

Metodología de superficie de respuesta para evaluar el efecto del contenido graso y tiempo de maduración en la lipólisis del queso tipo Brie

Response surface methodology to evaluate the effect of the maturation and fat content of the milk in the lipolysis of Brie cheese

De Lima, Aída^{1*}; Sánchez, María Dolores²; Gómez, Rubén³; Borregales, Carmen⁴; Salas, Janeth⁵; Izaguirre, Cesar³; González, Aura Marina⁶

¹Departamento de Química, Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda, Punto Fijo, Falcón, Venezuela.

²Departamento de Ciencia de los Alimentos, Facultad de Farmacia, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

³Laboratorio de Ciencia, Ingeniería y biotecnología de Alimentos, Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela.

⁴PAU Lácteos Santa Rosa A.C, Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela.

⁵Laboratorio de Química Analítica, Instituto Venezolano de investigaciones Científicas, Miranda, Venezuela.

⁶Laboratorio de Análisis Instrumental, Escuela de Ingeniería Química, Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela.

*aidajdl@yahoo.com

Resumen

En esta investigación se empleó la Metodología de Superficie de Respuesta para el modelado y análisis del grado de lipólisis y aceptabilidad global del consumidor en función del contenido graso de la leche y el tiempo de maduración del queso tipo Brie, fabricado por la Productora de Alimentos Universitaria Lácteos Santa Rosa A.C de la Universidad de Los Andes. La investigación es de tipo cuantitativa, con un diseño experimental correspondiente a un modelo de Compuesto Central Rotable de Precisión Uniforme, empleados para ajustar modelos de segundo orden, con el cual se construyó la superficie de respuesta del grado de lipólisis que se obtuvo mediante la determinación del valor del grado ácido VGA (titulación con KOH), en quesos tipo Brie elaborados con distintos contenidos de grasa (3,1%; 3,5%; 4,0%, 4,3% y 4,5%) y tiempos de maduración (8, 12, 16, 22 y 25 días), los cuales fueron sometidos a un análisis sensorial con 35 panelistas semi-entrenados para determinar la aceptabilidad global. Los resultados de la investigación mostraron que el grado de lipólisis ajusta para una superficie cuadrática con crecimiento hacia valores de mayor contenido graso en la leche y tiempo de maduración, mientras que la aceptabilidad global del consumidor fue mayor a menor contenido graso de la leche y mayor tiempo de maduración. Estos resultados permitieron a la PAU Lácteos Santa Rosa evaluar la respuesta y sensibilidad de la calidad de los quesos ante la variación de los contenidos de grasa con los cuales se recibe la leche en la planta.

Palabras claves: Superficie de respuesta queso Brie, lipólisis, análisis sensorial, *Penicillium candidum*.

Abstract

In this research, the Response Surface Methodology was used for the modeling and analysis of the degree of lipolysis and overall consumer acceptability depending on the fat content of the milk and the ripening time of the Brie-type cheese, manufactured by Food Producers University Dairy Santa Rosa CA University of Los Andes. Research is quantitative, with its corresponding experimental design the Composed Central Rotary Precision Standard model, used to adjust second order models, with which the response surface of the degree of lipolysis which was obtained by determining constructed value of the degree VGA acid (titration with KOH), in Brie cheese made with different type fat content (3.1%, 3.5%, 4.0%, 4.3% and 4.5%) and times maturation (8, 12, 16, 22 and 25 days) which were subjected to a sensory analysis of a semi-trained panelists 35 people to determine overall acceptability. The research results showed that the degree of lipolysis adjusted to a quadratic surface growth to values higher in fat content in milk and ripening time, while overall consumer acceptability was high to low fat milk and more maturation time. These results allowed PAU (Dairy Santa Rosa) assess response and sensitiv-

ity of the quality of the cheese varying fat contents according the milk is received in the plant.

Keywords: Response surface, brie cheese, lipolysis, sensory analysis, *Penicillium candidum*.

1 Introducción

El Brie es un queso de origen francés muy parecido al Camembert. Existen dos tipos principales, el madurado con mohos blancos y fermentos rojos y el Brie madurado solamente con mohos blancos. La elaboración es semejante a la del queso Camembert pero se utilizan moldes de mayor tamaño.

Durante la maduración, la lipólisis aporta la mayor contribución, al desarrollo del sabor en los quesos fuertes como los madurados por mohos. La evaluación de este proceso se realiza mediante diferentes índices, donde el más utilizado es el valor del grado ácido (VGA) (Leclercq 2011, Marshall 1992).

Dado que en el queso tipo Brie el desarrollo del flavor es consecuencia casi exclusiva de los procesos lipolíticos ocurridos durante su maduración es necesario realizar estudios tendientes a dilucidar el comportamiento de estas variables y de esa manera mejorar el control de calidad durante la manufactura de estos quesos.

El mejoramiento de la producción de queso es una de las razones del desarrollo y activación de la planta de quesos madurados “Productora de Alimentos Universitaria Lácteos Santa Rosa” de la Universidad de Los Andes, como respuesta ante las continuas exigencias, derivadas de la importancia de los productos lácteos en el mercado local y nacional y es en este marco que se desarrolló el estudio del efecto de los niveles de grasa de la leche y el tiempo de maduración del queso, en el grado de lipólisis del queso tipo Brie.

La aplicación de modelos matemáticos en el análisis y optimización de procesos y desarrollo de productos permite la mejora del rendimiento y reducción de la variabilidad, tiempo y costo del proceso de manufactura, entre otros. Los modelos matemáticos también reducen los tiempos y el costo en el desarrollo de productos, al disminuir la realización de ensayos. La metodología de superficie de respuesta, es una técnica de modelamiento estadístico empírico empleada para el análisis de regresión múltiple utilizando datos cuantitativos obtenidos de experimentos diseñados adecuadamente para resolver ecuaciones de múltiples variables simultáneamente (Rao y col., 2000).

Esta investigación permitió construir la superficie de respuesta del grado de lipólisis en función del contenido de grasa de la leche y el tiempo de maduración del queso y ubicar en esta superficie la combinación de factores que conducen a la mayor aceptabilidad del consumidor, permitiendo tanto al investigador como al productor evaluar la respuesta y sensibilidad de la calidad del queso a los diferentes niveles de los factores de interés que fueron analizados.

2 Marco Teórico

2.1 El queso Brie

Los quesos madurados por mohos, especialmente los de tipo Camembert y Brie, se producen en todo el mundo y han ganado gran popularidad en la última década. Además del sabor único, estudios recientes han revelado un efecto beneficioso del consumo de queso Camembert en la salud humana, los cuales sugieren que los quesos fermentados como el Camembert podrían consumirse diariamente sin aumentar la aterosclerosis y actividad reducida de nitrato que impide la conversión a nitrito tóxico (Adamska y col., 2017).

El queso Brie es un queso de origen francés, que se obtiene por la inoculación de cultivos del moho *Penicillium candidum* y de la bacteria *Brevibacterium linens* en el momento de la acidificación de la leche. Estos quesos se distinguen por su textura y consistencia blanda. La cuajada se obtiene por coagulación enzimática con acidificación láctica. El cultivo láctico es una combinación de fermentos mesófilos y termófilos. El *Penicillium candidum* tiene una alta actividad lipolítica la cual le confiere a este tipo de quesos su flavor característico. La maduración de estos quesos se realiza en cámaras a 10/15 °C y humedad relativa del 85 a 90%. Los hongos o mohos blancos de la superficie se desarrollan rápidamente, creciendo desde el exterior al interior de la masa. El *Penicillium candidum* se desarrolla bien a temperaturas de 22 a 30°C, necesita alta humedad relativa (90%) y un pH de 5,3 a 7,8, tolera concentraciones de sal del 0.5 a 1.5%, decreciendo su actividad a partir de 1,5% y llegando a detenerse para 4% (Battro 2010, Leclercq 2011, Alais 2003, Codex Stan 1973).

2.2 La maduración

La maduración del queso tiene lugar mediante una larga serie de reacciones primarias enzimáticas a través de las cuales se transforman en queso los componentes de la leche fresca, concentrada y preservada. En la mayoría de las variedades de queso, la caseína juega un papel predominante en el proceso de maduración, si bien la grasa puede ser un factor decisivo en variedades específicas de queso como los madurados por hongos como el Camembert y el Brie. La grasa de la leche es degradada en ácidos grasos por la acción de varias lipasas (esterasas), los cuales pueden posteriormente ser degradados en componentes aromáticos por diversas enzimas (González y col., 2015, Calzada y col., 2014, Leclercq, 2011, Battro, 2010).

La lipólisis aporta la mayor contribución, directa e indirecta, al desarrollo del sabor en los quesos fuertes como los duros italianos, variedades madurados por mohos y fe-

tas. El mayor efecto de sabor por actividad lipolítica se debe a las cadenas cortas que forman los ácidos grasos libres, especialmente los ácidos butíricos, capríco y caprílico que otorgan sabores fuertes y característicos. Sin embargo Los ácidos grasos libres de cadenas largas pueden ser degradados en varios aldehídos, alcoholes y cetoácidos, que a su vez otorgan sabores característicos de queso, como los producidos por las cetonas 2-heptanona, 2-nonanona y 2-butanona, con aromas especialmente conocidos en quesos azules (Calzada y col., 2014, Leclercq, 2011, Battro 2010).

La evaluación del proceso de maduración se realiza mediante diferentes índices, según el proceso bioquímico de que se trate. Para el seguimiento de la lipólisis el más utilizado es el valor del grado ácido (VGA), que es una medida de los ácidos grasos disueltos en una cierta cantidad de grasa y se puede completar con los perfiles de ácidos grasos libres obtenidos por cromatografía en fase gaseosa acoplada con espectrómetro de masa (GC/MS) (Panizzolo y col., 2011, Serhan y col., 2010, Sánchez 2004).

Los ácidos grasos libres deben estar presentes dentro de un nivel óptimo de concentración, evitando cantidades excesivas que pudieran causar rancidez hidrolítica y 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 micro-biológicas, el tratamiento previo, y las temperaturas de mantenimiento (Sánchez 2004, De La Fuente y col., 1993; Marshall 1992).

2.3 Metodología de Superficie de Respuesta

El Método de Superficie de Respuesta (MSR) ha sido empleado para modelar y crear prototipos de productos donde se pueden visualizar los efectos de los niveles de los ingredientes y/o las condiciones de procesamiento. El MSR se utiliza principalmente para economizar dinero y reducir el tiempo de pruebas al disminuir el número de ensayos que se llevan a cabo. En 1960 Box y Behn-ken propusieron un diseño de tres niveles para estimar superficies de respuesta de segundo orden, es un diseño rotatable que permite una reducción importante del número de unidades experimentales en comparación con diseños de 3^o. Este diseño es esférico en vez de cuboidal ya que los puntos del diseño caen en los bordes del cubo en vez de las esquinas (Gamboa y col., 2010).

3 Procedimiento Experimental

3.1 Elaboración del queso

Se elaboraron quesos artesanalmente a partir de la leche de vacas de ordeño de la Planta Lácteos Santa Rosa, de acuerdo al proceso indicado en la Figura 4.

Se elaboraron 5 lotes de queso con la misma leche cruda, la cual fue estandarizada para 5 contenidos de grasa (3,1%; 3,5%; 4,0%, 4,3% y 4,5%), mediante la adición de

crema de leche extraída de la misma leche del día.

Se dejó madurar los quesos de cada lote por 8, 12, 16, 22 y 25 días en las cavas de maduración a 21°C y 99% de humedad (ver figura 1). Una vez cumplido el periodo respectivo se tomaron las muestras de los quesos para los análisis físicos, químicos y sensoriales, según lo indicado en el diseño experimental.

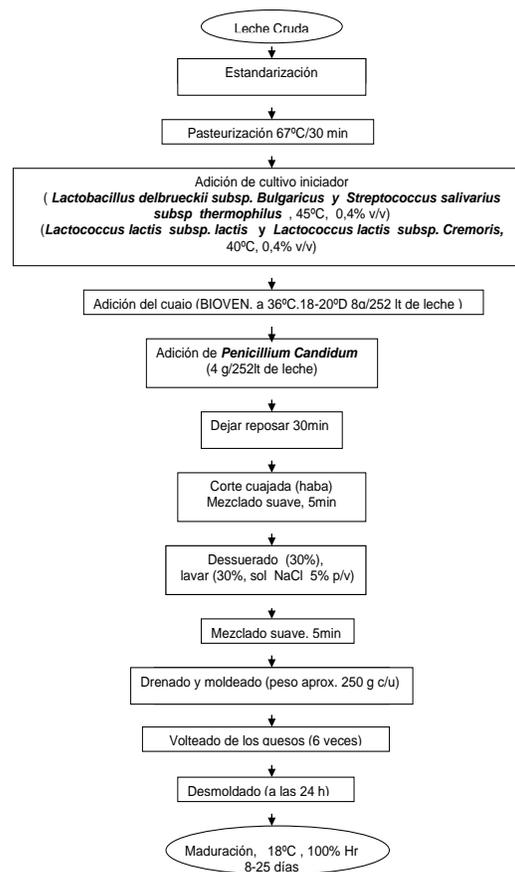


Fig. 1. Proceso de elaboración artesanal de los quesos experimentales

3.2 Análisis del grado de lipólisis

Se determinó el valor del grado ácido (VGA) de los quesos según una adaptación del método descrito por Marshall R. en 1992. El VGA se determinó en muestras preparadas por homogenización del queso en una solución de citrato de sodio al 2% y a continuación siguiendo el procedimiento descrito por Marshall, para la leche.

El diseño experimental utilizado correspondió al de Compuesto Central Rotable de Precisión Uniforme, para ajustar modelos de segundo orden. Con este se construyó la superficie de respuesta del grado de lipólisis (VGA) en función del contenido de grasa en la leche y tiempo de maduración del queso. Utilizando el paquete estadístico SAS.

3.3 Evaluación sensorial

El grado de aceptabilidad del consumidor fue evaluado a los 8,16 y 22 días de maduración por 35 panelistas semientrenados, siguiendo un diseño factorial. Para medir esta variable se empleó un instrumento con escala ordinal que incluían las siguientes categorías de respuestas para el grado de aceptabilidad:

Me disgusta mucho = 1; me disgusta un poco = 2; ni me gusta ni me disgusta = 3; me gusta un poco = 4; me gusta mucho = 5.

A los datos obtenidos se le aplicó el modelo de Regresión Logística para el caso Binomial con el cual se obtuvieron los intervalos de valores del contenido de grasa en la leche y tiempo de maduración para los cuales el grado de aceptación del consumidor es máximo. Utilizando el paquete estadístico SAS.

4 Discusión y Resultados

4.1 Superficie de Respuesta

Para la construcción de la superficie de respuesta del grado de lipólisis se midieron los valores de VGA de los quesos elaborados al variar el contenido de grasa de la leche y el tiempo de maduración del queso, siguiendo un diseño experimental para ajustar modelos de segundo orden.

En la figura 2 se presenta la superficie de respuesta del grado de lipólisis, en la que se observa la variación del VGA con el contenido graso de la leche (g) y el tiempo de maduración del queso (t). En esta figura se aprecia que el grado de lipólisis ajusta para una superficie cuadrática que muestra un crecimiento hacia valores de mayor contenido graso en la leche y tiempo de maduración. Este resultado evidencia que los quesos con alto contenido graso en la leche alcanzan un grado de lipólisis mayor, en un menor tiempo de maduración que el requerido por los quesos elaborados con bajos contenidos de grasa.

La ecuación de esta superficie está dada por:

$$\text{VGA} = -19,079 + 5,89g + 0,784t - 0,1893g^2 - 0,21g \times t + 0,005t^2 \quad \text{Ec.(1)}$$

Donde:

g= % de grasa de la leche

t= días de maduración

VGA= meq de KOH, 1N/100 g de grasa.

Esta ecuación muestra un término multiplicativo para las dos variables g y t, lo cual evidencia que estas no actúan de manera independiente en el VGA.

4.2 Evaluación sensorial

Para determinar el grado de aceptación global se realizó un análisis de Regresión Logística para el caso binomial

de los datos obtenidos de la degustación de los quesos experimentales. El diseño contempló 16 puntos muestrales de combinaciones de niveles de grasa y tiempo de maduración.

En la figura 3 se muestra el sombreado de aceptabilidad global y se observa una tendencia hacia menor tiempo de maduración al aumentar el contenido graso de la leche

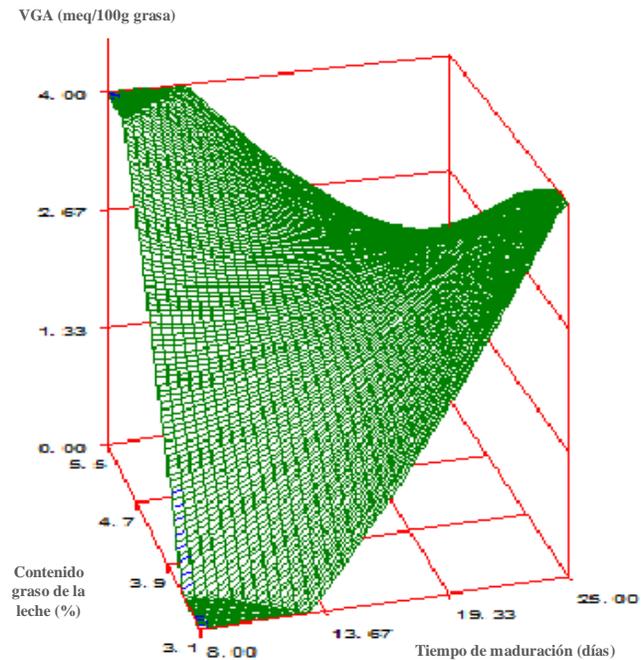


Fig. 2. Superficie de respuesta del grado de lipólisis del queso tipo Brie (medido como VGA) en función del contenido graso de la leche y el tiempo de maduración.

La preferencia se ubica en la región de valores medios a bajos de VGA (0,8-2,5 meq de KOH /100 g de grasa). Los quesos con valores bajos o altos de VGA fueron considerados poco agradables hasta desagradables por el panel evaluador. Los quesos poco madurados se ubican en el triángulo inferior a la franja de aceptabilidad y los excesivamente madurados en la región superior. Al comparar el intervalo de preferencia con lo reportado por Marshall R. en 1992, se puede considerar que estos quesos presentan una hidrólisis normal a extrema. De La Fuente y Juárez (1993), atribuyen un valor límite entre 1,3-1,5 meq /100 g de grasa, por encima del cual se detectan defectos de rancidez en los quesos, sin embargo, el mismo autor indica que los valores de pH juegan un papel importante en la percepción organoléptica de la rancidez, ya que al aumentar el pH el umbral de detección de rancidez se sitúa en concentraciones superiores de AGL. Lo anterior explicaría la razón de que en estos tipos de quesos con pH entre 5,2-6,0 se pueda tolerar una hidrólisis avanzada sin detectar sabores desagradables.

La ecuación de la superficie de respuesta muestra que el factor de proporcionalidad (coeficientes de las variables) es mayor para el contenido graso que para el tiempo de maduración. Además, en la Figura 3 se observa que los cortes de las curvas de nivel con el eje del contenido graso de la leche están menos separados que con el eje del tiempo, demostrando que el VGA es más sensible a cambios en el contenido graso de la leche que a los cambios en el tiempo de maduración. Lo anterior se observa mejor en el sombreado de aceptabilidad, donde un aumento del contenido graso de la leche de 3,1% a 3,8% disminuyó el tiempo requerido para entrar en la región de aceptabilidad de 16 a 8 días con valores de VGA de 0,74 a 1,22, respectivamente. Esta disminución en el tiempo de maduración del queso puede reducir drásticamente el costo de producción y el tiempo de manufactura en la quesera, sin impactar la calidad del producto terminado.

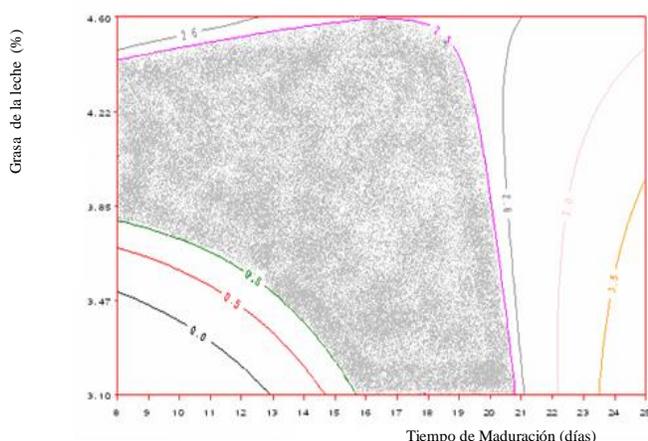


Fig. 3. Isocurvas del grado de lipólisis y sombreado de aceptabilidad global del consumidor.

5 Conclusiones

Los estudios realizados para la construcción de la superficie de respuesta del grado de lipólisis del queso tipo brie fabricado por la Productora de Alimentos Universitaria Lácteos Santa Rosa A.C de la Universidad de Los Andes, mostraron que el índice de lipólisis ajusta para una superficie cuadrática que muestra un crecimiento hacia valores de mayor contenido graso en la leche y tiempo de maduración, observándose que estos factores no actúan de manera independiente en VGA de los quesos experimentales y que la lipólisis es más sensible a los cambios en el contenido graso de la leche, que hacia el tiempo de maduración del queso. Así mismo se pudo conocer que los quesos con alto contenido graso en la leche alcanzan un grado de lipólisis mayor, en un menor tiempo de maduración que el requerido por los quesos elaborados con bajos contenidos de grasa.

De la evaluación sensorial se observa que la preferencia del consumidor se ubica en la región de valores medios a bajos de VGA (0,8-2,5 meq de KOH, 1N/100 g de grasa)

lo que indica que a mayor contenido de grasa en la leche el consumidor prefiere quesos con menor tiempo de maduración.

Los estudios realizados mostraron que el tiempo de maduración del queso tipo Brie fabricado por la Productora de Alimentos Universitaria Lácteos Santa Rosa, puede ser disminuido a 8 días al aumentar el contenido graso de la leche de 3,1% a 3,8%.

Agradecimientos

Al Consejo de desarrollo Científico Humanístico y Tecnológico (CDCHT) de la Universidad de los Andes Mérida, a la PAU Lácteos Santa Rosa A.C. ULA, al Laboratorio de Química Analítica del IVIC y al Laboratorio de Ciencia, Ingeniería y biotecnología de los Alimentos de la ULA en el programa CVI-ADG-I- 01-12-08.

Referencias

- Adamska A, Rasinska E, Rutkowska J, Antoniewska A, 2017, Fatty acid profile of commercial Camembert- and Brie-type cheeses available on the Polish market, *Journal of food*, Vol 15, N° 4, pp. 639-645.
- Alais C, 2003, *Ciencia de la Leche*, 2da edición, Ed. Reverte S.A Sevilla, España.
- Battro P, 2010, *Quesos Artesanales*, Ed. Albatros Saci. Buenos Aires, Argentina.
- Calzada J, Del Olmo A, Picon A, Nuñez M, 2014, Effect of high-pressure-processing on lipolysis and volatile compounds of Brie cheese during ripening and refrigerated storage, *International Dairy Journal*, Vol. 2, No.39, pp. 232-239.
- Codex Stan 277, 1973, Norma del Codex para el Brie.
- De La Fuente M, Juárez M, 1993, Determinación de ácidos grasos libres en productos lácteos, *Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, Vol. 3, No.33, pp. 247-269.
- Gamboa W, Víquez M, Cubero E, 2010, Utilización del método de superficie de respuesta para formular una base de banana (Mussa AAA) para batidos, *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos* Vol 1, N° 1, pp. 081-094.
- González A, Becerra J, Gomez R, Lucena H, Izaguirre C, Moret Y, 2015, Efecto de la adición de CaCl₂ en leches de razas bovina en la producción de quesos madurados de pasta blanda y su incidencia en las propiedades organolépticas, *Revista Ciencia e Ingeniería*, Vol.2, No.36, pp.105-102.
- Leclercq M, 2011, *Cheese Camembert, Brie and Related Varieties*, *Encyclopedia of Dairy Sciences*, 2da edición, pp.773-782.
- Marshall R, 1992, *Standard Methods for the Examination of Dairy Products*, 16 edición, American Public Health Association, Washington, D.C.
- Panizzolo L, Araujo A, Taroco L, Rodríguez A, Schöpf G, 2011, Evolución de la proteólisis durante la maduración de quesos Danbo elaborados con distintos cultivos iniciadores,

Revista del Laboratorio Tecnológico de Uruguay, No.6, pp.24-27.

Rao K, Kim C, Rhee S, 2000, Statistical optimization of medium for the production of recombinant hirudin for *Saccharomyces cerevisiae* using response surface methodology, *Process Biochemistry* 35, pp. 639 – 647.

Sanchez M, 2004, Estudio sobre los Ácidos Grasos Libres en Queso Blanco Venezolano, *Revista de la Facultad de Farmacia Universidad de Los Andes*, Vol. 2, No.42, pp.29-32.

Serhan M, Linder M, Hosri C, Jaques F, 2010, Changes in proteolysis and volatile fraction during ripening of Darfiyen, a Lebanese artisanal raw goat's milk cheese, *Small Ruminant Research*, No.90, pp. 75-82.

investigador en Ciencia y Tecnología de la Química Aplicada: gonzaurita@gmail.com

Recibido: 15 de octubre de 2019

Aceptado: 05 de febrero de 2020

De Lima, Aída: Ingeniero Químico ULA, MSc Ingeniería Química ULA. Profesora asistente, adscrita al departamento de Química de la UNEFM, investigadora en el área de ciencia y tecnología de los alimentos.

Sánchez, María Dolores: Ingeniero Químico ULA, MSc. Ingeniería de los Alimentos, Universidad de Reading. Profesora titular adscrita a la Facultad de Farmacia ULA, investigadora en el área de Tecnología de Alimentos, Leche y Productos Lácteos. Correo electrónico: dolores@ula.ve

Gómez, Rubén: Ingeniero Químico ULA, MSc Food Technology Reading University England, Profesor Titular activo ULA, Director del Laboratorio de Ciencia, Ingeniería y Biotecnología de los Alimentos Facultad Ingeniería ULA. Correo electrónico: rcgomez@ula.ve

Borregales, Carmen: Ingeniero Químico ULA. MSc Food Technology Reading University England, Profesora Titular Jubilada de la ULA. Asesora en Tecnología Láctea. Directora de la Productora de Alimentos Lácteos Sta Rosa ULA. Correo electrónico: carmenborregales16@hotmail.com

Salas, Janeth: Lic en Química, UCV, Laboratorio de Química Analítica, Analista del Instituto Venezolano de investigaciones Científicas, Miranda, Venezuela. Correo electrónico: Jsalas@Ivic.gob.ve

Izaguirre Guarisma, César Miguel: Lic.en Química, ULA; Postgrado Interdisciplinario en Ciencia y Tecnología de los Alimentos-UCV; Investigador y Coordinador del Laboratorio de Ciencia, Ingeniería y Biotecnología de los Alimentos. Correo electrónico: cmizag@ula.ve

González, Aura Marina: Ingeniero Químico, MSc Química Aplicada Facultad Ciencias ULA, Doctorado en Ciencias Aplicadas Facultad Ingeniería ULA, Profesor Titular, In-