



II Seminario Internacional sobre Calidad de Leche Competitividad y Proteína



INFLUENCIA DE LA ACTIVIDAD BACTERIAL EN LA CALIDAD Y COMPOSICIÓN DE LA LECHE

Giulio C. Emaldi

Especialista en Tecnología del Queso
Leche y su Procesamiento

Investigación, educación y entrenamiento en derivados lácteos.

Graduado en Ciencias Agrícolas, Universidad de Bologna, Italia.

Asistió a la Escuela Nacional de la Industria Lechera, Poligny y Aurillac, Francia.

Asistió al Instituto Nacional para la Investigación en Leche, Reading, Inglaterra.

Asistió a Departamento de la leche,
Universidad de Cornell, Ithaca, NY, USA.

Italia

Abstract

Milk is a delicate biologic system in which bacteria have a complex effect in its quality and constituents. This role has to do with the main microbial group in fresh raw milk: the cold storage effect over the milk physicochemical properties: the bacterial activity influence in casein, the milk fat and potential oxidation- reduction from milk fat. A very important factor, which impacts the micelle composition and structure from casein, is the milky acidification from milk combined with the cold storage. Therefore, when considering the microbiological activities, which influence the physicochemical properties from milk, the key position from casein has to be admitted. By avoiding the sycotropos increasing during storage it could be prevented the lowering in cheese yield observed in refrigerated milk. The milky acidification influence from milk coagulation properties.

Resumen

La leche es un delicado sistema biológico en el que las bacterias tienen efectos complejos en sus propiedades y constituyentes. Este papel tiene que ver con el grupo microbiano principal en la leche cruda fresca; el efecto del almacenaje en frío, en las propiedades fisicoquímicas de la leche; en la influencia de la





II Seminario Internacional sobre Calidad de Leche Competitividad y Proteína



actividad bacteriana en la caseína, en la grasa de la leche y reducción del potencial de oxidación-reducción. Un factor muy destacado que impacta la estructura y la composición de las micelas de caseína, es la acidificación láctica de la leche combinada con el almacenamiento en frío. Por lo tanto, al considerar las actividades microbiológicas que influyen en las propiedades fisicoquímicas de la leche, la posición clave de la caseína tiene que ser reconocida. Al evitar el crecimiento de microorganismos durante el almacenamiento se podría prevenir el descenso en el rendimiento del queso observado en leches refrigeradas. Se describe también la influencia de la acidificación láctica de las propiedades de coagulación de la leche.

Introducción

Desde hace mucho se reconoce que la calidad y la composición de la leche tiene un gran efecto en el rendimiento y calidad del queso que se extrae de ella. Esto es cierto para todos los países y todas las variedades de quesos. Hay muchos aspectos de la producción de la leche que pueden afectar las propiedades funcionales de fabricación de queso de leche a través de la actividad bacteriana. Durante los diez últimos años, ha habido una revolución en la forma como la industria del queso ha conducido la calidad global y el rendimiento de sus productos. Este interés reciente en el mejoramiento de la calidad del queso salió a relucir principalmente por las grandes dimensiones de los hatos, por un lado, y por los altos volúmenes de procesamiento en las fábricas de quesos, por el otro. Los problemas de la calidad de la leche se centran en las propiedades microbiológicas y funcionales de la misma. El objetivo es producir leche apta para una buena fabricación de queso y enviarla sin deteriorarse al procesador, quien deberá tomar luego todas las precauciones para retener sus mejores calidades microbiológicas.

Este documento, el cual comienza con las bacterias de deterioro, resumirá los problemas microbiológicos corrientes encontrados por los productores de leche y fabricantes de queso, específicamente en la granja, en el transporte y almacenaje y en las etapas de procesamiento en las cuales la composición de la leche es alterada por el almacenaje en frío, y la actividad bacteriana que puede afectar la calidad y el rendimiento del queso.

1. El grupo microbiano más importante en la fabricación del queso

En el transcurso del ordeño, transporte y almacenaje en la granja o en la fábrica, la leche se contamina por una gran variedad de microorganismos. La leche fresca de la ubre saludable en condiciones higiénicas favorables contiene generalmente menos de 5.000 microorganismos por ml, pero subsecuentemente, el hombre la contamina con sus costumbres, su equipo de ordeño y el medio ambiente.





II Seminario Internacional sobre Calidad de Leche Competitividad y Proteína



El rango de organismos de deterioro que podrían presentar el líquido en la granja es extremadamente diverso y cada especie no puede tratarse individualmente. Sólo aquellos que pueden reproducirse en la leche y su tasa de multiplicación depende de qué tan propicias son la temperatura y la leche misma para ellos. Por estas razones, la flora microbiana de la leche cruda es compleja y varía aun más, de una granja a otra dependiendo también de su edad. Sin embargo, es posible definir los grupos microbianos de mayor interés en la fabricación del queso y considerar también los factores que influyen en el nivel de población que estos microorganismos alcanzan en la leche.

Antes de la introducción de los equipos modernos de ordeño, enfriamiento y almacenaje, las fermentaciones de ácido láctico fueron la forma más común de deterioro de la leche. En los tiempos actuales, las bacterias están menos aptas para crecer en los equipos de ordeño y en la leche cruda tibia. Por lo tanto, la flora ácido láctica ya no predomina tanto en la leche cruda, cualesquiera que sea el nivel de contaminación. Los organismos de deterioro de la leche son: la bacteria alargada Gram-negativa (*Pseudomonas* y coliformes); la bacteria con forma de espora (*Bacillus* y *Clostridium*) y la bacteria productora de ácido láctico (principalmente *Streptococcus*, *Micrococcus* y *Staphylococcus*).

Mientras más se ha contaminado la leche con el equipo de ordeño, más grande es la proporción de la flora total de la leche cruda, la cual es representada por la bacteria Gram-negativa, éstas son consideradas en su mayoría peligrosas en la fabricación del queso.

Los microorganismos identificados como *Pseudomonas* son el grupo más importante de "sicrotróficos" asociados con el deterioro del líquido. Estos crecen fácilmente a temperaturas de refrigeración y a menudo, dominan la población microbiana. Dichos microorganismos son comunes en el ambiente, particularmente en el agua y proliferan en superficies aseadas inadecuadamente. Como la mayoría de las especies *Pseudomonas*, no fermentan la lactosa y la bacteria no causa la coagulación. Las bacterias sicrotróficas, especialmente aquellas de las especies *Pseudomonas fluorescens*, secretan enzimas proteolíticas y lipolíticas a medida que crecen en la leche y particularmente, si están presentes en grandes cantidades.

El almacenaje al frío prolongado podría también llevar a una incrementada producción de enzimas como resultado del estrés de la bacteria. Estas enzimas podrían producir todos los sabores descritos tales como: amargo, rancio, sucio, podrido y fermentado. Aunque, la mayoría de las bacterias sicrotróficas se destruyen fácilmente por un limitado tratamiento al calor. No obstante, algunas de las enzimas producidas son extremadamente resistentes al calor, lo que podría resultar en defectos de sabor, textura y estabilidad, aun en productos que contienen microorganismos no viables. Tales problemas incluyen la edad de gelación de los productos UHT (actividad de la proteasa) y rancidez del queso durante el





II Seminario Internacional sobre Calidad de Leche Competitividad y Proteína



almacenamiento (actividad de la lipasa). Cuando la leche ha sido almacenada a temperaturas cercanas a los 4°C durante 48 horas o más, ésta contiene una flora consistente principalmente en la bacteria sicotrófica. Si esta población alcanza los cinco millones de bacterias por ml, hay un riesgo significativo de deterioro de las proteínas y lípidos de la leche. Diez millones de bacterias *Pseudomonas* por ml de leche producen suficiente proteínasa para degradar la caseína beta y kappa.

El contenido de ácidos grasos libres de la leche también se incrementa cuando la flora sicotrófica excede los cinco millones de bacterias por ml de leche. Si la leche cuya caseína ha sido parcialmente degradada se utiliza en la fabricación del queso, el nitrógeno se perderá en el suero afectando el rendimiento y la calidad del queso. La magnitud de ciertos defectos de sabor que pueden ser observados en el queso depende tanto de la naturaleza de los microorganismos sicotróficos responsables, como de su número.

Sería muy interesante medir la actividad de las enzimas proteolíticas y lipolíticas presentes en la leche utilizada en la fabricación del queso, así como predecir la ocurrencia de cualquier defecto de sabor. Infortunadamente, los métodos analíticos actualmente disponibles no son suficientemente sensitivos para detectar cambios leves de la leche debido a la actividad de la bacteria o la actividad de la enzima. Pero en la práctica, regularmente es más fácil detectar los cambios enzimáticos leves cuando la leche está atravesando el proceso de fabricación del queso. Además de los diversos problemas en relación con la calidad de la leche, causados por el moderno sistema de tanques de enfriamiento y almacenaje, que mantienen la leche en las granjas a una baja temperatura durante 2 a 3 días antes del envío a la lechería; la ocurrencia del sabor rancio (debido a la lipólisis) puede ser causada en gran parte por la agitación y aireación en el sistema de tubería, si éste no está ajustado apropiadamente. Hay también tratamientos alternos tales como: calentamiento, enfriamiento y aún refrigeración y deshielo, que pueden ocurrir en los tanques de la granja y los cuales pueden causar cambios físicos en la leche, especialmente en la fase grasa. Se podría esperar que estos cambios favorezcan los defectos químicos tales como sabores rancios y oxidados.

La bacteria ácido láctica deteriora la leche por la fermentación de la lactosa al producir ácido. Una buena refrigeración suprimirá el crecimiento de éstas bacterias, pero la coagulación causará pérdidas lamentables en los países cálidos o, cuando las condiciones de almacenaje son débilmente controladas. Cuando se mantiene la leche a una temperatura por debajo de los 10 C°, la bacteria ácido láctica no se multiplica. Sólo las bacterias sicotróficas continúa creciendo. Mientras más baja sea la tasa de enfriamiento de la leche, más fácilmente se multiplicarán las bacterias sicotróficas. De igual forma, mientras más grande sea la contaminación inicial de la leche, más fácilmente





II Seminario Internacional sobre Calidad de Leche Competitividad y Proteína



se incrementará la tasa de multiplicación. Se creía que la leche sin enfriar, recolectada en las canecas una vez por día, podría aumentar el crecimiento de la bacteria ácido láctica en detrimento de la flora más peligrosa. En realidad, la bacteria coliforme y la flora sicrotrófica crecen más rápido que la bacteria ácido láctica.

El grupo de bacterias coliformes, comúnmente contamina la leche cruda, ya que éste no sobrevive a la pasteurización, y es frecuentemente utilizado como un indicador de procesamiento inadecuado o de contaminación en el post-proceso.

La actividad bacteriana influye en la oxidación-reducción de la leche. En todas las probabilidades la bacteria logra un descenso del potencial a través del uso del oxígeno disponible en la leche, así como por la elaboración de las sustancias reductoras en el curso de su metabolismo. Es frecuente que la bacteria en su fase de crecimiento activo, conduzca el potencial de redox* de la leche a un valor negativo. Prácticamente todas las bacterias tienen algún poder de reducción, pero esta propiedad varía significativamente con las diferentes especies. En la leche el *Streptococo fermentador* de la lactosa, los coliformes y *Staphylococos* son los reductores más poderosos, y estos organismos son usualmente los directos responsables de la reducción de azul de metileno y resazurina en las pruebas de reducción de tintes, es decir, la fuerza de reducción, la actividad bacteriana y el deterioro de la leche van juntos.

Los efectos de la mastitis en la calidad de la leche para el procesamiento del queso son diversos: el incremento de los niveles de enzimas puede causar lipólisis y proteólisis, las cuales pueden afectar el rendimiento y la calidad del queso.

En las condiciones presentes de la producción de leche no sabemos cómo reducir el nivel de contaminación causado por los microorganismos más dañinos y peligrosos en la fabricación del queso. Por lo tanto, los granjeros deben proveer una leche con la menor contaminación posible.

El equipo de ordeño fue durante mucho tiempo la causa principal de la contaminación de la leche; este le dio a la leche una flora compleja cuya naturaleza depende tanto del grado de contaminación y del método de limpieza utilizado. El progreso que se ha hecho en el diseño y limpieza de los equipos de ordeño ha producido una fuerte reducción de esta fuente de microorganismos. Sin embargo, todavía hay unos corredores de ordeño mal diseñados o mal instalados, los cuales, a pesar del correcto uso y de la limpieza, ofrecen resultados muy pobres, particularmente en relación con las bacterias sicrotróficas y coliformes.

* Potencial de óxido-reducción.





II Seminario Internacional sobre Calidad de Leche Competitividad y Proteína



La piel de la ubre es una fuente significativa de microorganismos y podría ser la fuente principal de contaminación de la leche, especialmente de las bacterias ácido butíricas y coliformes.

Generalmente, la leche cruda es monitoreada sólo por su cantidad total de bacterias, pero los tipos de bacteria encontrados en la leche cruda podrían ser casi más importantes que la cantidad total, especialmente en plantas que están procesando grandes volúmenes de leche. Por ejemplo, las bacterias termoresistentes pueden ser un problema en el procesamiento del queso. Éstas no son fácilmente detectadas en la leche cruda con las pruebas de laboratorio corriente pero pueden encontrar nichos cálidos para crecer dentro de la fábrica de queso y alcanzar un gran volumen, requiriendo un costo frecuente de limpieza y sanidad del equipo de la planta.

2. Manipulación higiénica de la leche cruda

La leche es un buen medio de crecimiento de una gran variedad de microorganismos, y por lo tanto hay un riesgo de deterioro bacteriológico rápido, desde el tiempo del ordeño hasta el tiempo de uso en la lechería. El desarrollo estructural de la industria en la mayoría de los países, incluyendo la concentración en unidades de producción más amplias y tomando como variable la mayor expansión geográfica de recolección de leche, requiere leche de una calidad altamente bacteriológica, cuya totalidad no se deteriora desde el momento del ordeño hasta el tiempo de procesamiento en la planta de quesos. El líquido deberá refrigerarse tan pronto como sea posible después del ordeño. La refrigeración de la leche no reemplaza una buena higiene, pero ésta podrá mantener el resultado de la misma. La temperatura a la que deberá ser refrigerada depende de la frecuencia de recolección y procesamiento. Un período largo de almacenamiento requiere una temperatura de refrigeración más baja para mantener el crecimiento microbiológico en buen balance.

Al manipular leche cruda es importante evitar la agitación fuerte y el daño mecánico de las membranas globulares de grasa, las cuales expondrán la grasa libre a la acción de la lipasa. Para reducir el daño, se deberá vaciar del tanque de la granja al de recolección a través de la bomba de aspiración. Cuando se transfiera a los silos de almacenamiento se succionan con bombas centrífugas para minimizar el daño de los glóbulos de grasa, para que los silos se llenen desde el fondo y para evitar la agitación y la espuma.

La contaminación microbiológica puede crecer durante el transporte en tanques hacia la planta. Las prácticas de manipulación de la leche durante el transporte pueden también introducir nuevos contaminantes. Las rutinas corrientes de higiene de los tanques varían de planta a planta. De alguna manera, más de cinco a seis cargas de leche son recolectadas





II Seminario Internacional sobre Calidad de Leche Competitividad y Proteína



de las granjas y enviadas a las plantas, entre cada limpieza eficiente de los tanques. Especialmente durante acarreos largos, la leche se calienta ligeramente y permite el crecimiento de bacterias. Después del envío a la planta de procesamiento, los residuos de la leche permanecerán en el tanque. Más adelante, el calentamiento del tanque descargado permitirá más crecimiento bacterial. Subsecuentemente, las recolecciones de leche estarán abonadas con la semilla de esta bacteria. Con cada ciclo de lleno y vaciado, los niveles bacteriales en el tanque van a incrementarse. Esta situación se tornará peor si la leche no es enfriada apropiadamente en la granja, antes de ser recolectada.

El almacenamiento en silos podría ocasionar el crecimiento de bacterias especialmente con alta temperatura y largo tiempo de almacenaje. La leche cruda deberá ser objeto de tratamiento al calor tan pronto como sea posible, después del tiempo de recepción en la lechería. Si se tiene la intención de tratar al calor la leche que entra, pero no se hace dentro de las pocas horas posteriores a la recepción, se deberá enfriar inmediatamente después de recibida y mantenerse refrigerada a una temperatura por debajo de los 5°C. Si no es procesada inmediatamente, la leche cruda deberá ser tratada al calor antes de que envejezca en dos o tres días después del momento del ordeño. Al mezclar leche cruda con nueva recibida, la cruda prodrá afectarse, especialmente si tienen una temperatura diferente. En conclusión, los tanques de almacenaje deberán estar totalmente vacíos, limpios y desinfectados antes de que la nueva sea traspasada al tanque.

Mantener una buena calidad de leche para la fabricación del queso demanda un esfuerzo cooperativo de parte de los productores y procesadores de queso. La leche deteriorada en la granja o en el transporte no puede ser mejorada en la fábrica y una buena leche no puede ser arruinada por unas prácticas de fabricación deficientes. El contenido de la caseína deteriorada y la estructura micelar causa cambios significativos en algunos parámetros del proceso de fabricación del queso: dificultando por ejemplo la producción de queso con un nivel de humedad consistente.

3. Efecto de almacenamiento en frío y la actividad microbial en la caseína

Al considerar los factores que influyen el rendimiento y la calidad del queso, la posición clave de la caseína en la leche tiene que ser reconocida. Aún las pérdidas relativamente pequeñas son significativas cuando se extrapola a una producción a gran escala. Idealmente, por ejemplo, la leche debería estar recién ordeñada y procesada tan pronto llegue a la planta de quesos. Si ésto no es posible, deberá ser termizada antes de almacenarla en la planta, para reducir la pérdida de caseína por la acción bacterial. La práctica de enfriamiento de la leche en la granja y en la fábrica está extendida entre todos los principales fabricantes del mundo. Las bajas temperaturas de almacenaje se utilizan de manera extensa para limitar el alcance de microorganismos, reducir el costo de





II Seminario Internacional sobre Calidad de Leche Competitividad y Proteína



recolección y mejorar las condiciones de trabajo en la granja y en las fábricas. Sin embargo, la calidad y el rendimiento del queso producido de la leche enfriada en volumen se podría afectar desfavorablemente.

La reducción del rendimiento y la deficiente calidad del queso podría deberse a cambios sicomecánicos en el estado de la caseína, al balance de sal y también, a la actividad de las enzimas lipóticas y proteolíticas extracelulares producidas por las bacterias microtróficas. Además, los ácidos grasos liberados por las enzimas lipóticas podrían inhibir las actividades acidificantes y proteolíticas de la bacteria ácido láctica. Diferentes estudios indican que el almacenamiento de la leche tanto a 7°C como a 3°C, por períodos de 3 o más días arrojará un descenso significativo en el rendimiento y podrá causar una pérdida considerable en los ingresos del fabricante.

Además de los cambios inducidos por la flora microbial de la leche almacenada al frío, los efectos sicomecánicos pueden causar cambios en la caseína. La caseína sintetizada por las células mamarias lactantes, ocurre tanto en estados solubles como micelares. Durante el almacenamiento a bajas temperaturas, la concentración de caseína soluble puede incrementarse y causar potencialmente un descenso en el rendimiento del queso. La proporción de caseína soluble arrojada después del almacenaje durante 48 horas a 4°C alcanza cerca del 8% del total de la caseína, de la cual cerca del 6% pertenece a la fracción beta.

Mantener la leche fría podría también producir un incremento en los niveles de la caseína y de algo de peptona proteosa. Esto se debe al proceso de desdoblamiento: la transferencia de la plasmina de la fase micelar a la fase de solución, resultando en una activación de la enzima; y el incremento de la solubilidad de la beta-caseína, la sustancia preferida de la plasmina. Esta clase de cambio, irreversible, tiene efectos en el rendimiento y la calidad del queso, solamente si la leche se mantiene almacenada al frío por más de 48 horas.

El enfriamiento produce un incremento apreciable en los niveles del calcio soluble y el fosfato inorgánico soluble a expensas de los estados micelares. Esta solubilidad incrementada de calcio y fosfato es independiente para los niveles de caseína y minerales micelares, pero está profundamente ligada al incremento de la solubilidad fosfato de calcio hidrogenado a baja temperatura. Esto podría indicar que la leche rica en caseína se afecta menos por el almacenamiento al frío.

Cuando una fracción de fosfato de calcio coloidal se disuelve debido al enfriamiento de la leche, la dimensión de micelas se reduce. La fase coloidal de la leche enfriada es por lo tanto más finamente dispersa que la de la leche fresca. Paralelo a la reducción





II Seminario Internacional sobre Calidad de Leche Competitividad y Proteína



de la dimensión de las micelas, el enfriamiento produce un incremento de cerca del 35% entre 24 y 48 horas a temperatura promedio de 3 a 4°C, de la hidratación de las micelas. Sin embargo, el tratamiento al calor de la leche anterior a la fabricación puede revertir estos efectos. Pero en lo tocante a la reversibilidad de la estructura de la micela no es cierta, por ejemplo, la reintegración de la beta-caseína a su tamaño original. Como resultado de estos efectos, el enfriamiento tiene una repercusión en el comportamiento de cuajo de la leche. En particular el tiempo de coagulación se alarga, el gel de la leche es menos firme y más frágil y el drenaje del coagulo es más difícil y menos completo.

Por lo tanto, el enfriamiento es una fuente de cambios sicomecánicos, microbiológicos y enzimáticos, que a su turno tienen consecuencias a nivel tecnológico. Especialmente, si el tiempo de almacenaje es de 48 horas o más la leche enfriada reduce sus aptitudes para la fabricación del queso. Sin embargo, esta pérdida puede ser contrarrestada, al menos en grandes cantidades, a medida que los cambios sicomecánicos son esencialmente reversibles; pero la reversibilidad, que implica intercambios entre la fase coloidal y la fase acuosa, es necesariamente lenta. Retardar para dar a la leche enfriada las propiedades de fabricación del queso de la leche fresca, simplemente calentándola a la temperatura de cuajado. El coagulado de la leche se acelera al descender el pH. En muchos métodos de fabricación del queso, el cuajado se lleva a cabo en leche en la cual se ha incrementado la acidificación láctica. Esto representa un método de tratamiento correctivo efectivo y fácil para la leche enfriada. Por ejemplo, la acidificación de la leche al pH 6,5 reduce considerablemente el tiempo de coagulación, refuerza la resistencia del gel al cortado y ruptura y limita la pérdida de cuajada en el suero. Este se puede combinar para sacarle ventaja con una adición de cloruro de calcio.

Como breve conclusión de este tema, podemos decir que las pérdidas de caseína durante el almacenaje de la leche son posibles, por ejemplo como resultado de la proliferación bacteriana, a la acción fisiológica o plásmica de las células. La disociación de las micelas de la beta-caseína no es una pérdida, mientras se hagan unos correctos ajustes de pH y temperatura antes de que se aplique la cuajada.

