *Arch. Zootec.*, 25, 73.
- Marcos, A., Esteban, M.<sup>a</sup> A., Fernández-Salguero, J., Mora, M.<sup>a</sup> T. y Millán, R. (1976a) *Anal. Bromatol.*, 28, 57.
- Mercier, J. C., Grosclaude, F. y Ribadeau-Dumas, B. (1972) *Milchwissenschaft*, 27, 402.
- Millán, R. (1976). Datos no publicados.
- Muñoz, M.<sup>a</sup> T. (1976). Datos no publicados.
- Ornstein, L. y Davis, B. J. (1964) *Ann. Acad. Sci., N. Y.*, 121, 321 y 404.



- Phelan, J. A., Guiney, I. y Fox, P. F. (1973) *J. Dairy Res.*, 40, 105.
- Ramos, M. y Martínez, I. (1976) *Lait*, 56, 164.
- Singh, A. y Ganguli, N. C. (1972) *Indian J. Dairy Sci.*, 25, 171.
- Smith, I. (1968) "Chromatographic and Electrophoretic techniques", (ed.), II, 399, Heinemann.
- UNE (1969) "Métodos de ensayo de queso: obtención de muestras", 34 105 hl.
- Vieira de Sa', F. y Barbosa, M. (1970a) *18th Intern. Dairy Congr.*, IE, 286.
- Vieira de Sa', F. y Barbosa, M. (1970b) *18th Intern. Dairy Congr.*, IE, 287.
- Vieira de Sa', F. y Barbosa, M. (1970c) *18th Intern. Dairy Congr.*, EI, 288.
- Wake, R. G. y Baldwin, R. L. (1961) *Biochim. Biophys. Acta*, 47, 225.
- Yamauchi, K. y Kaminogawa, S. (1972) *Agr. Biol. Chem.*, 36, 349.

NOTA: Enviado para su publicación en 1975.