

También observamos que la expresión de AtTCP15 es inducida por citoquininas, y que a su vez AtTCP15 modularía la respuesta a esta hormona controlando la expresión de ARR7 y ARR15. En función de estos resultados, podemos decir que AtTCP15 actúa de manera ubicua en *A. thaliana*, promoviendo el correcto desarrollo de diversos órganos y tejidos, especialmente a través de su participación a distintos niveles en las vías de regulación de auxinas y citoquininas.

En conclusión, los factores de transcripción TCP de clase I estudiados en el presente trabajo están involucrados en un gran número de procesos, especialmente relacionados con el desarrollo de órganos secundarios.

Functional studies of TCP plant transcription factors. Analysis of their participation in the regulation of cell growth and proliferation, and in the coordination of mitochondrial biogenesis

Summary

TCP domain proteins constitute a family of transcription factors found only in plants. Based on features present both within and outside the TCP domain, TCPs are divided

in two classes, named I and II. In this study we analyze AtTCP11, AtTCP15, AtTCP16 and their function in *A. thaliana* development. We found that AtTCP11 seems to control leaf morphogenesis, shoot, petiole and pedicel elongation, and pollen grain development possibly through regulation of cell proliferation or expansion. The results found for AtTCP16 indicates that participates indirectly in the regulation of meristematic genes. Finally, we can say that AtTCP15 acts ubiquitously in *A. thaliana*, promoting the correct development of several organs and tissues, like leaves, carpels and anther filaments, especially by participating in the regulation of auxin biosynthesis and auxin and cytokinin response pathways. In conclusion, the Class I TCP transcription factors studied during the present work are involved in many processes in *A. thaliana*, especially related to secondary organ growth and development. This thesis brings information about the functions of three Class I TCPs, providing new clues to understand the role of these proteins in plant development and establishing a basis for future studies.

Influencia de la actividad de las enzimas nativas de la leche lipoproteína lipasa y plasmina en la lipólisis y la proteólisis de quesos duros de pasta cocida

María Ayelén Vélez

mvelez@fiq.unl.edu.ar

Erica Hynes / Cristina Perotti

Laboratorio, Cátedra y/o Departamento: INLAIN Facultad de Ingeniería Química
Universidad Nacional del Litoral / CONICET

Fecha de la defensa: 25/03/2013

Resumen

El objetivo del trabajo de tesis fue identificar cambios tecnológicos que, introducidos en la elaboración tradicional de queso Reggianito, favorecieran la actividad de enzimas nativas de la leche, lipoproteína lipasa y plasmina, en vistas a incrementar la lipóli-

sis y proteólisis y de esta manera acelerar la maduración de los quesos.

Con el fin de incrementar la lipólisis en los quesos, se ensayó un tratamiento mecánico (agitación a 2800 rpm a 5 °C) a una mezcla de crema-leche (30 % MG) para incrementar la accesibilidad de las enzimas lipolíticas a los triglicéridos. Este tratamiento primero se aplicó en cuajadas miniatura donde se obtuvo que el tratamiento era factible de ser utilizado ya que no causaba detrimentos en la coagulación y pérdidas de grasa. Luego, el mismo se aplicó en la elaboración de miniquesos, estudiando además la influencia de la pasteurización de la leche. Se analizó la lipólisis y la formación de compuestos volátiles. Al inicio de maduración no se observó una influencia de los factores estudiados, pero al final de la misma se observaron diferencias en el perfil de AGL, sin afectarse el nivel global de lipólisis. La concentración de ácidos grasos cortos ($C_{4,0}$ – $C_{8,0}$) fue significativamente modificada, siendo mayor la proporción en los quesos elaborados con leche cruda, y se produjeron cantidades incrementadas de compuestos volátiles derivados de la grasa, como la 2-heptanona y la 2-nonanona, el hexanoato de etilo, butanoato de etilo y butanoato de isoamilo. Debido a que de esta experiencia se obtuvo una baja influencia del tratamiento mecánico sobre la accesibilidad de las enzimas a la grasa, se profundizó el estudio acerca de la accesibilidad enzimática mediante una nueva experiencia de elaboración de miniquesos, en los que el tratamiento de desestabilización del glóbulo graso fuera más enérgico. Esta consistió en la aplicación de una etapa de homogeneización de la fracción grasa de la leche de elaboración, y en todos los casos se trabajó con leche cruda. A diferencia de la experien-

cia anterior, se observó un aumento inicial significativo de la concentración total promedio de los ácidos grasos libres en quesos elaborados con crema homogeneizada con respecto a los quesos controles.

Respecto a la intensificación de la proteólisis, se evaluaron las variables: pH de drenado de suero, temperatura de cocción de la cuajada, e incorporación de una etapa de lavado de la cuajada, sobre la actividad de la enzima plasmina y su contribución a la proteólisis en pseudocuajadas modelo. El aumento del pH y el lavado de la cuajada afectaron positivamente la actividad de la enzima plasmina y aumentaron su acción en la proteólisis de las pseudocuajadas modelo, lo que fue evidenciado en perfiles de péptidos solubles. No se detectó una influencia de la temperatura de cocción en la acción de la enzima.

Finalmente, se diseñó una tecnología modificada teniendo en cuenta los resultados obtenidos en los modelos, que se validó mediante una experiencia de elaboración a escala piloto. Se seleccionaron los cambios que resultaron más favorables para incrementar las actividades enzimáticas de interés y se evaluó su influencia sobre la proteólisis, lipólisis y la calidad sensorial de los quesos obtenidos. Se realizaron dos elaboraciones en paralelo, una siguiendo la tecnología tradicional para quesos duros de pasta cocida-leche pasteurizada, temperatura de cocción 52 °C y sin aplicación de lavado a la cuajada – y otra aplicando la tecnología modificada –fracción grasa homogeneizada, temperatura de cocción 50 °C e incluyendo una etapa de lavado–. Los quesos duros de pasta cocida tipo Reggianito con tecnología modificada mostraron una maduración acelerada, basada tanto en un incremento en la velocidad de

lipólisis como en la velocidad de hidrólisis de las caseínas. No mostraron rancidez, y el flavour genuino y picante se desarrolló más rápido y sin defectos. Los quesos se retiraron de maduración a los 60 días debido al avance de la lipólisis y a que alcanzaron un *flavour* completamente maduro. La textura no siguió la evolución típica de un queso duro de pasta cocida, ya que en ese tiempo de 60 días, los quesos elaborados con tecnología modificada no alcanzaron una textura dura y quebradiza, mientras que el control evolucionaba en ese sentido.

En el presente trabajo se obtuvo información novedosa acerca de la influencia del estado de la materia grasa de la leche y del tratamiento térmico en la reacción de lipólisis que tienen lugar durante la maduración. También se produjo nueva evidencia sobre la influencia del pH al momento de drenar el suero, los tratamientos térmicos de cocción, y la solubilización de componentes del sistema plasmina–plasminógeno, en la actividad de la plasmina en el queso y en su acción proteolítica. En base a ello, se propuso un cambio en la tecnología de elaboración de queso. La intervención tecnológica demostró ser exitosa, especialmente desde el punto de vista del incremento de la lipólisis, y la consecuente formación de *flavour* maduro y genuino en un tiempo más corto, sin consecuencias negativas o *flavour* atípico.

Influence of the activities of the milk native enzymes lipoprotein lipase and plasmin on lipolysis and proteolysis of hard cooked cheeses

Summary

The objective of the thesis was to identify technological steps that, by modifying the standard cheese–making technology of Reggianito cheese, enhance the activities of indigenous enzymes plasmin and LPL in order to increase lipolysis, proteolysis and therefore accelerate ripening. In order to enhance cheese lipolysis, two physical treatments were studied: mechanical agitation and homogenization, which were applied first at minicurd and minicheese models. Thermal treatment applied to milk was also studied. Favorable changes in miniature cheeses lipolysis and volatile production were, as a matter of fact, always found in cheeses made with raw milk, and the effect was more intense when homogenization was applied. An initial increase in the total concentration of FFAs was observed in the cheeses treated with a homogenization step: FFAs level reached a maximum in the first days, while in the control it increased gradually during ripening. In respect of proteolysis, the effect of whey draining pH, cooking temperature and washing of the curd on plasmin activity and proteolysis were assessed in a pseudo–curd model. The increase of pH at whey draining and washing of the curd had a positive effect positively plasmin activity and increased its action on proteolysis, which was evidenced in soluble peptide profiles. Finally, according to the results obtained in mini–cheeses and curd models, a modified technology was lay out to be validated at pilot plant scale. Ripening was accelerated in the cheeses obtained by the modified technology, based on increased lipolysis and proteolysis rate.