

Estudio sobre los ácidos grasos libres en queso blanco venezolano

MARÍA DOLORES SÁNCHEZ-PONTE

*Departamento de Ciencia de los Alimentos. Facultad de Farmacia.
Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.
E-mail: dolores@ula.ve*

RESUMEN

Entre los quesos blancos de mayor consumo en Venezuela se encuentran los tipos denominados Palmita y Semiduro, cuyas características tecnológicas, organolépticas y reológicas no han sido bien definidas, entre ellas, la composición de sus ácidos grasos libres (AGL) como componentes del sabor. Muestras obtenidas en el mercado fueron sometidas al análisis de su contenido de AGL por cromatografía de gases utilizando una columna capilar de sílica, previa extracción con éter/heptano (1:1) y separación en columna de aminopropil. Los resultados obtenidos permitieron comprobar la presencia en los quesos de los ácidos grasos libres saturados del butírico (C4) al palmítico (C18), así como de los mono-insaturados y poli-insaturados, el ácido oleico (C18:1) y linoleico (C18:2) en concentraciones muy diversas entre 2.3 µg/g (C6) en el queso Palmita y 185.1 µg/g (C18:1) en el queso Semiduro. Se evidencia predominio de los AGL de mayor peso molecular, palmítico (C16) y oleico (C18:1) sobre los de menor peso molecular, entre los cuales resalta el butírico (C4) con un impacto significativo en el sabor del queso. Comparando ambos tipos de quesos se aprecia una mayor concentración de todos los AGL en el queso Semiduro que en el Palmita.

PALABRAS CLAVE

Queso, lipólisis, ácidos grasos libres.

ABSTRACT

White Palmita and Semiduro are the most consumed types of cheeses in Venezuela. Their technological, organoleptical and rheological properties have not been defined yet. This paper investigates the composition of free fatty acids considered to play an important role in flavor. Samples collected from local markets were analyzed for their free fatty acids content by gas chromatography using a fused silica capillary column

after being extracted with ethyl-heptane (1:1) and isolated in aminopropil columns. The results confirmed the presence of saturated free fatty acids, from butyric (C4) to palmitic (C18), and unsaturated, oleic (C18:1) and linoleic (C18:2) with values ranging from 2.3 µg/g (C6) for Palmita cheese to 185.1 µg/g (C18:1) for Semiduro cheese. These values show a predominance of palmitic acid (C16) and oleic acid (C18:1). The shorter chain fatty acid, the butyric (C4) shows considerable higher levels with its influence on the characteristic flavor of these cheeses. The comparison of both types of cheeses shows that Semiduro Cheese has higher amounts of free fatty acids.

INTRODUCCIÓN

El sabor es la propiedad de los quesos que determina su identidad, calidad y aceptabilidad. Su naturaleza es muy compleja por cuanto depende del balance entre numerosos componentes del sabor y aroma. En su desarrollo intervienen muchos factores, en especial en los quesos madurados, cuyos componentes originales, entre ellos las proteínas, la lactosa y la grasa son degradados durante la maduración a través de complejos cambios enzimáticos de naturaleza proteolítica, lipolítica, fermentativa y otras vías bioquímicas que producen agentes del sabor muy diversos como ácidos grasos libres, ésteres, aldehídos, cetonas, alcohol, aminas y sulfuro de hidrógeno. Los ácidos grasos libres juegan un papel importante en el sabor de muchos quesos. Los ácidos grasos libres se producen por la hidrólisis de los triglicéridos de la grasa por las lipasas nativas de la leche, las lipasas microbianas y las lipasas de las células somáticas. También se liberan durante el metabolismo de los carbohidratos y aminoácidos por las bacterias.

La grasa de la leche está recubierta por una membrana que normalmente protege al glóbulo graso de la lipasa en la leche cruda. La lipasa es relativamente inestable y puede ser inactivada por la sal, ácido, luz, oxidación y calor. La membrana del glóbulo graso puede

deteriorarse por agitación mecánica, ataque enzimático y otros factores exponiendo los lípidos a las lipasas. Generalmente la pasteurización inactiva la enzima.

Los ácidos grasos de bajo peso molecular son consecuencia de la fermentación bacteriana, mientras que los ácidos grasos restantes son el resultado de la acción de la lipasa [1]. Se ha demostrado que los ácidos grasos libres deben estar presentes dentro de un rango específico y a un nivel óptimo de concentración para un sabor deseable. Cantidades excesivas de ácidos grasos libres se asocian con rancidez hidrolítica y causan sabores desagradables. Entre los factores que influyen en la liberación de los ácidos grasos libres se deben destacar las condiciones físico químicas del queso, en especial el pH, la acidez, los cloruros y las proteínas, las condiciones bacteriológicas, el tratamiento previo, en especial la pasteurización, y las temperaturas de mantenimiento [1, 4, 5].

En Venezuela, los quesos de mayor consumo son los frescos, entre ellos los denominados Palmita y Semiduro, en los cuales no se desarrollan reacciones tan complejas, pero que sin embargo, poseen un sabor propio aún no bien tipificado y cuya naturaleza no ha sido establecida. Ambos quesos se elaboran artesanalmente a partir de leche cruda coagulada con renina. En el queso Palmita, originario del Estado Zulia, la cuajada después de cortada en cubos pequeños se introduce en salmuera por 20-30 minutos y los quesos se mantienen por 48 horas a temperatura ambiente, período durante el cual ocurre un proceso de fermentación responsable de la producción de huecos y ácidos que le dan su apariencia y sabor característico. A diferencia, la cuajada del queso Semiduro se sala por adición directa de sal y después del moldeo se procede a su refrigeración y distribución.

OBJETIVO

El objetivo del presente trabajo fue cuantificar los ácidos grasos libres en los quesos Palmita y Semiduro con el propósito de aportar información que sirva de base para su caracterización y el desarrollo de la tecnología adecuada que permita su elaboración dentro de normas sanitarias aceptables.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo

Se recolectaron seis (6) muestras de cada tipo de queso de diferentes expendios de la ciudad de Mérida y se mantuvieron congeladas hasta el momento de los

análisis. Cada muestra se analizó por duplicado para determinar el contenido de ácidos grasos libres.

Determinación de los ácidos grasos libres (AGL) [2,3,6]

Los ácidos grasos libres (AGL) analizados fueron: butírico (C4), caproico (C6), caprílico (C8), caprico (C10), laurico (C12), mirístico (C14), palmítico (C16), estearico (C18), oleico (C18:1) y linoleico (C18:2).

a. Extracción de los lípidos del queso.

Se mezclaron 2 g de queso rayado con 6 g de sulfato de sodio hidratado para absorber la humedad y 0,6 ml de ácido sulfúrico 2,5 mol/l. Se procedió a la extracción de los lípidos con 6 ml de eter/heptano (1:1 v/v) en un tubo de centrifuga de 75 ml mediante centrifugación a 2.500 rpm/min por 2 min. Esta extracción se repitió dos veces añadiendo la misma cantidad de eter/heptano (1:1 v/v) al residuo. Los tres extractos se mezclaron.

b. Separación de los ácidos grasos libres.

Se utilizó como estandar interno el ácido pelargónico (C9) (0,043 mg) el cual se adicionó al extracto lipídico antes de proceder al aislamiento de los ácidos grasos libres. Para tal fin se utilizaron columnas aminopropílicas de 3 ml (Supelclean LC-NH2 de Supelco, Inc) acondicionadas con 2 ml de heptano. El volumen total del extracto se aplicó a la columna con presión positiva. Los lípidos neutros fueron eluidos con 3 ml de cloroformo/2-propanol 2:1 v/v. A continuación los ácidos grasos libres adsorbidos en la columna fueron eluidos con 3 ml de dietil eter con 2% de ácido fórmico. El primer ml se descartó por no contener ácidos grasos libres. De los siguientes 2 ml eluidos, con la totalidad de los AGL, se inyectó 1 µl al cromatógrafo para su determinación. Se realizaron 2 extracciones de cada muestra de queso y cada extracción se inyectó por duplicado al cromatógrafo [2,3].

c. Cuantificación de los AGL.

Se utilizó un cromatógrafo de gas Hewlett Packard 5890 equipado con un detector de ionización de llama y una columna capilar de sílica de 15 m x 0,53 mm (Nukol de Supelco, Inc.) calibrado con soluciones de referencia de los ácidos grasos a analizar (Sigma) [6]. Se adaptó inyección directa debido a las bajas concentraciones de los ácidos grasos. La cuantificación se realizó relacionando las áreas de los picos con el área del estándar interno (C9) mediante un integrador Hewlett Packard 3393A. Se obtuvo la media y la desviación estandar de todos los AGL.

Las condiciones de operación en el cromatógrafo fueron:

Temperatura inicial	90°C
Tiempo Inicial	1 min
Variación de temperatura	20°C/min
Temperatura final	220°C
Tiempo final	10 min
Temperatura del detector	250°C
Temperatura del inyector	250°C
Flujo de helio	20 ml/min
Flujo de hidrógeno	30 ml/min
Flujo de aire	500 ml/min
Purga	1 min

RESULTADOS

La Tabla 1 y las Figuras 1 y 2 muestran la composición y los cromatogramas de los ácidos grasos libres de los quesos Palmita y Semiduro. Se ha podido comprobar la presencia en los quesos de los AGL saturados del butírico (C4) al palmítico (C18), así como de los mono-insaturados y poli-insaturados, el ácido oleico (C18:1) y linoleico (C18:2) en concentraciones muy diversas entre 2.3 µg/g (C6) en el queso Palmita y 185.1 µg/g (C18:1) en el queso Semiduro, con el predominio de los de mayor peso molecular, palmítico (C16) y oleico (C18:1), sobre los de menor peso molecular, entre los cuales resalta el butírico (C4). Se observan amplias variaciones entre las muestras, debido posiblemente a la influencia de las diferentes condiciones del proceso de elaboración en la composición de los quesos, así como la manipulación y almacenamiento durante el período de comercialización.

La columna utilizada proporcionó excelentes resultados sin la necesidad de derivatizar para obtener los ésteres metílicos previo a su cuantificación. Al disminuir una etapa del análisis se evita una posible fuente de error y se consigue un ahorro de tiempo. Todos los AGL fueron cuantificados fácilmente y se obtuvo una buena separación. Es importante resaltar que el uso de ácido fórmico para liberar los AGL de la columna de aminopropil resultó eficaz y conveniente además de mejorar los picos de los cromatogramas [2].

Tabla 2. Resultado del analisis de acidos grasos libres (AGL) en quesos blancos venezolanos Palmita y semiduro (µg/g).

	QUESO PALMITA	QUESO SEMIDURO
AGL	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$
BUTIRICO C4	5.7 ± 2.1	10.5 ± 2.5
CAPROICO C6	2.3 ± 0.5	6.3 ± 2.3
CAPRILICO C8	2.8 ± 0.8	7.4 ± 2.0
CAPRICO C10	6.8 ± 1.4	15.5 ± 4.3
LAURICO C12	10.5 ± 1.9	19.8 ± 3.8
MIRISTICO C14	32.8 ± 4.7	49.2 ± 12.6
PALMITICO C16	112.9 ± 16.5	165.7 ± 31.3
ESTEARICO C18	54.8 ± 8.2	78.7 ± 14.5
OLEICO C18:1	129.4 ± 20.6	185.1 ± 35.0
LINOLEICO C18:2	11.8 ± 1.6	28.1 ± 9.5

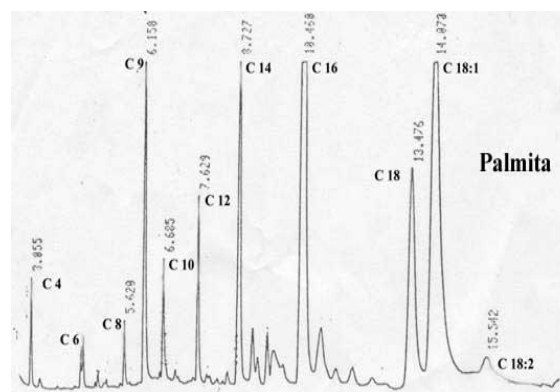


Figura 1. Cromatograma de ácidos grasos libres en queso blanco tipo Palmita.

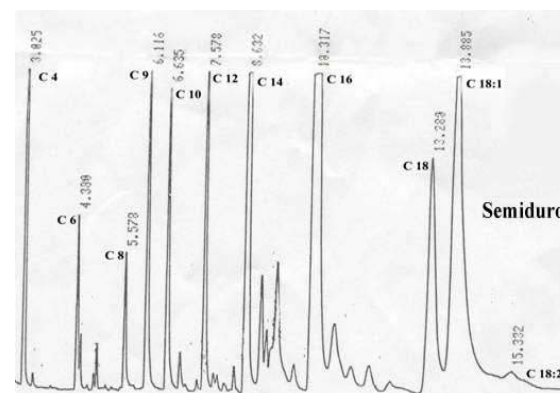


Figura 2. Cromatograma de ácidos grasos libres en queso blanco tipo Semiduro.

CONCLUSIONES

Comparando ambos tipos de quesos se aprecia mayor concentración de todos los ácidos grasos detectados en el queso Semiduro que en el Palmita. Los AGL de cadena larga predominan, sin embargo los AGL de cadena corta tienen un impacto mayor en el sabor de este tipo de quesos.

Debe continuarse el presente estudio con un número de muestras considerablemente mayor hasta conocer con exactitud los compuestos fundamentales que tipifican el sabor característico y el efecto de los ácidos grasos libres en ambos tipos de queso venezolano, para luego continuar el estudio de las variables tecnológicas que permitan su elaboración industrial de manera sistemática y en condiciones sanitarias que garanticen al mismo tiempo buena calidad organoléptica constante y seguridad alimentaria para el consumidor.

REFERENCIAS

1. Deeth, H.C. y Fitz-Gerald, C.H. 1976. **Lipolysis in Dairy Products: A Review.** Aust. J. Dairy Technol. 31:53-63.
2. Deeth, H. C., Fitz-Gerald, C.H., y Snow, S.J. 1983. **Agas chromatographic method for the quantitative determination of free fatty acids in milk and milk products.** 18:13-20.
3. De la Fuente, M.A., y Juárez, M. 1993. **Revisión: Determinación de ácidos grasos libres en productos lácteos.** Rev. Esp. Cienc. Tecnol. Aliment. 33:247-269.
4. Dullely, J.R. y Grieve, P.A. 1974. **Volatile fatty acid production in Cheddar cheese.** Aust. J. Dairy Tech. 29:120-123.
5. Foda, E.A., Hammond, E.G., Reinbold, G. W., y Hotchkiss, D.K. 1974. **Role of fat in flavor of Cheddar cheese.** J. Dairy Sci. 57:1137-1142.
6. Ikins, E.G., Kwak, H.S., Zink, G. S. y Jeon, Y.J. 1988. **Comparison of methods for quantitation of free fatty acids in cheese.** J. Food Sci. 53:1915-1916.