

POLITEXT

Roser Romero del Castillo Shelly
Josep Mestres Lagarriga

Productos lácteos Tecnología

EDICIONS UPC

A nuestros estudiantes

Agradecimientos

Este libro ha sido escrito con la ayuda de muchas personas a las que queremos agradecer su colaboración.

En primer lugar agradecer a Eva Poca, la adecuación del texto al formato de libro y las correcciones y a Oscar Huerta la realización de todas las figuras que aparecen en el libro. A ellos nuestro más sincero agradecimiento, por el trabajo realizado y también por su paciencia y su respuesta en los momentos de urgencia.

A las personas que han revisado los textos y que con su opinión y correcciones han contribuido a la mejora del contenido: Rosa Carbó por la revisión del capítulo de los cultivos iniciadores, Eduardo Mas por revisar el capítulo de las leches fermentadas y el de los cultivos iniciadores, Jordi Saldo por revisar el capítulo del queso, Josep Balcells y Christian Burreau por su opinión sobre el capítulo de la mantequilla y Robert Xalabarder por su revisión del capítulo de los helados.

Además, queremos agradecer a José Vicente Altamirano, de Tetra Pack (Madrid), su información sobre el uso de membranas en la industria láctea, a Beatriz Diez, de Productos de Calidad Cañada Real (Soria), y a Valentín Santos de Track (Bilbao), por la información sobre la mantequilla de Soria y a Anna Jubert la información sobre el Laboratori Interprofesional Lleter de Catalunya.

Presentación

Después de más de veinticinco años ejerciendo como profesor de industrias lácteas, me complace especialmente escribir el presente prólogo. Siempre he defendido que los apuntes y los libros especializados son un complemento esencial de la formación del universitario. Las lecciones magistrales, los debates en las aulas y los apuntes tomados en clase están muy bien; pero su eficacia formativa es escasa si no van acompañados del estudio de libros u otras publicaciones que den una visión de la materia reposada, completa y libre de errores de transcripción.

Me parece importante recordar algo obvio: la misión de un estudiante es adquirir los conocimientos y la educación adecuados para poder alcanzar las metas y los objetivos que se haya marcado en la vida. La posesión de conocimiento permite, si se utiliza adecuadamente, disponer de mayor libertad para escoger aquellos caminos que permiten alcanzar la felicidad. En este contexto, el objetivo del alumno, dentro de cada una de las asignaturas que cursa en la carrera, no debería ser el de adquirir aquellos conocimientos que le permitirán aprobar la asignatura con mejor o peor nota, sino el de adquirir el máximo de conocimientos posibles para poder ejercer con dignidad y amplio margen de libertad la actividad profesional escogida. Como les digo algunas veces a mis alumnos, refiriéndome a su responsabilidad sobre su formación, que el profesor que les ha tocado en suerte sea malo (lo digo refiriéndome a mi persona) no debería ser una excusa para que no dominen la materia de la asignatura al finalizar su formación.

Recuerdo, en mis ya lejanos tiempos de estudiante que, aunque el profesor no lo recomendara, siempre compraba uno o varios libros para seguir cada una de las asignaturas. Mi método de estudio consistía en estudiar, primero, la materia en el libro y, después, en los apuntes de clase. Algunas veces, incluso, recuerdo haber estudiando la materia previamente a la explicación del profesor. Todo esto daba lugar a un conocimiento contrastado que, en algunos casos, generaba discusiones con el mismo profesor durante las clases o después de algún examen en el que yo había respondido según el criterio de un libro que no coincidía con el del profesor. Esto, para mí, era la verdadera Universidad. Hace ya muchos años que no recuerdo ninguna situación de este tipo con mis alumnos. Algunas veces tengo la sensación de que la Universidad ha perdido este nivel y que únicamente algunos cursos de postgrado lo mantienen.

Sobre leche e industria láctea, por suerte y desde hace muchos años, existen un número importante de publicaciones. En ésta, sus autores pretenden aportar su visión y conocimiento sobre algunas de las parcelas de esta materia, así como facilitar a los alumnos el seguimiento de los cursos que ellos imparten.

Quiero felicitar a Roser Romero del Castillo su iniciativa por redactar y publicar este libro y agradecerle su generosidad y paciencia al permitirme redactar, a pesar del poco tiempo de que dispongo, un par de capítulos del mismo. Pienso que, además de transmitir oralmente sus conocimientos en clases, seminarios y encuentros, la principal misión de un profesor es publicar estos conocimientos en libros a disposición de todas las personas interesadas.

Josep Mestres Lagarriga

Índice

1 La leche y los productos lácteos como alimento. Composición y estructura

1.1	Introducción.....	19
1.2	Importancia de la leche y los productos lácteos en la alimentación humana.....	19
1.3	Principales componentes de la leche	20
1.3.1	Los glúcidos.....	21
1.3.2	La materia grasa	22
1.3.3	Las sustancias nitrogenadas.....	26
1.3.4	Los minerales.....	31
1.4	El papel nutricional de los principales componentes de la leche.....	32
1.4.1	La lactosa.....	32
1.4.2	Los triglicéridos.....	33
1.4.3	Los lípidos complejos.....	33
1.4.4	Esteroles	33
1.4.5	β -caroteno.....	33
1.4.6	Vitaminas liposolubles	33
1.4.7	Vitaminas hidrosolubles	34
1.4.8	Las proteínas.....	35
1.4.9	Los minerales.....	37
1.5	Transformación de la leche en los diferentes productos lácteos	37
1.5.1	Por separación de la grasa	38
1.5.2	Por separación y/o transformación de la proteína.....	38

2 La calidad de la leche cruda

2.1	Factores que influyen en la calidad de la leche cruda.....	41
2.1.1	Composición de la leche	41
2.1.2	Características organolépticas	42
2.1.3	Conservabilidad.....	42
2.1.4	Contaminantes abióticos.....	43
2.2	Legislación relativa a la calidad de la leche. El Real Decreto 1679/94	57
2.3	El pago de la leche por calidad	59

2.3.1	Sistemas de pago por calidad.....	59
2.3.2	El Laboratorio Interprofesional Lechero de Cataluña.....	61

3 Higienización y desnatado. La nata

3.1	Definición y conceptos básicos.....	65
3.2	Principios del funcionamiento de una higienizadora-desnatadora centrífuga.....	66
3.2.1	Separación de la nata y estandarización	67
3.3	La nata	69
3.3.1	Definición	69
3.3.2	Denominaciones	69

4 Los tratamientos térmicos y su influencia sobre la composición de la leche

4.1	Los tratamientos térmicos de la leche.....	71
4.2	Influencia de la temperatura y de los tratamientos térmicos sobre la composición de la leche	72
4.2.1	Cambios inducidos por el calor en la lactosa.....	72
4.2.2	Cambios inducidos por el calor en las proteínas solubles.....	74
4.2.3	Efectos de los tratamientos térmicos sobre las caseínas	75
4.2.4	Efectos del calor sobre la fracción mineral.....	76
4.2.5	Reacción de Maillard.....	76
4.2.6	Estabilidad térmica de la leche	77
4.2.7	Modificación del valor nutricional en la leche tratada térmicamente	78
4.2.8	Modificaciones del <i>flavor</i> inducidas por los tratamientos térmicos.....	80
4.2.9	Termoestabilidad de los enzimas nativos de la leche.....	81
4.2.10	Índices de la cantidad de tratamiento térmico recibido por la leche	82
4.2.11	Precipitación de componentes lácteos sobre las superficies de procesado de la leche.....	86

5 Cultivos iniciadores utilizados en la industria láctea

5.1	Composición microbiológica de la leche cruda.....	91
5.5.1	Grupos de microorganismos susceptibles de formar parte de la contaminación de la leche cruda.....	92
5.2	Definición y objetivos de los cultivos iniciadores	94
5.3	Bacterias lácticas	95
5.3.1	Metabolismo de la lactosa	96
5.3.2	Otros metabolitos formados durante la fermentación.....	98
5.3.3	Metabolismo del citrato	100
5.3.4	Actividad proteolítica y lipolítica de las bacterias lácticas	101
5.3.5	Formación de polisacáridos	102
5.3.6	Bacteriocinas	102
5.3.7	Bacteriófagos.....	103
5.3.8	Especies de bacterias lácticas más utilizadas como cultivo iniciador en la industria láctea	104

5.4 Hongos y levaduras	105
5.5 Bacterias no lácticas utilizadas como cultivo iniciador	106
5.6 Obtención y comercialización de los cultivos iniciadores	107
5.6.1 Presentación comercial de los cultivos iniciadores.....	109
5.7 Uso de los cultivos iniciadores y preparación de fermentos madre	109
5.8 El control de la acidificación	111

6 Leches fermentadas

6.1 Definición.....	115
6.2 Tipos de leches fermentadas.....	115
6.3 El yogur	116
6.3.1 Definición de yogur	116
6.3.2 Tipos de yogur	116
6.3.3 Microbiología y bioquímica del yogur	117
6.3.4 Fabricación de yogur	120
6.3.5 Características físicas y sensoriales del yogur	127
6.4 Otras leches fermentadas tradicionales: el kéfir y el kumiss	134
6.4.1 El kéfir	134
6.4.2 El kumiss	135
6.5 Las leches fermentadas probióticas	136

7 El queso

7.1 Introducción.....	141
7.2 Definición.....	141
7.3 Diagrama general de la fabricación del queso	142
7.4 La coagulación	143
7.4.1 La coagulación enzimática.....	143
7.4.2 La coagulación ácido-láctica	146
7.4.3 La coagulación mixta.....	147
7.4.4 Otros sistemas de desnaturalización de las caseínas	147
7.5 La leche de quesería	147
7.5.1 La refrigeración	148
7.5.2 Los tratamientos térmicos.....	150
7.5.3 La bacto-fugación	151
7.5.4 La homogeneización.....	152
7.5.5 La concentración de la leche por ultrafiltración antes de cuajar	152
7.5.6 La maduración de la leche	155
7.5.7 La adición de enzimas coagulantes, cultivos iniciadores y aditivos	156
7.6 Tratamientos de la cuajada	159
7.6.1 La sinéresis	159
7.6.2 Desuerado de las cuajadas enzimáticas	160
7.6.3 Desuerado de las cuajadas ácidas	163
7.7 El moldeado y el prensado	163
7.7.1 Tipos de moldes.....	164

7.7.2	Intensidad del prensado y tipos de prensas	164
7.8	El salado	165
7.9	El oreo	166
7.10	La acidificación del queso	166
7.11	La maduración	167
7.11.1	La glucólisis	168
7.11.2	La proteólisis	168
7.11.3	La lipólisis	170
7.11.4	La transformación del citrato	171
7.11.5	Los principales grupos de microorganismos responsables de la maduración de los quesos	172
7.11.6	La maduración acelerada de los quesos	174
7.11.7	El acondicionamiento de los quesos durante la maduración y el almacenamiento	176
7.12	Defectos de los quesos	178
7.12.1	Hinchamiento	178
7.12.2	Defectos de gusto y aroma	179
7.12.3	Defectos de textura	180
7.12.4	Crecimiento de microorganismos no deseados en la superficie	180
7.12.5	Presencia de ácaros	181
7.13	Los quesos fundidos	181
7.14	Los quesos españoles	182

8 La mantequilla

8.1	Definición	187
8.2	Composición	187
8.3	Tecnología de fabricación de la mantequilla	187
8.3.1	Diagrama de flujo de la fabricación de mantequilla	188
8.3.2	Mantequeras discontinuas y mantequeras continuas	198
8.4	Defectos de la mantequilla	200
8.5	Producción de mantequilla en Cataluña y en el Estado Español	202

9 Helados y postres lácteos

9.1	Breve historia de los helados	205
9.2	Definición	206
9.3	Clasificación de los helados	206
9.4	Componentes básicos y aditivos. Funcionalidad	208
9.4.1	Agua	209
9.4.2	Aire	209
9.4.3	Grasa	209
9.4.4	Leche y derivados	211
9.4.5	Azúcares y edulcorantes	211
9.4.6	Yema de huevo	214
9.4.7	Otros ingredientes	215
9.4.8	Aditivos	215
9.4.9	Estabilizantes	216

9.4.10 Emulgentes	218
9.5 Estructura del helado	220
9.6 Proceso de fabricación.....	221
9.6.1 Diagrama de flujo de la fabricación de los helados	221
9.6.2 Preparación del <i>mix</i>	221
9.6.3 Pasteurización	222
9.6.4 Homogeneización	222
9.6.5 Enfriamiento	222
9.6.6 Maduración.....	222
9.6.7 Congelación	223
9.6.8 Envasado.....	225
9.6.9 Endurecimiento.....	225
9.6.10 Almacenamiento	225
9.6.11 Comercialización	226
9.7 Postres lácteos	226

1 La leche y los productos lácteos como alimento.

Composición y estructura

1.1 Introducción

El Real Decreto 1679/1994 [RD94] define a la leche cruda como “la leche producida por la secreción de la glándula mamaria de una o más vacas, ovejas, cabras o búfalas y que no haya sido calentada a una temperatura superior a 40°C ni sometida a un tratamiento de efecto equivalente”. No obstante, este capítulo se refiere únicamente a la leche de vaca, dado que la mayor parte de la leche y productos lácteos que se consumen en nuestro país poseen este origen.

Los datos científicos sobre la composición de la leche y los productos lácteos son extraordinariamente abundantes, dado que posiblemente se trata de uno de los productos alimenticios más estudiado en todos los tiempos. En este capítulo se exponen los principales datos relativos a la composición, ya que este aspecto es fundamental para entender la tecnología que se aplica a la elaboración de productos lácteos, así como conocer sus propiedades nutritivas.

1.2 Importancia de la leche y los productos lácteos en la alimentación humana

La leche es uno de los alimentos más antiguos utilizados por el hombre. El hábito del consumo de leche y productos lácteos en la alimentación humana se pierde en los orígenes de la evolución.

La leche y productos lácteos constituyen una parte importante de los alimentos que componen la dieta habitual de los habitantes de nuestro país y de los de su entorno. La tabla 1.1 da información sobre cuál es el consumo de leche y los principales productos lácteos en el Estado Español.

Tabla 1.1 Consumo por habitante y año, en el Estado español [FIL03]

<i>Leche líquida</i>	<i>Leches fermentadas</i>	<i>Mantequilla</i>	<i>Queso</i>
123,8 Kg (*)	15,7 kg (*)	1,0 kg (**)	8,4 kg (**)

(*) Cifra correspondiente al año 2000. (**) Cifra correspondiente al año 2002

No obstante, cabe resaltar que el Estado Español no es líder en consumo de productos lácteos. Así, por ejemplo, atendiendo a los datos publicados por la FIL correspondientes al consumo del año 2002 [FIL03], Finlandia encabezaba la lista de países con más consumo de leche líquida, con 177,9 kg/habitante/año; Finlandia y Holanda la de países consumidores de leches fermentadas y yogur, con 40,5 y 42,8 kg/habitante/año respectivamente; Francia la de los países consumidores de mantequilla, con 8,1 kg/habitante/año; y de queso, con 24,1 kg/habitante/año.

1.3 Principales componentes de la leche

El lector encontrará en la tabla 1.2 las principales sustancias que forman parte de la leche.

Tabla 1.2 Principales componentes de la leche expresados en valores medios por litro de leche (*)[WEEB72]

<i>Agua</i>	875 g
<i>Glúcidos</i> de los cuales: - lactosa	48 g 48 g
<i>Materia grasa</i> de la cual: - lípidos simples - fosfolípidos - sustancias liposolubles insaponificables	36 g 35 g 0,5 g 0,5 g
<i>Sustancias nitrogenadas</i> de las cuales: - proteínas - sustancias nitrogenadas no proteicas	33 g 31,4 g 1,6 g
<i>Minerales</i> de los cuales(*): - ácido cítrico - potasio - calcio - cloruro - fósforo - sodio - azufre (procedente de aminoácidos azufrados) - magnesio	9 g 1,6 g 1,4 g 1,2 g 1,2 g 1,0 g 0,6 g 0,3 g 0,1 g

1.3.1 Los glúcidos

La lactosa, que se encuentra presente a niveles próximos a 45-50 g/L, representa más del 99,9% de los glúcidos presentes en la leche y es el principal componente de ésta después del agua. Además de la lactosa, en la fracción glucídica de la leche se pueden encontrar pequeñas cantidades, inferiores a 100 mg/L, de glucosa, galactosa, N-acetilglucosamina, N-acetilgalactosamina y ácido siálico. La tabla 1.3 da información sobre la composición de la fracción glucídica de la leche.

Tabla 1.3 Composición de la fracción glucídica de la leche [KUZD80]

<p><i>Glúcidos neutros</i> de los cuales:</p> <ul style="list-style-type: none"> - lactosa - glucosa - galactosa - lactulosa 	<p>48 g/L</p> <p style="text-align: right;">48 g/L 70 mg/L 20 mg/L trazas</p>	<p>(500 mg/L) (**) (700 mg/L) (**) (800 mg/L) (*)</p>
<p><i>Glúcidos nitrogenados</i> de los cuales:</p> <ul style="list-style-type: none"> - N-acetilglucosamina - N-acetilgalactosamina 	<p>trazas</p> <p style="text-align: right;">trazas trazas</p>	
<p><i>Glúcidos ácidos</i> de los cuales:</p> <ul style="list-style-type: none"> - ácido N-acetilneuramínico (ácido siálico) 	<p>trazas</p> <p style="text-align: right;">trazas</p>	

(*) En leche esterilizada (**) En lactosuero

Es interesante señalar que, en la leche nativa, la cantidad de glucosa es superior a la de galactosa, mientras que en el lactosuero es al revés. Así mismo, en el lactosuero y en los productos lácteos fermentados se pueden encontrar cantidades de glucosa y galactosa netamente superiores a las de la leche. Ello es debido a que el origen de la glucosa y galactosa, presentes en el lactosuero, está asociado a la metabolización de la lactosa por las bacterias lácticas.

La lactosa es un disacárido reductor formado por la unión de una molécula de glucosa y una de galactosa. Debido a la existencia de un carbono asimétrico en su molécula, existen dos isómeros de la lactosa (α , β). En la leche los dos isómeros se encuentran en equilibrio. Las principales características de la lactosa y de sus isómeros se encuentran en la tabla 1.4.

La lactosa α hidratada se obtiene por cristalización de una solución sobresaturada de lactosa a temperatura inferior a 93,5°C. Si la cristalización tiene lugar a una temperatura superior a 93,5°C, se obtiene lactosa β anhidra.

Tabla 1.4 Principales características de la lactosa y sus isómeros

	<i>Lactosa (disuelta)</i>	<i>Lactosa α hidratada</i>	<i>Lactosa β anhidra</i>
Peso molecular		360 g	342 g
Temperatura de fusión		202 °C	242 °C
Solubilidad a 15 °C	170 g/L	70 g/L	500 g/L
Poder rotatorio a 15 °C	+55,5 °	+89,4 °	+35,0 °
Concentración de equilibrio a:			
15 °C		38 %	62 %
50 °C		40 %	60 %
90 °C		58 %	42 %
Poder edulcorante (*)	17		

(*) sobre un valor de referencia de 100 para la sacarosa

Es importante recordar que dado el carácter reductor de la lactosa, en presencia de grupos aminos libres, actúa como sustancia de partida en la reacción de Maillard.

A elevada temperatura, una pequeña parte de la lactosa disuelta en la leche se isomeriza formando pequeñas cantidades de lactulosa, o bien se descompone, dando lugar a la formación de pequeñas cantidades de ácido levúlico y ácido fórmico y de hidroximetilfurfural, que es una sustancia intermedia en la reacción de degradación. En la leche esterilizada los niveles de lactulosa pueden alcanzar niveles de 0,8 g/L.

Al igual que los demás azúcares la lactosa presenta un sabor dulce; pero en comparación con la sacarosa su poder edulcorante es unas cinco veces menor.

1.3.2 La materia grasa

Dentro de esta denominación se agrupan un importante número de sustancias que presentan la característica común de ser solubles en disolventes apolares. La tabla 1.5 indica las principales sustancias que podemos encontrar en esta fracción.

La clasificación presentada posee un criterio de clasificación eminentemente químico, dado que son básicamente métodos químicos los utilizados para acceder al conocimiento de la composición de la leche.

La principal diferencia entre la fracción insaponificable y la lipídica estriba en que la segunda está formada por ésteres que se hidrolizan en medio alcalino, dando lugar a la aparición de sustancias hidrosolubles (alcoholes, ácidos grasos, bases aminadas).

Tabla 1.5 Principales componentes de la materia grasa de la leche [KUZD79]

<i>Lípidos simples</i> de los cuales: - glicéridos de los cuales: -- triglicéridos -- diglicéridos -- monoglicéridos - colestéridos - céridos (ésteres de ácidos grasos y alcoholes de cadena larga)	98,5% 98,5% 95-96% 2-3% 0,1% 0,03% 0,02%
<i>Lípidos complejos</i> de los cuales: - fosfatidil etanolamina (cefalina) - fosfatidil colina (lecitina) - fosfatidil inositol y fosfatidil serina - esfingomielina	1% 0,45% 0,30% 0,05% 0,20%
<i>Sustancias liposolubles insaponificables</i> de las cuales: - colesterol - ácidos grasos libres - hidrocarburos de los cuales: -- β caroteno -- escualeno -- fitenos -- xantofilas - vitaminas de las cuales: -- vitamina E -- vitamina A -- vitamina D -- vitamina K - alcoholes (fitol, palmítico, esteárico, oleico)	0,5% 0,3% 0,1% 0,1% 4-9 mg/kg 300 mg/kg trazas trazas 17-42 mg/kg 6-12 mg/kg 100-200 µg/kg trazas trazas

Los ácidos grasos, que forman parte de los lípidos simples y complejos, constituyen el 90% de la masa de los lípidos presentes en la leche. En ella se encuentra una gran diversidad, más de 17 ácidos grasos.

En la tabla 1.6 el lector encontrará los principales ácidos grasos presentes en la leche.

Tabla 1.6 Principales ácidos grasos presentes en la leche (% medio)

butírico (C4)	4,0%
caproico (C6)	2,5%
caprílico (C8)	1,3%
cáprico (C10)	2,8%
decanoico (C10:1)	0,3%
láurico (C12)	3,2%
lauroleico (C12:1)	0,1%
tridecanoico (C13)	0,1%
iso-mirístico (C14 iso)	0,2%
mirístico (C14)	11,0%
miristoleico (C14:1)	1,0%
iso-pentadecanoico (C15 iso)	1,0%
pentadecanoico (C15)	1,2%
pentadecenoico (C15:1)	0,1%
iso-palmitico (C16 iso)	0,3%
palmitico (C16)	27,5%
palmitoleico (C16:1)	1,9%
iso-heptadecanoico (C17 iso)	1,1%
heptadecanoico (C17)	0,8%
heptadecenoico (C17:1)	0,4%
esteárico (C18)	10,5%
oleico (C18:1)	23,0%
vacénico (C18:1 trans)	2,0%
linoleico (C18:2)	3,0%
linolénico (C18:3)	0,6%

Entre los lípidos de la leche se encuentran lípidos complejos en una proporción cercana al 1%. En la tabla 1.5 se describen los principales lípidos complejos presentes en la leche.

En la fracción insaponificable, que representa el 0,5% de la materia grasa de la leche, se agrupan las sustancias solubles en disolventes apolares y no hidrolizables en medio alcalino. Este grupo está formado mayoritariamente por: esteroides, β -caroteno y vitaminas liposolubles (E, A y D). En la tabla 1.5 se señalan las principales sustancias que se pueden encontrar en la fracción insaponificable de la leche.

Estructura físico-química de la grasa de la leche. El glóbulo graso [ALAI85] [WALS87]

La materia grasa se encuentra dispersa en la leche en forma de glóbulos esféricos, visibles al microscopio óptico. Tienen tendencia a reunirse en racimos. El tamaño puede variar entre 0,1 a 20 μm de diámetro, pero la mayoría tienen un tamaño comprendido entre 2 y 12 μm . La dimensión varía entre especies, por ejemplo los glóbulos grasos de la leche de cabra son más pequeños que los de la leche de vaca, a lo largo del ordeño, al principio los glóbulos son más grandes, y durante el ciclo de lactación tienden a disminuir a medida que éste avanza.

Los glóbulos grasos son heterogéneos, están constituidos esencialmente por una microgota de triglicéridos, parcialmente cristalizados a la temperatura ambiente, recubiertos de una delgada capa protectora llamada corrientemente membrana. La membrana actúa impidiendo que los glóbulos grasos floculen y se fundan y protege a la grasa de la acción enzimática y de la oxidación.

Todas las interacciones entre la grasa y el plasma han de ocurrir a través de la membrana; su área total es de unos $80 \text{ m}^2 \text{ L}^{-1}$ de leche y contiene sustancias reactivas y enzimas.

El estudio de la composición y estructura de la membrana es muy difícil, ya que es muy frágil y se modifica durante los procedimientos de extracción.

La membrana se origina durante la síntesis de la leche en la glándula mamaria. Las gotitas de grasa que se forman están rodeadas de una fina capa; cuando abandonan la célula están envueltas por una típica membrana celular de dos capas; esta membrana deriva, en gran parte, de la membrana de las células donde se sintetiza la leche. Está compuesta por fosfolípidos y una gran variedad de glicoproteínas, como las de las membranas externas de las células. Aunque parece ser que hay una reestructuración de la membrana inmediatamente después de su formación, como muestran los estudios con el microscopio electrónico, no se aprecia una estructura clara.

La membrana está compuesta por lípidos polares, fosfolípidos, glicoproteínas, enzimas e iones metálicos.

La composición media aproximada del interior y la membrana del glóbulo graso se puede ver en la tabla 1.7

Tabla 1.7 Cantidades medias aproximadas en el interior del glóbulo graso y la membrana en 1 kg de leche [WALS87]

<i>Interior del glóbulo graso</i>		<i>Membrana</i>	
<i>Glicéridos</i>		<i>Agua</i>	80 mg (*)
Triglicéridos	38 g	<i>Proteína</i>	350 mg
Diglicéridos	0,1 g	<i>Lípidos</i>	
monoglicéridos	10 mg	fosfolípidos	210 mg
<i>Ácidos grasos</i>	25 mg	cerebrósidos	30 mg
<i>Esteroles</i>	100 mg	gangliósidos	5 mg
<i>Carotenoides</i>	0,4 mg	glicéridos neutros	Presencia
<i>Vitaminas A, D, E, K</i>	2 mg	esteroles	15 mg
<i>Agua</i>	60 mg	<i>Enzimas</i>	
<i>Otros</i>	30 mg	Fosfatasa alcalina	Presencia
		Xantinoxidasa	Presencia
		Otros enzimas	Presencia
		<i>Cu</i>	4 μg
		<i>Fe</i>	100 μg
		<i>Mo</i>	20 μg

(*) Es una cantidad muy aproximada.

1.3.3 Las sustancias nitrogenadas

Dentro de esta fracción, conocida habitualmente con el nombre de proteínas, se incluyen la totalidad de sustancias nitrogenadas presentes en la leche. Dado que el 95% de sustancias que componen esta fracción son proteínas, la denominación "proteínas" para toda la fracción constituye solo un pequeño abuso de lenguaje, pero la denominación más adecuada para la misma sería la de *materias nitrogenadas*.

El sistema de separación o diferenciación de las proteínas del resto de sustancias nitrogenadas vuelve a ser de naturaleza química. Se consideran sustancias nitrogenadas no proteicas las que son solubles en una disolución de ácido tricloroacético al 12%, y proteínas el resto.

En la tabla 1.8 el lector podrá encontrar las principales sustancias que constituyen la fracción nitrogenada de la leche.

El contenido medio en nitrógeno de las sustancias proteicas de la leche es del 15,67%, por lo que el factor por el que se multiplica el contenido de nitrógeno, hallado analíticamente, para establecer el contenido en proteína de los productos lácteos es 6,38. Es importante resaltar que el factor referido es distinto de 6,25, el factor utilizado según la legislación comunitaria vigente, para el cálculo del contenido en proteína de la información nutricional que figura en el etiquetado de los alimentos.

Las caseínas. Composición y estructura [WALS87][WALS99][VEIS88]

Son un grupo heterogéneo de proteínas que se caracterizan por precipitar a pH 4,6. Su solubilidad en estas condiciones es mucho menor que la de las proteínas del suero, lo que permite la separación entre unas y otras. Las caseínas se clasifican en: caseína α_{s1} , caseína α_{s2} , caseína β y caseína κ . En la tabla 1.9 se exponen las principales características de las caseínas de la leche de vaca. Las cuatro caseínas difieren mucho entre sí, una de las características distintivas respecto de las proteínas del suero es el enlace ester-fosfato, del cual carecen las proteínas del suero. También varían en la distribución de la carga eléctrica y en la tendencia a agregarse en presencia de iones calcio

Ninguno de los cuatro tipos de proteína tiene una estructura secundaria muy organizada, su conformación se parece mucho a la de las proteínas globulares desnaturalizadas. Las caseínas tienen un contenido en prolina alto, como puede verse en la tabla 1.9. Son los restos de prolina que se encuentran uniformemente repartidos en las cadenas los que ayudan a evitar una conformación secundaria empaquetada densa y ordenada.

Las micelas de caseína

Las caseínas se encuentran en la leche en forma de micelas. En la leche recién ordeñada y sin refrigerar prácticamente toda la caseína se encuentra en forma de partículas bastante esféricas de 40-300 nm de diámetro. Por término medio, cada micela está constituida por 10^4 moléculas de caseína.

Las micelas están fuertemente hidratadas, contienen más agua que extracto seco, el agua se encuentra ligada a la micela formando una corona de moléculas orientadas alrededor de la parte exterior que contiene los grupos hidrofílicos de la caseína κ . Rodeando la primera capa, se encuentran varias capas más de agua, cuyas moléculas están cada vez menos orientadas.

Tabla 1.8 Principales componentes de la fracción nitrogenada de la leche (referidos a 1 litro de leche)

<i>Caseínas</i> de las cuales (*): - α s1 - α s2 - β - κ - γ	25 g	13 -15 g 2,5-3,5 g 8-11 g 2,5-5 g 1-2 g
<i>Proteínas solubles</i> de las cuales (*): - β -lactoglobulina - α -lactoalbúmina - sero albúmina - inmunoglobulinas de las cuales: -- inmunoglobulina G1 -- inmunoglobulina G2 -- inmunoglobulina A -- inmunoglobulina M -- FSC (free secretory component) - proteosas-peptonas - componentes menores: -- transferrina -- lactoferrina -- β 2-microglobulina -- lisozima -- lipasa -- xantinoxidasa -- plasmina -- fosfatasa ácida y alcalina	7 g	2-4 g 0,5-1 g 0,2-0,4 g 0,6-1 g 0,4-0,8 g 60-230 mg 60-230 mg 30-230 mg 60-90 mg 0,5-1 g
<i>Sustancias nitrogenadas no proteicas</i> de las cuales (**): - péptidos - aminoácidos - urea - nitrógeno amoniacal - creatina - creatinina - ácido úrico - ácido orótico - ácido hipúrico - tiamina - riboflavina - nicotinamida - piridoxina - ácido pantoténico - biotina - ácido fólico - vitamina B12	1,5 g	210 mg 250 mg 500 mg 10 mg 30 mg 15 mg 20 mg 50 mg 30 mg 0,44 mg 1,7 mg 1,0 mg 0,5 mg 3,5 mg 30 μ g 3 μ g 4,3 μ g

(*) según [BRUN81], (**) según [WOLF81]

Las micelas de caseína contienen además materia inorgánica, principalmente fosfato cálcico en una cantidad de unos 8 g/100 g de caseína. También contienen pequeñas cantidades de algunas otras proteínas por ejemplo, parte de la fracción proteosa-peptona y determinados enzimas. El enfriamiento de la leche produce, por solubilización de una parte de las caseínas, especialmente la caseína β , y por el aumento de la solubilización del fosfato de calcio coloidal, una disminución del tamaño de las micelas.

En el balance de los grupos ionizables de las caseínas predominan los grupos ácidos sobre los básicos, debido a la gran abundancia en su composición de aminoácidos con dos grupos ácido (glutámico y aspártico), por la presencia de fosfoserina y, en el caso de la caseína κ , por la presencia de ácido siálico; por tanto, las micelas tienen carga electronegativa. Las micelas de caseína contribuyen a la acidez titulable de la leche fresca.

Los principales factores de estabilidad de las micelas son:

- El tamaño: cuanto más pequeñas son más estables
- El agua de hidratación
- La carga eléctrica

Tabla 1.9 Principales características de la leche de vaca [ALAI85][BOZZ93][BELI97] [WALS87]

	Caseína α_{s1}	Caseína α_{s2}	Caseína β	Caseína κ
Proporción media	36	10	34	13
Masa molecular	23.600	25.250	24.000	19.000
Nº de restos aminoácidos	199	207	209	169
% de moles de restos de prolina	17	5	17	12
Fósforo % (átomos/mol)	1.10 (8)	1.23-1.60 (10-13)	0.56 (5)	0.20 (1)
Carbohidratos	no	no	no	Galactosa (1%) Galactosamina (1.2%) Ácido N-acetilneuramínico (2.4%)
Sensibilidad al calcio	++	+++	+	-
Sensibilidad a la quimosina	+	-	+	+++
Variantes genéticas	A,B,C,D, E	A,B,D	A ₁ ,A ₂ A ₃ ,B,C,D,E	A,B

Se puede afirmar que el conocimiento de la estructura íntima de las micelas de caseína nativa constituye el fundamento de toda la tecnología lechera que tiene por objetivo, según el caso, estabilizar o desestabilizar las micelas de caseína de la leche.

El modelo aceptado durante los últimos años sobre la estructura de las micelas de caseínas es el modelo de Schmidt, Payens, Slattery y Walstra (Fig. 1.1), que se explica a través de las submicelas.

Las submicelas de caseína

Cuando la caseína se encuentra en una disolución comparable con el suero pero con poco calcio iónico, se forman agregados pequeños y esféricos. Miden 12-15 nm de diámetro y cada uno de ellos contiene 20-25 moléculas de caseína. En estas submicelas, las moléculas se mantienen unidas mediante enlaces hidrofóbicos. Probablemente, la mayoría de las partes hidrofóbicas de las moléculas están encerradas en el centro de las submicelas, mientras que muchos de los grupos cargados están en la capa externa más hidrofílica.

Cada submicela contiene diferentes moléculas de caseína, pero no todas las submicelas presentan la misma composición. Esencialmente hay dos tipos principales de submicelas, con o sin (o con muy poca) caseína κ . La caseína κ posee una cadena de tres carbohidratos que constituye la parte más hidrofílica, son los llamados “pelos” de la micela.

Añadiendo un exceso de calcio y fosfato, como ocurre en las células secretoras de la glándula mamaria, se produce la agregación de las submicelas en unidades más grandes, que son las micelas de caseína. La explicación de esta agregación es posiblemente que la deposición de fosfato cálcico en las submicelas reduce su carga eléctrica y las hace más compactas. En consecuencia, las submicelas se atraen, aunque sea débilmente, y se produce la agregación con la ayuda de iones calcio y magnesio. Cuando dos submicelas se aproximan entre sí y los pelos protuberantes de la caseína κ de al menos una de ellas quedan en medio, no se pueden unir. Esto implica que la agregación de las submicelas tiene lugar hasta que se forma un agregado esférico con la superficie cubierta por una capa más o menos continua de pelos de caseína κ . Si otras submicelas (o sus agregados) se aproximan, no pueden unirse a la micela ya formada.

Es posible reproducir este proceso de síntesis de las micelas de caseína “in vitro” disolviendo caseína en un sucedáneo de suero lácteo y añadiendo a continuación, lentamente y a pH constante, Ca, Mg, fosfato y citrato en las proporciones adecuadas. Al final del proceso, las micelas formadas presentan casi las mismas propiedades que las nativas.

El modelo representado en la figura 1.1 está diseñado según el razonamiento anterior. La micela es un agregado bastante denso de submicelas. Éstas contienen pequeñas regiones (que suelen llamarse *nanoclusters*) de fosfato cálcico, de las que también forman parte los residuos de fosfato-serina de la caseína. La mayoría de la parte C-terminal de las moléculas de la caseína κ se colocan fuera de la micela, proyectándose hacia la solución en forma de pelos flexibles que desempeñan un papel fundamental en la estabilidad de las micelas. Es posible que entre las submicelas se establezcan también interacciones proteína-proteína.

Durante la conservación de la leche las micelas de caseína se alteran lentamente, debido a que no hay un verdadero estado de equilibrio termodinámico entre las micelas y su entorno. La principal modificación es la proteólisis de la caseína β por el enzima plasmina, con la formación de caseína γ y proteosa-peptona; parte de la proteosa-peptona pasa al suero. El fosfato pasa a formas más estables asociado a la caseína de otra forma o constituyendo un precipitado que se separa de la micela. Además, las micelas de caseína se modifican como consecuencia de cambios en las condiciones externas, especialmente la temperatura y el pH. Algunas de estas alteraciones son reversibles, pero otras no lo son, o solo parcialmente.

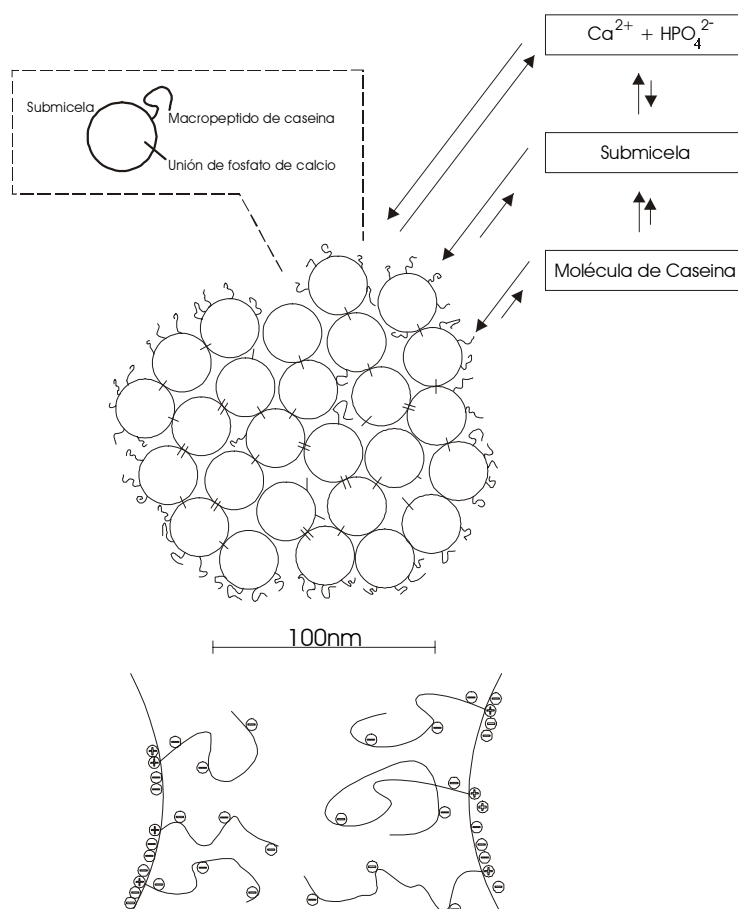


Fig. 1.1 Estructura de la micela de caseína según el modelo de Schmidt, Payens, Slattery y Walstra [WALS99]

En los últimos años, algunos científicos como Holt y Horne cuestionan la existencia de las submicelas de caseína del modelo de Schmidt, Payens, Slattery y Walstra. Holt (1992) propone un nuevo modelo en el que las cadenas de las caseínas están unidas por los nanoclusters de fosfato de calcio coloidal y los restos de fosfato serina en una estructura continua en la que las moléculas de caseína κ se sitúan en la periferia de la micela [HORN98][WALS99].

Las proteínas solubles

Dentro de la clasificación de proteínas solubles se agrupan las proteínas lácteas que no precipitan a pH 4,6. Las proteínas solubles representan el 20% de las sustancias nitrogenadas presentes en la leche, las cuales se describen en la tabla 1.8. Las más abundantes son la β -lactoglobulina, que representa el 50% de las proteínas solubles de la leche y posee una función biológica relacionada con la asimilación intestinal de la vitamina A y la α -lactoalbumina. Ambas presentan la propiedad de insolubilizarse por el calor antes de los 100°C.

1.3.4 Los minerales

En la leche podemos encontrar numerosas sustancias minerales en disolución o ligadas a algunas de las moléculas coloidales, básicamente caseínas, presentes en la misma. La tabla 1.10 da información sobre las principales sustancias minerales presentes en la leche.

Tabla 1.10 Principales componentes de la fracción mineral de la leche (por litro de leche)

		% de las CDR que aportan 200 mL de leche
Macrocomponentes (*):		
- potasio	1,4 g	9 (##)
- calcio	1,2 g	30 (#)
- cloro	1,2 g	
- fósforo	1,0 g	25 (#)
- sodio	0,6 g	
- azufre	0,3 g	
- magnesio	0,1 g	6,6 (#)

		% de las CDR que aportan 200 mL de leche
Microcomponentes (**):		
- arsénico	30-60 μ g	
- cromo	1-20 μ g	
- cobalto	1-15 μ g	
- cobre	2-10 μ g	0,03 - 0,18 (##)
- flúor	20-150 μ g	
- yodo	5-700 μ g	0,6-93 (#)
- hierro	200-800 μ g	0,28-1,14 (#)
- manganeso	20-30 μ g	
- molibdeno	18-120 μ g	
- níquel	1-100 μ g	
- selenio	5-24 μ g	1,8-8,7 (##)
- zinc	2-5 mg	2,6-6,6 (#)

(*) [WEBB72]

(**) [GURR88]

(#) CRD: cantidades diarias recomendadas según la Directiva 90/496/CEE

(##) CRD: cantidades diarias recomendadas según el Comité Científico para la Alimentación (opinión expresada el 11 de diciembre de 1992)

1.4 El papel nutricional de los principales componentes de la leche

1.4.1 La lactosa

Constituye básicamente una fuente de energía. Para su utilización debe ser hidrolizada, liberando los monosacáridos glucosa y galactosa, como paso previo a su absorción intestinal. En la especie humana, la hidrólisis de la lactosa se realiza en el intestino delgado, a nivel del yeyuno, gracias a la acción de la β -galactosidasa (lactasa) segregada por éste. La lactosa es un azúcar que se encuentra prácticamente solo en la leche y en algunos productos lácteos. No es considerada un nutriente esencial, dado que la galactosa, necesaria para la elaboración de cerebrosidos y glicoproteínas, también puede obtenerse por síntesis hepática [PORT80].

En el caso de individuos que presentan una deficiente o nula capacidad de sintetizar lactasa, la ingestión de productos que contienen lactosa da lugar a problemas digestivos derivados de la no asimilación de este azúcar. La presencia de lactosa en las heces que recorren el intestino grueso da lugar a problemas de diarrea y flatulencia.

La capacidad de sintetizar lactasa decrece con la edad y también está asociada a la dieta; así, el grupo de personas en el que es más probable encontrar individuos intolerantes a la lactosa es el de personas de avanzada edad que no han seguido habitualmente una dieta conteniendo lactosa. Las personas de etnia negra también presentan una marcada tendencia a perder la capacidad de sintetizar lactasa.

Dado que la lactosa prácticamente solo se encuentra en la leche, la sintomatología propia de los individuos intolerantes a la lactosa desaparece con una dieta exenta de leche y de productos lácteos ricos en lactosa.

Dada la elevada afinidad que poseen numerosos microorganismos para metabolizar la lactosa, ésta se encuentra en cantidades inferiores en los productos lácteos fermentados (yogur, leches ácidas, quesos frescos), pudiendo llegar prácticamente a desaparecer en algunos de ellos (quesos curados). Como residuo del metabolismo de la lactosa aparecen en los productos lácteos fermentados diferentes sustancias, de entre las que destaca especialmente el ácido láctico.

El ácido láctico debe ser considerado como un nutriente calórico más. Al ser metabolizado por el organismo, éste obtiene 3,0 kcal/g. Existen dos isómeros del ácido láctico, el L (+) y el D (-). El primero es totalmente metabolizado, mientras que sólo una parte (50-70%) del isómero D (-) es metabolizado, siendo el resto eliminado a través de la orina. La alimentación de bebés con leches fermentadas que contengan ácido láctico D (-) puede dar lugar a cuadros de acidosis. Según el tipo de microorganismo que ha llevado a cabo la fermentación, en los productos lácteos fermentados podemos encontrar diferentes cantidades de los dos isómeros citados. En el caso del yogur, el 50-70% del ácido láctico presente es L (+).

La lactulosa, isómero de la lactosa que se puede encontrar en determinados productos lácteos tratados por calor (ver 1.3.1), ha sido descrito [MIZO96] como una de las sustancias que favorece la implantación de *Bifidobacterium* en el intestino, en detrimento de las bacterias patógenas o putrefactivas. El efecto favorable de la lactulosa sobre el desarrollo de las *Bifidobacterium* parece asociado al hecho de que no es hidrolizada por los enzimas digestivos; es metabolizada de forma preferente por *Bifidobacterium* y bacterias lácticas, y es difícilmente metabolizada por bacterias patógenas o putrefactivas. La presencia mayoritaria de *Bifidobacterium* en la flora microbiana del intestino parece presentar claros beneficios, como pueden ser: la disminución de la presencia de

bacterias patógenas o putrefactivas (*E. coli*, *C. perfringens*, *Bacteroidaceae*, *Streptococcus faecalis*, *Proteus*); la disminución de la presencia de metabolitos tóxicos (amoníaco, aminas, nitrosaminas, fenoles, cresoles, indol, ácidos biliares secundarios); aumento de la absorción del calcio [IGAR94], y la mejora en las situaciones de restreñimiento.

1.4.2 Los triglicéridos

Aproximadamente, el 50% de la energía aportada por la leche se encuentra en los triglicéridos presentes en ella. En ellos podemos encontrar (ver Tabla 1.6): una gran cantidad, más de un 8%, de ácidos grasos de cadena corta (inferior a 12 carbonos) y un 60% de ácidos grasos saturados; una pequeña cantidad de ácidos grasos poliinsaturados conjugados, y pequeñas cantidades de isómeros trans (2-3%) originados en el proceso de hidrogenación que los microorganismos presentes en el rumen de la vaca llevan a cabo sobre los ácidos grasos insaturados presentes en el alimento del ganado.

1.4.3 Los lípidos complejos

Como ya se ha indicado, el 1% de los componentes lípidos de la leche son lípidos complejos y, entre éstos, cabe destacar la presencia de cefalina (0,45% de la fase lipídica), lecitina (0,3%) y esfingomielina (0,2%).

1.4.4 Esteroles

El colesterol representa más del 98% de los esteroles presentes en la leche. El contenido de colesterol en la leche es del orden de 100 mg/L y en la mantequilla de 3.000 mg/kg.

1.4.5 β -Caroteno

El contenido en β -caroteno varía notablemente en función del tipo de alimentación de la vaca, siendo tanto más elevado cuanto mayor es su presencia en el alimento que se le suministra. Las cantidades de β -caroteno que se pueden encontrar habitualmente en la leche son del orden de 0,1 a 0,3 mg/L.

1.4.6 Vitaminas liposolubles

200 mL de leche aportan, de media, el 10, 20 y 8% de las necesidades diarias en vitamina A, D y E, respectivamente.

El contenido en vitamina A y E puede variar notablemente en función del tipo de alimentación de la vaca, de forma paralela a la variación del β -caroteno. Es importante resaltar que las vitaminas A y D son termoestables en los tratamientos térmicos aplicados habitualmente en la leche, pero son sensibles a la oxidación. La vitamina E (tocoferol) también es termoestable, pero sensible a la acción de la luz.

El contenido en vitamina K de la leche es del orden de 80 μ g/L. Esta sustancia es estable en las condiciones de tratamiento térmico aplicados a la leche.

La vitamina A se encuentra en la leche en forma de retinol y de ésteres de retinol. También cabe destacar la presencia de β -caroteno, que posee una actividad vitamínica que equivale a 1/6 del retinol.

1.4.7 Vitaminas hidrosolubles

La tabla 1.11 indica los niveles y el porcentaje de las necesidades diarias de las vitaminas que aportan 200 mL de leche nativa. El contenido en vitamina B1 es poco variable en la leche nativa, pero puede sufrir variaciones como consecuencia del tratamiento de ésta. Así, el almacenado en frío de la leche nativa produce pérdidas del orden del 25% en tres días de almacenado; del 10% durante la esterilización UHT; y del 40% durante la esterilización convencional. El contenido en vitamina B2 depende del tipo de alimentación de la vaca; así, la leche de vacas alimentadas con pasto o ensilado contiene más vitamina B2 que las de las vacas alimentadas con heno secado al sol. La vitamina B2 es termoestable, pero sensible a la acción de la luz. El contenido en niacina está poco influenciado por la alimentación o tipo de raza; así mismo, esta vitamina es poco sensible a los tratamientos térmicos o a la acción de la luz.

Tabla 1.11 Cantidades medias de vitaminas aportadas por 200 mL de leche nativa (no tratada térmicamente)

Vitamina	en 200 mL	% de las CDR (*)
Vitamina A (retinol)	80 µg	10%
Vitamina D (ergocalciferol)	1 µg	20%
Vitamina E (tocoferol)	0,8 mg	8%
Vitamina B1 (tiamina)	0,1 mg	7%
Vitamina B2 (riboflavina)	0,3 mg	19%
Vitamina B3 (niacina)	0,2 mg	1%
Vitamina B6 (piridoxina)	0,1 mg	5%
Ácido pantoténico	0,7 mg	11%
Biotina	6 µg	4%
Vitamina B9 (ácido fólico)	0,6 µg	0,3%
Vitamina B12 (cianocobalamina)	1 µg	100%
Vitamina C (ácido ascórbico)	4 mg	7%

(*) CDR: cantidades diarias recomendadas según la Directiva 90/496/CEE

El contenido en vitamina B6 varía poco en función de la alimentación o del tipo de raza. Los tratamientos de pasteurización y esterilización UHT no modifican prácticamente el contenido en vitamina B6, pero la esterilización convencional la reduce en un 50% aproximadamente. Existen tres compuestos que presentan actividad biológica como vitamina B₆ (piridoxal, piridoxina y piridoxamina). En la leche nativa la forma predominante de vitamina B₆ es el piridoxal.

El contenido en ácido pantoténico no varía en función de la alimentación ni de los tratamientos térmicos aplicados.

El contenido en ácido fólico está algo condicionado por el tipo de alimentación, pero poco por los tratamientos térmicos aplicados.

El contenido en vitamina B12 está poco influenciado por el tipo de alimentación, pero los tratamientos térmicos aplicados sí condicionan el contenido en esta sustancia. Así, la esterilización UHT y

convencional determinan pérdidas del 10 y 90%, respectivamente, del contenido en vitamina B12 [FORD81].

El contenido en vitamina C no se ve influenciado por la alimentación, pero sí por el tiempo de almacenado de la leche cruda. Después de 36 horas de almacenado en frío se pueden constatar pérdidas del orden del 50-75%. Los tratamientos de pasteurización y esterilización UHT determinan pérdidas del orden del 10-25%, y la esterilización convencional puede determinar pérdidas del 50% en el contenido en vitamina C [FORD81].

1.4.8 Las proteínas

La tabla 1.12 indica el contenido en aminoácidos de las diferentes proteínas de la leche y la Tabla 1.13 muestra el contenido en aminoácidos esenciales de la proteína de la leche.

Tabla 1.12 Composición en aminoácidos de las principales proteínas de la leche (moles/mol de proteína)

	Caseína α s1 (*)	Caseína α s2 (**)	Caseína β (*)	κ (***)	β -Lactoglobulina (****)	α -Lactoglobulina (****)
Lisina	14	24	11	9	15	12
Histidina	5	3	5	3	2	3
Arginina	6	6	4	5	3	1
Ácido aspártico	7	4	4	4	11	9
Aspargina	8	14	5	7	5	12
Treonina	5	15	9	14	8	7
Serina	16	17	16	13	7	7
Ácido glutámico	24	25	18	12	16	8
Glutamina	15	15	21	14	9	5
Prolina	17	10	35	20	8	2
Glicina	9	2	5	2	3	6
Alanina	9	8	5	15	14	3
Valina	11	14	19	11	10	6
Cisteína	0	2	0	2	5	8
Metionina	5	4	6	2	4	1
Isoleucina	11	11	10	13	10	8
Leucina	17	13	22	8	22	13
Tirosina	10	12	4	9	4	4
Fenilalanina	8	6	9	4	4	4
Triptófano	2	2	1	1	2	4

(*) [RIBA73] (**) [BRIG77] (***) [MERC73] (****) [WHIT76]

Tabla 1.13 Composición en aminoácidos esenciales de la leche

<i>Aminoácido</i>	<i>en la proteína de leche (mg/g) (*)</i>	<i>media de necesidades (mg/kg masa corporal/día) (**)</i>
histidina	27	8-12
isoleucina	47	10
leucina	95	14
lisina	78	12
metionina+cisteína	33	13
fenilalanina+tirosina	102	14
treonina	44	7
triptofano	14	3,5
valina	64	10

(*) [FAOW90]

(**) [SCIE92]

La digestibilidad de las proteínas lácteas es del orden del 95%; y su grado de utilización proteica neta (UPN) similar al de la proteína del huevo y del orden del 85-90% (ver Tabla 1.14).

El proceso de esterilización convencional determina pérdidas del 6% en el valor biológico de la proteína láctea, pero no los tratamientos de pasteurización o esterilización UHT [FORD81].

Tabla 1.14 Calidad nutricional de la proteína de leche [RENN82]

<i>Digestibilidad (D)</i>	<i>Valor biológico (VB)</i>	<i>Utilización proteica neta (UPN)</i>	<i>Relación de eficiencia proteica (REP)</i>
95	91	87	3,1

En algunos quesos curados pueden encontrarse aminas aromáticas (histamina, tiamina) hasta niveles de 1g/kg, como consecuencia del proceso de degradación de las proteínas durante su afinado.

En las leches fermentadas se constata una mayor digestibilidad y absorción de las proteínas y una disminución de las reacciones de alergia a las mismas [BLAN81].

Definición de los parámetros descritos en la tabla 1.14

(D)	$\frac{\text{Nitrógeno absorbido}}{\text{Nitrógeno ingerido}} \times 100$
(VB)	$\frac{\text{Nitrógeno utilizado para la formación de tejido}}{\text{Nitrógeno absorbido}} \times 100$
(UPN)	$\frac{\text{Nitrógeno utilizado para la formación de tejido}}{\text{Nitrógeno ingerido}} \times 100$
(REP)	Incremento de peso (g) por g de proteína ingerido

1.4.9 Los minerales

Cabe destacar la ausencia (niveles inferiores a 1 mg/L) de nitratos y nitritos en la leche nativa; en el caso de determinados quesos puede detectarse la presencia de nitratos porque han sido incorporados para inhibir el desarrollo de los clostridios (hecho que debería quedar reflejado en la relación de ingredientes declarada en la etiqueta), o bien, proceden del agua utilizada en el lavado de la cuajada (en este caso los niveles no superarían los 5 mg/kg).

Los niveles de sodio son sensiblemente mayores en los quesos curados, como consecuencia de la incorporación de sal en los mismos. El nivel de sodio de los quesos oscila entre el 0,4-0,8%, pudiendo llegar a doblar estos valores en determinados quesos azules.

1.5 Transformación de la leche en los diferentes productos lácteos

En este apartado y a modo de introducción en el tema central del libro, se definirán los principales productos lácteos y se explicará qué componentes de la leche forman parte de ellos con el objetivo de evitar la confusión que, a menudo a nivel popular, existe al tratar de describirlos.

Los componentes más valiosos de la leche desde el punto de vista tecnológico son la grasa y la proteína. La separación y/o transformación de una u otra, así como la transformación de la lactosa en ácido láctico son los procesos que originan los diferentes productos lácteos tradicionales.

1.5.1 Por separación de la grasa

Nata

Concentrando los glóbulos grasos de la leche se obtiene la nata. La nata puede estar más o menos concentrada en grasa, normalmente entre un 12 y un 36 %, el resto del producto tiene la misma composición que la leche (ver Cap. 3).

Mantequilla

Se fabrica a partir de la nata. La grasa de la leche en la nata está formando una emulsión de grasa en agua (w/o), mediante la acción mecánica sobre la nata (batido) se provoca el cambio de emulsión a agua en grasa (o/w), como consecuencia la grasa se concentra y se elimina gran parte de la fase acuosa de la nata. La mantequilla contiene como mínimo un 80% de grasa de la leche (ver Cap. 8). El producto acuoso que se obtiene como subproducto en la elaboración de la mantequilla se denomina mazada y posee una composición muy parecida a la de la leche desnatada.

1.5.2 Por transformación y/o separación de la proteína

Leche fermentada (yogur)

Las caseínas de la leche, como consecuencia de la acidificación producida por la transformación de la lactosa en ácido láctico por parte de las bacterias lácticas, forman un gel débil que engloba la fase acuosa y grasa de la leche. Es decir, las leches fermentadas tienen una composición bastante similar a la leche (ver Cap. 6) a excepción de que una parte de la lactosa ha sido transformada en ácido láctico.

Cuajada

Las caseínas de la leche, al añadirles cuajo (enzima proteolítica), se transforman dando lugar a un gel sólido bastante consistente, que, a diferencia del anterior, está formado a partir de uniones entre micelas de caseína a través del calcio (ver Cap. 7). Igual que en el caso del yogur, esta estructura engloba la totalidad de la fase acuosa y grasa de la leche.

Queso

Para elaborar queso, se coagula la caseína de la leche, bien por fermentación con bacterias lácticas, bien por adición de cuajo o, más frecuentemente, con la ayuda complementaria de estas dos acciones. El gel así obtenido presenta una fuerte tendencia al fenómeno de la sinéresis y, por ello, exuda una parte importante (puede superar el 90% de su masa) de suero. El suero contiene fundamentalmente componentes solubles de la leche (agua, lactosa, proteína soluble y minerales solubles). El fenómeno de la sinéresis es conocido como *desuerado*. Si se consume a los pocos días, es un queso fresco. Si se deja madurar, dependiendo del tiempo de maduración, será un queso más o menos curado. Dado que la operación de desuerado ha eliminado una parte muy importante de agua, lactosa y minerales solubles, la composición del queso es principalmente rica en proteína y grasa. (ver Cap. 7).

Requesón

Es el producto obtenido del suero de quesería. El suero obtenido del proceso de elaboración del queso contiene, si la elaboración se ha realizado a partir de leche cruda, una cantidad notable de proteínas solubles. La acidificación de este suero y su calentamiento por enzima de 80°C determinan la

precipitación de estas proteínas formando unos pequeños agregados fuertemente hidratados. La reunión de estos agregados es el requesón. Es un producto especialmente rico en proteína.

Bibliografía

- [ALAI85] ALAIS, CH. *Ciencia de la leche*. Barcelona, Ed. Reverté S.A., 1985.
- [BLAN81] BLANC, B., *Valeur nutritionnel du yaourt aliment vivant*. Internatl. Symp. sur les effet nutritionnels de la flore digestive. Paris, 118-149, 1981.
- [BELI97] BELITZ, H.-D., GROSCH W. *Química de los Alimentos*, Zaragoza, Ed. Acribia, 1997.
- [BOZZ93] BOZZETTI, V., RAMPILI, M., GEURTS, T.G.E., VAN DEN BERG, J. A., REPULIUS, K. *Coagulando. Rassegna storica, scientifica e tecnologica sulla coagulazione del latte*. Casteggio (Pavia), Ed. Gist-brocades S.p.A., 1993.
- [BRIG77] BRIGNON, G., RIBADEAU-DUMAS, B., MERCIER, J.C., PELISIER, J.P. y DAS, B.C., *febs LETT*. 76: 274, 1977.
- [BRUN81] BRUNNER, J., "Cow milk proteins:twenty five years of progress", *J. Dairy Science*, 62, 323-331, 1981.
- [FAO90] FAO/WHO. *Expert consultation on protein quality evaluation*. Bethesda, USA, 1989. FAO Food and nutrition paper n° 51, Roma, 1990.
- [FIL03] FIL, "World Dairy Situation". *Bulletin FIL* n° 384, pág. 62-65, 2003.
- [FORD81] FORD, J.E., THOMPSON S.Y., "Valor nutritivo de la leche UHT", *Bulletin FIL* n° 133, 1981.
- [GURR88] GURR, M.I., "Nutritional significance of essential trace elements in dairy foods", *Doc. 222 FIL*, 18-23, 1988.
- [HORN98] HORNE, D.S. "Casein Interactions: Casting Light on the "Black boxes". The Structure in Dairy Products". *Int. Dairy Journal* 8, 171-177, 1998
- [IGAR94] IGARASHI, M., LIYAMA, Y., KATO, R., TOMITA, M., ASAMI, N. y EZAWA, I, "Effect of Bifidobacterium longum and lactulose on the strength of bone in ovariectomized osteoporosis model rats". *Bifidus* 7:139-147, 1994.
- [KUZD80] KUZDZAL, S., MANSON, W., MOORE, J., "The constituents of cows' milk", *Doc 12 FIL*, 4-13, 1980.

- [KUZD79] KUZDZAL, S., *Les lipides de lait*, CNRZ, Jouy-en-Josas, 74, 1979.
- [MERC73] MERCIER, J.C., RIBADEAU-DUMAS, B., GROSCLAUDE, F., *Neth. Milk Dairy J.* 27:313, 1973.
- [MIZO96] MIZOTA, T., "Funtional and nutritional foods containing bifidogenic factors", *Doc. 313 FIL*, p. 31-35, 1996.
- [PORT73] PORTER, J., "The role of milk and milk constituents in the human diet", *Doc. 125 FIL*, 1980.
- [RD94] REAL DECRETO 1679/1994, *Establece las condiciones sanitarias aplicables a la producción y comercialización de leche cruda, leche tratada térmicamente y productos lácteos*, BOE 24-9-1994.
- [RENN82] RENNER, E., *Milch und milchprodukten in der Ernährung des Menschen*. Verslag Th. Man. Hildesheim, 1982.
- [RIBA73] RIBADEAU-DUMAS, B., MERCIER, J.C. y GROSCLAUDE, F., *Neth. Milk Dairy J.*, 27:305, 1973.
- [SCIE92] SCIENTIFIC COMMITTE FOR FOOD. *Nutrient and energy intakes for the European Community*, 1992.
- [VEIS88] VEISSEYRE, R. *Lactología Técnica*. Zaragoza, Ed. Acribia, 1988
- [WALS87] WALSTRA, P., JENESS, R. *Química y Física Lactológica*. Zaragoza, Acribia, 1987
- [WALS99] WALSTRA, P., GEURTS, T.J., NOOMEN, A., JELLEMA, A., VAN BOEKEL, M.A.J.S. *Dairy Technology*. Ed. New York, Marcel Dekker Inc., 1999
- [WALS99] WALSTRA, P. "Casein sub-micelles: do they exist?". *International Dairy Journal* 9, 189-192. 1999.
- [WEEB72] WEBB, B., JOHNSON, A., *Fundamentals of dairy chemistry*, 1 vol., AVI, 1972.
- [WHIT76] WHITNEY, R., "Nomenclature of the proteins of cow's milk: four revision", *J. dairy Sci.* 795-815, 1976.
- [WOLF81] WOLFSCHOON-POMBO, A., KOLSTERMERYER, H., "The NPN fraction of cow's milk", *Milchwissenschaft* 36:598, 1981.

2 La calidad de la leche cruda

2.1 Factores que influyen en la calidad de la leche cruda

En primer lugar, conviene contextualizar al lector con el alcance del capítulo. Como ya sabrá, la calidad es el grado de satisfacción de las necesidades de los usuarios de un producto o de un servicio. En consecuencia, es fundamental definir los usuarios del producto para presentar los factores o atributos que determinan la calidad de éste. En el contexto en el que nos encontramos, el producto es la leche cruda y el usuario es la industria que la utiliza como materia prima y todos los demás sujetos que enlazan la misma con el consumidor final, incluido éste.

Definiremos como atributo de calidad toda característica, ligada a la leche cruda, que modifique su adecuación al uso (grado de satisfacción de las necesidades del usuario) y recordaremos que ni los usuarios ni sus necesidades son únicos (así, podremos ver que las necesidades de un quesero no tienen por que coincidir con la de una industria dedicada a la elaboración de leche UHT). A continuación, presentamos los principales atributos de calidad que determinan o condicionan la calidad de la leche cruda; corresponderá al lector establecer, en cada caso, el grado de importancia de los mismos.

2.1.1 Composición de la leche

Según cuál sea la composición de la leche, su adecuación al uso puede verse sensiblemente modificada. Así, por ejemplo: a una industria quesera no da el mismo rendimiento una leche con un bajo contenido en caseína que una que tenga un elevado contenido en caseína, o a una industria mantequera una leche con más o menos contenido en materia grasa. Los principales componentes de la leche que determinan su calidad son: la grasa, el extracto seco magro y la proteína. No obstante, en determinadas situaciones otros componentes minoritarios pueden ser fundamentales en la adecuación al uso de la leche, tal es el caso del contenido en beta-caroteno, en las leches destinadas a la elaboración de mantequilla (recuerde el lector que el beta-caroteno es el principal responsable del color de la mantequilla y que su contenido en la leche depende en gran medida del tipo de alimentación de la vaca). Dada la importancia de los alimentos funcionales, o simplemente ricos en determinados nutrientes, no es descartable que en el futuro la leche cruda naturalmente rica en determinados nutrientes o micronutrientes sea especialmente apreciada para la elaboración de determinados productos lácteos.

2.1.2 Características organolépticas

Las características organolépticas son un atributo de calidad fundamental en cualquier alimento. La presencia de sabores, olores, colores o texturas atípicas en la leche limita seriamente su adecuación al uso. El origen de estos defectos puede encontrarse en una inadecuada alimentación de la vaca, en una contaminación de la leche o en la alteración de la misma como consecuencia de una conservación deficiente. Parece lógico que las leches con defectos organolépticos posean una baja o nula adecuación al uso (calidad).

En el aspecto positivo, no se descarta que en el futuro las leches crudas destinadas a la elaboración de determinados productos lácteos deban poseer unas determinadas características organolépticas por encima de las que en la actualidad se califican meramente como típicas.

2.1.3 Conservabilidad

La leche como materia prima no es utilizada inmediatamente a su llegada a la industria, sino que es conservada, durante varias horas o varios días, hasta el momento de su utilización. Conviene, pues, que la leche pueda ser conservada sin problemas durante este período. Los principales factores que condicionan la conservabilidad de la leche son los siguientes:

2.1.3.1 Temperatura

La leche se conserva en condiciones óptimas a una temperatura comprendida entre 2 y 4 ° C. Si la leche es entregada a una temperatura entre 2 y 4° C, podrá ser almacenada para su conservación, sin necesidad de ningún tratamiento adicional. En caso de no ser así, la leche deberá ser enfriada antes de su almacenado, con el consiguiente coste que ello representará.

2.1.3.2 Contaminación

Como conoce el lector, la capacidad de almacenado de una leche no sólo depende de la temperatura, sino que también depende del grado de contaminación microbiana de la misma. Cuanto mayor sea la contaminación microbiana de la leche, menor será su capacidad o adecuación para ser almacenada. Dentro de la microbiota, conviene hacer especial mención a la microbiota psicrotrófica, que será la realmente responsable del deterioro de la leche durante su conservación en condiciones de refrigeración. En términos generales, se puede decir que: una leche con más de 10^6 microorganismos/mL es una leche en la que podemos encontrar ya signos, más o menos claros, de su deterioro irreversible como consecuencia de la actividad microbiana (metabolismo y catabolismo) que ha tenido lugar en la misma; una leche con 10^5 microorganismos/mL (de los cuales la mayor parte son microorganismos psicrotróficos) es una leche que posee una capacidad de conservación nula, dado que, a pesar de que se almacene a una temperatura adecuada, su microbiota rápidamente (en cuestión de horas) superará el nivel de 10^6 microorganismos/mL; por debajo de 10^4 o 10^3 microorganismos/mL, la conservabilidad de la leche dependerá de la temperatura de almacenado y de la cantidad y tipo de microorganismos psicrotróficos presentes en la misma.

2.1.3.3 Integridad de los glóbulos grasos

Como es bien conocido, la membrana del glóbulo graso protege a los triglicéridos de la acción de las lipasas presentes en la leche. Si la integridad de la membrana es destruida por determinadas agresiones mecánicas (agitación excesiva o demasiado lacerante, bombeo estresante, congelación por bajas

temperaturas en el tanque de refrigeración, etc.), o bien, presenta un defecto congénito, la materia grasa de la leche en cuestión se verá sometida a un proceso de lipólisis que comprometerá notablemente la calidad de la leche o la de los productos lácteos elaborados a partir de la leche en cuestión.

2.1.4 Contaminantes abióticos [FIL97]

Se entiende por contaminante toda sustancia impropia de un alimento y no adicionada intencionadamente que ha entrado en el mismo a través de su producción, elaboración, procesado, envasado, almacenado, transporte o contaminación ambiental, o de la de los ingredientes o envases que lo conforman. Dentro de este término no se incluyen las materias extrañas (insectos o fragmentos de los mismos, excrementos de roedores, metales, maderas, plásticos, etc.).

La presencia de contaminantes en la leche o en un producto lácteo es, en todos los casos, un elemento que disminuye su calidad (adecuación al uso). Esta disminución de calidad puede venir dada por causas objetivas (potencial riesgo para la salud) o por causas subjetivas (la mayor parte de los consumidores no aceptan la presencia de contaminantes en los alimentos, independientemente de su ausencia de toxicidad). En relación a las causas objetivas, conviene recordar algunos conceptos que nos ayudan a situar la peligrosidad de los contaminantes (recuerde el lector que no existen sustancias tóxicas, si no dosis tóxicas).

NEL (Non-EffectLevel)

Concentración del contaminante a la no se observa ningún tipo de efecto sobre los animales testados. Se expresa en miligramos por kilogramo de peso corporal o en miligramos por kilogramo de alimento suministrado.

ADI (Acceptable Daily Intake) o TDI (Tolerable Dail Intake)

Es la cantidad de contaminante que puede ingerirse sin ningún riesgo para la salud. El ADI o TDI se expresa en miligramos de contaminante por kilogramo de peso corporal y se calcula a partir del NEL aplicándole un factor de seguridad que normalmente es de 100, pero que en algunos casos es de 1000.

MRL (Maximum Residue Limit)

Es la máxima concentración del contaminante admisible en un alimento, sin que ello suponga un riesgo para la salud de los consumidores. Se expresa en miligramos por kilogramo de alimento y se calcula a partir de la ADI, teniendo en cuenta la ingesta normal del producto y que el consumidor puede estar ingiriendo, también, el contaminante a través de otros alimentos o del medio ambiente.

Los principales contaminantes que se pueden encontrar en la leche son:

2.1.4.1 Inhibidores de crecimiento microbiano

Dentro de este grupo de contaminantes se encuentran básicamente: antibióticos, sulfamidas y otras sustancias antimicrobianas y sus metabolitos. Su origen se encuentra en la fase de producción de la leche y puede venir a través del pienso utilizado en la alimentación o de los tratamientos veterinarios

aplicados a los animales. No obstante, el principal origen de estos contaminantes son los tratamientos veterinarios para curar la mamitis; también cabe resaltar que la mayor parte de antibióticos utilizados a dosis subterapéuticas no acostumbran a detectarse en la leche. Los principales problemas que puede generar la presencia de estos contaminantes es: inhibición de los fermentos lácticos responsables de la elaboración de los productos lácteos fermentados (yogurt, queso, etc.); la aparición de cepas de microorganismos patógenos resistentes a estos antibióticos; la aparición de reacciones de alergia a estas sustancias en los consumidores; desarreglos intestinales por verse afectada la flora intestinal.

En la tabla 2.1 se indican los principales inhibidores de crecimiento microbiano y los MRL establecidos en la Comunidad Europea (Reglamento CEE 2377/90 y modificación por el reglamento CEE 895/93).

Tabla 2.1 Principales inhibidores de crecimiento microbiano y su MRLs

<i>Inhibidor de crecimiento microbiano</i>	<i>MRL ($\mu\text{g}/\text{kg}$)</i>
<i>Penicilinas</i>	
Bencilpenicilina	4
Ampicilina	4
Amoxicilina	4
Oxacilina	30
Cloxacilina	30
Dicloxacilina	30
Penetamato	4
<i>Cefalosporinas</i>	
Ceftiofur	100
Cefquinona	20
Cefarina	20*
<i>Tetraciclinas</i>	
Tetraciclina	100
Oxitetraciclina	100
Clortetraciclina	100
<i>Macrolidos</i>	
Neo-espimaricina	200
Tilosina	50
Eritromicina	40
<i>Aminiglicósidos</i>	
Espectinomicina	200
Estreptomina	200
Dihidroestreptomina	200
Gentamicina	100
Neomicina	500

(continuación)

<i>Quinolonas</i>	
Marbofloxacin	75
<i>Polimixinas</i>	
Colistina	50
<i>Ansamicinas + anillo naftalénico</i>	
Rifaimina	60
<i>Sulfamidas</i>	
Sulfamidina	100
Sulfametoxina	
Sulfameracina	
Sulfatiazol	
Sulfadiazina	
<i>Diaminopirimidin derivados</i>	
Trimetroprim	50
Baquiloprim	30
<i>Nitrofuranos</i>	
	0
<i>Nitroimidazoles</i>	
Ronidazol	0
Dimetiazol	0
<i>Otros quimioterapéuticos</i>	
Dapsone	0
Cloranfenicol	0
Novoviocin	100*

(*) FDA

2.1.4.2 Parasiticidas

Son sustancias que presentan un efecto destructivo inhibitor de determinados parásitos, en función de su aplicación se diferencian en endoparasiticidas y ectoparasiticidas. Estas sustancias o sus metabolitos pueden encontrarse presentes en la leche de los animales tratados con ellas. La mayor parte de estas sustancias se consideran tóxicas para el hombre y los animales de sangre caliente.

Garantizar la ausencia de las mismas, y por lo tanto la protección del consumidor, pasa por la implantación de buenas prácticas veterinarias y agrícolas. Algunas de las normas básicas a tener en cuenta son:

- Aplicar los tratamientos solo cuando son necesarios y siempre bajo vigilancia y control veterinarios.
- Seguir las dosis y condiciones de tratamiento prescritos.
- Los tratamientos deben realizarse en locales separados de los dedicados al ordeño.

Algunos de los principales parasiticidas y sus MRL en la leche son los que aparecen en la tabla 2.2.

Tabla 2.2

<i>Parasiticida</i>	<i>MRLs en leche (en mg/kg)</i>
Febantel	0,01
Febendazol	0,01
Oxfendazol	0,01
Tiabendazol	0,1
Albendazol	0,1
Oxibendazol	0,05
Netobimin	0,1
Clorfenvinfos	0,008
Clorpirifos	0,01
Diazinon	0,02
Etion	0,02
Fention	0,05
Lindane	0,01
Triclorfon	0,05
Cihexamin	0,05
Fosmet	0,02
Cipermetrin	0,05
Amitraz	0,01
Azociclotin	0,05
Deltametrin	0,02
Bendiocarb	0,05
Foxim	0,05
Metopreno	0,05
Ciflutrin	0,01
Ciromazina	0,01

2.1.4.3 Hormonas

Las hormonas son sustancias naturales producidas por el organismo para activar o desactivar determinadas funciones del mismo. Determinadas hormonas o sustancias con actividad hormonal son utilizadas con finalidades de reproducción, fertilidad o producción. Su uso puede ser legal o no, según

las sustancias, los usos y los diferentes países. La mayor parte de ellas, desde el punto de vista de estructura química, son esteroides y péptidos.

La leche contiene algunas de las hormonas producidas de forma natural por el organismo. Entre ellas podemos encontrar: corticoides, estrógenos (estrón, estradiol), progestágenos (progesterona, 5- α -pregnadión), andrógenos (testosterona, 5- α -androstano-3,17-dión), GnRH, TRH, prostaglandina (PGF_{2 α}), insulina, hormona del crecimiento (GH), somatotropina, prolactina, hormonas de la tiroides (T₃, T₄), etc.

Los niveles máximos de hormonas naturales descritos en la leche son: esteroides (androstano-dión o estradiol) 400 μ g/l y prolactina 200 μ g/l. En la mantequilla, los niveles de las hormonas liposolubles como la progesterona y estrón pueden alcanzar niveles de 300 y 540 μ g/l, respectivamente.

Algunas hormonas son utilizadas legalmente como medicamentos, pero otras pueden ser utilizadas ilegalmente al objeto de aumentar el crecimiento. El uso clínico de algunas de estas hormonas, como es el caso del estradiol o la progesterona, no modifica sensiblemente sus niveles en la leche; en otros casos deben proseguirse los estudios para ver cuál es su incidencia sobre la leche.

2.1.4.4. Plaguicidas

En función de su utilización, los plaguicidas se pueden clasificar en: acaricidas, apicidas, fumigantes, funguicidas, herbicidas, insecticidas, reguladores del crecimiento de los insectos, larvicidas, molusquicidas, mitocidas, nematocidas, reguladores del crecimiento de las plantas, rodenticidas, repelentes, y sinérgicos.

Los plaguicidas usados en mayor cantidad son los herbicidas, seguidos de los funguicidas. La mayoría de los plaguicidas actuales están basados en las estructuras siguientes:

- Ésteres del ácido sulfúrico
- Ésteres del ácido carbámico
- Derivados de la urea
- C-N heterociclos
- Ácidos alifáticos con radicales cíclicos
- Piretrinas sintéticas
- Piretrinas
- Alcaloides como la nicotina
- Toxinas bacterianas

Los plaguicidas llegan a la leche y los productos lácteos a través de vías indirectas. No está autorizado ningún tratamiento directo de la leche o los productos lácteos con plaguicidas. La principal vía de llegada es a través del organismo de la vaca después de haber ingerido alimentos con residuos de plaguicidas; no obstante, la utilización de plaguicidas en los pastos no es habitual. Los plaguicidas actuales se metabolizan rápidamente y no se acumulan en los tejidos grasos. Esta situación es totalmente distinta a la de los antiguos plaguicidas organoclorados (HCB, isómeros de HCH, DDT,

dieltrin, heptacloroepóxido y chlordane), que se acumulaban en los tejidos grasos o en la grasa de la leche. Solo una muy pequeña proporción (entre 0 y 5%) de la dosis ingerida por la vaca de los actuales plaguicidas es eliminada a través de alguna de las dos fases de la leche, el resto es metabolizado por la vaca o eliminado a través de la orina o las heces. En la práctica, es muy poco frecuente encontrar leche o productos lácteos con residuos de plaguicidas por encima de los MRL establecidos.

Las principales recomendaciones a seguir para asegurar la ausencia de plaguicidas en la leche y los productos lácteos son:

- Utilizar los plaguicidas siguiendo las indicaciones que figuran en las etiquetas de los mismos y, en ningún caso, utilizar plaguicidas no autorizados para el uso en cuestión.
- Seguir los principios de las buenas prácticas agrícolas.
- Respetar las cuarentenas de uso de los pastos después de los tratamientos.
- Los pastos no deben estar situados a sotavento de parcelas de cultivo tratadas con plaguicidas.
- Los tratamientos antiparásitos de los animales deben ser llevados a cabo bajo control veterinario.
- Los establecimientos de procesado y almacenado de leche y producto lácteos deben estar diseñados de forma que se garantice la no contaminación con plaguicidas.
- No deben almacenarse plaguicidas en este tipo de establecimientos. En caso de ser estrictamente necesario, este almacenamiento, al igual que su uso, debe realizarse en condiciones totalmente seguras.

En la tabla 2.3 se indican los MRL de los residuos de plaguicidas en leche y productos lácteos definidos por la FAO/WHO en 1996.

Tabla 2.3

<i>Pesticida</i>	<i>MRL (mg/kg)</i>
Abamectine	0,005
Acephate	0,1
Aldicard	0,01
Aldrin	0,006
Amitraz	0,01
Anilazin	0,01
Azocyclotin	0,05
Bendiocarb	0,05
Bentazone	0,05
Bifenthrin	0,05
Carbaryl	0,1
Carbendazim	0,1
Carbofuran	0,05
Chinomethionate	0,01
Chlordane	0,002
Chlorfenvinphos	0,008
Chlormequat	0,1

(continuación)

Etil-Chlorpyriphos	0,01
Metil-Chlorpyriphos	0,01
Clofentezin	0,01
Cyfluthrin	0,01
Cyhexatin	0,05
Cypermethrin	0,05
Cyromazin	0,01
2,4-dichlorophenoxy butírico	0,05
DDT	0,05
Deltamethrin	0,02
Diazinon	0,02
Dichlorvos	0,02
Dicofol	0,05
Dieldrin	0,006
Diflubenzuron	0,05
Dimethipin	0,02
Diquat-bromuro	0,01
Disulfoton	0,02
Dithiocarbamatos	0,05
Edifenfos	0,01
Endosulfan	0,004
Endrin	0,0008
Ethiofencarb	0,02
Ethion	0,02
Etrimfos	0,01
Oxido de fenbutatin	0,02
Fenitrothion	0,002
Fenpropathrin	0,1
Fenthion	0,05
Fenvalerato	0,1
Flusilazol	0,01
Glyphosate	0,1
Heptachlor	0,006
Isofenphos	0,01
Lindane	0,01
Mecarbam	0,01
Methacrifos	0,01
Methamidophos	0,01
Methidathion	0,0008
Methiocarb	0,05
Methomyl	0,02
Methopreno	0,05
Monocrotophos	0,002
Myclobutanil	0,01
Metil-paraoxon	0,01
Dicloro-paraquat	0,01
Penconazol	0,01
Permethrin	0,1
Phenthoato	0,01
Phorate	0,05
Phosmet	0,02

(continuación)

Phoxim	0,05
Pirimicarb	0,05
Metil-pirimiphos	0,05
Prochloraz	0,1
Profenofos	0,01
Propargite	0,1
Propiconazole	0,01
Propoxur	0,05
2,4,5-triclorophonoxi acético	0,05
Terbuphos	0,01
Thiabendazol	0,1
Triadimefon	0,1
Triadimenol	0,01
Triazophos	0,01
Trichlorfon	0,05
Vinclozolin	0,05

2.1.4.5 Metales pesados y otros elementos traza

La leche puede contener de forma natural, o como consecuencia de una contaminación no deseada, una serie de elementos minerales en muy pequeñas concentraciones. En función de su presencia, habitual o no, y de su incidencia sobre la salud, se pueden clasificar en:

- a) *Normalmente presentes en la leche y nutricionalmente esenciales:* hierro, yodo, cobalto, cobre, flúor, cromo, selenio, manganeso, molibdeno y zinc.
- b) *Normalmente presentes en la leche y de función poco conocida:* aluminio, arsénico, bromo, cadmio, oro, níquel, silicio, titanio, uranio y vanadio.
- c) *No habituales en la leche y de función desconocida en el organismo:* boro, litio, rubidio, estroncio, bario, cesio, plata y bismuto.
- d) *No habituales en la leche y tóxicos a cualquier dosis:* plomo y mercurio.

El plomo y el mercurio se consideran tóxicos a cualquier dosis por que son acumulados por el organismo, los demás elementos citados son tóxicos por encima de un determinado nivel. La vía de llegada de estos elementos a la leche puede ser a través de la glándula mamaria o indirectamente a través de las superficies o el aire en contacto la leche. El origen de los elementos que llegan a través de la primera vía hay que buscarlo en la alimentación de la vaca y a su vez, muchas veces, en la contaminación del suelo en donde crecen los pastos.

En el caso de los elementos presentes en la alimentación del ganado, su asimilabilidad depende notablemente de la forma en la que se encuentren; así, las sales minerales de estos compuestos son muy poco asimilables (menos del 10% de la cantidad ingerida es asimilada); pero este no es el caso de los compuestos orgánicos o de los quelatos que contienen estos elementos, que presentan un porcentaje de asimilación notablemente superior.

Gracias a su baja asimilabilidad, los niveles de la mayoría de estos elementos son muy bajos en la leche. Los niveles de estos contaminantes que pueden considerarse normales en la leche son los que se indican en la tabla 2.4.

Tabla 2.4.

<i>Elemento</i>	<i>Nivel en µg/l</i>
Plomo	0-20
Cadmio	0,05-0,08
Mercurio	0,05-1,5
Zinc	200-500
Hierro	30-70
Cobre	2-30
Selenio	4-5
Molibdeno	2-6
Cromo	1-4
Níquel	0,4-6
Manganeso	1-4
Cobalto	0,05-0,2

Las principales recomendaciones para asegurar la no contaminación de la leche y los productos lácteos con este tipo de productos son:

- Asegurar que la producción de pastos se realiza sobre suelos no contaminados.
- Controlar que los alimentos y complementos alimentarios dados a los animales no están contaminados con este tipo de elementos.
- Garantizar el diseño higiénico de locales, equipos e instalaciones relacionados con la leche y los productos lácteos.

2.1.4.6 Nitratos, nitritos y nitrosaminas

Los nitratos (NO_3^-) y nitritos (NO_2^-) son aniones ampliamente presentes tanto en los substratos bióticos como abióticos. Las nitrosaminas son sustancias orgánicas que poseen una estructura del tipo $\text{R}_1, \text{R}_2=\text{N}-\text{N}=\text{O}$, en las que R_1 y R_2 son radicales del tipo: metil, etil, iso-propil, n-propil, piperidina o pirrolidina.

Las nitrosaminas volátiles de cadena corta han sido descritas como carcinogénicas en numerosas especies y se pueden generar a partir de los nitritos en el ambiente gástrico de los mamíferos.

El contenido habitual de nitratos en la leche nativa es inferior a 1 mg/kg, aunque algunos autores han descrito algunos casos en que el nivel puede alcanzar los 12 mg/kg. En la leche nativa no se encuentran ni nitritos ni nitrosaminas.

El origen de la presencia de nitratos, nitritos o nitrosaminas en la leche y los productos lácteos puede ser debida a:

- Contaminación a partir del agua de enjuagado (en algunas zonas el agua puede contener cantidades elevadas de nitratos)
- Contaminación a partir de los detergentes utilizados en la limpieza de los equipos (algunos detergentes contienen elevadas cantidades de nitratos)
- Contaminación a partir de residuos de medicamentos veterinarios (algunos medicamentos pueden contener precursores de nitrofuranos: aminophenazonas, piperazina, ephedrina)
- Utilización de nitrato potásico como conservante en determinados quesos
- Actividad microbiana (algunos microorganismos pueden transformar los nitratos en nitritos)

2.1.4.7 Micotoxinas

Las micotoxinas son metabolitos producidos por mohos que pueden provocar cambios patológicos en el hombre y los animales.

Las micotoxinas presentes en la leche y los productos lácteos preferentemente pueden tener dos orígenes:

- Contaminación indirecta: la vaca ingiere alimentos que contienen micotoxinas y elimina una parte de ésta o sus metabolitos a través de la leche (este es el caso de la aflatoxina M₁ o M₂, que procede de la ingestión, por parte de la vaca, de alimentos contaminados con aflatoxina B₁ o B₂, respectivamente).
- Contaminación directa: el desarrollo sobre la leche o los productos lácteos de mohos capaces de producir micotoxinas.

Las principales aflatoxinas potencialmente asociadas con la leche y los productos lácteos son:

- Aflatoxina M₁ y M₂: Son los 4-hidroxiderivados de las aflatoxinas B₁ y B₂, respectivamente. La aflatoxina es una toxina producida por el moho *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* al crecer sobre algunos de los alimentos o ingredientes de los mismos, a partir de los que se alimenta la vaca. La vaca transforma una parte de la aflatoxina B ingerida en su derivado hidroxilado y lo elimina a través de la leche. A las 12-24 horas de la ingestión de aflatoxina B, por parte de la vaca, ya se empieza a detectar presencia de aflatoxina M en la leche producida. La aflatoxina M desaparece de la leche a los 2-4 días de finalizada la ingestión de aflatoxina B por parte de la vaca. Se estima que entre el 1-3% de la aflatoxina B ingerida es eliminada en forma de aflatoxina M. En el caso de leche contaminada con aflatoxina M, se observa que el 40-60% de la misma pasa al queso elaborado al partir de esta leche y solo el 2% de la misma pasa a la mantequilla obtenida a partir de la leche en cuestión. La aflatoxina B ha sido identificada como un carcinogénico en animales y humanos. La aflatoxina M ha sido identificada como carcinogénico en animales, pero se necesitan más evidencias sobre su toxicidad sobre humanos.

- Esterigmatocistina: Es una micotoxina, de estructura parecida a la de aflatoxina, producida por el *Aspergillus versicolor* que puede encontrarse como contaminante en determinados quesos.
- Ocratoxina A, ácido penicilico, patulina, ácido micofenolico, roquefortina y ácido ciclopiazoico: Son toxinas que pueden ser producidas por algunos de los mohos presentes o contaminantes de la superficie de determinados quesos, como es el caso de los *Penicillium*. No obstante, en condiciones normales de maduración y conservación, los niveles de estas micotoxinas en queso son indetectables o muy bajos.

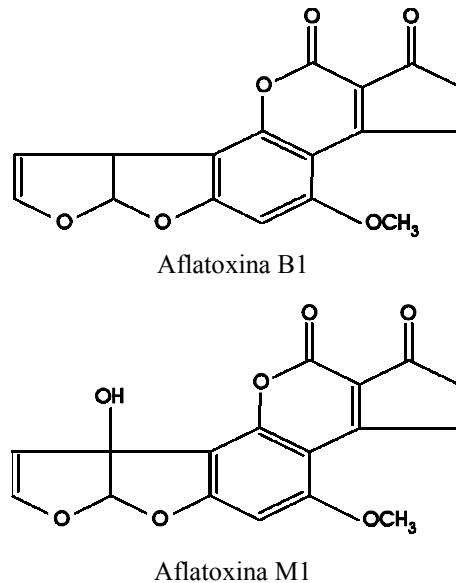


Fig. 2.1 Estructura de las aflatoxinas M_1 y B_1

2.1.4.8 Bifenilopoliclorados (PCB)

Son sustancias constituidas por una estructura bifenilica en la que entre uno y diez átomos de hidrógeno han sido substituidos por cloro. Su estructura molecular se indica en la figura 2.2.

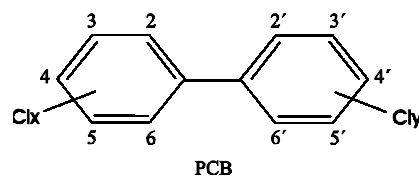


Fig. 2.2 Estructura de los PCBs

Los PCB fueron sintetizados en 1877 y su producción industrial se inició en 1929. Su elevada estabilidad química, baja solubilidad en agua, baja inflamabilidad y elevadas propiedades aislantes

hizo de estas sustancias óptimas para ser utilizadas en numerosas aplicaciones como fluidos calefactores, retardantes de inflamación, lubricantes, aceites hidráulicos, pinturas resistentes a la humedad, papel autocopiativo, etc.

Entre los años 1960 empezó a detectarse la presencia de este tipo de compuestos en todos los ecosistemas de la tierra y a tomarse conciencia de su peligrosidad y de su larga persistencia en el medio asociada a la dificultad de su degradación (su vida media se estima entre 2 y 18 años). Esta nueva percepción de la incidencia sobre el entorno de este tipo de sustancias llevó primero a la prohibición de su uso en sistemas abiertos y, más tarde, también en sistemas cerrados.

Los PCB más representativos o habituales del impacto que supone la contaminación por parte de estas sustancias son los que se indican a continuación: PCB 28 (2, 4, 4' triclorobifenilo), PCB 52 (2, 2', 5, 5' tetraclorobifenilo), PCB 101 (2, 2', 4, 5, 5' pentaclorodifenilo), PCB 118 (2, 3', 4, 4', 5 pentaclorobifenilo), PCB 138 (2, 2', 3, 4, 4', 5' hexaclorobifenilo), PCB 153 (2, 2', 4, 4', 5, 5' hexaclorobifenilo) y PCB 180 (2, 2', 3, 4, 4', 5, 5' heptaclorobifenilo). En algunos casos se utiliza únicamente el PCB 153 como indicador del grado de contaminación.

Todos los PCB son tóxicos, pero su toxicidad varía notablemente de unas moléculas a otras. Por fortuna las más habituales son las menos tóxicas. Su toxicidad es netamente inferior que el de las dioxinas. El PCB 118, el más tóxico de los considerados indicadores, es 10.000 veces menos tóxico que la dioxina 2,3,7,8 TCDD (tetraclorodibenzodioxina).

Las principales fuentes de contaminación de la leche con PCB son:

- La contaminación general del entorno y fundamentalmente de los alimentos del ganado (se estima en 1 µg/kg de materia seca)
- Contaminación a partir de fuentes de contaminación elevadas asociadas a violaciones de las actuales leyes que prohíben el uso de este tipo de productos y regulan la forma de destrucción en las instalaciones antiguas

La contaminación de los vegetales se produce fundamentalmente a través del contacto con aire contaminado con PCB, dado que el fuerte carácter hidrofóbico de estos compuestos hace que la absorción radicular de los mismos sea prácticamente nula. El principal reservorio de PCB es el tejido graso de los animales, en especial de los que viven en un entorno contaminado o se han alimentado con alimentos contaminados con estas sustancias.

La contaminación con PCB de la leche ha descendido en más de 1000 veces desde los años 70 hasta la actualidad, gracias a la prohibición del uso de este tipo de sustancias en todo el mundo. Los niveles de PCB en las leches actuales puede encontrarse entre 1 y 5 µg/kg de materia grasa.

Las principales medidas preventivas para controlar el nivel de este contaminante en la leche son:

- No implantar granjas, pastos o cultivos de forrajes en zonas con elevada contaminación de PCB.
- Asegurar la ausencia de elementos contaminados con PCB en las áreas de producción lechera y, muy especialmente, en los alimentos destinados a la alimentación de las vacas.

- Garantizar que todos los lubricantes, juntas y sellantes utilizados en las áreas de producción lechera están libres de PCB.
- Continuar profundizando en la política, a nivel mundial, de no utilización de este tipo de sustancias, así como asegurando la destrucción segura de los substratos o sistemas que las contienen.

2.1.4.9 Dibenzodioxinas policloradas PCDD (dioxinas) y dibenzofuranos policlorados (PCDF)

La estructura molecular de estos compuestos es la que se indica a continuación:

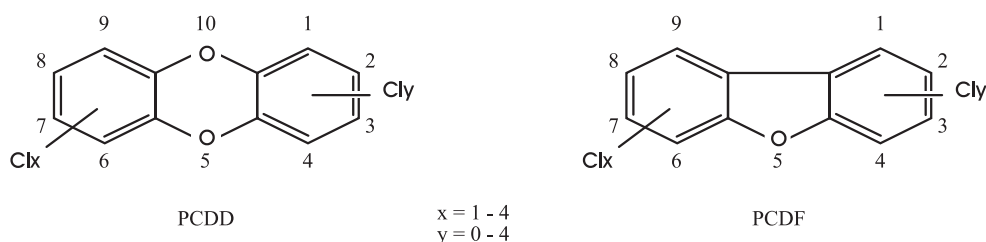


Fig. 2.3 Estructura de las dibenzodioxinas policloradas y de los dibenzofuranos policlorados

Existen 75 compuestos distintos de dioxinas y 135 de dibenzofuranos policlorados, en función de la posición y el grado de cloración. Al conjunto de este tipo de sustancias se le denomina con las siglas (PCDD/F). El más conocido y tóxico de todos ellos es la 2,3,7,8 TCDD (tetraclorodibenzodioxina), conocido popularmente con el nombre de “dioxina” o “dioxina de Sebeso”. La toxicidad de estos compuestos varía notablemente de unos a otros, el coeficiente que relaciona la toxicidad de cada uno de ellos con la del 2,3,7,8 TCDD se denomina TEF (*toxicity equivalency factor*). Normalmente la toxicidad global de todos ellos se expresa en forma de TEQ (concentración de PCDD tóxica equivalente) que corresponde a la suma de las concentraciones de cada uno de las dibenzodioxinas policloradas y dibenzofuranos policlorados (PCDD/F), previamente multiplicada por su correspondiente TEF.

Todas estas sustancias no se usan de forma directa e intencionada, sino que aparecen como consecuencia de determinadas actividades humanas (incineración de residuos que contienen elementos clorados, vehículos que funcionan con gasolinas con plomo, combustión de combustibles fósiles que contienen elementos clorados) y naturales (incendios). A partir de su generación en procesos de combustión son repartidas ampliamente en el medio natural a través del aire. Alguno de estos compuestos son altamente estables, poseen una presión de vapor extremadamente baja y son insolubles en agua, lo cual hace que se acumulen en determinados reservorios grasos de los animales. Su origen en la leche hay que buscarlo en la contaminación del forraje a partir de las emisiones aéreas y su paso a la vaca a través de la ingestión de este forraje y su eliminación parcial a través de la grasa de la leche. La contaminación media de la leche en PCDD/F es del orden de 0,2- 8 pg TEQ/ g de grasa de leche, según la leche proceda de zonas sin emisiones o con elevados niveles de emisión (zonas industriales o muy pobladas). El compuesto que se encuentra con más frecuencia y que llega a representar el 50% del TEQ en la leche es el 2,3,4,7,8 PeCDF; los otros compuestos que conforman

significativamente el TEQ de la leche son: 2,3,7,8 TCDD; 1,2,3,7,8 PeCDD/F; y 2,3,4,6,7,8 HxCDD/F.

2.1.4.10 Detergentes y desinfectantes

Las operaciones de limpieza y desinfección son una constante en todas las superficies en contacto con la leche. Si estas operaciones no se llevan a cabo adecuadamente, pueden quedar restos de los productos de limpieza y desinfección utilizados, o de derivados de los mismos, que pasarán a la leche cuando entre en contacto con estas superficies. La contaminación de la leche con este tipo de sustancias puede darse, fundamentalmente, por malas prácticas de limpieza y desinfección o por accidentes. En el primer caso, las normas básicas a tomar en consideración son:

- Utilizar detergentes y desinfectantes no tóxicos a bajas dosis.
- Enjuagar adecuadamente la instalación con agua potable antes de su utilización.
- Utilizar estos productos siguiendo un proceso previamente estudiado, definido y validado (asegurando que no pasan restos a la leche).

En el segundo caso, hay que implementar, documentar y verificar las medidas de protección adecuadas para garantizar que no es posible que por causas accidentales la leche llegue a contaminarse con productos de limpieza y desinfección. Algunas de las medidas a tomar en este sentido son:

- Almacenado de los productos en lugar separado y seguro.
- Manipulación de los detergentes y desinfectantes por personas que han recibido una formación adecuada y específica para el manejo de los mismos, que incluya un apartado de seguridad alimentaria.
- Manipulación de los detergentes y desinfectantes en condiciones de que todo vertido o salpicadura accidental no pueda ocasionar ninguna contaminación de la leche.
- Introducción de dispositivos de seguridad que hagan imposible que las soluciones detergentes y desinfectantes puedan ir a parar a depósitos o tuberías que están conteniendo producto.
- Introducción de dispositivos de seguridad que hagan imposible la contaminación del producto a partir de válvulas o grifos mal posicionados o que no cierran herméticamente.

Los principales productos utilizados como detergentes o desinfectantes en la industria láctea son: hidróxido sódico; carbonato y bicarbonato sódicos; fosfatos de sodio; silicatos de sodio; hidróxido potásico; hidróxido amónico; ácido nítrico; ácido sulfúrico; ácido fosfórico; ácido fórmico; ácido acético; ácido tartárico; ácido cítrico; ácido sulfámico; ácido glucónico; alquil-benzoensulfonato sódico; alquil- sulfato sódico; oxietilen-sulfato; alcanoles-etoxilados; amonios cuaternarios; ácidos alquil-aminoalcanoicos; EDTA; NTA; dicloro-dimetil-hidantoina; dicloro-isocianurato sódico; ácido peracético; cloruro de benzalconio; bromuro de n-hexadecil trimetil amonio; yodo y compuestos iodados; hipoclorito sódico; cloramina T; cloramina B; biguanidinas; etc.

2.2 Legislación relativa a la calidad de la leche. El Real Decreto 1679/94

La normativa legal actual en el Estado Español referida a la producción y comercialización de leche y productos lácteos en general está recogida en el Real Decreto 1679/94 y en las modificaciones posteriores recogidas en el Real Decreto 402/96. Esta normativa es la transposición de las Directivas Europeas 92/46/CEE y 94/71/CE, respectivamente, que son de obligado cumplimiento en todo el territorio de la Comunidad Europea. En este apartado se expondrán los aspectos, a nuestro entender, más importantes referidos a la calidad de la leche.

Dicha normativa “establece las normas sanitarias aplicables a la producción y comercialización de leche cruda, leche de consumo tratada térmicamente, leche destinada a la elaboración de productos lácteos y productos lácteos destinados al consumo humano”.

En ella se establecen desde normas que contemplan la higiene y los controles veterinarios en la granja y los animales de producción hasta los requisitos de comercialización, almacenado y transporte de la leche y los productos lácteos.

Sobre los establecimientos de tratamiento y de transformación, es decir, las industrias lácteas, dice que se tomarán todas las medidas necesarias para que en todas las fases de la producción se cumplan las condiciones sanitarias establecidas en la normativa. En el artículo 14 establece que las industrias deberán:

- Instaurar y mantener un sistema continuado de control, basado en la metodología de análisis de riesgos y control de puntos críticos.
- La empresa será responsable de la organización y puesta en práctica de un programa de formación continuada del personal para que este último pueda cumplir las condiciones de producción higiénica, adaptadas a la estructura de producción.

En el artículo 15 se establecen los planes de búsqueda y control para detectar los residuos de antibióticos, sulfamidas, hormonas, plaguicidas, detergentes y otras sustancias nocivas. Más adelante, en el punto 5 del anexo A, dice que no podrá destinarse al consumo humano la leche cuyo contenido en residuos de sustancias farmacológicamente activas supere los niveles autorizados para cualquiera de las sustancias contempladas en la normativa europea recogida en el reglamento europeo (CEE) 2377/90 y (CEE) 895/93.

En el Anexo A, capítulo I, se establecen las disposiciones de sanidad animal aplicables a la leche cruda. El capítulo II trata de la higiene de la explotación, el III de la higiene del ordeño, de la recogida de la leche cruda y de su transporte al centro de recogida o a la industria láctea y sobre la higiene del personal. El capítulo IV se especifican las normas microbiológicas y de contenido en células somáticas que deberán respetarse en el momento de la recogida de la leche cruda en la explotación de producción o en el momento de la recepción de la leche cruda en la industria láctea. Seguidamente se especifican dichas normas.

Normas microbiológicas de la leche cruda según el R.D. 1679/1994 y 402/1996

VACA: Leche cruda de vaca destinada a la producción de leche de consumo tratada térmicamente, leche fermentada, cuajada, gelificada o aromatizada y de natas, cumplirá las siguientes normas:

<i>Contenido en gérmenes a 30°C por mL</i>	<i>Contenido en células somáticas por mL</i>
<100.000	<400.000
Media geométrica observada durante un período de dos meses, con dos muestras al menos al mes.	Media geométrica observada durante un período de tres meses, con una muestra al menos al mes.

La leche cruda de vaca destinada a la elaboración de productos a base de leche cruda cuyo proceso de elaboración no incluya ningún tratamiento térmico, cumplirá la norma anterior y además la siguiente norma:

Staphylococcus aureus (por ml): $n=5$ $m=500$ $M=2000$ $c=2$ ¹

BÚFALA: Leche cruda de búfala destinada a la producción de leche de consumo tratada térmicamente o a la fabricación de productos lácteos con leche tratada por calor:

<i>Contenido en gérmenes a 30°C por mL</i>	<i>Contenido en células somáticas por mL</i>
<1.500.000	<500.000
Media geométrica observada durante un período de dos meses, con dos muestras al menos al mes.	Media geométrica observada durante un período de tres meses, con una muestra al menos al mes.

Si está destinada a la elaboración de productos a base de leche cruda, el proceso de elaboración de los cuales no incluya ningún tratamiento térmico, cumplirá la siguiente norma:

<i>Contenido en gérmenes a 30°C por mL</i>	<i>Contenido en células somáticas por mL</i>
<500.000	<400.000
Media geométrica observada durante un período de dos meses, con dos muestras al menos al mes.	Media geométrica observada durante un período de tres meses, con una muestra al menos al mes.

Staphylococcus aureus: la misma norma que para la leche de vaca.

CABRA Y OVEJA: Si está destinada a la producción de leche de consumo tratada térmicamente o a la fabricación de productos lácteos con leche tratada por calor:

<i>Contenido en gérmenes a 30°C por mL</i>
<1.500.000
Media geométrica observada durante un período de dos meses, con dos muestras al menos al mes.

¹

n = número de unidades de que se compone la muestra
 m = valor umbral del número de bacterias. El resultado se considera satisfactorio si todas las unidades de que se compone la muestra tienen un valor menor o igual a m
 M = valor límite del número de bacterias. El resultado se considerará no satisfactorio si una o varias unidades, de las que componen la muestra, tienen un número de bacterias igual o mayor que M .
 c = número máximo de unidades de la muestra, que pueden tener un número de bacterias situado entre m y M . La muestra seguirá considerándose aceptable si el resto de unidades de que se compone la muestra tienen un número de bacterias menor o igual a m .

Si está destinada a la elaboración de productos a base de leche cruda cuyo proceso de elaboración no incluya ningún tratamiento térmico, cumplirá la siguiente norma:

<i>Contenido en gérmenes a 30°C por mL</i>
<500.000
Media geométrica observada durante un período de dos meses, con dos muestras al menos al mes

Staphylococcus aureus: la misma norma que para la leche de vaca.

En el anexo C, capítulo I, se establecen los requisitos relativos a la elaboración de la leche tratada térmicamente y de los productos lácteos, y en el capítulo II los criterios microbiológicos aplicables a los productos lácteos y la leche de consumo.

El Real Decreto 402/94 contempla modificaciones puntuales de diferentes aspectos del RD 1679/92, las más importantes son las que se refieren los criterios microbiológicos de la leche de búfala, de cabra y de oveja, que hubo que hacerlos menos estrictos porque no se podían cumplir.

Como en materia de seguridad alimentaria las competencias entre el Estado y las Comunidades Autónomas son concurrentes, en Cataluña la normativa sobre la calidad y el control de la leche se ha establecido en el Decreto 221/2001 publicado en el DOG (Diari Oficial de la Generalitat) el 1 de agosto de 2001, en el que se especifican las normas para el control y mejora de la calidad de la leche cruda de vaca producida, tratada o transformada en Cataluña, con el objetivo de establecer las normas aplicables al conjunto de las actuaciones que se han de realizar para promover la mejora de la calidad de la leche, para verificar que la leche cruda de vaca que se destine al consumo directo, a la elaboración de productos lácteos o a la leche de consumo tratada térmicamente cumpla las condiciones de calidad fijadas por la normativa estatal y comunitaria y para promover la mejora integral de las explotaciones lecheras de Cataluña mediante la adopción de planes colectivos, que juntamente con los llevados a término por la administración constituyen el Plan de mejora de la calidad de la leche en Cataluña.

2.3 El pago de la leche por calidad

2.3.1 Sistemas de pago por calidad

Se denominará sistema de pago por calidad a aquel sistema que contemple los principales atributos que determinan la calidad de una leche y no deberían llevar este nombre aquellos sistemas que solo consideran una parte de estos atributos. Así, por ejemplo, un sistema de pago que contemplase solo el contenido proteico de una leche debería recibir el nombre de *sistema de pago de la leche por proteína* y no sistema de pago de la leche por calidad, ya que, como se ha expuesto anteriormente, el concepto de calidad de la leche contempla muchos más atributos.

El establecimiento de un precio para cualquier bien o servicio es una constante en todas las transacciones de los países en los que rige un mercado de libre oferta y demanda. La leche no escapa a esta realidad y, como consecuencia de su peculiar coyuntura de mercado, los distintos países han ido elaborando a lo largo de la historia una serie de disposiciones que facilitan la relación de compra-venta

entre ganaderos y centrales lecheras. A estas disposiciones se las conoce normalmente con el nombre de sistemas de pago por calidad.

En el sistema de pago por calidad, los parámetros a evaluar están establecidos por un lado por los requisitos a los que obliga la administración, que son para asegurar la higiene de la leche y para evitar el fraude, y por otro los parámetros de la leche que las industrias consideran especialmente relevantes para conseguir los objetivos de calidad fijados para sus productos. Así, en el caso de la leche, los parámetros de obligatorio cumplimiento por la normativa son:

- Número de microorganismos aerobios totales a 30°C por mL
- Número de células somáticas por mL
- Ausencia de sustancias inhibidoras del crecimiento microbiano y otras sustancias nocivas
- Prohibición de la adición de agua

Por parte de la industria, los parámetros que se suelen primar son:

- El contenido en proteína
- El contenido en grasa

Y en algunas industrias queseras

- El número de clostridios butíricos

El precio de la leche y las primas o penalizaciones en función del valor de los diferentes parámetros lo establecen directamente las industrias con los ganaderos y es fruto de las negociaciones particulares, aunque los precios que se pagan a unos u otros no suelen variar mucho. Lo que es muy importante es la fiabilidad del análisis de los diferentes parámetros, ya que es este resultado el que decide el precio a pagar por la industria y el dinero a cobrar por el productor.

Desde hace ya bastantes años, en Europa funcionan los laboratorios interprofesionales de la leche, que normalmente son de ámbito regional, y son los que realizan los análisis de la leche para el pago por calidad.

En España funcionan los laboratorios interprofesionales por comunidades autónomas, aunque no todas tienen laboratorio interprofesional, solo en las que se produce suficiente cantidad de leche. En Cataluña, el Laboratori Interprofessional Lleter de Catalunya funciona desde el año 1993. El artículo 8 del Decreto 221/2001 de la Generalitat dice que “con la finalidad de garantizar la homogeneidad y la fiabilidad de los resultados, los análisis de las muestras recogidas en las explotaciones lecheras de Catalunya se harán en el Laboratori Interprofessional Lleter de Catalunya, sin perjuicio de que la Dirección General de Producción Agraria y Innovación Rural pueda autorizar la realización de las analíticas a otros laboratorios que dispongan del equipamiento, la acreditación oficial de las técnicas, la fiabilidad y la independencia requeridos”.

El funcionamiento de los diferentes laboratorios interprofesionales lecheros es bastante parecido, en el apartado siguiente se explicará el del laboratorio interprofesional lechero de Catalunya de la Associació LLetera Interprofessional de Catalunya (ALLIC).

2.3.2 El Laboratorio Interprofesional Lechero de Cataluña

2.3.2.1 Antecedentes

El 26 de enero de 1988, el sector lechero (ganaderos e industriales) de Cataluña firmó un acuerdo interprofesional que tenía entre otros objetivos la creación de un Laboratorio Interprofesional Lechero.

En el año 1993, el Departament d'Agricultura Ramaderia i Pesca (DARP) de la Generalitat de Catalunya incluyó dentro de los presupuestos una partida correspondiente a este concepto aportando la maquinaria y el local necesarios para la constitución del laboratorio. Así, en junio de 1993 se inauguró el laboratorio, que se encuentra situado en Cabrils (Maresme). No obstante, la puesta en funcionamiento tuvo lugar en febrero de 1994.

2.3.2.2 Objetivo básico

El objetivo esencial de la actividad del laboratorio interprofesional consiste en determinar la calidad de la leche en origen, arbitrando entre productores e industriales para el pago por calidad según las indicaciones que en cada momento determine la legislación vigente.

Los parámetros a analizar para determinar la calidad serán los que fije la ALLIC en cada momento, pueden ser parámetros obligatorios fijados por la legislación vigente y otros que incidan en el rendimiento de la producción de leche y productos lácteos.

2.3.2.3 Estructura organizativa

La Associació LLetera Interprofessional de Catalunya (ALLIC), dispone de una junta directiva formada al 50% por representantes del gremio de Industrias Lácteas de Cataluña y el 50% por representantes de las diferentes organizaciones agrarias de productores.

El laboratorio cuenta con un gerente del que dependen la Unidad Informática y la Unidad de Garantía de Calidad, las funciones de ambas engloban al laboratorio. De gerencia, incluidas en las dos unidades antes mencionadas, dependen la Dirección Administrativa, la Dirección Técnica y la Dirección Comercial. De la Dirección Técnica depende el funcionamiento del laboratorio.

2.3.2.4 Funciones a desarrollar

Están definidas en tres áreas:

1. Recogida de muestras: se responsabiliza de la recepción y clasificación de las muestras.
2. Análisis: análisis automatizados, química de referencia (para calibrar los aparatos automáticos) y microbiología.
3. Servicio externo: para controlar que la toma de muestras se realiza correctamente (se toman muestras de contraste) y asesorar al ganadero en relación con las anomalías detectadas.

Las funciones han de desarrollarse bajo los principios básicos de transparencia, fiabilidad y eficiencia.

2.3.2.5 Análisis de una muestra

Sistema de recogida de muestras procedentes de las explotaciones ganaderas

En la credibilidad del laboratorio tiene un papel importante la toma de muestras. La toma de muestras es la parte más problemática de todo el sistema y la que proporciona la mayor fuente de errores de todo el conjunto. Se tiene que garantizar que la muestra sea representativa de la calidad de la leche en el momento de la recogida. Una toma de muestra incorrecta o una conservación deficiente de la misma hacen inútil todo el trabajo posterior.

Para la recogida se utiliza un frasco provisto de un precinto, de un solo uso y estéril y se identifica con una etiqueta en la que está impreso un código de barras correspondiente al productor; de esta manera se garantiza la confidencialidad de la muestra. La recogida se realiza aprovechando la red ya existente de recogida de leche por parte de los camiones cisterna de las industrias lácteas.

La toma de muestras la realiza el chófer del camión antes de cargar la leche al tanque de la cisterna con la presencia del propietario de la explotación ganadera. Una vez recogida la muestra, se le añade el conservante, se procede a cerrar el frasco provisto del precinto de garantía y se identifica con la etiqueta del código de barras anotando la fecha de la recogida. La muestra es transportada en neveras portátiles y conservada a baja temperatura. Los chóferes de los camiones están formados para realizar correctamente esta tarea.

Recepción y clasificación de las muestras

El mismo día de su recogida las muestras llegan al laboratorio y se guardan en una cámara frigorífica a una temperatura de 4°C hasta el día siguiente por la mañana. Al día siguiente de la recogida se procede al análisis de las muestras previa clasificación de las mismas en función de la fecha de recogida y de los parámetros a analizar.

Tipos de análisis

Para determinar la calidad de la leche en origen, el laboratorio realiza de manera sistemática los siguientes análisis:

A. Análisis físico-químicos:

- a. Grasa, proteína, lactosa, extracto seco magro. Estos parámetros se analizan mediante el equipo analizador automático Milkoscan.
- b. Determinación del punto de congelación de la leche mediante un aparato llamado crioscopio, parámetro que indica el posible aguado de la leche.

B. Análisis microbiológicos:

- a. Recuento de bacterias aerobias mesófilas a 30°C. Para la realización de este parámetro se utiliza el equipo automático Bactoscan.

- b. Recuento de células somáticas. Para la realización de este parámetro se utiliza el equipo automático Fossomatic.
- c. Residuos de inhibidores del crecimiento microbiano (antibióticos preferentemente): resultado es cualitativo. Se utiliza el test llamado DELVOTEST SP.

Además, el laboratorio realiza otros análisis complementarios para la prevención, el diagnóstico y el tratamiento de las mastitis, análisis sobre el nivel de urea de la leche como orientación sobre el equilibrio de la dieta suministrada a las vacas y el análisis microbiológico del agua de la explotación para prevenir posibles contaminaciones e infecciones en la granja.

Control de calidad de los análisis

El laboratorio está acreditado por ENAC según la normativa europea EN45001 para la realización de análisis de productos alimentarios y está registrado en la Dirección General de Salut de la Generalitat de Catalunya.

Para el control de los análisis del laboratorio se realiza una serie de ensayos de intercomparación con las industrias transformadoras (contraste diario de cubas, envío de muestras ciegas y ensayos colaborativos mensuales), con el resto de los laboratorios interprofesionales del Estado Español (ensayos intercomparativos oficiales y obligados organizados por el Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación) y con los principales laboratorios interprofesionales extranjeros (Ceca-Lait [Poligny-Francia]; A. Hüfner [Alemania], etc.).

Tratamiento de los resultados analíticos

El control de los resultados analíticos se realiza a través de programas informáticos, con medidas de repetibilidad, desviaciones respecto de las medianas anteriores, eliminación de resultados anómalos e investigación de las causas de error.

Bibliografía

- [FIL97] FIL-IDF, *Monograph on Residues and Contaminants in Milk and Milk Products*, S.I. 9701, 1997

3 Higienización y desnatado. La nata

3.1 Definición y conceptos básicos [VEIS88]

La nata no es otra cosa que leche concentrada en glóbulos grasos. Se obtiene por concentración de los glóbulos grasos de la leche, ya sea espontáneamente o mediante centrifugación.

La separación de la nata es posible gracias a la diferencia de densidad entre los glóbulos grasos (0.93) y la fase acuosa que constituye la *leche desnatada* (1.036).

Hasta finales del siglo XIX se practicaba el desnatado espontáneo, dejando la leche en reposo durante varias horas. Cuando la leche se deja en reposo, los glóbulos grasos se separan en régimen laminar. En teoría, la velocidad de los glóbulos grasos al ascender a través del plasma de la leche se puede expresar por la fórmula de Stokes, pero en la práctica el fenómeno se ve modificado por la presencia de aglutininas en la superficie de los glóbulos grasos. Las aglutininas son unas proteínas que favorecen su aproximación y la formación de agrupaciones voluminosas de los glóbulos, cuya fuerza ascensional es mucho mayor que la que resulta de aplicar la fórmula de Stokes, considerando solo el diámetro de los glóbulos grasos, pero no de los agregados que se forman. La fórmula de Stokes resume todos los factores que influyen en la velocidad ascensional o de caída de una partícula en el seno de un fluido y, en el caso de partículas esféricas como son los glóbulos grasos, su expresión es la que se indica a continuación:

$$V = \frac{D^2(d-d')}{16\mu} \times g$$

Donde:

- V = velocidad de separación
- D = diámetro de los glóbulos grasos
- d = densidad de la fase acuosa
- d' = densidad de la grasa
- μ = viscosidad de la leche

El desnatado es la operación que permite obtener, a partir de la leche, dos productos complementarios: la leche desnatada y la nata. Esta operación se lleva a cabo con la ayuda de la fuerza centrífuga en equipos especialmente diseñados para ello denominados *desnatadoras*.

La higienización es una operación de obligada recomendación en todos los procesos de elaboración de leche y productos lácteos; tiene por misión eliminar las pequeñas impurezas, insolubles, que la leche pueda contener. La forma más habitual de llevar a cabo esta operación es mediante el uso de la fuerza centrífuga y aprovechando el hecho de que las referidas impurezas acostumbran a poseer una densidad superior a la de la leche. El equipo en el que se acostumbra a realizarse esta operación es el mismo que se utiliza para llevar a cabo el desnatado de la leche.

3.2 Principios del funcionamiento de una higienizadora-desnatadora centrífuga

Las desnatadoras centrífugas para la separación de la nata están constituidas fundamentalmente por un bol cónico provisto en su interior de separadores troncocónicos ensartados en el tubo central que garantizan un flujo laminar de la leche [KESS81]. En la figura 3.1 se aprecia un esquema de la desnatadora centrífuga.

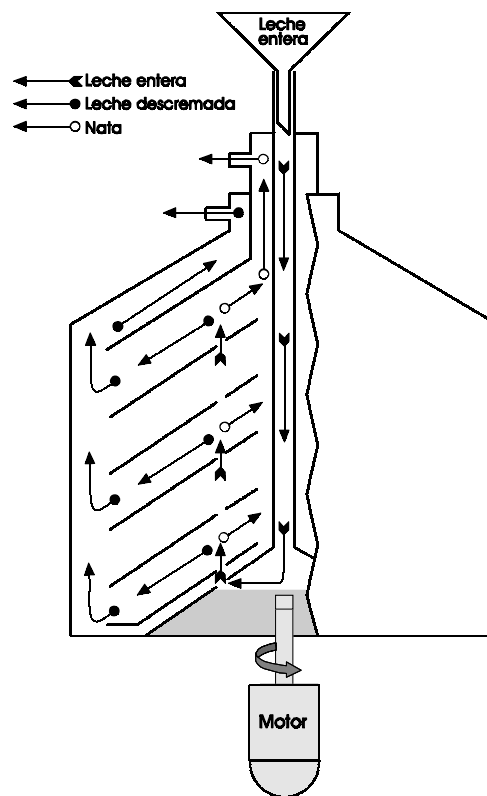


Fig. 3.1 Esquema de la desnatadora centrífuga

Los separadores poseen un ángulo de inclinación con respecto a la horizontal de 45-60 grados. Un diámetro exterior de unos 200-300 mm y una distancia de separación de 0.4-2 mm. La leche es introducida en el espacio que queda entre los separadores troncocónicos a $\frac{1}{4}$ de su radio y la salida se produce por ambos lados. Por el lado cercano al eje de giro se evacua el 10% del caudal, aproximadamente, y por el otro extremo el 90% restante. Los glóbulos grasos, debido a su menor densidad no logran alcanzar la salida por el lado opuesto al eje de giro, sino que antes chocan con la pared del cono inferior y, rodando sobre la misma, terminan saliendo por la salida cercana al eje de giro de la desnatadora.

Las impurezas se acumulan en la parte externa, las desnatadoras-higienizadoras industriales suelen poseer un sistema de evacuación periódica de las impurezas acumuladas.

3.2.1 Separación de la nata y estandarización [POIN86]

Las principales cuestiones relativas a la separación de la nata en la fábrica son: elegir el contenido en grasa de la nata, la ubicación de la operación, antes o después de la pasteurización, la temperatura de separación y la regulación del contenido en grasa.

La elección del contenido en grasa de la nata

El desnatado puede ser bien para fabricar nata (doble nata, nata, nata líquida), o bien nata destinada a la fabricación de mantequilla.

Si es nata para fabricar mantequilla, la concentración de la nata dependerá del procedimiento utilizado: elaboración en continuo en mantequeras tipo Fritz o por inversión de fases de la nata muy concentrada.

En el primer caso, el contenido en grasa de la nata es normalmente del 38-42%, debido a que, además de por el riesgo de pérdidas de grasa durante la separación, otras operaciones como el transporte y bombeo de la crema son más difíciles si la viscosidad es muy elevada. Por todo ello, normalmente el contenido que se obtiene de grasa en la nata para fabricar mantequilla es del 39-41% o menos cuando es para otras aplicaciones.

En el segundo caso, la concentración de la nata es del 82-84%. No es posible conseguir directamente de la leche concentraciones tan elevadas, por lo que se ha de proceder trabajando en dos etapas: primero obteniendo una nata del 40% y después concentran esta nata en centrífugas especiales.

Para limitar las pérdidas de grasa en la leche desnatada, hay que respetar ciertas reglas:

- La centrífuga tienen que estar en buenas condiciones.
- La centrífuga se tiene que limpiar: si los espacios entre discos están obstruidos, aunque sea parcialmente, se perjudica la separación.
- Hay que respetar el caudal recomendado por el fabricante: fuera del caudal normal, las pérdidas de grasa en la leche desnatada aumentan proporcionalmente según el modelo de centrífuga.

- El contenido en grasa de la nata depende del tipo de centrífuga, de la temperatura de separación y de los caudales relativos de leches desnatada y nata.

La composición de la leche desnatada también depende de:

- La calidad de la leche de partida: especialmente la distribución del tamaño de los glóbulos grasos a la salida de la ubre.
- La cantidad de glóbulos grasos destruidos a causa del manejo mecánico de la leche: bombeo, paso por tuberías con velocidad excesiva, agitación, paso a través de válvulas, etc. En condiciones normales (equipos en buen estado y buenas prácticas de fabricación) las pérdidas varían entre 0.3 y 1 g / litro. El promedio es de 0.5 g/ litro.

Ubicación del desnatado (entrada o salida pasteurizador)

Excepto en los casos en los que el desnatado y la higienización se realizan en frío a la llegada de la leche a la instalación, en las demás ocasiones esta operación suele asociarse con la operación de pasteurización. Llegados a este punto, el desnatado puede ubicarse antes o después de la pasteurización:

- Si se ubica antes de la pasteurización, la nata que se obtiene es cruda, por lo que debe ser inmediatamente enfriada y pasteurizada.
- Si se ubica después del tratamiento térmico, la nata obtenida ya está libre de microorganismos patógenos y su flora banal es reducida, por lo que a la salida de la desnatadora solo es preceptivo enfriarla con rapidez. Esta práctica solo puede realizarse con leches de buena calidad y con desnatadoras autodeslodantes que vayan eliminando con frecuencia los fangos que se obtienen de la higienización.

La temperatura de separación

Se ha visto que a altas temperaturas, alrededor de 50-55°C, es posible obtener natas concentradas con mínimas pérdidas de grasa en la leche desnatada. Igualmente parece que una temperatura de 55°C permite una reducción substancial del riesgo de lipólisis debido a la desnaturalización de la lipasa natural de la leche.

Temperaturas por encima de 60°C presentan problemas, la separación no mejora mucho, principalmente debido al alto riesgo de fragmentación de los ácidos grasos. Además, la precipitación de proteínas por el calor contribuye a ensuciar los discos de la centrífuga.

Regulación del contenido en grasa de la nata

La fórmula matemática que proporciona el contenido en grasa de la nata es:

$$\%grasa = a \frac{k}{x} - b \left(\frac{k}{x} - 1 \right)$$

Donde:

a = contenido en grasa de la leche entera

b = contenido en grasa en la leche desnatada

k = caudal de la leche que entra a la centrífuga

x = caudal de la nata que sale de la centrífuga

El resultado es que para la leche entera con un nivel constante de grasa "a" (leche de gran mezcla) y para la leche desnatada con un nivel constante de grasa "b" (que implica que el separador funciona con regularidad y a temperatura constante), el contenido en grasa depende solamente de dos variables independientes: el caudal de la leche que entra y el caudal de la nata que sale.

- En principio, el caudal de entrada de la leche se mantiene constante en el valor óptimo; en la práctica divergencias del 5% del caudal hacen que el contenido en grasa de la nata varíe un 2 %. La regularidad del contenido en grasa de la nata cuando el ajuste es manual puede ser del 1 %.
- Para obtener ajustes más precisos es necesario controlar en continuo la grasa de la leche mediante densimetría o por análisis físico de la grasa (Milko Tester) o indirectamente midiendo los caudales (Compomaster).

3.3 La nata

3.3.1 Definición

Según la Orden de 12 de julio de 1983, por la que se aprueban las normas generales de calidad para la nata y nata en polvo con destino al mercado interior (BOE 172, 20-7-83 y correcciones BOE 256, 19-9-83), se define:

"Se entiende por nata en general al producto lácteo rico en materia grasa separado de las leches de las especies animales a que luego se alude, que toma la forma de una emulsión del tipo grasa en agua.

La nata se elaborara con leche procedente de animales que no padezcan procesos infecciosos peligrosos para la salud pública y forzosamente habrá de ser sometida a un tratamiento que asegure la destrucción de los gérmenes patógenos"

3.3.2 Denominaciones

Por su origen

Si es de vaca exclusivamente: *nata* o *nata de vaca*. Si es de leche de otras especies animales, la palabra nata irá precedida por el nombre de la especie o especies (si es mezcla) de los animales de los que proceda la leche.

Por su composición

- a) *Doble nata*: La que contenga un mínimo de materia grasa del 50% en masa sobre masa de producto final.
- b) *Nata*: La que contenga entre el 30 y el 50 % de materia grasa
- c) *Nata delgada o ligera*: La que contenga entre el 12 y el 30 % de materia grasa.

Por su tratamiento higiénico y conservación

Nata pasteurizada, nata esterilizada en el envase, *nata UHT*. El tratamiento térmico utilizado en cada caso dependerá del % de grasa de la nata. Los mismos tipos de nata tratada térmicamente se presentan envasados bajo presión de gases inertes. La nata pasteurizada también se puede comercializar congelada.

Además, cualquiera de las natas anteriores se puede presentar homogeneizada, montada, azucarada, aromatizada, acidificada, adicionada de frutas.

Los aditivos que se pueden añadir según el RD 142/2002 de 1 de febrero son:

- En nata entera pasteurizada en dosis *quantum satis*: alginato sódico (E-401), alginato potásico (E-402), carragenatos (E-407), carboximetilcelulosa sódica (E-466), mono y diglicéridos de ácidos grasos (E-471).
- En natas pasteurizadas, esterilizadas, UHT y nata batida en dosis de máxima de 5g/kg solos o en combinación: ácido fosfórico y fosfatos de potasio, calcio, sodio y magnesio (E-338, E-339, E-340, E-341 y E-343), difosfatos, trifosfatos y polifosfatos (E-450, E-451y E-452).
- En natas esterilizadas: sucroésteres de ácidos grasos (E-473) y sucroglicéridos (474) en dosis máxima de 5g/kg solos o en combinación.

Bibliografía

- [KESS81] KESSLER, H.G. *Food Engineering and Dairy Technology*, ed.: Verlag A. Kessler. 1981
- [POIN86] POINTURIER, H. "Milk and Buttermilk Separation and Standardization". *Bulletin of the IDF* n° 204. 1986
- [VEIS88] VEISSEYRE, R. *Lactologia Técnica*, ed.: Acribia, Zaragoza. 1988

4 Los tratamientos térmicos y su influencia sobre la composición de la leche

4.1 Los tratamientos térmicos de la leche

El principal objetivo de los tratamientos térmicos que se aplican a la leche es la destrucción de los microorganismos patógenos y/o de los microorganismos que pueden comprometer la conservación del producto. En función de la cantidad de tratamiento térmico y de la contaminación inicial de producto se destruirán todos los microorganismos o solamente una parte de ellos. Sobre la acción del calor sobre la destrucción de los microorganismos remitimos al lector a la bibliografía especializada.

En este capítulo se hace una descripción de los principales tratamientos térmicos que se aplican a la leche y, sobre todo, se lleva a cabo una revisión de la influencia de la temperatura sobre determinados componentes de la leche.

Los tratamientos térmicos más habituales a aplicar en la leche son:

- *Termización*: Es un tratamiento de calor suave, del orden de entre 57 y 68⁰C durante 15 segundos que no destruye la actividad de la fosfatasa. Su objetivo es eliminar una parte de la flora de contaminación. Este tratamiento no asegura la destrucción de microorganismos patógenos, sus efectos sobre la composición de la leche son mínimos. Se suele aplicar para aumentar la vida de la leche cruda antes de ser procesada.
- *Pasteurización*: Su objetivo es asegurar la destrucción de los microorganismos patógenos. El tratamiento mínimo de pasteurización de la leche es de 71,7⁰C durante 15 segundos. En el caso de productos grasos (nata), el tratamiento debe ser más elevado, dada la mayor termorresistencia de los microorganismos en los mismos. Los productos pasteurizados deben reaccionar negativamente a la prueba de la fosfatasa y positivamente a la de la peroxidasa. En los casos en que los dos enzimas hayan sido destruidos, el proceso de pasteurización será denominado *pasteurización alta*.

- *Esterilización UHT (Ultra High Temperature)*: Su objetivo es conseguir la esterilidad comercial de la leche. El tratamiento se lleva a cabo a temperatura muy elevada (superior a 135 °C) durante un tiempo muy corto (unos segundos). El calentamiento y el enfriamiento son casi instantáneos. Estas condiciones solo se consiguen con la ayuda de equipos especiales por los que pasa la leche previamente a su envasado, por lo que se impone a continuación un envasado aséptico de la misma.
- *Esterilización convencional*: También tiene como objetivo la esterilidad comercial de la leche, pero en este caso el tratamiento de calor se aplica al conjunto leche más el envase. Los equipos utilizados para ello son autoclaves o torres hidrostáticas. Las temperaturas de trabajo dependen de las características del equipo y del envase y suelen oscilar entre 115 y 120°C. Para minimizar el tratamiento térmico necesario para aplicar al conjunto producto más envase, la leche es preesterilizada antes de su envasado. No obstante, habitualmente, este tipo de leche acostumbra a presentar una mayor degradación de los componentes termolábiles en relación con la leche UHT.

4.2 Influencia de la temperatura y de los tratamientos térmicos sobre la composición de la leche

4.2.1 Cambios inducidos por el calor en la lactosa

4.2.1.1 Isomerización de la lactosa

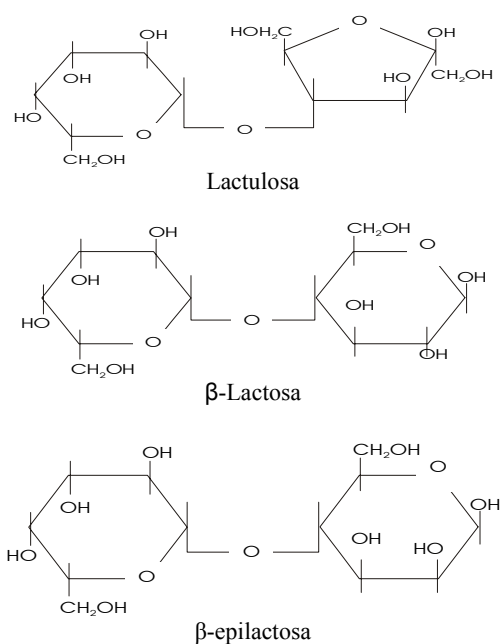


Fig. 4.1 Isómeros de la lactosa

La lactosa se isomeriza dando lugar a la aparición de lactulosa y epilactosa. En todos los casos, los niveles de lactulosa son claramente superiores a los de epilactosa. Esta reacción se da con intensidad apreciable cuando se trata la leche a temperaturas superiores a 100° C. No obstante, también puede apreciarse cuando se almacena la leche a temperaturas superiores a 30° C durante largos periodos.

La lactulosa puede utilizarse como un indicador interesante para conocer la cantidad de tratamiento térmico que ha recibido una leche o producto lácteo.

Los niveles medios de lactulosa que pueden encontrarse en leche tratada térmicamente se indican en la Tabla 4.1.

Tabla 4.1

Producto	Nivel medio de lactulosa
Leche pasteurizada	70 mg/L
Leche UHT (directo)	200 mg/L
Leche UHT (indirecto)	400 mg/L
Leche esterilizada	800 mg/L
Leche en polvo	170 mg/kg

Andrews G.[ANDR89] describe un incremento sensible (entre el 20 y 200%) del contenido en lactulosa, en leches esterilizadas y UHT almacenadas a 37°C durante 4 meses. El mismo autor solo encuentra incrementos que oscilan entre -10 y +30% en leches almacenadas a temperatura ambiente.

4.2.1.2 Degradación de la lactosa

Como consecuencia del calentamiento de la leche una pequeña parte de la lactosa se hidroliza y da lugar a la aparición de hidroximetilfurfural, ácido levúlico y ácido fórmico.

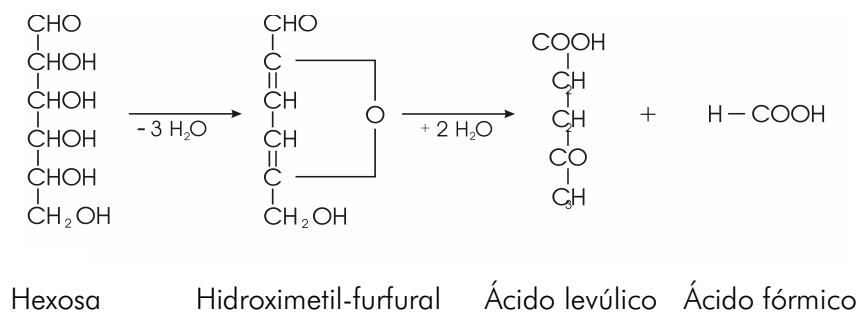


Fig. 4.2

4.2.2 Cambios inducidos por el calor en las proteínas solubles

El comportamiento térmico de las proteínas viene condicionado fundamentalmente por el de la β -lactoglobulina, el principal componente de esta fracción.

4.2.2.1 La desnaturalización de las proteínas

La estructura terciaria de las proteínas configura su forma espacial o, lo que es lo mismo, su estructura tridimensional, según la forma de plegado de la cadena peptídica que conforma la proteína.

Cada proteína (cadena específica de aminoácidos agrupados en una secuencia concreta) presenta una determinada tendencia a plegarse sobre sí misma en una estructura que minimiza su energía libre de conformación. La forma de plegado de la molécula de proteína sobre sí misma se estabiliza a través de puentes de hidrógeno, enlaces hidrofóbicos, interacciones electrostáticas y grupos tiol (-SH). La ruptura de estas fuerzas estabilizantes de la estructura espacial proteica da lugar a un desplegamiento de la cadena peptídica y a la aparición de una nueva conformación estérica. Este fenómeno es conocido con el nombre de *desnaturalización*.

La desnaturalización de las proteínas no comporta una escisión de la cadena peptídica ni una destrucción de los aminoácidos que la conforman, pero acostumbra a ir acompañado de una modificación de las propiedades físicas y físico-químicas de la proteína, como pueden ser la solubilidad, el grado de hidratación, o la reactividad de algunos de los radicales presentes en la molécula.

4.2.2.2 β -Lactoglobulina

A 20°C la β -lactoglobulina se presenta en forma de monómeros y de dímeros en equilibrio. Los incrementos de temperatura por encima de 30°C determinan una disminución de los dímeros de β -lactoglobulina y un aumento paralelo de la desprotección estérica de los radicales histidina, tirosina y triptófano, así como un incremento de la reactividad de los grupos tiol.

Por encima de 80°C puede tener lugar la desnaturalización irreversible de las moléculas de β -lactoglobulina.

4.2.2.3 α -Lactoalbúmina

Es una de las proteínas más termolábiles presentes en la leche. Por encima de 65°C ya empieza a desnaturalizarse. El fenómeno de la desnaturalización es parcialmente reversible: a temperaturas de 70°C el 80-90% de las moléculas desnaturalizadas recuperan su conformación nativa al cesar el tratamiento térmico. La referida reversibilidad va disminuyendo a medida que la temperatura a la que se somete la α -lactoalbúmina es más elevada, siendo prácticamente nula a temperaturas superiores a 100°C.

4.2.2.4 Inmunoglobulinas

Son un grupo de proteínas poco termoestables, que presentan fenómenos de desnaturalización si se las somete a temperaturas superiores a 70°C.

4.2.2.5 Efecto de los tratamientos térmicos de la leche sobre las proteínas solubles

No se conocen evidencias de desnaturalización de las proteínas solubles como consecuencia de los procesos de termización (65°C durante 30 s).

El proceso de pasteurización (72°C 15 s) da lugar a la desnaturalización de aproximadamente el 7% de las proteínas solubles de la leche. Esta proporción se ve sensiblemente aumentada si la temperatura o el tiempo de pasteurización son superiores a los señalados, de forma que un tratamiento a 80°C durante 20 s da lugar a la desnaturalización de, aproximadamente, el 25% de las proteínas solubles.

El proceso de esterilización UHT determina la desnaturalización del 50-75% o 70-90% de las proteínas solubles, según se trate de un sistema directo o indirecto, respectivamente.

Los procesos de esterilización convencional (115°C 10 min) determinan la desnaturalización de la práctica totalidad de proteínas solubles.

4.2.3 Efectos de los tratamientos térmicos sobre las caseínas

4.2.3.1 Efecto de la temperatura en la zona 0-70°C

Debido a sus marcadas características hidrofóbicas, la tendencia a la asociación de las caseínas aumenta con la temperatura. La caseína- β es la más hidrofóbica de todas ellas, lo cual justifica su gran dependencia con la temperatura. A 0-4°C todas las moléculas de caseína- β no micelares se presentan en forma de monómeros. Este efecto se traduce por una cierta solubilización de las caseínas y, en especial, de la caseína- β , que presenta una tendencia a separarse de la micela y pasar a la forma de caseína soluble (no separable por ultracentrifugación). Se ha observado que el contenido en caseína- β es de 50-60% en la leche a 4°C, mientras que es de 30-35% en la leche a 25°C.

El contenido en caseína soluble de la leche a 20°C es del orden de un 10%. Este contenido aumenta hasta niveles del 25% en la leche enfriada a 4°C durante dos días.

4.2.3.2 Efecto de la temperatura en la zona 70-150°C

- a) Agregación y disociación: Como consecuencia del tratamiento a temperaturas superiores a 100°C, se detecta simultáneamente un incremento del tamaño de las micelas de caseína y un aumento de la caseína soluble (no sedimentable a 109.000 g durante 1 h). Este fenómeno es tanto más intenso cuanto mayor es el tratamiento térmico.
- b) Desfosforilación y proteólisis: Como consecuencia del tratamiento térmico a temperaturas superiores a 100°C se produce una desfosforilación de las moléculas de caseína. Un tratamiento a 120°C durante 90 minutos puede determinar una desfosforilación del orden del 12%.

Así mismo, los tratamientos térmicos superiores a 110°C determinan la ruptura de algunas moléculas de caseína y el incremento del contenido en nitrógeno no proteico (NNP) de la leche. La caseína más sensible a este hecho es la caseína- κ , que da lugar a la aparición de glicomacropéptidos en la leche. Tanto las leches UHT como las leches esterilizadas presentan un

contenido en glicomacropéptidos equivalente al 1-3% del presente en un lactosuero de quesería (ver apartado 7.4).

- c) Interacciones entre proteínas solubles y caseínas: Tratamientos a temperaturas superiores a 80°C determinan la unión entre la β -lactoglobulina y la caseína- κ presente en la micela de caseína. La intensidad de este fenómeno depende de la intensidad del tratamiento térmico. Un tratamiento a 90°C durante 20 minutos determina que más de un 80% de la β -lactoglobulina se encuentre asociada a las micelas de caseína. Los grupos sulfhidrilo y las zonas hidrofóbicas de ambas proteínas son los responsables de la reacción mencionada.

4.2.4 Efectos del calor sobre la fracción mineral

Los componentes mayoritarios de la fracción mineral son: cloruros, sodio, potasio, calcio, magnesio, fosfatos y citratos (aunque se trate de una molécula orgánica, tradicionalmente se la asocia a la fracción mineral de la leche por comportarse de forma similar a los componentes de la misma). Cloruros, sodio y potasio se encuentran únicamente en la fase soluble de la leche y no se ven afectados por los tratamientos térmicos. Los restantes componentes se encuentran distribuidos entre la fase soluble y la fase micelar y su proporción en una y otra fase pueden variar en función de la temperatura o del tratamiento térmico recibido por el producto.

4.2.4.1 Cambios reversibles

Entre 0 y 80°C se observa que el contenido en calcio y fósforo de la fase soluble de la leche disminuye linealmente al aumentar la temperatura. Los niveles iniciales de calcio y fósforo en la fase soluble se recuperan cuando se restablece la temperatura original. A 4°C, en la fase soluble de la leche, se pueden encontrar aproximadamente 480 mg/L, mientras que a 80°C esta presencia se reduce a 260 mg/L. En el caso del fósforo, la cantidad presente en la fase soluble pasa de 280 mg/L a 4°C a 100 mg/L a 80°C.

Entre 0 y 70°C no se aprecian cambios en la concentración de citratos y de magnesio en la fase soluble de la leche.

4.2.4.2 Cambios irreversibles

Por encima de 70-80°C se constata que una parte del calcio, fósforo, citratos y magnesio que pasa a la fase micelar no regresa a la fase soluble cuando desciende la temperatura.

4.2.5 Reacción de Maillard

La reacción de Maillard se da cuando concurren en un medio grupos carbonilo y grupos amino libres. En el caso de la leche, esto se da gracias al grupo carbonilo libre de la lactosa y al grupo amino libre de la lisina o los grupos amino terminales de las proteínas.

La reacción de Maillard se inicia con la reacción entre los grupos carbonilo y amino de las sustancias presentes en el medio y, pasando por una serie de etapas complejas, da lugar a la formación de más de 50 compuestos diferentes, algunos de ellos coloreados (pardos) como las melanoidinas.

4.2.5.1 Factores que condicionan el desarrollo de la reacción de Maillard

- a) **Sustancias reaccionantes:** Cuanto menor es el tamaño de las moléculas que contienen los grupos carbonilo o amino reaccionantes, mayor es la velocidad de la reacción. Así los monosacáridos inducen más fácilmente la reacción que los disacáridos reductores. Los aminoácidos libres o los péptidos de pequeño tamaño inducen la reacción con más facilidad que los de gran tamaño o las proteínas. Dentro de las proteínas, inducen con facilidad la reacción de Maillard aquellas proteínas ricas en lisina.
- b) **pH:** Cuanto más elevado es el pH con mayor facilidad se da la reacción de Maillard. A pH 9-10 la reacción de Maillard alcanza su óptimo.
- c) **a_w :** La reacción de Maillard se da de forma óptima a a_w intermedia (0,5-0,7).

4.2.6 Estabilidad térmica de la leche

4.2.6.1 pH

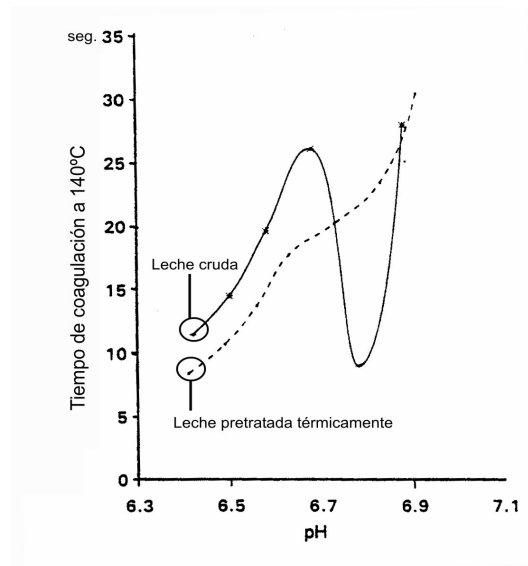


Fig. 4.3

El pH de la leche afecta notablemente a la estabilidad térmica de la misma. La figura 4.3 ilustra esta relación.

4.2.6.2 Minerales

En general, se acepta como cierto que un incremento del nivel de calcio o magnesio en la fase soluble de la leche determina una disminución de la estabilidad térmica de la misma. Una reducción de la cantidad de calcio o magnesio solubles, mediante adición de sales complejantes de estos cationes (fosfatos y citratos) determina, en general, un incremento de la estabilidad térmica de la leche.

4.2.7 Modificación del valor nutricional en la leche tratada térmicamente

4.2.7.1 Vitamina C

La actividad biológica de la vitamina C es debida a la presencia en los alimentos de una de las dos sustancias siguientes: el ácido ascórbico o su forma oxidada, el ácido dehidroascórbico.

La leche nativa, en el momento de la secreción, solo contiene ácido ascórbico, pero pasadas algunas horas el 10-25% del ácido ascórbico se transforma en ácido dehidroascórbico, perdiéndose la capacidad antioxidativa en la proporción señalada, pero no la actividad nutricional como vitamina C.

El proceso de pasteurización determina pérdidas del orden del 10-20% en el contenido en vitamina C de la leche, siendo tanto más elevada cuanto mayor es el tratamiento térmico aplicado. En la leche pasteurizada puede encontrarse que la relación ácido ascórbico/ácido dehidroascórbico aumenta en relación a la de la leche cruda, como consecuencia de la reducción del ácido dehidroascórbico a ácido ascórbico por la oxidación de los grupos sulfhidrilos.

Las pérdidas de vitamina C continúan durante el proceso de almacenado, viéndose fuertemente influenciadas por la presencia de oxígeno en el envase y por la acción de la luz. En leche envasada en polietileno y expuesta a la luz, se pueden observar pérdidas del 50-90% del contenido en vitamina C, mientras que, en las mismas condiciones, se observan pérdidas del 30-60% en envases de papel-polietileno.

El tratamiento UHT determina la destrucción o transformación en ácido ascórbico, de todo el ácido dehidroascórbico presente. Las pérdidas en ácido ascórbico pueden oscilar entre el 10-90%, en función de la cantidad de oxígeno presente en la leche en el momento del tratamiento UHT. En la leche desgasificada previamente al tratamiento térmico (contenido en oxígeno del 0,6 mg/kg) se constatan pérdidas inferiores a un 10% del contenido en ácido ascórbico durante el tratamiento UHT. En las leches no desgasificadas previamente al tratamiento UHT (contenido en oxígeno de 5 mg/kg) se constatan pérdidas superiores al 70% del contenido en ácido ascórbico durante el tratamiento UHT.

Durante el almacenado pueden continuar las pérdidas del contenido en vitamina C, siendo el contenido en oxígeno el elemento determinante de la extensión de las mismas. En leche envasada sin oxígeno residual, las pérdidas de vitamina C son inapreciables después de 90 días de almacenado; en leches envasadas conteniendo más de 1 mg/kg de oxígeno residual, se constata la pérdida de toda la vitamina C presente inicialmente.

Los procesos de esterilización convencional determinan la destrucción de la totalidad de vitamina C presente en la leche.

4.2.7.2 Ácido fólico

La leche es una fuente importante de ácido fólico en la dieta. En la leche el ácido fólico se encuentra en forma de folacinas, compuestos a base de ácido glutámico y ácido metiltetrahidrofólico. La leche nativa contiene aproximadamente el 60% del ácido fólico en forma de ácido monoglutámico-metiltetrahidrofólico; el resto se encuentra en forma de di-, tri-heptaglutámico-metiltetrahidrofólico.

Las folacinas presentes en la leche son sensibles a la oxidación.

El proceso de pasteurización determina pérdidas del 5-10% del contenido en folacinas. Durante el almacenado de la leche pasteurizada no parecen apreciarse pérdidas sensibles del contenido en folacinas. Esta reducción se ve influenciada por el nivel de ácido ascórbico presente, ejerciendo esta sustancia un papel protector de la destrucción de las folacinas.

El tratamiento UHT determina pérdidas del orden del 10-20% en el contenido en folacinas. No obstante, posiblemente ligado al papel protector de la vitamina C, las pérdidas de folacinas, tanto en el proceso UHT como en el almacenamiento posterior, están fuertemente vinculadas con el nivel de oxígeno disuelto en la leche; las pérdidas de folacina aumentan sensiblemente en las leches no desgasificadas, con elevados contenidos en oxígeno disuelto.

4.2.7.3 Vitamina B12

El tratamiento de pasteurización determina pérdidas del orden del 5-10% del nivel de vitamina B₁₂ presente en la leche. No se constatan pérdidas apreciables del contenido en vitamina B₁₂ a lo largo del almacenado en refrigeración de la leche pasteurizada.

Los tratamientos UHT determinan pérdidas del orden de 5-30% en el contenido en vitamina B₁₂. Este fenómeno no parece estar influenciado por el contenido en oxígeno de la leche. 12 semanas de almacenamiento de la leche UHT parecen determinar pérdidas del 80% en el contenido en vitamina B₁₂.

4.2.7.4 Vitamina B6

El tratamiento de pasteurización determina pérdidas inferiores al 10% en el contenido en vitamina B₆ de la leche. Durante el almacenamiento de la leche pasteurizada se pueden apreciar pérdidas sensibles del contenido en vitamina B₆ si los envases se exponen a la luz y carecen de protección frente a ésta.

Los tratamientos UHT determinan pérdidas inferiores al 20% en el contenido en vitamina B₆. Durante el almacenado de la leche UHT se pueden observar pérdidas sensibles del contenido en vitamina B₆. Pérdidas del orden de un 35% pueden detectarse en leche UHT almacenada a temperatura ambiente durante 6 semanas.

4.2.7.5 Riboflavina

La riboflavina es una sustancia termoestable e insensible a la presencia de oxígeno; no obstante, se destruye con facilidad bajo la acción de la luz.

El tratamiento de pasteurización no determina pérdidas apreciables del contenido en riboflavina de la leche. Pérdidas sensibles del contenido en riboflavina se aprecian cuando la leche pasteurizada se almacena en envases que no protegen de la luz. Así pueden detectarse pérdidas del orden del 13% en leches pasteurizadas en envases de polietileno, expuestas a la luz durante 24 horas; y del orden del 4% en envases de papel expuestos a las mismas condiciones.

Los tratamientos UHT determinan pérdidas del contenido en riboflavina inferiores al 10%. En envases que protegen de la luz, no se detectan pérdidas sensibles del contenido en riboflavina en la leche UHT.

4.2.7.6 Tiamina

La tiamina es una de las vitaminas más termolábiles. El tratamiento de pasteurización determina pérdidas del orden del 10% del contenido en tiamina.

Los tratamientos UHT determinan pérdidas de tiamina inferiores al 20%. No se constatan pérdidas de tiamina durante el almacenado de la leche UHT.

4.2.7.7 Niacina, ácido pantoténico y biotina

El ácido nicotínico (niacina), el ácido pantoténico y la biotina son las vitaminas más estables presentes en la leche.

Los tratamientos UHT determinan pérdidas inferiores al 10% del contenido en ácido nicotínico y ácido pantoténico. Se aprecian pérdidas del 20% en el contenido en ácido nicotínico y ácido pantoténico después de 6 semanas de almacenado de la leche UHT.

El tratamiento UHT y el almacenado de este tipo de leche no parece afectar al contenido en biotina.

4.2.7.8 Vitaminas A, D y E

Los tratamientos de pasteurización y de esterilización UHT no determinan pérdidas apreciables de los contenidos en vitaminas A, D y E. El proceso de conservación de la leche pasteurizada no determina disminuciones apreciables del contenido en estas vitaminas. Se observan pérdidas del contenido en vitamina A, que pueden alcanzar niveles del 50% a los 15 días, en las leches UHT. Los niveles de vitaminas D y E se mantienen constantes durante el almacenado de la leche UHT.

4.2.7.9 Proteínas y aminoácidos

El proceso de pasteurización determina la desnaturalización de una parte de las proteínas solubles, siendo este fenómeno proporcional a la intensidad del tratamiento. En la leche pasteurizada no se observa ninguna disminución de la calidad nutricional de las proteínas en relación a la leche cruda.

El tratamiento UHT determina pérdidas del contenido en lisina del orden del 0,1-1%, que carecen de significación nutricional. Estas pérdidas se elevan al 2-5% en la leche esterilizada.

4.2.8 Modificaciones del *flavor* inducidas por los tratamientos térmicos

Se entiende por *flavor* la sensación percibida por el cerebro como consecuencia de la combinación de las percepciones de sabor y olor al ingerir un alimento.

El proceso de pasteurización, especialmente si se lleva a cabo a baja temperatura y corto tiempo, modifica solo ligeramente el sabor de la leche.

La leche UHT recién procesada posee un *flavor* franco, a “cocida”. Esta sensación va disminuyendo llegando a ser mínima a los 6 días de realizado el tratamiento. Pasado éste plazo, el *flavor* se va deteriorando lentamente a lo largo de la vida de la leche UHT. Los sabores atípicos, amargos o

astringentes, que se desarrollan en determinadas leches UHT a lo largo de su almacenado son consecuencia de procesos proteolíticos que tienen lugar en las mismas como consecuencia de la presencia de proteasas termoresistentes de origen microbiano.

4.2.9 Termoestabilidad de los enzimas nativos de la leche

La leche contiene más de 60 enzimas nativos, pero únicamente unos pocos de ellos poseen significación tecnológica o sobre la estabilidad de la leche. A continuación se presentan algunos datos sobre la termoestabilidad de los mismos.

4.2.9.1 Xantín-oxidasa

Cataliza la oxidación secuencial de la hipoxantina hasta ácido úrico por la vía de la xantina. Es el principal componente de la membrana del glóbulo graso. Este hecho determina en la leche homogeneizada que la xantín-oxidasa presente una menor termoestabilidad.

Un calentamiento a 80°C durante 15 s determina una destrucción de un 70% de la actividad de la xantín-oxidasa, con un valor de z entre 5-10°C.

4.2.9.2 Sulfhidril-oxidasa

Cataliza la oxidación de la cisteína y los péptidos y proteínas que la contienen, dando lugar a la formación de enlaces disulfuro (S-S), que determinan la estructura espacial de las proteínas. Los procesos de pasteurización comportan una pérdida del 40% de la actividad de la sulfhidril-oxidasa, y los tratamientos de esterilización UHT su inactivación total.

4.2.9.3 Catalasa

La presencia de catalasa en la leche está directamente relacionada con la baja calidad de la misma y con el incremento del número de células somáticas o bacterias presentes. Los tratamientos de pasteurización (72°C 15 s) determinan una pérdida del 60% de la actividad de la catalasa.

4.2.9.4 Lactoperoxidasa

Cataliza la formación de H_2O_2 a partir de tiocianato y ejerce una acción bactericida. Tratamientos a temperaturas superiores a 80°C, independientemente del tiempo de su duración, determinan la inactivación total de la lactoperoxidasa.

4.2.9.5 Lipasa-lipoproteica

Es la principal lipasa nativa presente en la leche. Los tratamientos de pasteurización inactivan totalmente la lipasa-lipoproteica.

4.2.9.6 Fosfatasa alcalina

Es posiblemente el enzima más famoso de la leche por ser su termorresistencia similar a la de los patógenos más termorresistentes asociados a la leche. Cataliza la hidrólisis de los monoésteres de ácido fosfórico en medio alcalino (pH óptimo 9,9). Los tratamientos de pasteurización inactivan totalmente la fosfatasa alcalina.

Durante el almacenamiento en refrigeración de la leche pasteurizada puede producirse una reactivación de la fosfatasa alcalina desnaturalizada. Este fenómeno es tanto más probable cuanto más intenso haya sido el tratamiento térmico a que se ha sometido la leche.

4.2.9.7 Fosfatasa ácida

Es un enzima similar al anterior, que actúa a pH ácido (óptimo de actividad a pH 5). Es mucho más estable que la fosfatasa alcalina, tratamientos a 96°C durante 1 minuto determinan una inactivación del 60%.

4.2.9.8 Amilasas

La leche contiene dos amilasas nativas: la α -amilasa y la β -amilasa. La segunda es más termoestable que la primera. Un calentamiento de 80°C durante 120 s parece inactivar totalmente las amilasas presentes en la leche.

4.2.9.9 Lisozima

Un tratamiento a 72°C y 15 s sólo determina una pérdida del 30% de la actividad de la lisozima nativa.

4.2.9.10 Plasmina

Es la principal proteasa de la leche. Se puede encontrar en forma activa (plasmina) o en forma inactiva (plasminógeno). Los tratamientos de pasteurización solo disminuyen en un 15% la actividad de la plasmina.

4.2.9.11 γ -Glutamyl-transferasa

Cataliza la transferencia de radicales γ -glutamil a péptidos o proteínas. Un calentamiento a 79°C durante 16 s elimina toda la actividad de la γ -glutamyl-transferasa. Este enzima no se reactiva durante el almacenamiento de la leche o los productos lácteos pasterizados. Por esta razón, y para tener una mayor garantía de la destrucción de todos los patógenos, algunos autores han propuesto la utilización del control de la actividad de este enzima, en sustitución del de la fosfatasa alcalina, en los productos pasterizados.

4.2.10 Índices de la cantidad de tratamiento térmico recibido por la leche

Conocer y poder medir la cantidad de tratamiento térmico que ha recibido una determinada leche ha sido, desde siempre, de gran interés. Por este motivo, a lo largo de la historia se han utilizado diferentes índices destinados a aportar información al respecto. A continuación presentamos algunos de los principales índices utilizados en la actualidad.

4.2.10.1 Fosfatasa alcalina

Desde que Kay y Graham en 1935 demostraron que la fosfatasa alcalina posee una termoestabilidad ligeramente más elevada que la de los patógenos más termorresistentes de la leche, se utiliza este índice para comprobar la correcta pasteurización de los productos lácteos. Conviene recordar que los productos pasterizados refrigerados y en presencia de Mg^{2+} pueden dar falsos positivos.

4.2.10.2 Glutamil-transpeptidasa

Algunos autores proponen el control de la inactivación de este enzima como control de la correcta pasteurización de la leche. Su principal ventaja frente a la fosfatasa alcalina es que no se reactiva durante el almacenado en refrigeración. Presenta una termoestabilidad algo más elevada que la de la fosfatasa. Un tratamiento de la leche a 72°C 15 s inactiva el 45% de la glutamil-transpeptidasa nativa de la leche, y un tratamiento a 79°C 15 s la inactiva totalmente. Su D es de 240 s, 110 s y 40 s a 70°C, 72°C y 75°C, respectivamente.

4.2.10.3 Lactoperoxidasa

Presenta una termorresistencia sensiblemente superior a la de la fosfatasa alcalina. La Directiva comunitaria 92/46 (1992) utiliza este enzima para conocer la intensidad del tratamiento de pasteurización, estableciendo que la leche pasteurizada debe presentar una reacción negativa a la fosfatasa y positiva a la peroxidasa.

Las leches pasteurizadas que poseen inactivados los dos enzimas, como consecuencia del tratamiento térmico elevado a que han sido sometidas, deben comercializarse con la denominación: leche pasteurizada - *pasteurización alta*.

4.2.10.4 Lactulosa

El contenido en lactulosa de una leche aporta buena información sobre la cantidad de tratamiento térmico de la misma.

Tabla 4.2

<i>Producto</i>	<i>Nivel medio de lactulosa</i>
Leche nativa	trazas
Leche pasteurizada	70 mg/L
Leche UHT (directo)	200 mg/L
Leche UHT (indirecto)	400 mg/L
Leche esterilizada	800 mg/L
Leche en polvo	170 mg/kg

4.2.10.5 Proteínas solubles

La baja termoestabilidad de algunas de las proteínas que componen la fracción de las proteínas solubles ha sido aprovechada por diferentes autores como índice del tratamiento térmico recibido por la leche. La Tabla 4.2 resume algunos de los principales índices basados en esta fracción.

Tabla 4.3

<i>Índice</i>	<i>Definición</i>	<i>Principio analítico</i>	<i>Referencia</i>
<i>Whey protein nitrogen index (WPNI)</i>	NPSN (mg/g). (nitrógeno soluble en una solución saturada de NaCl)	Análisis turbidimétrico	ADMI (1971) [ADMI71]
<i>Heat number (HN)</i>	NC·100/NT. (relación entre el nitrógeno insoluble a pH 4,8 y el nitrógeno total)	Kjeldahl	IDF (1982) [IDF82]
<i>Relative soluble whey-protein nitrogen</i>	NPSN·100/NT (%) (nitrógeno de proteínas solubles a pH 4,8)	Kjeldahl	Resmini y col. (1985) [RESM85]
<i>Undenatured whey-protein nitrogen (UWPN)</i>	NPSN (%) en leche líquida. NPSN (mg/g) en leche en polvo. (nitrógeno proteico soluble a pH 4,6)	Kjeldahl	Luf (1989) [LUF89]
<i>Denatured whey protein nitrogen (DWPN)</i>	NPSD (%) en leche líquida. NPSD (mg/g) en leche en polvo. (nitrógeno proteico insoluble a pH 4,6)	Detección espectrofotométrica En UV (2ª derivada)	Luf (1989) [LUF89]
<i>Relative casein content (RCC)</i>	NC·100/(NC+NPSD) (%) (contenido relativo en caseína en el coágulo isoelectrico)	Detección espectrofotométrica en UV (2ª derivada)	Luf (1989) [LUF89]

NPSN: nitrógeno de proteína soluble nativa (no desnaturalizado); NC: nitrógeno caseínico; NT: nitrógeno total; NPSD: nitrógeno de proteína soluble desnaturalizado.

El grado de desnaturalización de cada una de las proteínas solubles también es un buen índice para conocer el grado de tratamiento térmico a que se ha sometido la leche.

4.2.10.6 Furosina, hidroximetilfurfural (HMF) y otros compuestos originados por la reacción de Maillard

La furosina es un aminoácido que se produce a partir de los compuestos de Amadori que se forman en la primera fase de la reacción de Maillard. Al ser una sustancia cuyo único origen es el indicado, se puede utilizar para conocer el grado de tratamiento térmico sufrido por la leche.

La tabla 4.4 muestra los niveles de furosina característicos de leches sometidas a tratamiento térmico.

Tabla 4.4

Producto	Niveles medios de furosina (mg/L)
Leche UHT (directo)	10-50
Leche UHT (indirecto)	20-90
Leche esterilizada	70-130

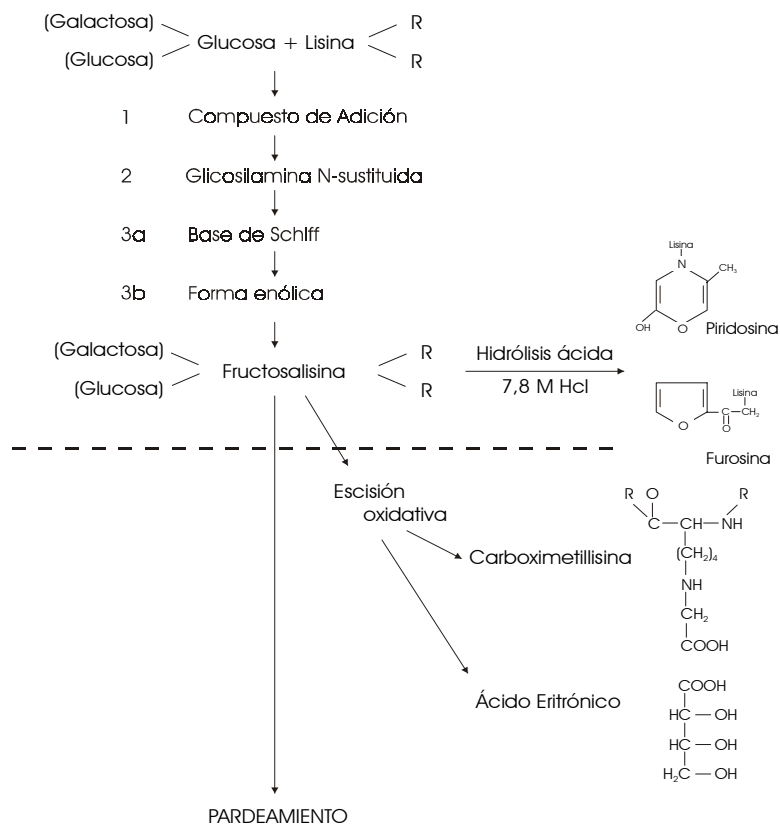


Fig. 4.4 Etapas iniciales de la reacción de Maillard con la formación de furosina (tras hidrólisis con HCl 7,8 M). Así como N-ε-carboximetil-lisina (CML) y ácido eritrónico [ERBE89]

El hidroximetilfurfural (HMF) es uno de los compuestos intermedios de la fase final de la reacción de Maillard. La Tabla 4.5 muestra los valores medios de HMF encontrados en las leches sometidas a tratamiento térmico.

Tabla 4.5

Producto	Niveles medios de HMF ($\mu\text{mol/L}$)
Leche nativa	inferior a 5
Leche UHT (directo)	3-10
Leche UHT (indirecto)	5-20
Leche esterilizada	10-30

La figura 4.8 muestra otras posibilidades de medir la extensión de la reacción de Maillard [PELL95].

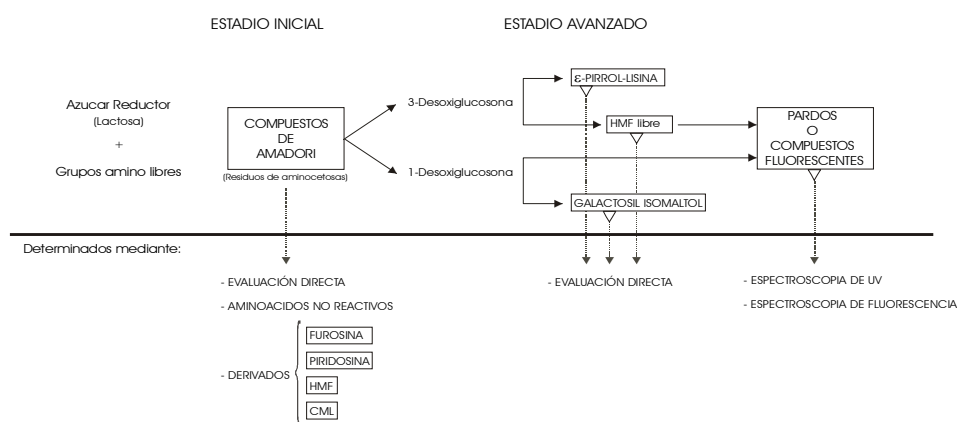


Fig. 4.5 Esquema simplificado de la reacción de Maillard. Aparecen recuadrados los compuestos de formación considerados como índices útiles de la severidad del tratamiento térmico de la leche.

4.2.11 Precipitación de componentes lácteos sobre las superficies de procesado de la leche

Siempre que se pone en contacto la leche con una superficie cuya temperatura es superior a 75°C , tiene lugar sobre la misma una precipitación de determinados componentes lácteos. Este fenómeno posee un doble interés: por un lado porque supone la pérdida de determinados componentes de la leche y, por otro, por las modificaciones de la conductividad térmica de la superficie y de las pérdidas de carga de la conducción.

4.2.11.1 Composición del sedimento

Ajustados al fenómeno descrito en este apartado, se pueden encontrar dos tipos de sedimento.

- 1) Tipo A: Se trata de un sedimento blando, esponjoso y de color blanco, que se empieza a formar a temperaturas superiores a 75°C y alcanza su máximo a $95-110^{\circ}\text{C}$. Está compuesto por un 50-70%

- 2) de proteínas y un 30-40% de minerales. Su fracción proteica está formada mayoritariamente por β -lactoglobulina, si el fenómeno se da en la zona baja del intervalo descrito de temperatura, y por caseínas, si se trata de temperaturas elevadas. En este tipo de sedimento se pueden apreciar dos capas: una primera capa pegada a la superficie, rica en fósforo y calcio, y una segunda, situada sobre ésta, rica en proteínas. La fracción mineral está formada en un 90% por calcio y fosfatos. La relación calcio/fosfato es cercana a 1,5, lo cual indica la probable presencia de fosfato tricálcico.
- 3) Tipo B: Se trata de un sedimento duro y de aspecto granular. Está formado por un 70-80% de minerales y un 10-20% de proteínas. Se presenta a temperaturas superiores a 120°C.

4.2.11.2 Influencia sobre el coeficiente de intercambio de calor (U)

El coeficiente de intercambio de calor (U) se define como la cantidad de calor intercambiado (Φ) por unidad de superficie cuando la media logarítmica de la diferencia de las temperaturas es de 1° C (en el caso de intercambiadores de placas se toma la media logarítmica de las diferencias de temperaturas en los extremos $\Delta\theta_{mL}$).

$$U = \frac{\Phi}{A\Delta\theta_{mL}} \quad A = \text{área}$$

U se expresa en kilocalorías/hora \times m² \times grado centígrado. Su inversa ($1/v$), la resistencia térmica, es la suma de las resistencias térmicas que se oponen al paso del calor; o sea, la de la pared (e/λ) y las de las capas límites creadas por los dos fluidos ($1/h_1$ y $1/h_2$).

A todas ellas habrá que añadir la resistencia creada por el precipitado de leche formado (e'/λ'), que variará con el tiempo en función de su espesor y estructura.

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{h_1} + \frac{e}{\lambda} + \frac{e'}{\lambda'} + \frac{1}{h_2}$$

Al aumentar e'/λ' disminuye U (coeficiente de intercambio) y por otro lado, si se desea mantener Φ (cantidad de calor intercambiado) hay que aumentar la media logarítmica de las diferencias de las temperaturas, o sea, hay que aumentar la temperatura del fluido calefactor.

Como ejemplo ilustrativo de este fenómeno, les adjuntamos la figura 4.9, elaborada por M. Lalande, G. Corrieu, J.P. Tissier y R. Ferret (1979) [LALA79], en la que se pone de manifiesto la variación de U y de $\Delta\theta_{mL}$ a lo largo de un proceso de pasteurización, para mantener Φ constante.

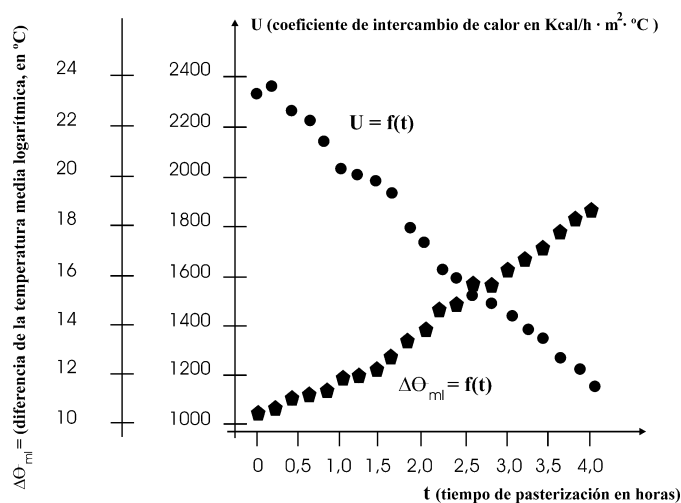


Fig. 4.6

Bibliografía

- [ADMI71] ADMI, "Determination of undenatured whey protein nitrogen in nonfat dry milk. Standard for grade of dry milks", *American Dry Milk Institute*, Bull. 916, 1971
- [ANDR90] ANDREINI R., CHIODI, J., DE NONI, I., RESMINI, P., BATTELLI, G., CECCHI, L., TODESCO, R., CATTANEO, T.M.P., RAMPILI, M. y FOSCHINO, R. "Evaluation of heat damage in UHT and in bottle sterilized milk samples treated in Italy". *Sci. Tecn Latt. - Cas.* 41, 472-492. 1990
- [ANDR89] ANDREWS, G.R. "Lactulose in heated milk." *Int. Dairy Fed. Bull.* 238, 45-52, 1989
- [ERBE89] ERBERSDOBLER, H.F. y DEHN-MULLER, B., "Formation of early Maillard products during UHT treatment of milk". *Int. Dairy Fed. Bull.* 238, 62-67. 1989
- [IDF82] IDF "Standard 114: Dried milk - Assessment of heat class - Heat number reference method", *International Dairy Federation*, 1982
- [LALA79] LALANDE, M. y col., "Étude du comportement d'un échacheur à plaques Vicarb utilisé pour la pasteurisation du lait". *Le Lait* n° 581-582, 1979
- [LUF89] LUF, W., "Zur Hitzeklassifizierung von Magermilchpulver: Bestimmung des Denaturierungsgrades der Molkenproteine mittels Derivativspektroskopie". *Milchwissenschaft* 44, 90-94. 1989

- [PELL95] PELLEGRINO, L., RESMINI, P. y LUF, W, "Assessment (indices) of heat treatment of milk. Heat-induced changes in milk". *FIL-IDF 9501*, chapter 20., 1995
- [REPE89] RESMINI, P., PELLEGRINO, L., ANDREINI, R y PRATI, F., "Determinazione delle siero-proteine solubili del latte per HPLC in fase inversa", *Sci. Tecn. Latt. - Cas.* 40, 7-23, 1989
- [RESM89] RESMINI, P., "Le sieroproteine quali indicatori del danno termico nel latte alimentare", *Latte* 14, 849-853, 1989
- [RESM85] RESMINI, P., TRIPICIANO, C., RAMPILI M. y LODI, R. "Some aspects of the quality control of liquid consumption milk". *Riv. Soc. Ital. Sci. Alim.* 3, 187-197, 1985

5 Cultivos iniciadores utilizados en la industria láctea

5.1 Composición microbiológica de la leche cruda

La leche en el interior de la ubre de un animal sano es estéril, al salir al exterior por el canal del pezón empieza a contaminarse. Las principales fuentes de contaminación microbiana de la leche son [SLAG96]:

- el interior de la ubre, si el animal padece alguna infección
- el exterior de la ubre y los pezones
- el equipo de ordeño y otros utensilios que estén en contacto con la leche

El tipo y el número de microorganismos resulta muy variable, también lo son las prácticas de los productores de leche en relación a la higiene de las ubres, antes y después del ordeño y a la limpieza del material [MICH01], lo que significa que la microbiota de contaminación de la leche es de una gran heterogeneidad. Además hay que tener en cuenta las condiciones en que se efectúa el ordeño:

- temperatura durante el ordeño
- temperatura de almacenamiento de la leche
- tiempo que permanece la leche a las diferentes temperaturas

El contenido inicial en microorganismos de la leche cruda puede variar de menos de 1000 ufc.mL^{-1} , cuando las condiciones higiénicas de manejo del animal y del ordeño son correctas, hasta más de 10^6 ufc.mL^{-1} , cuando se descuida la higiene.

Como se ha visto en el apartado 2.2, actualmente la contaminación microbiológica en el tanque de los productores de leche no puede superar las 10^5 ufc mL^{-1} , nivel fácilmente asumible si se siguen unas prácticas higiénicas estrictas.

5.1.1 Grupos de microorganismos susceptibles de formar parte de la contaminación de la leche cruda [ROBI87] [TEUB92] [MICH01]

Los grupos que forman parte de la microbiota de contaminación de la leche se pueden clasificar de muchas maneras, aquí presentamos una clasificación útil desde el punto de vista de las operaciones tecnológicas. Algunos microorganismos forman parte de varios grupos a la vez.

Microbiota termodúrica

Tiene importancia tecnológica porque son los microorganismos que sobreviven a la pasteurización, que es una de las prácticas más habituales de tratamiento por calor de la leche en las industrias lácteas. Dentro de este grupo podemos citar:

- Microorganismos pertenecientes al género *Microbacterium*, por ejemplo *M. lacticum*, que es un microorganismo banal, tiene una supervivencia a la pasteurización del 100%.
- Microorganismos pertenecientes al género *Micrococcus*, que también son microorganismos banales con una supervivencia menor que el grupo anterior.
- Algunas bacterias lácticas como, por ejemplo, las que fermentan el yogur (*Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrückii sub. bulgaricus*).
- Esporulados como:
 - *Bacillus cereus*; es un patógeno productor de toxina, puede producir un gusto amargo en la leche.
 - *Clostridium perfringens*, patógeno
 - *Clostridium butyricum* y *Clostridium tyrobutyricum*, que no son patógenos, pero tienen mucha importancia tecnológica porque son los responsables de los hinchamientos tardíos de los quesos (ver 7.5.3 y 7.12.1).

Microbiota psicrotrofa

Incluye los microorganismos que se desarrollan a temperaturas bajas, entre 4 y 20°C. Tienen importancia porque la leche se almacena a temperaturas por debajo de los 4°C. A esta temperatura la mayoría de microorganismos tiene un crecimiento muy lento, pero si la temperatura no está bien regulada o la leche pasa demasiado tiempo en estas condiciones, es este grupo el que se desarrolla preferentemente constituyendo un peligro de cara a la calidad posterior de la leche o de los productos que con ella se elaboren, puesto que estos microorganismos poseen gran cantidad de enzimas proteolíticas y lipolíticas que quedan en la leche después del tratamiento térmico.

Dentro de la microbiota psicrotrofa encontramos los siguientes grupos:

- Bacilos gram negativos, de los cuales más del 50% pertenecen al género *Pseudomonas* y en menor proporción *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes* y *Moraxella*.

- Microorganismos del género *Bacillus*

Coliformes

Son indicadores de falta de higiene. Pertenecen a la familia de las *Enterobacteriaceas* y agrupa los siguientes géneros:

- *Escherichia*, raramente patógeno, ya que menos de un 10% de las cepas de *E. coli* estudiadas son patógenas, el 90% restante son inocuas.
- *Enterobacter*
- *Citrobacter*
- *Klebsiella*

También se pueden encontrar otras enterobacteriáceas que no pertenecen al grupo de coliformes, como *Salmonella* y *Shigella*, que son patógenos.

Responsables de enfermedades del animal

Si el animal está enfermo y padece una infección, puede transmitir los microorganismos responsables de la infección a la leche. Las infecciones más importantes y más comunes que puede padecer un animal sometido a la producción intensiva de leche, como es el caso del modelo actual de explotación de vacas de leche, son las mamitis o mastitis, que son infecciones de la ubre. Estas infecciones pueden ser clínicas o subclínicas y estar causadas por diferentes tipos de microorganismos, algunos de ellos patógenos para las personas.

Algunos microorganismos responsables de mastitis:

- *Staphylococcus aureus* (*)
- *Streptococcus agalactiae* (*)
- *Escherichia coli* (*)
- *Corynebacterium bovis*

Otras enfermedades importantes que pueden transmitir microorganismos patógenos son la brucelosis y la tuberculosis, hoy en día prácticamente erradicadas gracias a las campañas de vacunación, pero puntualmente pueden aparecer focos como pasa de vez en cuando con algunos rebaños de cabras y ovejas incontrolados por las autoridades sanitarias. Los microorganismos responsables son:

- De la tuberculosis:

- *Mycobacterium bovis* (*)
- *Mycobacterium tuberculosis* (*)

- De la brucelosis o fiebres de malta:
 - *Mycobacterium melitensis* (*)

(*) Patógeno para las personas

Otros patógenos para las personas

Otro grupo a tener en cuenta son los posibles patógenos para las personas susceptibles de contaminar la leche, como:

- *Listeria monocytogenes*
- *Bacillus cereus*
- *Clostridium perfringens*
- *Campylobacter* ssp.
- *Yersinia enterocolitica*

Riquetsias o parásitos obligados como:

- *Coxiella burnetti*
- *Nocardia* ssp.

Además de los grupos descritos, en la leche podemos encontrar: hongos y levaduras, bacterias lácticas y otros microorganismos banales como micrococcos, corinebacterias, etc.

De lo expuesto en este apartado se deduce que el tipo de microbiota que podemos tener en la leche, sea cual sea su número, puede ser muy variable, desde microbiota banal a microorganismos patógenos, desde microorganismos que pueden producir problemas tecnológicos a microbiota beneficiosa, en el caso de que predominen las bacterias lácticas y queramos elaborar queso. Es por ello que en las industrias lácteas elaboradoras de productos fermentados se pasteuriza la leche para eliminar la mayor parte de la microbiota de contaminación y se añaden cultivos iniciadores de microorganismos seleccionados.

5.2 Definición y objetivos de los cultivos iniciadores

Los microorganismos que se utilizan en la industria láctea como cultivos iniciadores son principalmente las bacterias lácticas, que se añaden a la leche para que inicien y dirijan correctamente su fermentación. También se utilizan otras bacterias, como las llamadas *probióticas*, que en ocasiones

se añaden por separado. También, en algunos productos lácteos, como por ejemplo queso o kéfir, se añaden otros microorganismos como hongos y levaduras para que inicien determinados procesos.

Los objetivos de los cultivos iniciadores son:

- Acidificación: por producción de ácido láctico a partir de la lactosa, como consecuencia desciende el pH. La producción de ácido láctico comporta:
 - Gusto ácido característico
 - Higienización, por acidificación, producción de bacteriocinas y competencia con los microorganismos indeseables
 - Precipitación de la caseína cuando el pH llega al punto isoeléctrico y formación del gel de lácteo
- Modificación de la textura:
 - Por precipitación de la caseína
 - Por producción de mucílagos
- Modificación del gusto y del aroma:
 - Por producción de ácido
 - Por producción de sustancias aromáticas a partir de la lactosa o del citrato
 - Por producción de sustancias aromáticas y sápidas por proteolisis y lipólisis

Con el uso de cultivos iniciadores seleccionados se puede controlar mejor la calidad y la uniformidad de los productos lácteos.

5.3 Bacterias lácticas

Las bacterias acidolácticas o bacterias lácticas son microorganismos productores de ácido láctico a partir de azúcares. Actualmente, en la comunidad científica, se acepta clasificarlas en los géneros siguientes: *Aerococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* y *Oenococcus*. Las que se utilizan en la industria láctea porque se desarrollan bien en la leche son las que pertenecen a los géneros siguientes:

- *Streptococcus*
- *Lactococcus*
- *Lactobacillus*
- *Leuconostoc*

Se trata de bacterias Gram-positivas que tienen una pared celular muy gruesa. Producen gran cantidad de ácido láctico. Son inmóviles, no producen esporas, son anaerobias pero aerotolerantes. Son poco proteolíticas y poco lipolíticas.

Según su morfología, pueden clasificarse en cocos (*Streptococcus*, *Lactococcus* y *Leuconostoc*) y bacilos (*Lactobacillus*).

Según su temperatura óptima de crecimiento, se distingue entre bacterias lácticas *mesófilas*, cuya temperatura óptima de crecimiento está entre 20 y 30°C, y *termófilas*, cuya temperatura óptima de crecimiento está entre 35-45°C.

Dependiendo de la ruta metabólica que utilizan las bacterias lácticas para hidrolizar las hexosas producidas a partir de la lactosa, se clasifican en *homofermentativas*, cuando a partir de una molécula de lactosa producen cuatro de ácido láctico, y *heterofermentativas*, cuando producen dos moléculas de ácido láctico a partir de una de lactosa.

5.3.1 Metabolismo de la lactosa

El metabolismo de la lactosa consiste en transportar el azúcar al interior de la célula bacteriana y su posterior hidrólisis. Las fases son las siguientes [WALS99]:

1. Captación de la lactosa por la célula bacteriana y formación de monofosfatos de hexosas

Para transportar la lactosa a través de la membrana celular existen dos mecanismos (Figura 5.1):

- a) El sistema fosfoenol-piruvato fosfotransferasa dependiente (PEP/PTS):

Transforma la lactosa en lactosa-P y de esta manera es transportada al interior de la célula, allí una fosfo-β-galactosidasa (P-β-gal) hidroliza la lactosa-P en glucosa y galactosa-6-P, después la glucosa pasa a glucosa 6 P, ambos azúcares son metabolizados posteriormente.

- b) El sistema permeasa ATP-dependiente:

La lactosa es transportada directamente a través de la membrana e hidrolizada en glucosa y galactosa por una β-galactosidasa (β-gal o lactasa). La glucosa pasa a glucosa 6-P y la galactosa también es transformada en glucosa 6-P por las bacterias capaces de fermentar la galactosa por la ruta de Leloir.

En general, las bacterias lácticas tienen ambos mecanismos de transporte, pero la importancia relativa de cada uno de ellos es muy variable. En la mayoría de las bacterias homofermentativas mesófilas predomina el sistema de transporte PEP/PTS, especialmente en las del género *Lactococcus*. En cambio, el sistema permeasa es el dominante en las bacterias homofermentativas termófilas, por ejemplo en el *Streptococcus thermophilus* no existe actividad P-β-gal.

En el caso de las bacterias del yogur (*Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbruekii* ssp. *bulgaricus*) que utilizan el mecanismo de la permeasa, no poseen las enzimas de la ruta de Leloir,

por lo tanto la galactosa no se hidroliza, es excretada o transformada en polisacáridos, que contribuyen a la textura cremosa del yogur.

En la mayoría de las bacterias heterofermentativas el principal sistema de transporte es la permeasa.

2. Metabolismo posterior

Las fermentaciones homofermentativas y heterofermentativas siguen rutas diferentes (ver figura 5.1). En cada una de las vías suceden reacciones consecutivas que están catalizadas por diversas enzimas. La energía liberada por la transformación de moléculas más complejas en otras más sencillas se transforma en ATP, que es la energía que utilizan las bacterias para su desarrollo.

a) Fermentación láctica homofermentativa

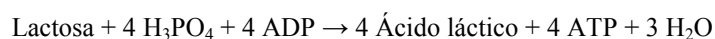
La glucosa se metaboliza por la vía glicolítica o ruta de Embden-Meyerhof y la galactosa-6P entra por la ruta de la tagatosa. Las enzimas clave que regulan este proceso son:

- Aldolasas responsables del paso de las hexosas difosfato a gliceraldehído-3P
- Piruvato kinasa (PK), esencial para la formación del piruvato
- Lactato deshidrogenasa (LDH), que cataliza el paso de piruvato a ácido láctico

La actividad de los diferentes enzimas que intervienen en la vía metabólica y la formación de los metabolitos correspondientes regulan la captación de lactosa por parte de la bacteria hasta que la acidez desarrollada frena la multiplicación de las bacterias lácticas. En el caso de los *Lactococcus*, esto sucede cuando se ha producido entre un 0,6% y un 0,9% de ácido láctico, y en el caso de los *Lactobacillus* homofermentativos, cuando los niveles son entre el 1,8 y el 2,5% [ECKA90]. Si la acidez no frenara su crecimiento serían capaces de convertir entre el 90 y el 95 % de lactosa en ácido láctico. Este hecho se aprovecha tecnológicamente para producir grandes cantidades de ácido láctico por la bacteria *Lactobacillus helveticus* (ver apartado 8.3.1.7).

La separación entre la multiplicación y la producción de ácido láctico es debida a que la sensibilidad de las reacciones que intervienen en el crecimiento y las que intervienen en la glicólisis son distintas frente a las condiciones del medio (pH, temperatura) [ECKA90].

El metabolismo homofermentativo se puede resumir en la siguiente reacción:

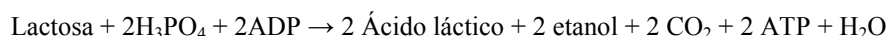


b) Fermentación láctica heterofermentativa

Las bacterias lácticas heterofermentativas no pueden fermentar la lactosa por la primera parte de la vía glicolítica. La presencia de glucosa-6-P-deshidrogenasa y de fosfoketolasa, permite el metabolismo por la ruta del 6-P-gluconato. La fosfoketolasa hidroliza el 6-P-gluconato a CO₂ y pentosa-5-P, que a su vez se convierte en gliceraldehído-3-P y acetil-P.

El gliceraldehído-3-P se incorpora entonces a la vía glicolítica y el acetyl-P es hidrolizado a etanol, si no existen otros aceptores de hidrógeno.¹

El metabolismo heterofermentativo se puede resumir en la siguiente reacción:



El tipo de ácido láctico formado en la fermentación puede ser dextrógiro L(+) o levógiro D(-), según la enzima que contenga la bacteria: L- o D-lactato deshidrogenasa. Algunas bacterias lácticas contienen ambas enzimas, generalmente en proporciones distintas; cuando la relación es 1, el producto obtenido se llama mezcla racémica (DL). Algunas cepas bacterianas pueden formar este tipo de mezcla porque contienen la enzima lactato racemasa, además de la lactato deshidrogenasa, que transforma un isómero en otro.

5.3.2 Otros metabolitos formados durante la fermentación [WALS99]

Además de los metabolitos producidos por las vías homofermentativa y heterofermentativa de la lactosa pueden sintetizarse otros productos finales, dependiendo de factores como cambios en el medio o el tipo de bacteria láctica:

- *Ácido fórmico*: El *Streptococcus thermophilus* sintetiza ácido fórmico, debido a que, la enzima piruvato-formato-liasa (PFL), que en la mayoría de bacterias lácticas solo actúa en determinadas condiciones, está activa.
- H_2O_2 : Una gran parte de bacterias lácticas son microaerófilas, es decir, que pueden crecer en presencia de pequeñas cantidades de oxígeno. Cuando esto sucede se ponen en marcha las NADH oxidasas y NADH peroxidasas, que disminuyen el potencial redox y producen pequeñas cantidades de H_2O_2 . Casi todas las bacterias lácticas termófilas acumulan agua oxigenada en la leche hasta una cantidad de 1-2 mg. Kg⁻¹. La lactoperoxidasa (que es una enzima propia de la leche), en presencia de tiocianato, cataliza la oxidación de éste por el H_2O_2 generando un compuesto no identificado que inhibe el crecimiento de la mayoría de las bacterias de la leche. El contenido en tiocianato en la leche varía ampliamente porque depende del contenido en cianoglucósidos de la ración alimenticia.
- CO_2 y NH_3 : Además de la producción de CO_2 en las bacterias lácticas heterofermentativas, según la ruta de la figura 5.1, *Streptococcus thermophilus* puede hidrolizar la urea dando NH_3 y CO_2 . Este microorganismo produce gran cantidad de CO_2 durante su desarrollo en la leche, propiedad que es muy importante en la elaboración de yogur.
- *Acetaldehído*: El acetaldehído se produce a partir del metabolismo del citrato (ver 5.3.3) o, como en el caso de las bacterias heterofermentativas, que carecen de la enzima alcohol deshidrogenasa, por acumulación del mismo en la glicólisis.

¹ La formación de etanol requiere mucha energía y si hay otro aceptor de hidrógeno se produce una conversión preferencial del acetyl-P a ácido acético, esta reacción depende del potencial redox. Ya se ha visto antes que las bacterias lácticas son anaerobias pero aerotolerantes. La ruta que normalmente se sigue en condiciones aeróbicas es la producción de ácido acético, porque rinde ATP [WALS99].

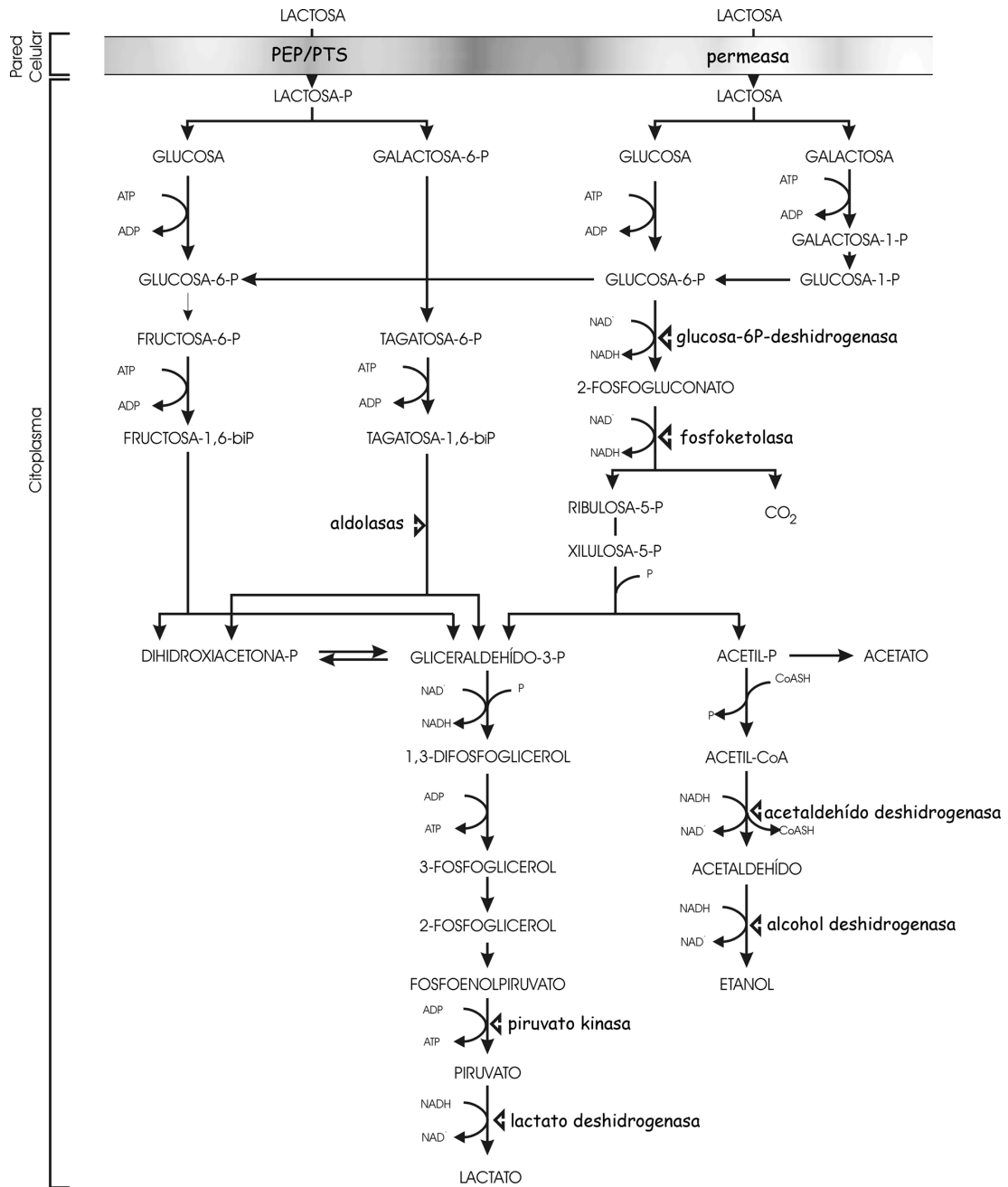


Fig. 5.1 Metabolismo de la lactosa en las bacterias lácticas [ECKA89] [WALS99]

Lactobacillus delbruekii ssp. *bulgaricus* produce además acetaldehído a partir de la treonina, siendo la vía por la que se produce mayor cantidad de acetaldehído en el yogur.

Además de los metabolitos descritos en este apartado, la transformación del citrato produce compuestos relacionados con el gusto y el aroma de los productos lácteos.

5.3.3 Metabolismo del citrato [WALS99]

Algunas bacterias lácticas, como el *Lactococcus lactis* biovar. *diacetylactis* (homofermentativa) y las bacterias del género *Leuconostoc* (heterofermentativas), como las cepas de *Leuconostoc mesenteroides* spp. *cremoris*, metabolizan el citrato. No lo utilizan como fuente de energía, sino que solo es metabolizado en presencia de un azúcar fermentable como la lactosa.

Durante el metabolismo del citrato se forma piruvato, por lo que, junto con el que se forma en el metabolismo de la lactosa, hay más cantidad de la necesaria para la oxidación del NADH (ver figura 5.1), entonces se pueden formar otros productos finales como ácido acético, CO₂ y “productos C₄”, como el diacetilo.

El citrato es transportado al interior de la célula por la enzima citrato permeasa. La ruta metabólica se muestra en la figura 5.2.

El acetaldehído puede producirse a partir del piruvato por la vía del acetaldehído-TPP y la acetil-CoA, o por la vía α -acetolactato formado por condensación del acetaldehído activo y otra molécula de piruvato. Las dos reacciones tienen lugar simultáneamente.

El α -acetolactato es descarboxilado a acetoína (que es un compuesto no aromático) y ésta, en presencia de oxígeno, oxidada a diacetilo, es decir, la formación de diacetilo por esta vía depende del potencial redox del sistema, aunque esta vía parece ser la más común.

El contenido en diacetilo y acetoína en la leche aumenta mientras haya citrato, ya que éste suprime la síntesis de las diacetil y acetoína reductasas; una vez se agota el citrato, se reducen los niveles de diacetilo y acetoína y se forman acetoína y 2,3-butilenglicol respectivamente por la acción de dichos enzimas, pero como paralelamente ha descendido el pH, éste inhibe la acción de los mencionados enzimas y no se produce la reducción del diacetilo y la acetoína. Este ejemplo sirve para ilustrar el complejo equilibrio en que suceden las reacciones durante la fermentación de la leche y las posibles variaciones en los contenidos de las sustancias responsables del gusto y del aroma, que además acostumbran a tener umbrales de percepción relativamente bajos.

En el caso del yogur, producto en el que la presencia de diacetilo y acetoína son muy importantes para las características organolépticas [TAMI91], las bacterias responsables de su fermentación, *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbruekii* ssp. *bulgaricus*, no metabolizan el citrato, y el diacetilo y la acetoína se forman a partir del piruvato producido durante el metabolismo de la lactosa.

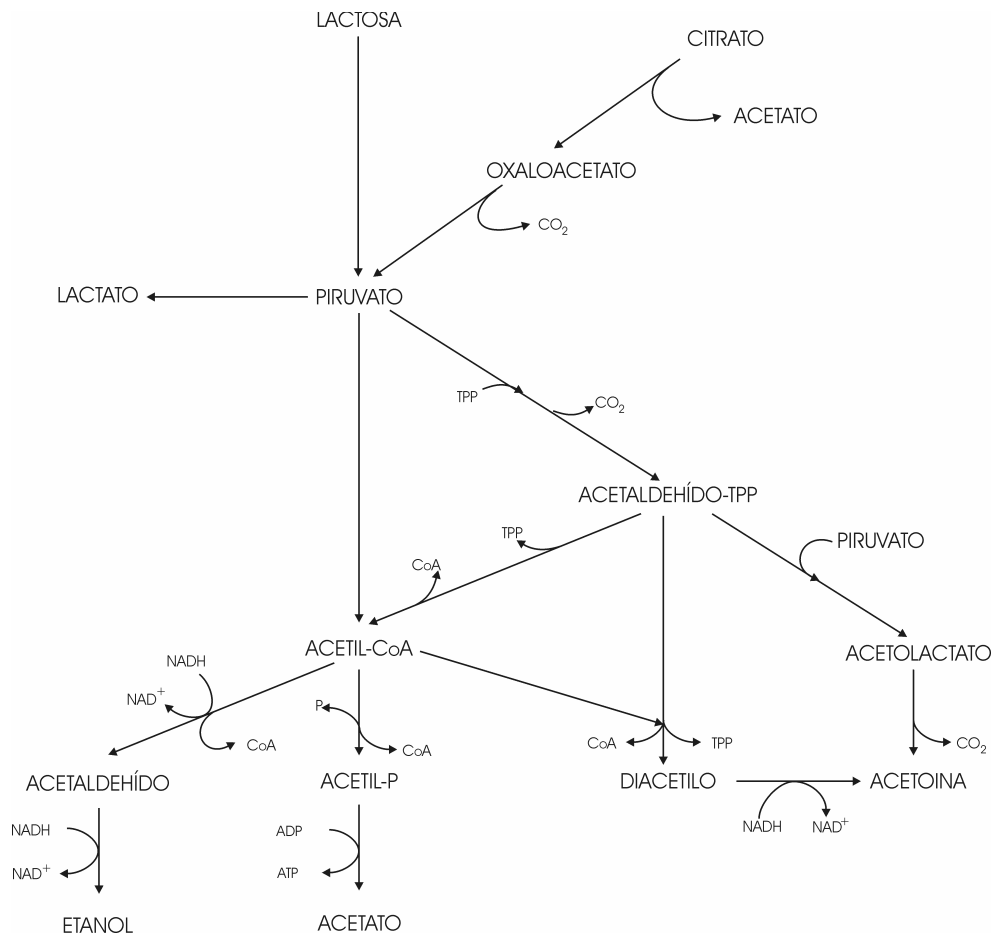


Fig. 5.2 Metabolismo del citrato en las bacterias lácticas [ECKA89]

5.3.4 Actividad proteolítica y lipolítica de las bacterias lácticas

Las bacterias lácticas son muy exigentes en cuanto a necesidades nutritivas, especialmente en péptidos de bajo peso molecular y aminoácidos. Algunas cepas de bacterias lácticas poseen un sistema proteolítico formado por enzimas asociadas a la pared y enzimas intracelulares. La velocidad de acidificación y la presencia de este sistema están muy relacionadas. Las bacterias lácticas que no poseen el sistema proteolítico (cepas prt⁻) necesitan la presencia de cepas prt⁺ o que el medio de cultivo posea los metabolitos necesarios para su desarrollo. La simbiosis de las bacterias del yogur, en parte, se basa en este hecho (ver 6.3.3.3).

La actividad lipolítica de las bacterias lácticas está bastante limitada y sus enzimas solo actúan sobre los di- y mono-glicéridos hidrolizados de los triglicéridos por acción de otras lipasas.

5.3.5 Formación de polisacáridos [WALS99]

La mayoría de las cepas de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbruekii* ssp. *bulgaricus* y algunas cepas de *Lactococcus lactis* spp. *cremoris* y spp. *lactis* producen polisacáridos. Las bacterias pueden quedar envueltas por una capa de estos polisacáridos que se llama *glicocálix*. Están formados por galactosa y otros residuos glucídicos. También pueden ser excretados al medio. Estas sustancias son muy importantes en la textura del yogur y de las leches fermentadas.

5.3.6 Bacteriocinas

Las bacteriocinas son péptidos que poseen acción antimicrobiana sintetizados por algunas bacterias gram+, entre ellas las bacterias lácticas. Las bacteriocinas se han encontrado en toda clase de alimentos fermentados por bacterias lácticas [NESI93].

Son un grupo heterogéneo, constituido mayoritariamente por péptidos de pequeño tamaño, la función de las bacteriocinas es capacitar a las bacterias que las producen para sobrevivir frente a sus competidores. Actúan formando poros en la membrana citoplasmática y eliminando el potencial de membrana, lo que provoca la salida rápida de metabolitos de pequeño tamaño, como aminoácidos y nucleótidos, interrumpiendo los procesos de biosíntesis de la célula [GARD01].

Su clasificación ha estado sometida a discusión en los últimos años, debido a los descubrimientos recientes de nuevas bacteriocinas y a su mejor caracterización bioquímica y genética. La última clasificación aceptada, propuesta por Nes et al. en 1990, es la siguiente [CINT00] :

- *Clase I*: Lantibióticos, se denominan así porque contienen aminoácidos modificados como la lantionina y/o β -metil-lantionina. Son de pequeño tamaño molecular (<5KDa).
- *Clase II*: Bacteriocinas de pequeño tamaño molecular (<10 KDa), termoestables, que no contienen aminoácidos modificados. Esta clase a su vez se clasifica en cuatro subgrupos.
- *Clase III*: Bacteriocinas de elevado tamaño molecular (>30 KDa), termolábiles (se inactivan con tratamientos térmicos de 60-100°C durante 10-15 min.). La mayoría de estas bacteriocinas son producidas por especies del género *Lactobacillus*

Una misma bacteriocina puede ser producida por cepas pertenecientes a géneros distintos. Una misma cepa puede producir distintas bacteriocinas y un único microorganismo puede producir más de una bacteriocina [GARD01].

La bacteriocina más importante es la *nisina* producida por *Lactococcus lactis*, de uso legal como aditivo alimentario en muchos países. En España se permite su uso en los quesos duros y quesos fundidos para evitar el crecimiento de *Clostridium butyricum* y *tyrobutyricum*. Otras bacteriocinas son la pediocina PA-1, producida por *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus acidilactici*, que posee actividad antilisteria, y la lactocina S, producida por *Lactobacillus sake* y *Lactobacillus plantarum* [GARD01] [NESI93].

5.3.7 Bacteriófagos [LOGU98] [WALS99]

Los bacteriófagos o fagos son virus que destruyen a las bacterias. Aunque en la leche cruda se encuentran en poca cantidad, pueden proliferar cuando hay un gran número de bacterias lácticas, por ejemplo cuando se utilizan cultivos iniciadores. Se estima que son los causantes más frecuentes de inhibición en el crecimiento de las bacterias lácticas.

Existen bacteriófagos en todos los ambientes relacionados con la elaboración de productos lácteos; su presencia da lugar a aumentos en los tiempos de los procesos, deterioro en la calidad de los productos y, en los casos más agudos, ausencia total de actividad de las bacterias lácticas, es decir, la imposibilidad de elaborar productos fermentados.

Los fagos más usuales tienen una cabeza con forma de prisma hexagonal bipiramidal elongado que posee una cubierta proteica, dentro de la cual se encuentra la información genética (ADN o ARN) del fago. A continuación están el cuello y la cola, a través de los cuales es inyectado el ADN en el interior de la célula bacteriana; al final de la cola presenta una placa base y las espículas de la cola, éstas leen e identifican los receptores situados en la pared celular de la bacteria.

Para que un bacteriófago infecte una bacteria, han de cumplirse una serie de condiciones: un intervalo de temperaturas correcto, presencia de ciertos receptores en la pared celular y cationes divalentes (Ca^{2+} y Mg^{2+}) en el medio en que se desarrolla la bacteria, aunque no todos los fagos necesitan calcio, solo el 50% de ellos.

El ciclo de la infección fágica empieza por la adsorción del fago en la pared de la célula bacteriana, este proceso es altamente específico para cada cepa, debido a que los receptores, que están formados por sustancias proteicas e hidrocarbonadas, también son específicos de cada cepa bacteriana.

Una vez el fago es absorbido por la célula, éste inyectará el ADN acumulado en su cabeza a través de la cola. El fago adquirirá ahora el control absoluto sobre el metabolismo de la bacteria y empezará la duplicación del ADN y la proteína fágica. En el interior de la bacteria se formarán nuevos fagos. Los fagos producen dentro de la célula una enzima llamada *virolisina*, que destruye la pared celular. La bacteria se lisa a medida que el peptidoglucano de la pared es destruido y una nueva generación de bacteriófagos es liberada en el medio que rodea la célula. El número de fagos liberados por cada bacteria, puede variar entre 2 y 300. Estos nuevos fagos están en condiciones de infectar nuevas bacterias. Este proceso dura entre 30 minutos y una hora después de la infección, según la temperatura, y se conoce como *ciclo lítico*.

Los fagos que se reproducen en el interior de la célula y las lisan se denominan *fagos virulentos*.

Puede ocurrir que una bacteria sea infectada por bacteriófagos, pero que no se reproduzcan ni provoquen la lisis. Lo que ocurre en este caso es que el ADN del fago se inserta en los cromosomas de la bacteria parasitada, la secuencia del ADN fágico en este caso se llama *pro-fago*. La reproducción de la bacteria puede proseguir sin que se liberen bacteriófagos, este ciclo se llama *ciclo lisogénico* y los fagos, *fagos atemperados*, y pueden entrar en ciclo lítico espontáneamente o inducidos por luz ultravioleta, temperaturas altas u otros factores.

Para destruir a los fagos se pueden aplicar los mismos procedimientos que se usan para destruir a los microorganismos: tratamiento térmico, rayos gamma y ultravioleta y desinfectantes.

Para evitar la contaminación por fagos en la industria láctea, además de seguir estrictamente las prácticas higiénicas, hay que utilizar cultivos iniciadores resistentes a los fagos. Los mecanismos de resistencia a los fagos que se presentan de forma natural son:

- Inhibición de la adsorción a la pared celular debido a la ausencia o modificación de los receptores de fagos en la superficie de la célula por mutación
- Inhibición de la inyección de ADN dentro de la célula
- Sistemas de modificación y restricción (sistema M/R): el ADN es digerido después de entrar dentro de la célula por la acción de una endonucleasa específica. Para prevenir la digestión de su propio ADN cromosómico la segunda parte del sistema, una metilasa, modifica el ADN del organismo parasitado.
- Infección abortiva: la infección fágica es abortada en el final del ciclo, la célula muere pero no se liberan fagos.

Las empresas fabricantes de cultivos iniciadores proporcionan bacterias lácticas resistentes a los fagos seleccionando mutantes con resistencia a los mismos. Además y con el objetivo de disminuir la probabilidad de infección, recomiendan mezclar cepas diferentes de un mismo microorganismo y alternar periódicamente el uso de cultivos iniciadores con cepas diferentes.

5.3.8 Especies de bacterias lácticas más utilizadas como cultivo iniciador en la industria láctea

a) Del género *Lactococcus*:

- *L. lactis* ssp. *lactis*, homofermentativa, mesófila, se utiliza en la elaboración de queso.
- *L. lactis* ssp. *cremoris*, homofermentativa, mesófila, se utiliza en la elaboración de queso.
- *L. lactis* ssp. *lactis* var. *diacetylactis*, homofermentativa, mesófila, se utiliza en la elaboración de mantequilla.

b) Del género *Streptococcus*:

- *S. thermophilus*, homofermentativa, termófila, se utiliza en la fabricación de yogur.

c) Del género *Lactobacillus*:

- *L. helveticus*, homofermentativa, termófila, se utiliza en la fabricación de queso.
- *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, homofermentativa, termófila, se utiliza en la fabricación de yogur.
- *L. delbrueckii* ssp. *lactis*, homofermentativa, termófila, se utiliza en la fabricación de queso.

- *L. casei* ssp. *casei*, homofermentativas, mesófilas, se utiliza en la fabricación de queso.
 - *L. plantarum*, homofermentativa mesófila, se utiliza en la fabricación de queso.
 - *L. brevis*, heterofermentativa, mesófila, se utiliza en la fabricación de queso.
- d) Del género *Leuconostoc*:
- *L. mesenteroides* ssp. *cremoris*, heterofermentativa, mesófila, se utiliza en la fabricación de mantequilla y queso con ojos.
 - *L. lactis*, heterofermentativa, mesófila, se utiliza en la fabricación de mantequilla y queso con ojos.

5.4 Hongos y levaduras

Hongos

Una parte de la microbiota de maduración de los quesos está formada por hongos. En algunos quesos tradicionales los hongos que intervienen en su maduración son muy específicos. Estos hongos se han seleccionado y se añaden durante la fabricación como cultivo iniciador. Son los responsables de las modificaciones de la textura, el gusto y el aroma. La mayoría de los hongos que se utilizan como cultivo iniciador pertenecen al género *Penicillium*.

Las especies más utilizadas son las siguientes:

- Hongos blancos: habitualmente se desarrollan en la superficie de los quesos, su presencia confiere a su corteza color blanco:
 - *P. camemberti*, esta especie es la de los quesos Camembert y Brie.
 - *P. casicolum*
 - *P. candidum*
- Hongos azules: habitualmente se desarrollan en el interior de los quesos. Su presencia les confiere una textura abierta con pequeñas oquedades donde crecen los hongos de color azul o azul verdoso:
 - *P. roqueforti*, es el hongo que crece en el interior de los quesos Roquefort, Cabrales, Stilton y Gorgonzola
- Otros hongos superficiales:
 - *Geotrichum candidum*, que se desarrolla en quesos de cabra de coagulación ácida; da a la corteza un aspecto arrugado de color marfil.

Levaduras

En la fabricación de kéfir y kumiss, que son leches fermentadas ácido-alcohólicas (ver capítulo 6), además de las bacterias lácticas, intervienen levaduras, que pertenecen a las especies siguientes:

- *Saccharomyces kefir*
- *Candida kluyveromices*
- *Candida kefir*
- *Kluyveromyces lactis*
- *Kluyveromyces marxianus* var. *Fragilis*

5.5 Bacterias no lácticas utilizadas como cultivo iniciador

Además de las bacterias lácticas, los hongos y las levaduras, en la industria láctea se utilizan otras bacterias como cultivo iniciador. Estas bacterias las podemos clasificar en dos grupos: las bacterias probióticas que se utilizan en la preparación de leches fermentadas y actualmente se han empezado a utilizar en la fabricación de algunos quesos y las bacterias que intervienen en la maduración de determinados quesos.

- Bacterias probióticas, de ellas trataremos más extensamente en el capítulo 6. La característica principal es que su origen es, mayoritariamente, el intestino humano y por ello su crecimiento en la leche es más difícil que en el caso de las bacterias lácticas propias de la leche. Algunas de las especies utilizadas actualmente son:
 - *Bifidobacterium bifidum*
 - *Bifidobacterium longum*
 - *Bifidobacterium infantis*
 - *Lactobacillus acidophilus*
 - *Lactobacillus johnsonii* La 1 [MOLL00]

Las bacterias probióticas actualmente son un campo de estudio muy dinámico y la aparición en el mercado de nuevas especies para su uso en los productos lácteos hace que la lista de bacterias disponibles crezca rápidamente.

- Bacterias que intervienen en la maduración de algunos quesos. Las más importantes que se comercializan como cultivo iniciador son:

- *Brevibacterium linnens*, que es una corinebacteria productora de pigmento rojo que crece en la superficie de algunos quesos como el Munster, Pont l'Évêque o Reblochon.
- *Propionibacterium freundenreichii* var. *shermanii*, es una bacteria productora de ácido propiónico, acético y CO₂, a partir del ácido láctico. Es típica de los quesos Emmental.

5.6 Obtención y comercialización de los cultivos iniciadores

Los microorganismos que forman parte de los cultivos iniciadores que se utilizan en la industria láctea se pueden obtener:

- De centros de investigación, públicos o privados, o del departamento de I+D de la propia industria recolectados del ambiente
- De colecciones públicas de microorganismos.
- De fabricantes comerciales que a su vez utilizan los dos sistemas anteriores para preparar sus cultivos
- Del lactosuero de una elaboración anterior, en el caso de la fabricación de quesos, o en el caso de leches fermentadas, sembrando una pequeña porción de una fabricación anterior

Los microorganismos se seleccionan en base a diferentes criterios, según el producto que se desea obtener. Los criterios más usuales son:

- Capacidad de acidificación
- Capacidad de modificar la textura, por ejemplo la aptitud para producir polisacáridos
- Capacidad de producir sustancias aromatizantes y sápidas
- Capacidad de sobrevivir en condiciones extremas de acidez, como es el caso de las bacterias probióticas que han de resistir (aguantar viables) el paso por el estómago para poder implantarse en el intestino

Además de los criterios anteriores, los cultivos iniciadores han de ser resistentes a los fagos, capaces de mantener sus características, y han de poder desarrollarse en la leche sin necesidades nutritivas adicionales. Para ello es muy importante:

- a) Identificar exactamente la cepa de microorganismo. Para ello existen las pruebas bioquímicas de fermentación de azúcares descritas en el *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. A veces algunas reacciones bioquímicas no son específicas de una cepa y la identificación es incierta.

Actualmente los métodos basados en el estudio del DNA plasmídico², utilizando enzimas de restricción que cortan la cadena de DNA en fragmentos que se separan por electroforesis, permiten identificar mejor las cepas de un microorganismo, ya que la secuencia de cada fragmento es específica de cada cepa [HUNG92].

- b) Evitar la contaminación de los cultivos de cepas puras, por otros microorganismos o por fagos, para ello las medidas higiénicas han de ser extremas.
- c) Mantener las propiedades por las cuales se ha seleccionado a una determinada bacteria. En el caso de las bacterias lácticas algunas características son bastante inestables porque están codificadas por plásmidos, es decir, que son propiedades que están determinadas por genes localizados en el ADN plasmídico. Durante la replicación, el ADN plasmídico se multiplica independientemente de los cromosomas. Durante la replicación, cada célula hija adquiere una réplica del ADN cromosómico y, en la mayoría de los casos, réplicas de los plásmidos que contiene la célula, pero a veces no es así, y un determinado plásmido se pierde por el camino.
- d) Hay muchas características transmitidas por plásmidos, por ejemplo, la captación de lactosa por la vía PEP/PTS (ver 5.3.1), la síntesis de proteinasas de la pared celular, el metabolismo del citrato, la resistencia a los bacteriófagos y la resistencia a los antibióticos entre otras. Estas características pueden estabilizarse por técnicas de ingeniería genética [WALS99].

Una vez seleccionado el microorganismo o microorganismos, los cultivos iniciadores pueden ser [WALS99]:

- *Cultivos de cepas únicas*: son los que están constituidos por cultivos puros (una única cepa) de un microorganismo.
- *Cultivos múltiples*: son los que están formados por una mezcla definida de cultivos puros de unas pocas, por ejemplo de dos a seis, cepas de diferentes tipos de microorganismos o diferentes cepas de un tipo.
- *Cultivos mixtos*: son los cultivos iniciadores naturales, que están constituidos por una mezcla indefinida de cepas de distintos tipos de microorganismos. La composición de estos cultivos se basa en un equilibrio dinámico entre los diferentes microorganismos y pueden experimentar cambios durante su utilización. Son los obtenidos, por ejemplo, a partir de productos lácteos fermentados.

El tipo de microorganismo que forma parte de estos cultivos es muy variable. En el caso de cultivos mixtos de bacterias lácticas mesófilas se clasifican en O, L, DL y D. Los cultivos L contienen bacterias del género *Leuconostoc* y los llamados D, bacterias con la biovariante *diacetylactis*, los cultivos O no contienen ninguno de los tipos de bacterias aromatizantes anteriores y los cultivos DL las contienen a las dos.

² La información genética de una célula bacteriana, el ADN, está contenida en el nucleoplasma sobre una estructura denominada cromosoma. Muchas bacterias poseen moléculas pequeñas de ADN circular capaces de replicarse de forma autónoma que se conocen como plásmidos. La cantidad de ADN que hay en un plásmido está entre el 0,1 y el 5% del que hay en el cromosoma. Los plásmidos pueden perderse sin que afecte a la viabilidad de la célula [STAN85]

5.6.1 Presentación comercial de los cultivos iniciadores

Los cultivos iniciadores que se encuentran en el comercio se presentan en forma líquida, congelada o liofilizada.

Cultivos líquidos

Aunque tradicionalmente era la manera en que se comercializaban los cultivos iniciadores, actualmente es la menos utilizada, debido a que su conservación es delicada y a que se pueden contaminar fácilmente. Contienen 10^9 ufc.mL⁻¹ y se han de guardar entre 2 y 5°C; en estas condiciones, si la acidez es menor de 70°Dórnic, duran varios días.

Cultivos congelados

Esta presentación es la más utilizada por las industrias lácteas medianas o grandes. Contienen unos 10^{14} ufc. mL⁻¹. Para obtenerlos, se hace crecer el microorganismo o microorganismos en el medio de cultivo adecuado. En el caso de de las bacterias lácticas, se neutraliza el ácido láctico que producen para evitar su inhibición. Una vez se ha obtenido un número de microorganismos suficiente se bactocentrifuga para aumentar su concentración. Después se añaden crioprotectores, como por ejemplo citrato sódico o lactosa, y se ultracongelan en nitrógeno líquido a -196°C. Si las condiciones de almacenamiento, a -20°C, se respetan estos cultivos duran varios meses. Pueden utilizarse para preparar fermentos madre o directos a cuba (ver 5.7).

Cultivos liofilizados

Son los que se utilizan en las industrias pequeñas; son los más caros, pero también los que requieren de menor infraestructura para su conservación. También son los que presentan menos riesgo de contaminación, sobre todo en industrias que no disponen ni de infraestructura para preparar fermentos madre ni de personal formado. Se comercializan en sobres con la dosis para un determinado número de litros de leche, por ejemplo 1000 o 5000. Contienen del orden de 10^{11} ufc.mL⁻¹. Se preparan de la misma manera que los congelados y, una vez congelados, se liofilizan. Se guardan en refrigeración de 2 a 5 °C durante casi un año.

Los fabricantes preparan cultivos para preparar fermentos madre o para su uso directo. Cuando se preparan para preparar fermentos madre, no se pueden repicar indefinidamente, debido a las razones expuestas anteriormente. El número de veces que se pueden replicar lo indica el fabricante y depende del tipo de microorganismo, es decir, de que sea más o menos capaz de mantener sus características originales.

Los microorganismos seleccionados para formar parte de un cultivo iniciador, además de las propiedades deseables para el producto que se quiera fabricar y de otras inherentes a su crecimiento, han de ser capaces de aguantar los procesos de preparación para su distribución comercial y la conservación en el estado congelado o liofilizado.

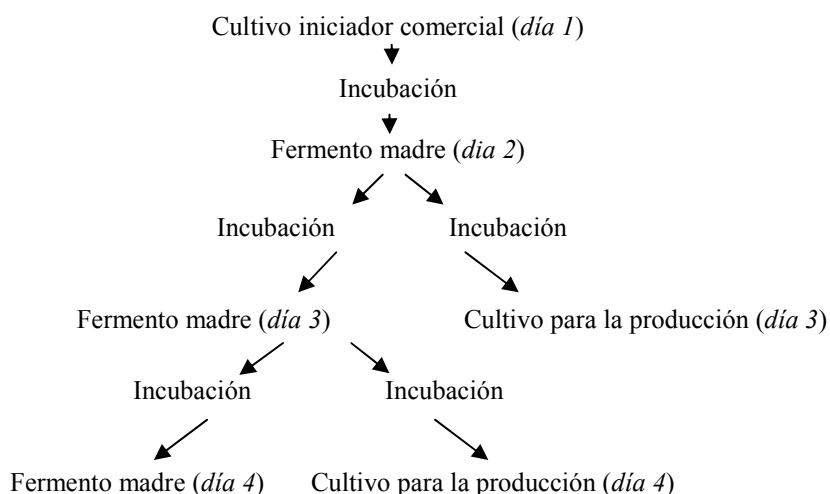
5.7 Uso de los cultivos iniciadores y preparación de fermentos madre

Los cultivos iniciadores comerciales están preparados para su uso directo en cuba, o bien, para preparar fermentos madre que servirán para preparar el cultivo para la producción.

En el primer caso, se recomienda dispersar el cultivo liofilizado o congelado en una pequeña cantidad de la leche que se pretende fermentar a la temperatura de trabajo; una vez dispersado, se añade a la cuba o tanque de fabricación, de esta manera es más fácil repartir el cultivo homogéneamente en toda la masa de leche. Es conveniente no dispersar el cultivo en agua, debido a que la presión osmótica interior de las células bacterianas las podría hacer estallar en un medio sin el contenido salino apropiado.

La preparación de los fermentos madre se realiza sembrando una cantidad del cultivo iniciador sobre una pequeña cantidad de leche desnatada que ha recibido un tratamiento térmico severo, del orden de 1 minuto a 95°C. La leche inoculada se incuba hasta que su pH desciende a un valor determinado, generalmente alrededor de 4,4 y a continuación se enfría por debajo de 5°C; en estas condiciones las propiedades del estárter se mantienen durante 36 horas como máximo. Si no se enfría, la acidificación continúa y una parte de las bacterias muere como consecuencia del exceso de producción de ácido [WALS99]. Una parte del cultivo así preparado sirve para preparar el fermento para la producción que será utilizado al día siguiente, es decir, al tercer día del inicio del proceso, y otra parte se inocula de nuevo en la leche desnatada para mantener el cultivo en condiciones óptimas de crecimiento. Este ciclo se repite cada día. Para que el cultivo iniciador mantenga sus propiedades es muy importante seguir las instrucciones del fabricante sobre el número de veces que puede repicarse y que las condiciones de propagación en cuanto al tipo de leche en la que se siembra, temperatura de incubación, tiempo de incubación y pH final sean siempre las mismas.

El esquema de preparación de cultivo madre y cultivo para la producción es el siguiente:



Los cultivos de bacterias lácticas mesófilas se incuban a 20°C durante unas 20 horas y los de bacterias lácticas termófilas a 40-45°C, de 4 a 8 h. El porcentaje de cultivo que se inocula es del orden del 0,5-1% (se considera que un cultivo en condiciones óptimas de crecimiento contiene unas 10^9 ufc.mL⁻¹).

La leche que se utiliza es desnatada porque las bacteria lácticas crecen mejor en un medio no graso. El tratamiento térmico ha de ser alto para eliminar los microorganismos indeseables, inactivar los bacteriófagos y los inhibidores de crecimiento.

También existen en el mercado leches en polvo especiales para la preparación de cultivos iniciadores.

En la industria se utilizan tanques especiales para la preparación de los cultivos de producción. Son tanques presurizados, que disponen de tapa, agitador, filtros de aire, sistemas de calentamiento y enfriamiento. En el tanque se efectúa el tratamiento térmico de la leche en la que crecerá el cultivo, después se enfría hasta la temperatura de incubación. El cultivo madre se transfiere por diferentes mecanismos de manera que en ningún momento entre en contacto con el aire. La tapa del tanque dispone de una serie de mecanismos de seguridad para evitar contaminaciones. En el mercado existen varios tipos de tanques para la preparación de cultivos, por ejemplo, los basados en los sistemas de Lewis y Jones [ROBI87].

5.8 El control de la acidificación

La leche posee una acidez natural debida a algunos de sus componentes [WALS99]:

- Las caseínas contribuyen alrededor del 33% a la acidez natural de la leche.
- Las proteínas del suero, un 5,3 %.
- Los fosfatos coloidales y disueltos, un 51,7%.
- Otros componentes como el ácido cítrico y otras pequeñas cantidades de ácidos orgánicos, un 10%.

En algunos países europeos, como Francia, Italia y España, la acidez se mide tradicionalmente en grados Dórníc. La acidez Dórníc es el número de décimas de mL de sosa N/9 utilizada para valorar 10 mL de leche en presencia de un indicador, la fenolftaleína. La normalidad N/9 es debida a que el ácido láctico tiene un peso molecular de 90. 1°Dórníc = 1 mg de ácido láctico en 10 mL de leche, o sea, $0,1 \text{ gL}^{-1}$, o 0,01% de ácido láctico.

De lo anterior se deduce que la acidez natural de la leche es variable, depende sobre todo del contenido en proteína de la leche. Así la leche de vaca puede tener una acidez de 14 a 16°Dórníc, la leche de cabra de 12 a 18°Dórníc y la de oveja de 18 a 22°Dórníc.

Cuando la leche presenta una acidez por encima de su acidez natural, la diferencia es la acidez desarrollada por las bacterias de contaminación, en el caso de que no se haya añadido un cultivo iniciador, por ello la determinación de la acidez de la leche es un método sencillo de evaluar la posible contaminación de la leche antes de fabricar o cuando llega a la industria.

También puede ser el sistema para controlar el crecimiento del cultivo iniciador, ya que la principal propiedad de las bacterias lácticas es la producción de ácido láctico, aunque es mejor controlar la acidificación mediante la determinación del pH, que además puede determinarse *on line*. El pH, más que la cantidad de ácido, determina los cambios en la conformación de las proteínas y la capacidad de supervivencia de los microorganismos que pueden crecer en la leche, así como la actividad de las enzimas.

La relación entre pH, acidez y crecimiento de bacterias lácticas, aunque los tres factores están estrechamente ligados, no es directa, ello es debido a lo siguiente:

- *Disociación del ácido láctico*: En el pH de la leche el ácido láctico no está totalmente disociado, de hecho su pK es aproximadamente de 3,9. La acidez mide todo el ácido, pero el pH solo la cantidad que está disociada.
- *Capacidad tampón de la leche*: La leche posee un efecto tampón debido a las proteínas y a las sales. El efecto tampón se traduce en que un aumento de ácido no se corresponde con un descenso paralelo del pH.
- *Otros cambios*: Como consecuencia del crecimiento bacteriano, pueden producirse otros ácidos orgánicos como acético o carbónico y disminuir el ácido cítrico de la leche.
- *Recuento bacteriano en relación a la producción de ácido*: La velocidad de acidificación del cultivo depende del tipo de cultivo, heterofermentativo u homofermentativo y de muchos otros factores; además el recuento de bacterias se expresa en escala logarítmica y la velocidad de acidificación es proporcional al número real de microorganismos.

Bibliografía

- [ECKA89] ECK, A. *El Queso*. Barcelona, Ed. Omega S.A., 1989
- [CINT00] CINTAS, L.M., CASAUS, P., HERNÁNDEZ, P.E. “Actividad antimicrobiana de las bacterias lácticas (yII)”. *Alimentación, Equipos y Tecnología*, septiembre 00, pág 109-119. 2000
- [GARD01] GARDE, S. *Bacterias lácticas productoras de bacteriocinas en la maduración dirigida de quesos españoles de pasta prensada*. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Farmacia. Tesis Doctorales INIA, serie:ganadera, nº4. Ed. INIA y Ministerio de Ciencia y Tecnología. 2001
- [HUNG92] HUNGER, W., PEITERSSEN, N. “New technical aspects of the preparation of starter cultures”. *Bulletin of the IDF* nº 277, pág. 17-21. 1992
- [LOGU98] LOGUERCIO, M. “Descripción general de los fagos. Bacteriofagos. Un problema latente en la industria quesera”. *Ed. Chr. Hansen*, Dinamarca, 1998
- [MICH01] MICHEL, V., HAUWUY, A., CHAMBA, J.F. “La flore microbienne de laits crus de vache: diversité et influence des conditions de production”. *Lait* 81, pág 575-592. 2001
- [MOLL00] MOLLET, B. “Genetically improved starter strains: opportunities for the dairy industry”. *XII Congreso Nacional de Microbiología de los Alimentos*, Oviedo, Septiembre de 2000.

- [NESI93] NES, I. "Bacteriocins: progress in food preservation". Progress in Food Fermentation. Vol. 1. *Proceedings of Euro Food Chem VII*. Valencia, 20-22 de Setembre, 1993
- [ROBI87] ROBINSON, R.K. *Microbiología lactológica*. Vol. 1 i 2. Ed. Acribia S.A., Zaragoza, 1987
- [SLAG96] SLAGHUIS, B. "Sources and significance of contaminants on different levels of raw milk production". *Symposium of IDF on Bacteriological quality of raw milk*, Wolfpassing, Austria, 13-15 de marzo, 1996
- [STAN85] STANIER, R.Y., ADELBERG, E.A., INGRAHAM, J.L., *Microbiología*. Ed. Reverté S.A., Barcelona, 1985
- [TAMI91] TAMINE, A.Y., ROBINSON, R.K., *Yogur. Ciencia y tecnología*. Ed. Acribia S.A., Zaragoza, 1991
- [TEUB92] TEUBER M. *Microbiological problems facing the dairy industry*. Butlletin of IDF 276, pág. 6-9, 1992
- [WALS99] WALSTRA P., GEURTS T.J., NOOMEN A., JELLEMA A., VAN BOEKEL M.A.J.S. *Dairy Technology*. Ed. New York, Marcel Dekker Inc., 1999

6 Leches fermentadas

6.1 Definición

Leche fermentada es la que ha sido transformada por el desarrollo de bacterias lácticas u otros microorganismos que transforman la lactosa en ácido láctico y otros metabolitos. El cambio principal que se da en la leche es el descenso del pH (hasta 4,6-4,0). Como consecuencia de este descenso, se produce la coagulación de la caseína, que forma un gel y la inhibición del desarrollo de gran número de microorganismos, entre ellos la mayoría de los patógenos, debido a la producción de ácido láctico y otros metabolitos menores como el ácido acético, el agua oxigenada o las bacteriocinas, un potencial de óxido-reducción bajo y el consumo por parte de las bacterias lácticas de componentes que son vitales para otros microorganismos.

Además, durante la fermentación se producen metabolitos como el acetaldehído y el diacetilo, que aportan aroma al producto. Algunas bacterias lácticas también producen polisacáridos que confieren a la leche fermentada una textura suave y cremosa.

6.2 Tipos de leches fermentadas

Las leches fermentadas son alimentos muy antiguos. En la Biblia se menciona en dos ocasiones a las leches agridulces o ácidas. Según algunos autores el yogurt es originario de Asia y, según otros, de los Balcanes. A principios del siglo XX, Metchnikoff en su “teoría de la longevidad” cita el beneficioso efecto del yogurt en la dieta humana. A pesar de exagerar los efectos del yogurt, Metchnikoff ejerció una influencia significativa en la expansión del yogurt en los países occidentales y como consecuencia muchos investigadores empezaron a estudiarlo [RASI78].

En todo caso, lo que es cierto es que actualmente las leches fermentadas son consumidas en casi todo el mundo y que existen muchas variantes, según la procedencia animal de la leche, el tipo de microorganismos que la fermentan y la tecnología utilizada.

Las leches fermentadas más conocidas y más tradicionales son [VEIS88]:

- El yogurt
- El kéfir, originario del Cáucaso

- El kumiss, originario de Asia Central

En los últimos años se han desarrollado mucho las leches fermentadas prebióticas, que aportan microorganismos capaces de implantarse en el intestino grueso humano.

6.3 El yogur

Al ser la leche fermentada más consumida en nuestro país y en los países de nuestro entorno, y la más estudiada, será la que trataremos más extensamente.

6.3.1 Definición de yogur

La definición de yogurt varía según las legislaciones de los distintos países. En España la norma de calidad aprobada en el RD179/2003 (BOE 42, 18 de febrero de 2003) define el yogurt de la siguiente manera:

“Se entiende por *yogur* o *yoghourt* el producto de leche coagulada obtenida por fermentación láctica mediante la acción de *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* a partir de leche pasteurizada, leche concentrada pasteurizada, leche total o parcialmente desnatada pasteurizada, leche concentrada pasteurizada total o parcialmente desnatada, con o sin adición de nata pasteurizada, leche en polvo entera, semidesnatada o desnatada, suero en polvo, proteínas de leche y/u otros productos procedentes del fraccionamiento de la leche.

Los microorganismos productores de la fermentación láctica deben ser viables y estar presentes en el producto terminado en cantidad mínima de 1 por 10⁷ colonias por gramo o mililitro”.

La norma de calidad contempla varios aspectos relativos a la composición, aditivos y características del yogur, entre los que destacaremos, por su importancia en la tecnología de fabricación, además de en las características del producto final, los siguientes:

- Todos los yogures deberán tener un pH igual o inferior a 4,6.
- Adiciones esenciales. Únicamente cultivos de *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* y estando presentes ambos.

6.3.2 Tipos de yogur

La norma de calidad citada en el apartado anterior contempla los siguientes tipos de yogur:

- *Yogur natural*, el descrito en la definición.
- *Yogur azucarado*, es el yogur natural al que se han añadido azúcar o azúcares comestibles.
- *Yogur edulcorado*, es el yogur natural al que se han añadido edulcorantes autorizados.
- *Yogur con fruta, zumos y/u otros productos naturales*, es el yogur natural al que se han añadido frutas, zumos y/u otros productos naturales.
- *Yogur aromatizado*, el yogur natural al que se han añadido agentes aromáticos autorizados.

- Yogur pasteurizado después de la fermentación

6.3.3 Microbiología y bioquímica del yogur

6.3.3.1 Microorganismos presentes en el yogur

La microbiota esencial del yogur son las bacterias lácticas: *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrückii sub. bulgaricus*.

6.3.3.2 Características de la microflora esencial [RASI78][TAMI91][DELLA92]

Streptococcus thermophilus

Morfología: Se presenta en forma de células esféricas u ovoides de 0,7 a 0,9 μm de diámetro unidas en parejas o largas cadenas, según la temperatura de crecimiento y el medio de cultivo.

Ecología: La leche y los productos lácteos

Metabolismo: Es homofermentativa. En la leche produce 0,7-0,8 % ácido láctico L(+), algunas cepas son capaces de producir hasta un 1% de ácido láctico. No produce amoníaco a partir de la arginina, ni metaboliza el citrato. Algunas cepas son capaces de producir polisacáridos que forman un mucílago, lo cual es interesante para la viscosidad del yogur.

En la leche, además de ácido láctico, produce los ácidos grasos volátiles: fórmico, acético, propiónico, butírico, isovalérico y caprónico, además produce acetoína y pequeñas cantidades de acetaldehído.

Presenta una actividad proteolítica muy pequeña en la leche y la mayoría de aminoácidos liberados son consumidos durante la fase de crecimiento logarítmico.

Temperatura de crecimiento: Es una bacteria termófila. Su temperatura óptima de crecimiento es de 42-45°C, la mínima de 10°C y la máxima de 50°C. También es una bacteria termodúrica, aguanta un tratamiento de calor en la leche de 30 minutos a 60°C.

Sensibilidad a la presencia de determinadas sustancias: Es muy sensible a la presencia de inhibidores y en especial de antibióticos, por ejemplo su crecimiento es inhibido por 0,01 U.I de penicilina o 5 μg de estreptomina por mL de leche. También es muy sensible a la sal, hecho que se aprovecha para diferenciarlo de otros lactococcus y enterococcus; no crece en presencia de un 4% de sal y algunas cepas en presencia de un 2% de sal.

Lactobacillus delbrückii sub. bulgaricus

Morfología: Se presenta en forma de bacilos alargados con la punta redondeada, separados o formando cadenas. El tamaño medio en la leche es de 0,8-1 μm de ancho y 4-6 μm de largo.

Ecología: La leche y los productos lácteos

Metabolismo: Es homofermentativa. En la leche produce aproximadamente un 1,7 % de ácido láctico D(-). Además de ácido láctico, produce pequeñas cantidades de otros productos como los ácidos grasos volátiles: acético, propiónico, butírico, isovalérico, caprónico y cáprico; además produce acetoina, acetaldehído, acetona y 2-butanona.

Presenta una actividad proteolítica mediana, pero importante por la liberación que supone de aminoácidos libres.

Temperatura de crecimiento: Es una bacteria termófila. Su temperatura óptima de crecimiento es de 40-43°C, la mínima de 15°C y la máxima de 52°C (algunas cepas crecen hasta 60°C). Aunque no se considera una bacteria termodúrica, algunas cepas aguantan temperaturas de 75°C durante 20-30 min.

Sensibilidad a la presencia de determinadas sustancias: Presenta una mayor resistencia a los antibióticos que el *S. thermophilus*, es inhibido por 0,3-0,6 U.I de penicilina. También es muy sensible a la sal; no se desarrolla en presencia de sales biliares o en caldos con un 2% de NaCl.

Ambos microorganismos son microaerófilos, soportan una acidez elevada y viven en simbiosis.

6.3.3.3 Simbiosis de las bacterias del yogur [TAMI91] [WALS99]

Cuando las bacterias del yogur (*Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrückii sub. bulgaricus*) se desarrollan conjuntamente en la leche, la producción de ácido láctico es mucho más rápida que si se desarrollan cada una por separado, ello es debido a que entre ellas se establece un fenómeno de mutua estimulación del crecimiento. Esta asociación es la que se conoce como *simbiosis* o *protocooperación*. El mecanismo es el siguiente:

Los lactobacilos, que, como se ha visto en el apartado anterior, poseen una actividad proteolítica moderada, liberan péptidos pequeños y aminoácidos, principalmente valina, que favorecen el crecimiento de los estreptococos, éstos a su vez producen ácido fórmico a partir de ácido pirúvico en condiciones anaerobias y CO₂. Ambas sustancias son necesarias para el desarrollo de los lactobacilos. Como resultado de la mutua cooperación durante el crecimiento de estas dos bacterias en la leche, la producción de ácido láctico es mucho más rápida de lo que sería esperable en función del ácido que produce cada uno de los microorganismos cultivados individualmente.

Diversas investigaciones han establecido que, además de la valina, *S. thermophilus* requiere otros aminoácidos. Los investigadores Pette y Lolkema en 1950 sugirieron que en primavera requería la presencia de leucina, lisina, cisteína, ácido aspártico, histidina y valina, ya que debido al tipo de alimento que ingería el ganado, la leche era deficitaria en esos aminoácidos y que durante el otoño y el invierno los aminoácidos requeridos además de los anteriores son: glicina, isoleucina, tirosina, ácido glutámico y metionina. Trabajos posteriores llevados a cabo por otros investigadores han ido confirmando la necesidad para *S. thermophilus* de dichos aminoácidos, siendo el aminoácido más importante para su crecimiento la valina.

La leche que ha sido tratada con un tratamiento térmico intenso como por ejemplo la esterilización convencional o UHT contiene pequeñas cantidades de ácido fórmico, pero este no es el caso de la leche que se utiliza en la fabricación de yogur a la que se somete a un tratamiento térmico moderado, por ejemplo 5-10 min. a 90-95°C; por tanto, la formación de este compuesto por *S. thermophilus* es muy importante.

La proporción óptima entre estreptococos y lactobacilos depende de las características de las cepas, pero normalmente es de 1:1. Durante la fermentación, la proporción entre los dos microorganismos va variando, inicialmente los estreptococos crecen más deprisa debido a que los lactobacilos sintetizan factores de crecimiento, y también probablemente como consecuencia de la adición de estos compuestos con el inóculo. Después, su desarrollo se hace más lento por efecto del ácido producido.

Paralelamente, los lactobacilos han empezado a crecer más rápidamente estimulados por los factores de crecimiento (CO_2 y ácido fórmico) producidos por los estreptococos. Como resultado, vuelve a establecerse la proporción inicial. Cuando esto ocurre, el yogur debería haber alcanzado la acidez deseada. Si la incubación se prolonga o el yogur no se refrigera correctamente, los lactobacilos serán las bacterias predominantes.

Las condiciones adecuadas de fermentación para mantener la proporción de 1:1 son las siguientes: se inocula a la leche un 2,5-3% de cultivo iniciador y se incuba durante 2-2,5 h a 45°C hasta una acidez final de unos $90\text{-}100^\circ$ Dórníc. El mantenimiento de esta proporción es importante, porque tanto los estreptococos como los lactobacilos contribuyen en las propiedades organolépticas del yogur. Es preciso evaluar las características de las cepas bacterianas utilizadas, ya que no todas las combinaciones son compatibles.

La modificación de las condiciones de fermentación altera la proporción entre los bacilos y los cocos de la siguiente forma:

- *Tiempo de incubación:* Un tiempo de incubación más corto implica una acidificación menor que se traducirá en un aumento relativo de los estreptococos. Por el contrario, los tiempos de incubación largos desequilibrarán la población a favor de los lactobacilos.
- *Porcentaje de inóculo:* El aumento del porcentaje de inóculo incrementa la velocidad de acidificación y, en consecuencia, se alcanzará antes el nivel de acidez que detiene el crecimiento de los estreptococos, aumentando el número de lactobacilos. Si el porcentaje inoculado es menor, el equilibrio se desplazará a favor de los estreptococos.
- *Temperatura de incubación:* La temperatura óptima de crecimiento de los lactobacilos es superior a la de los estreptococos, por tanto temperaturas más bajas favorecerán a los estreptococos y más altas a los lactobacilos.

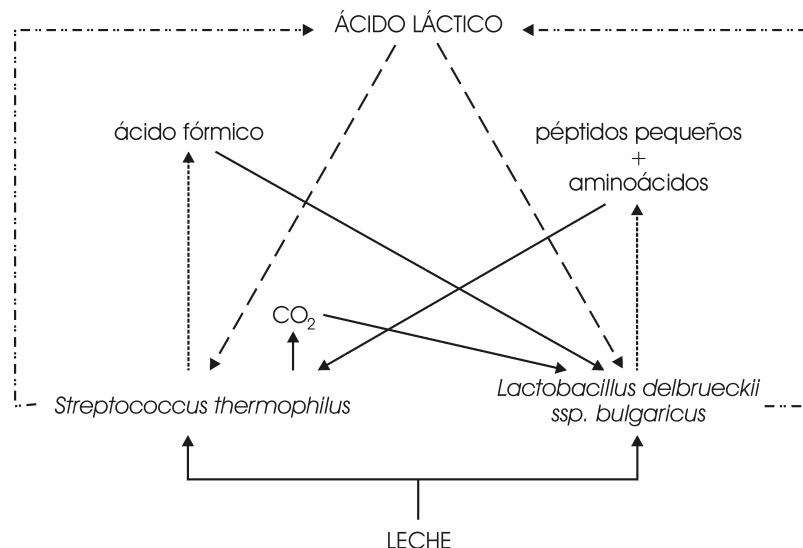
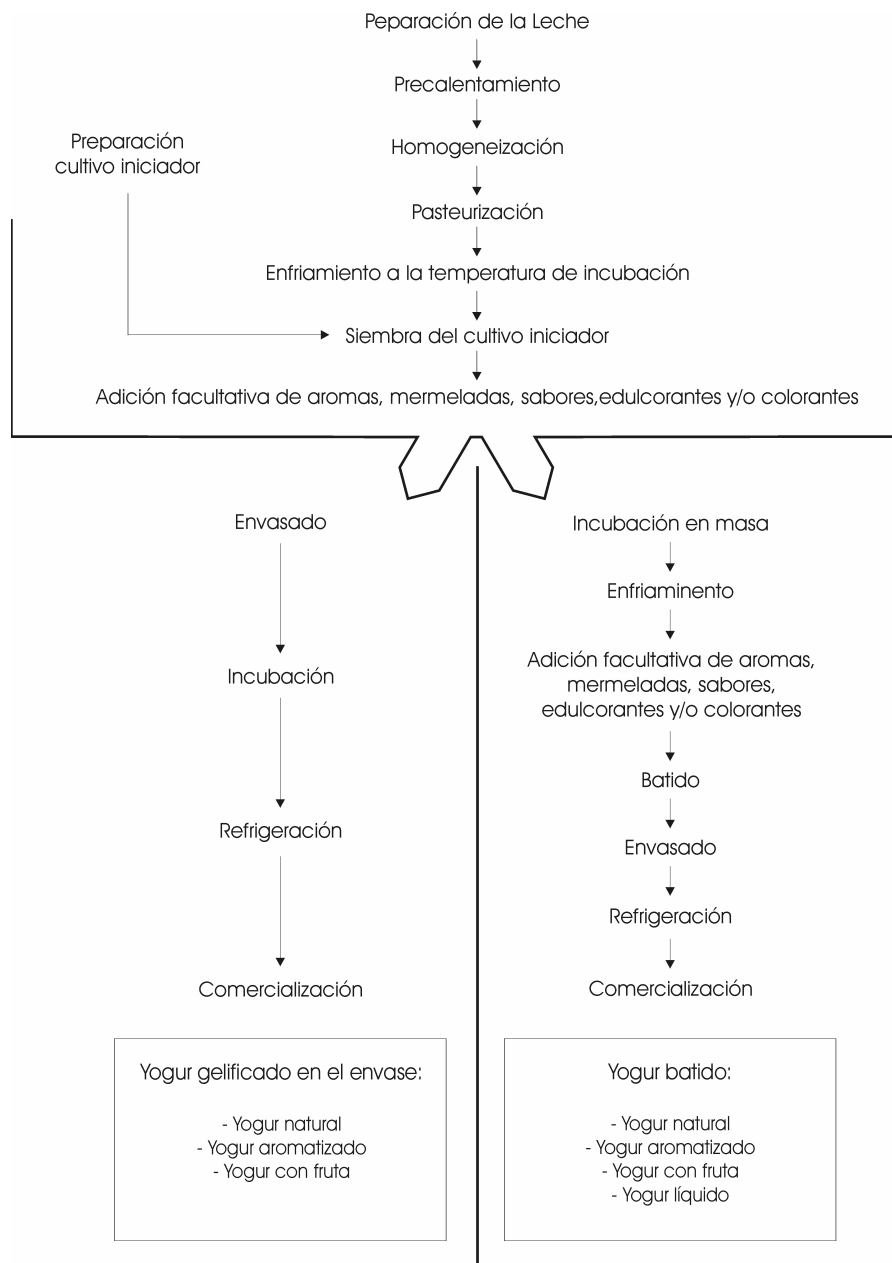


Fig. 6.1 Relaciones de cooperación de las bacterias del yogur [WALS99]

6.3.4 Fabricación de yogur

Aunque, como se ha visto en el apartado 6.3.2, la legislación contempla varios tipos de yogur, en relación al proceso de fabricación se dividen básicamente en dos clases: los fermentados en el envase y los fermentados en cuba o depósito. El diagrama de flujo general de la fabricación de yogur es el siguiente:



A continuación se describen las operaciones más importantes de la fabricación de yogur:

6.3.4.1 Preparación de la leche

En la elaboración de yogur se puede utilizar leche de distintas especies animales: vaca, cabra, oveja, búfala, camella, etc. Según el tipo de leche utilizado y su contenido en grasa y proteína, el yogur tendrá una consistencia y viscosidad diferentes, también el gusto y el aroma variarán en función de la procedencia animal de la leche. De todas maneras, como la mayor parte de los yogures que se comercializan en nuestro país son de leche de vaca, será la leche de esta especie a la que nos referiremos de ahora en adelante.

Para asegurar un producto homogéneo y de una calidad estandarizada, es preciso normalizar el contenido en grasa y en extracto seco magro.

Normalización del contenido en grasa

El contenido en grasa de los yogures está regulado por la Norma de Calidad para el yogur (RD 179/2003), en la que se especifica que el contenido en grasa de los yogures desnatados ha de ser menor del 0,5%, de 0,5 al 2% para los semidesnatados y más del 2% para el resto, que en determinados yogures especialmente cremosos puede llegar a ser del 10%.

Para estandarizar la grasa se pueden utilizar los siguientes métodos [TAMI91]:

- Eliminación mediante centrífuga de parte de la grasa de la leche (ver cap. 3)
- Mezcla de leche entera y leche desnatada
- Adición de nata a leche entera o desnatada

Estandarización del extracto seco magro de la leche

El extracto seco magro de la leche incluye principalmente lactosa, proteínas y sales minerales. El porcentaje en la leche destinada a la elaboración de yogur viene regulado, por un lado, por las normas legales, y por otro, por la consistencia y viscosidad deseadas por el fabricante para su producto.

La Norma de Calidad española para el yogur regula el contenido en extracto seco magro de la siguiente manera: “Todos los yogures tendrán, en su parte láctea, un contenido mínimo de extracto seco magro de 8,5% m/m”. En la práctica, el extracto seco magro acostumbra a ser un 10 % superior al indicado en la norma, al objeto de conferir mayor consistencia o dureza al gel y reducir o eliminar el fenómeno de la sinéresis.

Métodos de estandarización del extracto seco magro [TAMI91]:

- Concentración de la leche: Es el método tradicional, consiste en mantener la leche en ebullición hasta reducir su volumen en la cantidad deseada. Industrialmente se sustituye por la concentración de la leche en condiciones de presión inferior a la atmosférica, lo cual permite concentrar la leche sin degradarla térmicamente y conseguir un notable ahorro de energía si se hace en un evaporador de múltiple efecto.

- Adición de leche en polvo: puede ser entera o desnatada.
- Concentración por filtración a través de membranas: Se utiliza la ósmosis inversa.

Además de estandarizar la composición de la leche, al yogur se le añaden las sustancias necesarias para la elaboración de cada especialidad de producto. Estas sustancias se pueden incorporar a la leche en cualquier momento durante el proceso de fabricación, pero si aguantan el paso por el homogeneizador y la pasteurización, lo más conveniente es añadir las al principio, así nos aseguramos que reciben el mismo tratamiento térmico que la leche, lo que asegura su calidad higiénica y su correcta homogeneización. Las sustancias que se pueden añadir, según la norma de calidad, son:

- Azúcar y/o azúcares comestibles
- Edulcorantes autorizados por el RD 2002/1995
- Agentes aromatizantes autorizados solo para el yogur aromatizado
- Gelatina, solo en los yogures con fruta o zumo o aromatizados
- Almidones comestibles, solo en los yogures con fruta o zumo o aromatizados
- Colorantes autorizados por el RD 2001/1995

6.3.4.2 Homogeneización [TAMI91]

Para prevenir la separación de la grasa, la leche preparada para elaborar yogur se somete a un proceso de homogeneización.

Las modificaciones físico-químicas que sufre la leche sometida a un proceso de homogeneización son:

- Disminución del tamaño de los glóbulos grasos y por tanto aumento del número de glóbulos grasos; como consecuencia disminuye la aglutinación de la grasa y el color es más blanco, debido a que el mayor número de glóbulos grasos aumenta la dispersión y reflexión de la luz. También puede aumentar la lipólisis, debido a que la grasa está menos protegida.
- Aumento del contenido en fosfolípidos en la fase acuosa de la leche, debido a la incorporación de material de membrana, lo que puede dar lugar a la formación de espuma en los tanques de incubación, debido a la agitación de la leche al bombearla.
- Producción de compuestos con grupos sulfhidrilo como consecuencia de la desnaturalización de las proteínas del suero. La desnaturalización se produce en parte por el tratamiento térmico y en parte por la homogeneización. Estos compuestos son antioxidantes, pero pueden conferir a la leche un gusto a oxidado.
- Aumento de la estabilidad del coágulo, de la capacidad de retención de agua y de la viscosidad, debido a las interacciones proteína-proteína y proteína-grasa [KES97].

Los efectos deseables de la homogeneización sólo pueden lograrse si se mantienen determinadas condiciones durante el proceso, como son el mantener la temperatura y la presión adecuadas en relación al contenido en grasa de la leche. Debido a que el contenido en grasa de la leche para elaborar yogur no es excesivamente elevado, la homogeneización se realiza en una sola fase, a unos 50-70°C y presiones de 10.000-20.000 KPa.

6.3.4.3 Pasteurización

El tratamiento térmico al que se somete la leche destinada a la elaboración del yogur es del orden de: 85°C 30 min, 90-95°C 5-10 min, o 120° 2-3 seg. Estos tratamientos corresponden a una pasteurización alta, cuyos objetivos son:

- Destrucción de los microorganismos patógenos y de la mayor parte de los microorganismos indeseables.
- Aumento de la estabilidad del coágulo y disminución de la sinéresis durante el almacenamiento del yogur debido a los efectos del calor sobre las proteínas lácteas que se exponen a continuación.

Efectos sobre las proteínas del tratamiento térmico de la leche destinada a la elaboración de yogur

Las caseínas son termoestables, pero las proteínas del lactosuero se desnaturalizan a partir de los 65°C; por encima de los 80°C se produce la unión entre la β -lactoglobulina y la κ -caseína presente en la micela de caseína (ver apartado 4.2.3). Estos hechos determinan los siguientes cambios:

- Aumento de las propiedades hidrofílicas de las proteínas de la leche hasta un óptimo que coincide con el tratamiento térmico recomendado al principio de este apartado. Si la temperatura o el tiempo aumentan, las características hidrofílicas disminuyen gradualmente.
- En la leche tratada térmicamente, las micelas de caseína aumentan de tamaño y forman una matriz reticular, que determina una distribución continua de la proteína en toda la masa del yogur, quedando la fracción acuosa retenida en la red formada.

La consecuencia es la formación de un coágulo firme menos susceptible a la sinéresis.

Otros efectos del tratamiento térmico

El tratamiento térmico destruye a las aglutininas, que son las proteínas responsables en parte de la agregación de los glóbulos grasos y de su separación del resto de la leche, con lo que, en el caso de los pequeños fabricantes de yogur que no disponen de equipos de homogeneización, la capa de grasa que se formaría en la superficie del yogur coagulado en el envase mientras está en reposo en la fase de fermentación sería menos espesa.

La pasteurización se realiza en intercambiadores de calor de placas o tubulares cuando la fabricación se realiza en continuo; normalmente es el caso de grandes producciones de yogur, o en tanques multiuso cuando es en discontinuo. Estos tanques están equipados con camisa de circulación de agua caliente o fría con regulación de la temperatura y sistemas de agitación, en los cuales se puede realizar la mezcla base, la pasteurización y la fermentación; normalmente se utilizan en las pequeñas fabricaciones, aunque las capacidades pueden ir desde los 200 L hasta los 20.000 L.

Una vez realizada la pasteurización, la leche se enfría hasta la temperatura de fermentación y se añade el cultivo iniciador. La adición del cultivo iniciador se realiza normalmente en depósitos de mezcla en el caso del yogur fermentado en el envase o directamente en el tanque de fermentación, en el caso del

yogur fermentado en masa. A veces, al tiempo que se añade el cultivo iniciador se añaden aromas, colorantes, edulcorantes, etc.

6.3.4.4 La fermentación

La fermentación tiene lugar a temperaturas de 40-45°C, que son las condiciones óptimas de crecimiento del cultivo mixto del yogur. Si se añade un 3% de cultivo iniciador en fase exponencial de crecimiento y con una relación de los microorganismos adecuada, la fermentación se realiza en unas 2,5 horas.

La fermentación se lleva a cabo, en el caso del yogur coagulado, colocando el envase, en:

- Baños de agua a la temperatura adecuada, donde el nivel del agua se mantiene por debajo de la tapa del envase. Después de la coagulación se sustituye el agua caliente por agua fría para enfriar rápidamente el coágulo.
- Estufas o cabinas, donde circula aire caliente. Algunos modelos incluyen la circulación de aire frío para enfriar los envases después de la fermentación, sino es el caso, una vez formado el coágulo los yogures se pasan a cámaras de refrigeración y almacenamiento.
- Túneles donde los yogures circulan a través de una cinta transportadora. Estos pueden ser sólo de circulación de aire caliente, en los que cuando los envases llegan al final del recorrido con el coágulo formado se pasan a cámaras de refrigeración y almacenamiento o pueden tener dos secciones, una de circulación de aire caliente y otra de aire frío. También hay túneles solo de circulación de aire frío para enfriar rápidamente los yogures después de la incubación en estufa.

En el caso de la fabricación del yogur batido, la fermentación se realiza en tanques de fermentación que pueden ser:

- Tanques multiuso, descritos en el apartado de la pasteurización (6.3.4.3).
- Tanques de fermentación, donde sólo se realiza esta operación. Algunos están diseñados para la producción de yogur en condiciones asépticas. Son tanques aislados, el aire que entra y sale es filtrado, disponen de dispositivos de control del pH y la temperatura y el agitador está dotado de un sistema de doble cierre para minimizar la contaminación.
- Tanques de fermentación/refrigeración, en los que después de la fermentación circula agua fría por la camisa para enfriar el coágulo.

Fermentación en semicontinuo

La fermentación del yogur también se puede realizar mediante un proceso semicontinuo, que consiste en hacer pasar la leche preparada a través de un cultivo de bacterias del yogur en fase exponencial de crecimiento, a la temperatura óptima de crecimiento. Durante el tiempo de contacto de la leche con el cultivo iniciador se produce la siembra y la bajada del pH hasta 5,7 si la temperatura es de 45°C o hasta 5,4-5,7, si es de 30°C. La cantidad de cultivo y el flujo de leche que circula a través de él han de estar calculadas de manera que esta etapa dure muy poco tiempo, luego la leche prefermentada se envasa para que la acidificación posterior, que es la que formará el coágulo, ocurra en el envase en

reposo, o bien, se pasa a los tanques de fermentación, donde también se formará el coágulo en reposo que después será batido y envasado.

Otra variante de este método es utilizar el cultivo iniciador inmovilizado en gránulos de alginato cálcico. Las bacterias del yogur se encapsulan separadamente, pero se encuentran juntas en el fermentador. La leche entra en el fermentador y las bacterias salen de la cápsula que es porosa, se reproducen y se reparten homogéneamente en la leche hasta pH de 5,7. Este proceso dura unos 8-9 minutos. Luego se continúa la fabricación como se ha descrito anteriormente [DRIE92].

Formación del gel

Durante la fermentación se forma el gel. El proceso es el mismo para los dos tipos de yogur. Las modificaciones físicas y químicas de la leche durante el proceso son las siguientes:

- a) Los microorganismos del yogur metabolizan la lactosa presente en la leche para cubrir sus necesidades energéticas, produciendo ácido láctico y otros compuestos.
- b) La producción gradual de ácido láctico provoca la solubilización del fosfato cálcico y del citrato asociados a la micela, lo que conduce a la desestabilización de las micelas de caseína, que, dependiendo de la intensidad del tratamiento térmico, estarán formando complejos con las proteínas del lactosuero desnaturalizadas. Durante el intervalo de pH entre 6,6-5,3, el tamaño de las micelas se mantiene constante, pero en el intervalo 5,3-4,6 o inferior el tamaño de las micelas va decreciendo gradualmente.
- c) A medida que se va produciendo ácido láctico y el pH se aproxima al punto isoelectrico de las caseínas: 4,6-4,7, se van neutralizando las cargas negativas de las micelas de caseína, que se van aproximando y coalesciendo.
- d) Cuando se llega al pH del punto isoelectrico, las caseínas junto con las proteínas del lactosuero desnaturalizadas forman el gel constituido por una red de estructura regular que atrapa en su interior el resto de los componentes de la leche, incluyendo el agua.

6.3.4.5 Refrigeración del yogur coagulado en el envase

Una vez se ha realizado la fermentación y el yogur ha alcanzado el pH deseado, que según el tipo de producto que se desea obtener, más o menos ácido, puede oscilar entre 4,1-4,6, el coágulo debe ser enfriado rápidamente para detener la actividad de los microorganismos y evitar la sobreacidificación. El objetivo del enfriamiento es disminuir la temperatura de fermentación lo más rápidamente posible a menos de 10°C, preferiblemente a unos 4-5°C, aunque no debe realizarse bruscamente, pues se puede producir la contracción del coágulo y la condensación de agua.

El enfriamiento, como se ha visto en el apartado anterior, puede ser realizado por circulación de aire frío en cámaras o túneles de refrigeración o por circulación de agua fría en el caso de utilizar baños de agua. En todos los casos es muy importante que los envases permanezcan en reposo y que, en el caso de traslado de los envases, éste sea realizado cuidadosamente para evitar roturas del coágulo que favorecerían la sinéresis.

6.3.4.6 Refrigeración y batido del yogur coagulado en masa

Este proceso se puede realizar en dos fases o en una sola fase [TAMI91].

Enfriamiento en una sola fase

El coágulo se enfría directamente desde la temperatura de incubación hasta temperaturas inferiores a 10°C antes de proceder a la adición de los agentes aromáticos y al envasado del producto. El fundamento de este método es que el coágulo es más estable a temperaturas bajas que a temperaturas superiores a 20°C, es decir, se mantiene más estable durante el envasado, almacenamiento y comercialización.

Durante el enfriamiento se procede al batido. El batido estabiliza al yogur contra la separación de suero. El batido se puede realizar por laminación, agitación u homogeneización. Normalmente se utiliza la agitación mecánica con agitadores de hélice, de palas o de turbina. Como la refrigeración, además de haciendo circular agua fría por la camisa del depósito, también puede hacerse mediante el paso del coágulo a través de un intercambiador de calor, que suele ser tubular; el paso del yogur a través de las tuberías y su bombeo también contribuyen al batido. La homogeneización no se recomienda en el yogur batido, pero si en yogur líquido, se utiliza una presión baja de unos 2500-5000 KPa.

La intensidad del tratamiento mecánico afecta a la viscosidad del yogur, una fuerte acción mecánica determina frecuentemente una consistencia más líquida, sobre todo si el contenido en sólidos es bajo. Este defecto puede compensarse con la adición de estabilizantes. No obstante, en la industria, se evita el tener que añadir sustancias extrañas a la leche y se procura utilizar un equipo que produzca el menor daño posible a la consistencia y viscosidad del yogur batido. Si se bate incorporando aire, se favorece la separación de suero.

El grado de rompimiento del gel depende del tipo de yogur que se desea obtener. En el yogur batido las partículas del gel poseen un diámetro aproximado de 0,1-0,4 mm, mientras que en el yogur líquido dicho diámetro es inferior a 0,01 mm. [RASI78]

El batido no debe ser ni demasiado intenso ni demasiado largo. La intensidad y el tiempo óptimo de batido serán función de factores tales como: temperatura, pH, consistencia del gel y capacidad del depósito. El batido acostumbra a realizarse a dos velocidades, al principio a baja velocidad y al final a una velocidad más elevada.

Enfriamiento en dos fases

Durante la primera fase del proceso se reduce la temperatura del coágulo desde la temperatura de fermentación hasta los 15-20°C, durante la cual se procede al batido. Después se añaden los agentes aromatizantes, edulcorantes, frutas, etc. y se envasa.

La segunda fase de enfriamiento se realiza en cámaras de refrigeración en las que el yogur se enfría hasta temperaturas inferiores a 10°C. Después de 1 o 2 días de almacenamiento del yogur en reposo, la viscosidad aumenta mejorando la consistencia del producto.

La diferencia entre el yogur batido aromatizado o con frutas y el yogur líquido es que el segundo se fabrica con una mezcla base de leche con un extracto seco más bajo, del orden de 11-12%, y recibe un tratamiento mecánico de batido más intenso.

Una vez obtenido el yogur del tipo que sea, ha de mantenerse en refrigeración y tratarse con cuidado (especialmente los coagulados en el envase) para mantener las características óptimas del producto. De esta manera se evita la sobreacidificación, la sinéresis, el rompimiento del coágulo y el crecimiento de microorganismos indeseables como hongos y levaduras.

La fecha de caducidad de los yogures está regulada en la norma de calidad (RD 179/2003), que dice que “el yogur deberá ser vendido al consumidor, como máximo, dentro de los veintiocho días siguientes, contados a partir de su fabricación”.

6.3.5 Características físicas y sensoriales del yogur

6.3.5.1 Estructura del coágulo

En el apartado 6.3.4.4 se explica la formación del gel y se dice que su estructura es una red tridimensional que retiene los glóbulos grasos y el suero, lo cual da lugar a un gel semisólido, opaco y blanco que se caracteriza por una textura suave y una consistencia ligera. La acidificación incrementa las propiedades hidrofílicas de las proteínas.

Para la calidad del producto final es muy importante la relación entre el agua y las proteínas del yogur, ya que esta relación determina la consistencia y la sinéresis.

Distribución del agua en el gel [RASI78]

El agua se encuentra en el gel de tres maneras distintas: agua ligada, capilar y libre.

- El agua ligada: Es el agua de hidratación de las proteínas. Debido a que la hidratación de las proteínas depende de varios factores, es difícil determinar la proporción de este agua en el yogur. Cuanto mayor es el grado de hidratación de las proteínas mayor es la firmeza y consistencia del coágulo; no obstante, una hidratación excesiva empeora la consistencia por disminución de la firmeza del gel.
- El agua capilar: Se refiere al agua aprisionada entre los agregados de micelas durante el proceso de formación del gel. Esta proporción es difícil de determinar dada su elevada dependencia del efecto físico de capilaridad, el cual puede variar en función de numerosos factores.
- El agua libre: Se encuentra en forma de gotitas invisibles repartidas entre el coágulo. Debido a la relativamente elevada proporción de este agua, se deben tomar las precauciones tecnológicas adecuadas durante el proceso de elaboración del yogur con el fin de evitar la separación del suero o sinéresis. La adecuada estabilización del agua libre en el gel depende también del grado de hidratación de las proteínas.

Con el fin de estabilizar el agua libre en el yogur, se utilizan estabilizantes, aunque las legislaciones de los diferentes países tienden a prohibir su adición o solo la permiten en determinados tipos de yogur.

6.3.5.2 Factores que afectan a las propiedades físicas del yogur [RASI78]

- *El contenido proteico de la leche:* El aumento del contenido proteico de la leche destinada a elaborar yogur incrementa el porcentaje de agua ligada. El aumento del extracto seco magro

de la leche en un 14-15% determina una mejora sensible en la consistencia del yogur. Este aumento, como se ha visto en el apartado 6.3.4.1, puede hacerse por varios métodos. Además de la adición de proteínas de leche, el incremento en lactosa también contribuye a ligar agua.

- *Tratamiento térmico de la leche:* El tratamiento térmico de la leche destinada a la elaboración de yogur no debe alterar el complejo caseínico. A pesar de ello, se constatan pequeños cambios en la estructura de la caseína de la leche tratada térmicamente para la elaboración de yogur, como es el aumento del nitrógeno no proteico que tiende a aumentar con la severidad del tratamiento. Estos pequeños cambios de la estructura de la caseína afectan a sus propiedades hidrofílicas. Los estudios de diferentes investigadores llevan a afirmar que el tratamiento térmico ideal para potenciar al máximo la capacidad de retener agua de las proteínas es de 30 min a 80°C o de 5-10 min a 90-95°C, tratamientos por encima o por debajo en intensidad disminuyen la capacidad hidrofílica.
- *Desnaturalización de las proteínas solubles:* El tratamiento térmico descrito en el apartado anterior desnaturaliza completamente a las proteínas del lactosuero. La desnaturalización incrementa las propiedades hidrofílicas de dichas proteínas, con lo que se ve sensiblemente favorecida la consistencia del yogur. Este efecto es mucho más importante en el yogur coagulado en el envase que en el yogur batido.
- *Homogeneización:* Los glóbulos grasos naturales de la leche tienen un efecto muy pequeño sobre la textura del yogur, pero la homogeneización influye favorablemente. Por un lado se produce la incorporación mecánica de los pequeños glóbulos grasos dentro de la estructura del coágulo y por otro la incorporación de la caseína en la superficie de los nuevos glóbulos hace que actúen como grandes partículas de caseína, lo que implica que la concentración efectiva de superficie de caseína se ve incrementada contribuyendo a la formación de un gel más consistente [WALS97].
- *Acidez:* La acidez favorece la hidratación de las proteínas, por tanto una acidez insuficiente $\text{pH} > 4,6$ influye desfavorablemente en la consistencia. Un pH de 4,6 o inferior contribuye a la hidratación de las proteínas y por tanto a la consistencia del yogur, pero una acidez demasiado elevada, $\text{pH} < 4,0$ favorece la contracción del coágulo, lo que se traduce en un aumento de la sinéresis.
- *Temperatura:* La temperatura de refrigeración después de la incubación y durante el almacenamiento y distribución afectan notablemente a la firmeza del gel. En general, las bajas temperaturas favorecen la consistencia. Ya se ha visto que el proceso de enfriamiento ha de ser rápido, pero no brusco.
- *Contenido en minerales:* Los minerales contenidos en la leche y en especial el balance salino influyen sobre la hidratación de las proteínas. Un incorrecto balance salino puede determinar una consistencia débil y la separación del suero, lo cual puede remediarse con la adición de cloruro cálcico. El contenido en calcio y fosfato de la leche varía a lo largo de la lactación, su aumento favorece la firmeza del gel.
- *Presencia de enzimas proteolíticos:* Los enzimas proteolíticos producidos por las bacterias del yogur determinan una cierta hidrólisis proteica con el correspondiente cambio en la estructura y en las propiedades hidrofílicas de la proteína que ello supone. A pesar de que la degradación de las proteínas durante la elaboración del yogur es un proceso poco importante, determina ciertos cambios en la solubilidad de las proteínas.

Cepas con distinta actividad proteolítica, especialmente de *Lb. bulgaricus*, influyen en las propiedades hidrofílicas de las proteínas y en la consistencia del yogur.

6.3.5.3 Factores que afectan a la viscosidad del yogur batido [RASI78]

- *Densidad de la leche*: Una mayor densidad de la leche aumenta la viscosidad del yogur. La densidad puede ser modificada por aumento de la proporción de sólidos no grasos, de sólidos grasos o por la producción de sustancias mucilaginosas por parte de las bacterias lácticas. Este último fenómeno es favorecido por las bajas temperaturas de incubación.
- *Tipo de fermentos utilizados*: Algunas cepas de bacterias del yogur se caracterizan por la formación de sustancias mucilaginosas que aumentan la viscosidad. Se trata de polisacáridos compuestos de arabinosa, manosa, glucosa y galactosa en proporciones variables. Fermentos con una producción de mucílagos nula o excesiva se consideran inadecuados para la obtención de una viscosidad correcta. La capacidad de producir mucílagos de determinadas cepas puede decrecer después de varios repicados.
- *Tratamiento mecánico del gel*: Los factores más importantes a considerar en el batido del gel, desde el punto de vista de la viscosidad, son: temperatura de batido, la intensidad y la duración del batido, y la temperatura y el tiempo de almacenamiento del producto final.

El batido del gel debe efectuarse a baja temperatura. Según algunos investigadores, esta operación debe realizarse a temperaturas inferiores a 40°C para poder obtener una consistencia adecuada del coágulo durante el almacenamiento del yogur, probablemente debido al efecto bien de la tixotropía, bien de la pseudotixotropía.¹ Los mejores resultados se obtienen batiendo a 0-7°C y a un pH de 4,3-4,4. El batido a elevada temperatura, por ejemplo a temperatura de incubación, determina la aparición de partículas de cuajada y la separación del suero debido a un rompimiento irreversible de la estructura del gel. La intensidad del batido ha de ser razonablemente moderada, tomando las precauciones necesarias para prevenir que las partículas sean demasiado pequeñas.

- *Otros factores*: Todos los factores que afectan a las propiedades hidrofílicas de las proteínas afectan también a la viscosidad del yogur batido. Además, algunos factores que afectan a la separación de suero también afectan, dentro de ciertos límites, a la viscosidad.

6.3.5.4 Factores que afectan a la separación del suero [RASI78]

- *Acidez*: Una baja acidez (pH superior a 4,6) induce la separación del suero, debido a que la estructura del gel es débil. Una acidez elevada (pH inferior a 4,0) determina la contracción del gel y la separación del suero debido a la disminución del grado de hidratación de las proteínas, como ya se ha visto en el apartado 6.3.5.2 referido a las propiedades físicas del yogur.

¹ La tixotropía es un fenómeno de transformación reversible sol-gel; el mecanismo es el siguiente: los enlaces secundarios como los puentes de hidrógeno que normalmente ligan a las largas cadenas de macromoléculas lineales, que en el caso del yogur son las proteínas coaguladas, se rompen por el tratamiento mecánico, como consecuencia la viscosidad disminuye, pero la consistencia se incrementa de nuevo cuando la fuerza mecánica desaparece, porque vuelven a establecerse los enlaces rotos.

- *Temperatura:* Una temperatura demasiado elevada durante el período de incubación o almacenamiento favorece la contracción del coágulo y la separación del suero. Fluctuaciones de la temperatura poseen una influencia desfavorable en la estructura del yogur. Además, cualquier sobrecalentamiento de la leche durante la incubación favorece la contracción del coágulo y la separación del suero.
- *Tensión superficial:* La presencia de residuos de detergentes o desinfectantes determina una disminución de la tensión superficial que induce la separación del suero. Un efecto análogo presentan determinados ácidos grasos libres (cáprico, láurico, oleico, palmítico y esteárico) cuando se hallan en cantidades importantes dentro de la leche.
- *Hidratación de las proteínas:* Los factores que afectan al grado de hidratación de las proteínas también influyen sobre el fenómeno de la separación del suero.
- *Contenido en sólidos totales:* El incremento en materia seca, obtenido por concentración de la leche o adición de leche descremada en polvo, al aumentar el contenido en proteínas, favorece la retención del suero en el coágulo.
- *Sustancias incorporadas entre los filamentos de proteína:* Las sustancias mucilaginosas producidas por algunas cepas de las bacterias del yogur o la adición de estabilizantes (en los yogures en que está permitido) favorece la consistencia del coágulo, debido al aumento del agua ligada.

En cuanto a la grasa, un contenido bajo favorece la separación del suero, mientras que un contenido alto produce el efecto contrario. La homogeneización de la grasa es una manera eficiente de reducir la separación del suero, particularmente cuando se combina con la adición de leche en polvo desnatada.

- *Agitación:* La agitación durante la incubación afecta adversamente la estructura del coágulo debido a una agregación incompleta de los filamentos de proteína y una firmeza insuficiente del coágulo.
- *Batido:* Durante el tratamiento mecánico del yogur batido, la incorporación de burbujas de aire induce a la acumulación del suero separado alrededor de las burbujas, lo que perjudica la estructura del coágulo.
- *Acidificación:* Una acidificación demasiado rápida durante la incubación favorece una agregación muy estrecha de las partículas de proteína con el consiguiente decremento de los enlaces que ligan agua. Una acidificación irregular y lenta puede producir una textura granulosa y arenosa en el yogur; la acidificación lenta normalmente se atribuye a la insuficiente actividad de los streptococos, que puede ser debida a la presencia de sustancias inhibitorias, inóculo insuficiente o una proporción inadecuada entre *Str. thermophilus* y *Lb. bulgaricus*. A veces la estructura arenosa es debida a una mala reconstitución de la leche en polvo que se añade para aumentar el extracto seco.
- *Enfriamiento:* Un enfriamiento demasiado rápido después de la incubación produce cambios desfavorables en la estructura del coágulo que favorecen la separación del suero. Ello es debido a la contracción muy rápida de los filamentos de proteínas, lo que provoca una hidratación insuficiente.

- *Otros factores:* La agitación del yogur durante el transporte daña la estructura del coágulo e induce la separación del suero. Algunos estabilizantes, sobre todo cuando se usan en cantidades superiores a las necesarias, tienen tendencia a bajar la producción de ácido y causar la separación del suero.

6.3.5.5 Sabor y aroma del yogur (*flavor*)

El aroma del yogur está formado por una mezcla de compuestos cuyo origen puede ser la fermentación de la leche, la leche original o el tratamiento térmico de ésta. Algunos compuestos juegan un papel fundamental, son los llamados *compuestos impacto del aroma*, mientras que otros solo juegan un papel secundario, Ott y colaboradores [OTTA97], utilizando técnicas de análisis del espacio de cabeza y CG (cromatografía de gases), identificaron 91 volátiles en el aroma del yogur, de los cuales 21 eran compuestos clave del impacto. Existe un acuerdo general en la literatura científica en que los principales responsables del aroma y sabor del yogur son el ácido láctico y los compuestos carbonílicos [TAMI91].

Los compuestos que contribuyen al aroma y sabor del yogur pueden ser agrupados en cuatro categorías [TAMI91]:

- Ácidos no volátiles, como el láctico, pirúvico, oxálico o succínico
- Ácidos volátiles, como el fórmico, acético, propiónico o butírico
- Compuestos con grupos carbonilo, como el acetaldhído, acetoína, diacetilo (2,3 butanedione), acetona o 2-butanona
- Un grupo heterogéneo de sustancias, entre las que se incluyen algunos aminoácidos y/u otros compuestos formados por la degradación de las proteínas, la grasa o la lactosa por acción de la temperatura.

6.3.5.5.1 Los compuestos carbonílicos

Acetaldehído

Es el componente volátil cuantitativamente más importante que se genera durante el proceso de fermentación. Su velocidad de formación depende de la acidez. Su formación empieza a pH 5,0 y aumenta rápidamente hasta pH 4,3-4,4.

El tratamiento térmico de la leche a elevada temperatura y el incremento de los sólidos totales favorecen la producción de acetaldehído. El óptimo aroma y sabor del yogur se obtiene con un contenido en acetaldehído entre 23 y 41 ppm y con un pH de 4,0-4,4 [RASI78]; los productos con niveles de acetaldehído por debajo de 10 ppm son generalmente considerados de baja intensidad aromática [OTTA00].

El *Lb. bulgaricus* es el principal productor de acetaldehído, existiendo notables diferencias entre las distintas cepas, mientras que el *Str. thermophilus* produce pequeñas cantidades sin importancia práctica; este hecho puede ser en parte explicado por la ruta metabólica empleada principalmente por los microorganismos que se verá más adelante.

Ott A. y colaboradores (2000) [OTTA00] estudiaron la influencia de cada uno de los dos microorganismos del yogur en la producción de aroma incubando la leche con cada uno de ellos por separado y con los dos juntos. En la leche fermentada únicamente con *Lb. bulgaricus* encontraron que el producto era muy similar al yogur producido con la presencia de los dos microorganismos, sólo encontraron pequeñas diferencias entre las muestras, lo que sugiere que, al menos para las cepas que investigaron, es principalmente *L. bulgaricus* quien proporciona las características de gusto y aroma al yogur y que *Str. thermophilus* tiene poca influencia en este aspecto. La fermentación, sin embargo, es mucho más rápida cuando ambos microorganismos están presentes.

Las principales vías metabólicas de producción de acetaldehído por las bacterias del yogur son, a partir de la glucosa dos posibles rutas: la de Embden-Meyerhof-Parnas o la de la hexosa monofosfato (ver apartados 5.3.1 y 5.3.3), y a partir de la treonina. La vía de la treonina parece ser la principal ruta metabólica empleada. El enzima responsable es la treonina aldolasa, que cataliza la escisión de la treonina en acetaldehído y glicina. Aunque ambos microorganismos poseen este enzima, en las condiciones de manufactura del yogur (42-45°C) la del *Lb. bulgaricus* permanece activa mientras que la actividad de la treonina aldolasa del *Str. thermophilus* está muy mermada. La glicina es un inhibidor de la reacción, lo que explica los bajos contenidos de acetaldehído en los yogures de leche de cabra, ya que esta leche contiene unas 3 veces más glicina que la de vaca [ZOUR92].

Diacetilo y acetoína [RASI78]

Están presentes en el yogur en muy pequeña cantidad. Normalmente el contenido en acetoína es considerablemente mayor que el de diacetilo², que se encuentra desde trazas a 0,9 ppm. Ambos productos contribuyen a la formación y a la potenciación del aroma y sabor del yogur. El diacetilo confiere al yogur el aroma delicado y pleno en especial cuando el contenido en acetaldehído es bajo.

El *Str. thermophilus* es el principal productor de acetoína y diacetilo, variando su capacidad según las cepas.

La degradación del citrato (ver 5.3.3) es la principal fuente de producción de acetoína y diacetilo, aunque, en determinadas circunstancias, la degradación de la lactosa también puede ser una fuente importante.

Acetona y 2-butanona [RASI78]

Su importancia en el aroma es bastante reducida. La leche contiene pequeñas cantidades de acetona y 2-butanona, aunque las bacterias del yogur también las producen pero de manera irregular. En general, las cepas de *Lb. bulgaricus* que producen más acetona que acetaldehído, siendo la relación acetaldehído/acetona del orden de 0,4 /1,0 ppm, dan un sabor y aroma atípicos. Mientras que las cepas que producen más acetaldehído que acetona, siendo la relación acetaldehído/acetona del orden de 1,0 / 0,8 ppm, dan un aroma típico y agradable.

La acetona y la 2-butanona, a pesar de estar ya presentes en la leche en pequeñas cantidades, se originan a partir de la degradación de la lactosa o de la grasa.

² El diacetilo es el nombre popular, el nombre químico es 2,3 butanedione.

Determinados aminoácidos pueden ser degradados enzimáticamente a compuestos amónicos u otras sustancias como aldehídos, cetonas, ácidos grasos volátiles, que pueden contribuir al aroma del yogur.

Alcohol

Las pequeñas cantidades de alcohol etílico que se producen durante la fermentación de la leche carecen de importancia en el sabor y aroma del yogur [RASI78].

Ácidos grasos volátiles

Durante el proceso de elaboración del yogur se produce un sensible incremento en la proporción de ácidos grasos libres, como acético, fórmico, caproico, caprílico, cáprico, butírico, propiónico y isovalérico. Debido a ser menos volátiles que los compuestos carbonílicos su importancia en el aroma es menor.

Los ácidos grasos volátiles se producen como consecuencia de la actividad metabólica de las bacterias del yogur y proceden de la degradación de la lactosa, la grasa y algunos aminoácidos [RASI78].

6.3.5.2 Influencia de la leche en el aroma y el sabor

La leche cruda

La leche fresca posee un delicado y fino olor característico poco definido. La absorción de aromas del ganado, de la sala de ordeño, de determinados alimentos, la oxidación química, etc. pueden deteriorar seriamente el aroma de la leche por incorporación de compuestos volátiles indeseables. La leche cruda con una fuerte contaminación microbiana influye desfavorablemente en el aroma y sabor del yogur.

La leche tratada térmicamente

El tratamiento térmico de la leche determina una limitada degradación de algunos de los componentes lácteos, determinando la formación de numerosos compuestos volátiles en muy pequeña cantidad.

6.3.5.3 El pH del yogur y la percepción sensorial del aroma y sabor del yogur

Ott A. y colaboradores (2000) [OTTA00] investigaron la percepción del aroma y sabor del yogur con el pH como única variable. Prepararon dos tipos de yogur, el tradicional ácido y uno más suave y menos ácido. Cada tipo de yogur contenía diferentes cantidades de tres compuestos impacto del aroma del yogur: acetaldehído, 2,3-butanedione y 2,3-pentanedione. El pH de los dos tipos de yogur se ajustó a 4,0, 4,2, 4,4, 4,6, 4,8 y 5,0.

El panel de catadores demostró una extrema sensibilidad con el pH; la percepción de la acidez parece ser la condición para la percepción de los otros atributos. La interacción fisicoquímica a nivel de los receptores parece improbable porque la acidez se percibe en la lengua, mientras que los compuestos volátiles se perciben por vía retronasal. La cuestión permanece abierta, ya venga la respuesta determinada, más o menos automáticamente, por el perfil de estímulos recibidos simultáneamente en el cerebro por varios receptores o ya sea por mecanismos cognitivos previos como “si es ácido no puede ser cremoso”. En cualquier caso, mientras los análisis fisicoquímicos pueden medir

independientemente el pH y los compuestos volátiles, la percepción humana es integrativa por naturaleza y no puede cuantificar un estímulo independientemente de los otros.

Como conclusión, dicen que la intensidad del sabor y aroma del yogur es conducida por el pH y, consecuentemente, potenciar la formación de aroma por sobreexpresión del metabolismo de las bacterias lácticas podría no incrementar la intensidad percibida y podría desequilibrar el aroma debido a una cantidad insuficiente de aromas originales de la leche.

6.3.5.6 Propiedades organolépticas del yogur

Finalmente, podemos decir que el yogur debe caracterizarse por un sabor y aroma típicos y agradables atribuibles a la presencia de una mínima cantidad de acetaldehído, como principal componente aromático, el cual se complementa con la presencia de ácidos grasos volátiles y diacetilo. El sabor ácido y refrescante se debe a la presencia de ácido láctico.

Las propiedades físicas tales como la consistencia y la viscosidad determinan la apreciación sensorial del producto en la boca. El yogur cuajado debe poseer una consistencia firme parecida a la de un flan ligero, sin la presencia de burbujas de gas o aberturas. El gel debe ser suave sin granos ni terrones. Cuando el yogur es cortado con una cuchara, el coágulo debe romperse limpiamente. La presencia de suero en la superficie o la existencia de bolsas de suero dentro del gel son indeseables.

El yogur batido debe poseer una viscosidad moderada, una viscosidad muy alta o muy baja son indicativos de mala calidad.

6.4 Otras leches fermentadas tradicionales: el kéfir y el kumiss

6.4.1 El kéfir

El kéfir se elabora con leche de oveja, de cabra, o de vaca. Es una leche fermentada originaria de Rusia y el sudoeste asiático que actualmente se fabrica en muchos países a escala industrial con leche de vaca. Durante la fermentación se producen ácido láctico y alcohol.

La microflora del kéfir es variable, puede contener:

- Lactococos: *L. lactis* ssp. *lactis*, *L. lactis* ssp. *cremoris*, y *L. lactis* biovar *diacetylactis*
- Leuconostocs: *L. lactis*, *L. cremoris*
- Lactobacilos: *Lb. brevis*, *Lb. kefir*, a veces *L. delbruekii* ssp. *bulgaricus*, y *L. acidophilus*
- Levaduras: *Candida kluyveromices*, *Sacharomyces kefir*.

Las bacterias lácticas producen ácido láctico y las levaduras alcohol. Además, el kéfir tradicional puede contener bacterias productoras de ácido acético.

Los microorganismos que intervienen en la fermentación se encuentran formando unas estructuras granulares bastante complejas, son granos blancos, pequeños, de unos 2-15 mm de diámetro, cuyas superficies están muy contorsionadas; los microorganismos se encuentran en ellos de forma

organizada, así los lactobacilos se sitúan en las capas periféricas, pero hacia el centro son las levaduras los componentes más importantes de la microbiota [ROBI87]. Los gránulos están unidos entre ellos a través de un polisacárido formado por glucosa y galactosa.

El kéfir es una bebida láctea cremosa, burbujeante y ácida. Contiene del 0,7 al 1% de ácido láctico, de 0,05 a 1% de alcohol y un 50% de gas carbónico.

En la elaboración tradicional, los granos de kéfir se añaden a la leche, que se mantiene a una temperatura de 20-25°C durante el tiempo que dura la fermentación láctica, que suele ser de 18-24 h; seguidamente los granos se extraen de la leche, que sigue incubándose a una temperatura de 8-10°C para potenciar la fermentación alcohólica.

En la elaboración actual industrial, se parte de leche estandarizada, pasteurizada y homogeneizada. No se siembra con los granos, sino con leche acidificada obtenida previamente por incubación con los granos de kéfir; también se le añade un cultivo iniciador tipo L (ver el apartado 5.6). La leche así inoculada se envasa herméticamente y se incuba, obteniéndose un kéfir firme. Durante la fermentación se produce gas, lo que hay que tener en cuenta en el material de envasado para evitar abombamientos de las tapas.

El tiempo y la temperatura de incubación determinan las propiedades organolépticas del producto final, que a su vez están determinadas por la proporción de ácido láctico, alcohol, CO₂ y aroma.

6.4.2 El kumiss

El kumiss es una leche fermentada muy consumida en Rusia y el oeste asiático. Tradicionalmente se elaboraba con leche de yegua. Antiguamente se le atribuían efectos terapéuticos contra algunas enfermedades como la tuberculosis y el tifus. La microbiota fermentadora, como sucede en el kéfir, es muy variable.

El kumiss es una bebida espumosa efervescente. Contiene entre un 0,7 y un 1% de ácido láctico, 0,7-2,5% de alcohol, 1,8% de grasa y un 2% de proteína. Es de color verdoso. Durante la fermentación las proteínas sufren una proteólisis importante, lo que le confiere un sabor y aroma específicos.

El kumiss tradicional se fabrica con leche cruda de yegua y no se fabrica a escala industrial. El que se fabrica a escala industrial es un producto parecido al kumiss con leche de vaca. La leche de yegua tiene más lactosa y proteínas de suero que la de vaca. En la fabricación industrial, se simula la leche de yegua mezclando la leche de vaca con lactosuero ultrafiltrado y tratado térmicamente para inactivar el cuajo.

El proceso de elaboración del kumiss tradicional es el siguiente: La leche de yegua cruda a una temperatura de 26-28°C se siembra con un 40% de cultivo, hasta que su acidez aumenta a unos 55° Dórníc. La mezcla se bate vigorosamente y luego se deja en reposo hasta que la acidez alcanza unos 70° Dórníc. La leche vuelve a agitarse durante una hora más para su aireación y para la dispersión de las partículas proteicas, y a continuación se embotella. Las botellas se mantienen durante unas horas a 18-20°C y después un tiempo a 4-6°C; esta secuencia de temperaturas favorece la fermentación láctica y alcohólica.

Otras leches fermentadas son el LANGFIL, que es una leche ácida filamentosa que se fabrica en el norte de Europa y, el VILLI, que se elabora en Finlandia.

6.5 Las leches fermentadas probióticas

Las leches fermentadas probióticas son un tipo de alimento funcional. Según A. Palou y F. Serra [PALO00], “un alimento puede ser considerado funcional si se ha demostrado suficientemente que afecta beneficiosamente (más allá de proporcionar una nutrición adecuada desde el punto de vista tradicional) a una o varias funciones relevantes del organismo, de manera que proporciona un mejor estado de salud y bienestar y/o reduce el riesgo de padecer una enfermedad”.

La denominación *alimento funcional* no es muy acertada, pues todos los alimentos tienen componentes que cumplen una función, pero es ya de dominio popular.

Los alimentos probióticos durante la última década han sido definidos de varias maneras, una de ellas es la de Guarner y Schaafsma (1998) [MERC00][OUWE03]: “Los probióticos orales son microorganismos vivos que, ingeridos en cierto número, ejercen beneficios en la salud del huésped más allá de los inherentes a la nutrición básica”.

Los principales grupos de microorganismos presentes en las leches fermentadas probióticas que se comercializan en la actualidad son:

- Lactobacilos, como *Lactobacillus acidophilus*, *L. johnsonii* La 1, *L. casei* subsp. *casei*.
- Bifidobacterias como *Bifidobacterium bifidus*, *B. longum*, *B. breve*, *B. infantis*
- Levaduras como el *Sacharomyces bulardii*

Las bacterias del yogur *S. thermophilus* y *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* y las pertenecientes al género *Lactococcus* no se consideran probióticas, ya que su origen no es humano ni pueden implantarse en el intestino humano.

Cuando se habla de los efectos sobre la salud de los probióticos es muy importante distinguir entre las diferentes cepas; no todas las cepas de una misma especie tienen necesariamente los mismos beneficios [OUWE03].

Criterios de selección de los probióticos [DORC00]

Son los siguientes:

- No ser patógenos
- Estar presentes en la microbiota del intestino humano
- Ser tecnológicamente utilizables
- Sobrevivir en su paso por el tracto digestivo y recuperarse en las materias fecales
- Alcanzar su lugar de acción en el intestino en buenas condiciones viables
- Capacidad de adherirse a la superficie de las mucosas y prevenir la adhesión y colonización de patógenos

- Tener efectos positivos sobre la salud del consumidor

Crecimiento de los probióticos en la leche y tecnología de fabricación [DELL92] [HUNG92]

Tradicionalmente, la selección de las bacterias lácticas se realizaba principalmente por su capacidad de acidificar la leche y por las características organolépticas del producto obtenido a partir de ellas. Los microorganismos probióticos se seleccionan por sus características relacionadas con la salud, pero sin olvidar que han de ser capaces de crecer en la leche y mantenerse viables en la misma.

La mayoría de estos microorganismos se desarrollan mal en la leche. Para facilitar su crecimiento en la leche es útil añadir sustancias promotoras del crecimiento en la preparación del cultivo iniciador, como por ejemplo extracto de levadura, proteínas hidrolizadas de leche y vitaminas. Además, el medio de cultivo debe agitarse lo menos posible para mantener el contenido en oxígeno bajo, ya que las bifidobacterias son estrictamente anaerobias. En estas condiciones, a veces es necesario añadir del orden del 5-10% de inóculo para asegurar un crecimiento rápido y la formación de ácido en la leche.

A menudo las bifidobacterias se utilizan en combinación con lactococos, por ejemplo *L. lactis*, *Leuconostoc mesenteroides* subs. *cremoris* y estreptococos como *S. thermophilus*, ya que sus propiedades metabólicas y tecnológicas a veces son muy diferentes de las de los microorganismos de las leches fermentadas tradicionales, por lo que se han tenido que considerar los siguientes aspectos:

- Desarrollo de procesos apropiados
- Controlar el número de individuos de cada especie durante el proceso
- Establecer procedimientos selectivos para su identificación

En cuanto al metabolismo, las bifidobacterias, por ejemplo, degradan la glucosa a fructosa-6P produciendo ácido acético y ácido láctico en una proporción teórica de 3:2; el ácido láctico que producen es L(+) y no producen CO₂.

Los microorganismos pueden añadirse en forma de cultivo iniciador preparado o por inoculación directa de fermentos congelados o liofilizados. Un ejemplo de manufactura de cada manera sería [HUNG92]:

Por cultivo iniciador de una leche fermentada conteniendo un fermento de bacterias lácticas DL o L y una mezcla de bacterias probióticas *Bifidobacterium infantis* y *Lb. acidophilus*:

- Hay que preparar dos tanques de cultivo iniciador, uno con el fermento tradicional DL o L y otro con las bacterias prebióticas, en el que es necesario suplementar la leche con sustancias promotoras del crecimiento.
- La leche preparada para fermentar se inocula con un 1% del fermento clásico DL o L y con un 5% del cultivo de bacterias prebióticas.
- Se incuba a 26°C durante 16-18 h hasta pH de 4,45-4,50.

El producto obtenido tendrá aproximadamente 10⁷ ufc/g de la mezcla de bacterias probióticas. Después de 14 días de almacenamiento en frío, el contenido será de 10⁶ ufc/g.

Los cultivos iniciadores liofilizados o congelados de inoculación directa son mezclas de bacterias lácticas tradicionales y probióticas, por ejemplo:

- *S. thermophilus* y *Lb. acidophilus*
- *S. thermophilus*, *Lb. delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* y *Lb. acidophilus*
- *S. thermophilus*, *Lb. acidophilus* y bifidobacteria

Se añaden a la leche en la proporción indicada por el fabricante y se fermentan en las condiciones habituales dependiendo del tipo de microorganismos y de las características deseadas para el producto final.

En resumen, es necesario seleccionar cepas apropiadas de bacterias probióticas que, además de tener efectos beneficiosos sobre la salud, se adapten al crecimiento en la leche, que sean compatibles con las bacterias lácticas para optimizar la cooperación y tener en cuenta su aportación a las características organolépticas del producto.

Bibliografía

- [DELLA92] DELLAGLIO, F., TORRIANI, S., VLAEMINCK, G., CORNET, R. "Specific characteristics of microorganisms used for new fermented milks". *Bulletin of the IDF* 277, 1992
- [DORC00] DORCA, X., "Aliments funcionals: probiòtics". *III Jornades Científicotècniques. Alimentació al segle XXI*. ACCA, 22 de març de 2000
- [DRIE92] DRIESSEN, F.M., LOONES, A. "Developments in the fermentation process (Liquid stirred and set fermented milks)". *Bulletin of the IDF* 277, pág 4-16, 1992
- [HUNG92] HUNGER, W., PEITERSEN, N. "New technical aspects of the preparation of starter cultures". *Bulletin of the IDF* 277, pág 17-21, 1992
- [KESS98] KESSLER, H.G. *The structure of fermented milk products as influenced by technology and composition*. En: *Texture of fermented milk products and dairy desserts*. Ed.: International Dairy Federation, 1998
- [MERC00] MERCENIER, A. "Probiotics: present knowledge and future prospects". *XII Congreso Nacional de Microbiología de los Alimentos*. Oviedo. 18.19 y 20 de Septiembre de 2000
- [OTTA97] OTT, A., FAY, L.B., CHAINTREAU, A., "Determination and origin of the aroma impact compounds of yogurt flavour". *J. Agric. Food Chem.*, 45, pág. 850-858, 1997

- [OTTA00] OTT, A., HUGI, A., BAUMGARTNER, M., CHAINTREAU, A. "Sensory investigation of yogurt flavour perception: mutual influence of volatiles and acidity". *J. Agric. Food Chem.* 48, pág. 441-450, 2000
- [OUWE03] OUWEHAND, A.C., BIANCHI, B., FONDÉN, R., MOGENSEN, G., SALMINEN, S. SELLARS, R. "Health effects of probiotics and culture-containing dairy products in humans". *Bulletin of the IDF* 380, pág 4-19, 2003
- [PALO00] PALOU, A., SERRA, F. "Perspectivas europeas sobre los alimentos funcionales". *Alim. Nutri. Salud*, Vol. 7, nº 3, pág. 76-90, 2000
- [RASI78] RASIC, J. L., KURMANN, J.A. *Yogurt. Scientific grounds, technology, manufacture and preparations*. Editado por los autores, distribuido por Technical Dairy Publishing House, Dinamarca, 1978
- [ROBI87] ROBINSON, R.K. *Microbiología lactológica*. Volumen II Microbiología de los productos lácteos. Ed. Acribia, Zaragoza, 1987
- [TAMI91] TAMINE, A.Y., ROBINSON, R.K., *Yogur. Ciencia y tecnología*. Ed. Acribia S.A., Zaragoza, 1991
- [VEIS88] VEISSEYRE, R. *Lactología Técnica*. Zaragoza, Acribia, 1988
- [WALS98] WALSTRA, P., *Relation between structure and texture of cultures milk products. En: Texture of fermented milk products and dairy desserts*. Ed.: International Dairy Federation, 1998
- [WALS99] WALSTRA, P., GEURTS, T.J., NOOMEN, A., JELLEMA, A., VAN BOEKEL, M.A.J.S. *Dairy Technology*. Ed. New York, Marcel Dekker Inc., 1999
- [ZOUR92] ZOURARI, A., ACCOLAS, J.P., DESMAZEAUD, M.J. "Metabolism and biochemical characteristics of yogurt bacteria. A rewiu". *Le Lait*, pág. 1-25, 1992

7 El queso

7.1 Introducción

La historia sobre el origen del queso se pierde entre mitos y leyendas, lo que sí es cierto es que el queso fue uno de los primeros alimentos transformados. El documento más antiguo y el más famoso es un friso sumerio del tercer milenio a. C., llamado el *Friso de la lechería*, que representa claramente las operaciones de ordeño y cuajado de la leche [BATT85] [SCOT91]. A partir de este momento las referencias al queso documentadas son numerosas. Por ejemplo, el escritor romano Columela (50 d.C.), en su *De Re Rustica*, escribió ampliamente sobre el queso y su fabricación y resaltó la necesidad de la higiene en la producción de leche y en la elaboración de queso [SCOT91]. Más tarde el científico y naturalista Plinio el Viejo (23-79 d.C.), entre otras referencias, da clasificaciones sobre variedades de quesos, de los cuales 13 tipos se producían en la Roma Imperial [BATT85].

Actualmente se dice que existen en el mundo más de 1000 variedades de queso, siendo además de un producto muy nutritivo un alimento de los más apreciados por sus características gastronómicas.

Como se verá en el presente capítulo, la gran variedad de quesos existente se debe a que el proceso de fabricación comporta varias etapas, cada una de las cuales está gobernada por diferentes parámetros físicos, microbiológicos, ambientales y tecnológicos que se relacionan e influyen entre sí. Esta combinación de factores da lugar a infinidad de variaciones que hacen que el queso sea un producto de gran riqueza gastronómica, sensorial y cultural, debido también a que está fuertemente influenciado por el territorio de donde procede.

7.2 Definición

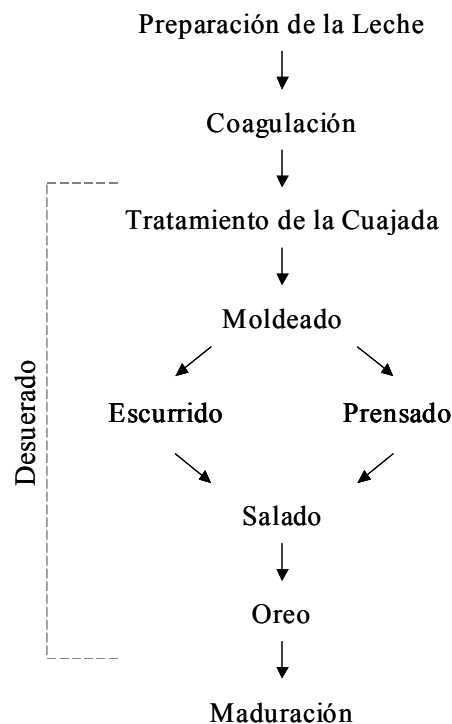
La legislación española (*Orden de 29 de noviembre de 1985, BOE núm. 292, 6 de diciembre de 1985*) define al queso de la manera siguiente:

“Se entiende por queso el producto fresco o maduro, sólido o semisólido, obtenido *por separación del suero después de la coagulación* de la leche natural, de la desnatada total o parcialmente, de la nata, del suero de mantequilla o de una mezcla de algunos o de todos estos productos por la acción del cuajo u otros coagulantes apropiados, con o sin hidrólisis previa de la lactosa.

Asimismo, se entiende por queso el conseguido mediante técnicas de elaboración que comprendan la coagulación de la leche y/o materias obtenidas de la leche y que den un producto final que posea las mismas características del producto definido en el párrafo anterior y siempre que la relación entre la caseína y las proteínas séricas sea igual o superior a la de la leche.”

La frase de la definición señalada en cursiva define la operación central de la elaboración del queso, es decir, para obtener un queso hay que coagular la leche y separar el coágulo del suero.

7.3 Diagrama general de la fabricación del queso



Desde el final de la coagulación hasta el principio de la maduración, todas las operaciones, en mayor o menor medida, contribuyen al desuerado de la cuajada.

Durante la elaboración del queso, la lactosa se convierte en ácido láctico por acción de las bacterias lácticas. Esta acidificación es más o menos intensa según el tipo de queso que se quiera fabricar, de ella resultará el pH que afecta a parámetros como la sinéresis, la consistencia y el desarrollo del aroma durante la maduración [WALS99]. Más adelante se profundizará en este aspecto.

Debido a que la coagulación es la operación central de la fabricación de queso y a que algunas manipulaciones previas de la leche influyen en ella, empezaremos explicando los mecanismos de la coagulación.

7.4 La coagulación

Mediante la coagulación, la leche se transforma en un gel, como resultado de las modificaciones fisicoquímicas de las micelas de caseína.

Los mecanismos que inducen las modificaciones de las micelas de caseína son diferentes según el método de coagulación empleado:

- 1) Las enzimas coagulantes: *coagulación enzimática*
- 2) La acidificación: *coagulación ácido-láctica*
- 3) Una combinación de los dos anteriores: *coagulación mixta*

La formación del gel lácteo o cuajada comporta la desestabilización de las micelas de caseína. Antes de explicar los diferentes mecanismos de la coagulación es conveniente repasar la estructura de la micela de caseína (Cap. 1.3.3) y recordar cuáles son los factores de estabilización:

- El tamaño de la micela
- La capa de hidratación
- La carga eléctrica

7.4.1 La coagulación enzimática

Existe un gran número de enzimas proteolíticas, de origen animal, vegetal o microbiano capaces de coagular la caseína de la leche, pero es el cuajo tradicional, que es una mezcla de quimosina y pepsina excretada en el estómago de los rumiantes lactantes, del que mejor se conoce su mecanismo de actuación [ECKA89].

De hecho, la enzima más estudiada, y que además es específica para la caseína, es la quimosina (EC 3.4.23.4, PM \approx 35600, pH isoelectrico \approx 4,65), que es la única enzima que excretan los rumiantes recién nacidos, ya que la pepsina, que hidrolizaría a las inmunoglobulinas del calostro, se empieza a producir más adelante [WALS99].

Los trabajos de varios autores han confirmado que la coagulación de la leche por acción del cuajo se produce en dos fases [BOZZ93][ECKA89]:

- a) *La fase primaria*: es la propiamente enzimática, durante el transcurso de la cual el cuajo hidroliza a la caseína κ , que es la que estabiliza a la micela.
- b) *La fase secundaria*: es la de la formación del coágulo o gelificación por asociación de las micelas de caseína hidrolizadas en presencia de calcio.

a) *La fase enzimática*

La enzima hidroliza la caseína κ en el enlace Phe₁₀₅ – Met₁₀₆ [ECKA89] [BOZZ93]. La peculiaridad del ataque no es debida tanto a la sensibilidad de este enlace, sino más bien al entorno aminoacídico : - His₉₈ – Pro – His – Pro – His – Leu – Ser – Phe₁₀₅ – Met₁₀₆ – Ala – Lleu – Pro – Pro – Lys₁₁₁, cuya secuencia determina una estructura particularmente expuesta a la acción de la enzima del cuajo

[BOZZ93]. Después de la hidrólisis, la caseína se ha dividido en dos segmentos desiguales: el segmento 1-105 correspondiente a la paracaseína κ queda integrado en la micela, ligado a las caseínas α_s y β ; y el segmento 106-169, el caseinomacropéptido, es el que se separa de la micela y pasa al suero [ECKA89] [BOZZ93].

Todas las formas de caseína κ están sujetas a esta hidrólisis, que se efectúa a gran velocidad [ECKA89] [WALS99].

La paracaseína κ posee un carácter básico e hidrofóbico. El caseinomacropéptido, que contiene los radicales glúcidos de la caseína κ (ver Cap. 1.3.3), es ácido e hidrófilo [ECKA89]. Esta reacción, aunque varíe la velocidad, sucede en un amplio intervalo de pH (de 5 a 7) y de temperatura (de 4 a 45°C) [BOZZ93].

La molécula resultante de caseína, la paracaseína, que ha perdido la parte de la caseína κ que la hacía estable en presencia del calcio, posee una composición, una estructura y consecuentemente unas características muy diferentes de la caseína original, como son la pérdida de la carga eléctrica y de la capa de hidratación, lo que comporta su inestabilidad.

b) La fase de coagulación

La fase de coagulación, se manifiesta, en condiciones normales de acidez y temperatura, cuando alrededor del 70% - 80% [WALS99] [BOZZ93] de la caseína κ ha sido hidrolizada.

Mientras la hidrólisis enzimática puede suceder en condiciones amplias de temperatura y de pH y una velocidad que se dobla al aumentar 10°C la temperatura ($Q_{10} \approx 2$), la fase de coagulación es mucho más termodependiente ($Q_{10} \approx 16$) y no se manifiesta a temperaturas inferiores a 15°C. Esta diferencia tan marcada implica que a baja temperatura se realiza el ataque enzimático, pero no la agregación, y se puede aprovechar para realizar el proceso de coagulación en continuo.

La agregación de las micelas desestabilizadas y la sucesiva formación del gel es en parte debida a las fuerzas de Van der Waals, pero esta atracción resulta insuficiente. Además es necesaria la presencia de una concentración crítica de calcio iónico (superior a los 80 mg/L). El calcio logra la neutralización de las cargas negativas superficiales de la micela y la formación de puentes entre cargas negativas. El equilibrio entre los iones calcio y el fosfato coloidal resulta determinante en la fase de formación del retículo caseínico. La disminución del pH incrementa considerablemente la actividad del calcio, ya que a pH más bajo el equilibrio se desplaza proporcionando más calcio iónico.

Además, parece ser, según diferentes autores, que se establecen enlaces hidrofóbicos entre los restos de paracaseína κ y también puentes disulfuro entre la caseína κ [BOZZ93] [ECKA89] [WALS99].

Según Payens [ECKA89], los puntos de agregación de las micelas no están repartidos uniformemente en su superficie, sino que están localizados en determinadas áreas, ello explicaría por qué no se produce un precipitado denso, sino que la coagulación da lugar a un retículo proteico laxo que aprisiona la totalidad de la fase acuosa.

En los apartados 7.6.1 y 7.6.2 se profundiza un poco más en estos aspectos.

Los factores de la coagulación enzimática

Naturaleza y concentración del enzima

La velocidad de coagulación y, en cierta medida, las características reológicas del gel varían según la naturaleza de la enzima. En cuanto a la influencia de la concentración, se conoce que el tiempo de coagulación (t_c) es inversamente proporcional a la cantidad de enzima. Esta regla de Storch y Segelke, válida dentro de ciertos límites de temperatura, de pH y de concentración de enzima, no se puede explicar de manera simple. La acción combinada de la reacción enzimática y la floculación (que se incrementa proporcionalmente en el tiempo) solo se puede explicar por intrincadas fórmulas matemáticas, que por casualidad, resultan en la relación lineal mencionada. La velocidad de reacción influye en la velocidad de endurecimiento del gel, su dureza máxima y su elasticidad. [ECKA89].

Temperatura

El fenómeno de la coagulación, como ya se ha visto en el apartado anterior, es fuertemente dependiente de la temperatura. En el intervalo 10-20°C, la velocidad de coagulación es lenta. Por encima de 20°C aumenta progresivamente, hasta lograr un máximo a los 40-42°C y disminuyendo a continuación. Por encima de los 65°C ya no se presenta la coagulación, debido a la inactivación de la enzima. La temperatura influye también sobre la velocidad de endurecimiento del gel [ECKA89] [WALS99].

pH

El tiempo de coagulación es más corto y el gel más duro en la medida en que el pH desciende por debajo del pH normal de la leche; esto es debido a que el pH óptimo de actividad de la enzima es 5,5. Además la acidificación favorece la reacción secundaria, debido a que produce inestabilidad en las micelas por la neutralización de las cargas eléctricas y a que provoca la salida de los iones calcio de la micela. A un pH inferior a 5,2, la enzima no es activa, ni tampoco a un valor superior a 7,0.

El aumento de la velocidad de coagulación por descenso del pH hasta 6,0 se acompaña de un aumento sensible de la velocidad de endurecimiento del gel y de la dureza máxima. Por debajo de 6,0, las características reológicas del gel dependen de los efectos de la desmineralización y de la desagregación de las micelas [ECKA89].

La presencia de calcio

Para que se realice la fase secundaria es necesaria la presencia de iones calcio. Si hay calcio suficiente, el gel será más firme y consistente, en cambio si el calcio se ha perdido durante el tratamiento térmico y no se ha repuesto, el gel tendrá una consistencia más blanda.

El tiempo de coagulación

Según P. Wasltra [WALS99], cuando se añade el cuajo a la leche transcurre un tiempo hasta que las micelas empiezan a flocular, pero a partir de este momento la floculación se incrementa rápidamente y en un momento determinado se puede apreciar visualmente. El tiempo requerido para iniciar la floculación es el que se define como *tiempo de coagulación*. También se puede definir como el tiempo necesario para formar un gel o para formar un gel de una consistencia determinada.

También se define el tiempo de coagulación, el que resulta de tomar como unidad el tiempo que tarda en completarse la fase primaria y multiplicarlo por un factor que puede ir de 2 a 4, según el tipo de queso que se desee elaborar. Por ejemplo, si la fase primaria dura 20 minutos, multiplicando por 2 resultan 40 minutos de tiempo de coagulación, pero hay que vigilar cuando acaba la fase primaria.

J. C. Le Jaouen [LEJA90] dice que existen tantas definiciones de “cuajada” como clases de quesos, ya que las características de la cuajada están estrechamente ligadas al tipo de queso que se fabrica. La apreciación y la evolución del final de la cuajada (tiempo de coagulación) se realiza siempre por procedimientos muy empíricos y cada quesero procede según el resultado de la práctica y la experiencia.

7.4.2 La coagulación ácido-láctica

Si se añade un ácido mineral u orgánico a la leche, cuando el pH llega a 4,6, que es el pH que corresponde al punto isoeléctrico de las caseínas, éstas floculan formando un precipitado más o menos granuloso. Pero si la acidificación se realiza lentamente y de manera homogénea en el seno de la leche, se forma un coágulo liso y homogéneo que ocupa totalmente el volumen inicial de la leche. Esto es lo que ocurre cuando se desarrolla un cultivo de bacterias lácticas en la leche en reposo.

El mecanismo de la coagulación ácida

Según G. Brule y J. Lenoir [ECKA89], el mecanismo de la coagulación ácida se debe a que el descenso del pH disminuye la carga eléctrica de las micelas de caseína, y esto trae como consecuencia la disminución del poder secuestrante del calcio de las caseínas α y β , el cual se solubiliza junto con el fósforo produciéndose un desplazamiento progresivo de estos minerales hacia la fase acuosa. Como el calcio y el fosfato juegan un papel preponderante en la estructura de la micela de caseína, su pérdida se acompaña de una desintegración de estas.

Como consecuencia de todo ello, aumenta la fuerza iónica de la solución, lo que favorece la despolimerización de la caseína α_s . Es decir, que durante la acidificación se produce una profunda desorganización de las micelas acompañada de una modificación de la estructura cuaternaria de las caseínas. Cuando se llega al pH del punto isoeléctrico, se produce la neutralización completa de la carga eléctrica y la pérdida de la capa de hidratación, lo que determina su insolubilización.

El coágulo así obtenido es el resultado de la formación de un retículo proteico insoluble que engloba a la totalidad de la fase acuosa. Los nudos de este retículo son las submicelas totalmente desmineralizadas y más o menos modificadas en su estructura. Los enlaces intermoleculares que intervienen en la formación del retículo son de naturaleza electrostática e hidrofóbica, y le confieren al coágulo una gran fragilidad.

Factores de la coagulación ácida

Los factores que participan en la coagulación ácida son: el cultivo de bacterias lácticas utilizado, la temperatura y el tiempo de duración de la coagulación, los tres están íntimamente asociados. Los cultivos iniciadores que se utilizan son mezclas de bacterias lácticas homofermentativas mesófilas, lo que condiciona que la temperatura de coagulación óptima se encuentre entre 20 y 30°C. Si la temperatura es inferior, el tiempo de coagulación será más largo, unas 24 h. Cuanto más cerca esté de los 30°C, más corto será el tiempo de coagulación, unas 12 h.

Es importante tener en cuenta que la temperatura no debe descender por debajo de los 10°C, pues por debajo de esta temperatura las bacterias lácticas están inhibidas, y también que la coagulación se ha de realizar en reposo.

7.4.3 La coagulación mixta

Ya se ha mencionado anteriormente que la coagulación mixta es una combinación de las dos anteriores. De hecho la mayoría de las coagulaciones ácidas son en realidad coagulaciones mixtas en las que predomina el carácter ácido, ya que el coágulo formado en una coagulación ácida pura es extremadamente débil como para poder procesarlo con facilidad. Una práctica habitual en la obtención de cuajadas ácidas es añadir una pequeña cantidad de cuajo, aproximadamente la décima parte de la dosis que se añadiría para realizar una cuajada enzimática y el cultivo iniciador.

Un ejemplo de queso de cuajada mixta es la del queso tipo Camembert, en que la coagulación se realiza de la siguiente manera: se añade el cultivo iniciador a la leche y se espera a que el pH disminuya a 6,3-6,4. Dependiendo de la dosis de cultivo iniciador y de la temperatura de trabajo, el tiempo puede variar de unas 12 h, si se deja toda la noche a temperatura de 13-14°C, o de 3-4 h, si se calienta la leche a unos 32°C. Cuando se alcanza el pH adecuado, que corresponde a unos 25° Dórnica¹ de acidez, se añade el cuajo para coagular la leche en unos 45 minutos.

7.4.4 Otros sistemas de desnaturalización de las caseínas

Además de los sistemas de coagulación de la caseína por formación de un gel proteico, la caseína se puede desnaturalizar añadiendo ácidos orgánicos y sales; si además se calienta a temperaturas cercanas a los 80°C, la operación logra un mayor rendimiento. Esto es lo que en Catalunya se realiza para elaborar una especie de queso fresco en casa. Se calienta la leche y se añade zumo de limón, las proteínas precipitan en forma de grumos que se cuelan con ayuda de un colador y se deja que escurran. Industrialmente, se fabrica un tipo de queso fresco que se comercializa con el nombre de *mató*, que se elabora calentando la leche a temperaturas de 80-90° y añadiendo del orden de 1,8 g de cloruro cálcico por litro de leche [ROME00]. La fuerza iónica de la sal modifica la estructura de las proteínas provocando su desnaturalización y precipitando en forma de gránulos que se separan del suero y se escurren en moldes.

Una vez explicados los diferentes sistemas de coagulación de la leche para hacer queso vamos a empezar por el principio, es decir: las características, la preparación y la influencia de algunos tratamientos en la leche de quesería.

7.5 La leche de quesería

Para hacer queso se puede utilizar leche de varias especies animales: vaca, cabra, oveja y búfala, principalmente, cuya aptitud para hacer queso viene determinada por su composición. Las especies antes citadas se caracterizan por producir una leche en la que las proteínas mayoritarias son caseínas.

¹ La acidez de la leche es el contenido en ácidos, expresado en gramos de ácido láctico por 100 mL de leche. La acidez Dórnica, es el número de décimas de mL de sosa N/9 utilizada para valorar 10 mL de leche en presencia de un indicador, la fenolftaleína. La normalidad N/9 es debida a que el ácido láctico tiene un peso molecular de 90. 1°Dornica = 1 mg de ácido láctico en 10 mL de leche o sea 0,1 gL⁻¹, o 0,01% de ácido láctico (ver apartado 5.8).

La composición aproximada de estas leches se puede observar en la tabla siguiente:

Tabla 7.1

	<i>Vaca</i>	<i>Oveja</i>	<i>Cabra</i>	<i>Búfala</i>
Agua	87-88	80-84	86-88	78-86
Grasa	3.5-4.0	5.0-7.0	4.0-6.0	6.0-9.0
Substancias Nitrogenadas	2.9-3.5	5.0-6.6	3.1-4.0	4.7-4.9
Lactosa	4.4-4.8	4.5-5.0	4.5-5.5	4.6-4.9
Sales Minerales	0.9	1.0-1.2	0.9-1.0	0.8-0.9

Fuente: [ALAI85] [LUQU91] [ROME99]

Además de las diferencias en cuanto a cantidad de grasa y proteína, la leche de las diferentes especies animales presenta variaciones en cuanto a las diferentes fracciones de caseína y a la composición en ácidos grasos de los triglicéridos, así como en la concentración de citrato. Todas estas diferencias afectarán a las características organolépticas del queso.

Seguramente el queso ideal sería aquel en el que se utilizara la leche recién ordeñada sin tratamiento alguno de frío o calor, pero, excepto en algunos casos muy concretos en que así se realiza, la leche empleada en la mayoría de las fabricaciones de queso ha sido sometida a varios tratamientos o manipulaciones.

7.5.1 La refrigeración

La refrigeración de la leche destinada a la elaboración de quesos afecta a la microbiota y a las características físico-químicas con más o menos intensidad dependiendo del tiempo y de la temperatura de refrigeración.

Efecto sobre la microbiota

El objetivo principal de la refrigeración es evitar la proliferación de microorganismos durante el tiempo de espera previo a la fabricación, por ello la temperatura que se recomienda es $<4^{\circ}\text{C}$, evitando siempre la congelación de la leche, que produciría un efecto muy negativo sobre las características físico-químicas, como se verá más adelante.

A esta temperatura hay una regresión de las bacterias mesófilas productoras de ácido láctico, pero, dependiendo de la contaminación inicial, se puede desarrollar la flora psicrotrofica, en la que predominan las especies del género *Pseudomonas* principalmente, pero también *Flavobacterium*, *Acrobacter* y *Enterobacter*, del que forman parte los coliformes. Las *Pseudomonas* se caracterizan por producir proteasas y lipasas extracelulares termorresistentes que sobreviven a la pasteurización y que pueden dar sabores amargos en los quesos (proteasas) y a rancio (lipasas) [ALAI85].

Efecto sobre las características físico-químicas

La refrigeración produce un aumento de la estabilidad de la disolución coloidal de las caseínas y una disminución de la estabilidad de la emulsión de la materia grasa.

El aumento de la estabilidad de las micelas de caseína es debido al aumento de la solubilidad de las caseínas especialmente la caseína β y a la mayor solubilización del fosfato de calcio coloidal, que es más soluble a temperaturas bajas.

Según Veisseyre [VEIS88], mantener la leche a 4°C durante 24 h supone un aumento de la caseína soluble del 10 al 20%, correspondiendo el 90% de las caseínas solubilizadas a la caseína β [ECKA89]. Paralelamente, se produce un aumento de la capa de hidratación de las micelas de caseína.

Estas modificaciones se traducen en un aumento del tiempo de coagulación, una disminución de la dureza del gel y un desuerado más difícil y menos completo en los quesos de coagulación enzimática. Una leche refrigerada a 3°C durante 48 h puede aumentar el tiempo de coagulación entre un 7 y un 27% y tener unas pérdidas de finos² de hasta un 20%, debido a que el gel obtenido es más frágil [ECKA89].

Este efecto de la refrigeración es reversible, pero la recuperación es lenta. No es suficiente con el calentamiento de la leche a la temperatura de coagulación; como mínimo tendría que estar 24 h a temperatura ambiente [VEIS88], lo que no es una práctica muy recomendable. Calentar la leche a unos 50°C le devuelve la capacidad de coagulación original [WALS99]. Para paliar estos efectos se utiliza la termización, la maduración de la leche y la adición de sales de calcio, prácticas que se verán más adelante.

La disminución de la estabilidad de la materia grasa es debida a que, a medida que la temperatura de la leche desciende, se produce la cristalización fraccionada de los triglicéridos que forman parte del glóbulo graso, cristalizando primero los que forman parte de la membrana; al cristalizar, los glóbulos grasos se retraen y aparecen fisuras en la membrana del glóbulo graso a través de las cuales pueden escapar los glicéridos menos saturados, que aún permanecen líquidos en el interior del glóbulo graso. Esta materia grasa libre tiende a esparcirse por la superficie de los glóbulos haciéndoles perder su afinidad por el agua y confiriéndoles un carácter lipófilo que origina la formación de agregados de glóbulos grasos que se separan fácilmente, por gravedad, de la fase acuosa. Este fenómeno explica la rápida formación de una espesa capa de crema en la leche enfriada a 5-10°C [VEIS88].

Cuando esto sucede, la grasa libre depositada en la superficie de los glóbulos grasos se halla expuesta a la acción de la lipasa ligada a la membrana del glóbulo graso, produciéndose lipólisis que puede dar sabor a rancio. Este fenómeno será más o menos acusado dependiendo del animal, pero si en la leche además hay una microbiota psicrotrófica elevada, se verá agravado.

Para minimizar este fenómeno es también importante limitar la agitación de la leche durante el enfriamiento, ya que se provoca la reemulsión de la grasa líquida, fijándose en su superficie micelas de caseína que generan nuevas membranas; pero las caseínas son el soporte de otro elemento del sistema lipásico natural de la leche: la lipasa plasmática [VEIS88].

² Se entiende por finos, las partículas muy pequeñas de la cuajada que se producen durante la rotura del coágulo y que se eliminan con el suero.

7.5.2 Los tratamientos térmicos

Los tratamientos térmicos a los que se somete la leche de quesería son:

- a) La termización
- b) La pasteurización a 72-74°C durante 15-20 segundos
- c) La pasteurización a 80-90°C durante varios minutos

a) *La termización*

Es un tratamiento de calor de baja intensidad. El RD 1679/94 lo define como el tratamiento entre 57 y 68°C durante 15 segundos cuyo objetivo es destruir las bacterias, especialmente las psicrotrofas. Con este tratamiento se eliminan la mayoría de las formas vegetativas de las bacterias sin que prácticamente se produzcan cambios irreversibles en las características físico-químicas de la leche. Según P. Walstra [WALS99], después de la termización la leche se puede guardar durante 3 o 4 días a 6-7°C sin un incremento sustancial en el recuento de bacterias, a condición de que no se recontamine con bacterias psicrotrofas. Debe vigilarse la supervivencia de algunos psicrotrofos termorresistentes como el *Alcaligenes tolerans*, por ello es recomendable verificar la calidad higiénica de la leche antes de fabricar.

b) *La pasteurización a 72-74°C durante 15-20 segundos*

El objetivo de este tratamiento térmico es asegurar la destrucción de los microorganismos patógenos. Se aconseja en la fabricación de quesos frescos y de quesos madurados durante menos de dos meses, aunque en este último caso puede haber excepciones en la fabricación de determinados quesos tradicionales, como es el caso del Camembert en Francia, esta excepción esta recogida en la Directiva 43/92.

c) *La pasteurización a 80-90°C durante varios minutos*

En este caso, el tratamiento térmico tiene como objetivo, además de la destrucción de los microorganismos patógenos, la precipitación de parte de las proteínas solubles. Se utiliza en la elaboración de quesos frescos para aumentar el rendimiento, ya que además la α -lactoalbúmina y la β -lactoglobulina tienen gran capacidad de retener agua, lo que se traduce en un aumento del rendimiento del 4-5%, pero no se aconseja en los quesos madurados porque las proteínas solubles en la cuajada pueden, durante la maduración, producir modificaciones de sabor debido a una ruptura del equilibrio normalmente existente entre los diversos productos sápidos de la degradación y al fijar agua hacen el desuerado más difícil [VEIS88].

Los efectos de los tratamientos térmicos sobre la composición de la leche ya se han visto en el capítulo 4, por ello solamente trataremos los efectos sobre las operaciones tecnológicas de la fabricación del queso.

7.5.2.1 Efectos de los tratamientos térmicos sobre las operaciones tecnológicas [ECKA89]

1) *Aumento del tiempo de coagulación*

El tiempo de coagulación aumenta debido a que se produce el complejo caseína κ - β lactoglobulina que se opone al acoplamiento estérico de la quimosina.

- 2) *Aumento del tiempo de endurecimiento y disminución de la rigidez del coágulo*
El tiempo de endurecimiento del coágulo aumenta debido a que baja la cantidad de enlaces con el calcio ya que una parte del calcio soluble precipita por el calor, como consecuencia el coágulo obtenido es menos rígido.
- 3) *Disminución del desuerado espontáneo del coágulo*
Como consecuencia de los mecanismos descritos en los dos apartados anteriores.
- 4) *Aumento del rendimiento quesero*
Por los mismos motivos que se han expuesto al tratar de la pasteurización a 80-90°C.

7.5.3 La bactofugación [ECKA89] [WALS99]

La bactofugación es una operación que consiste en eliminar las bacterias y sus esporas mediante la centrifugación de la leche a alta velocidad, unas 7000-9000 g y a temperatura alta, unos 72-74°C, en centrifugas especiales que se llaman *bactofugas*.

El objetivo en la leche de quesería es reducir el número de las esporas de *Clostridium tyrobutyricum* en la fabricación de quesos de pasta prensada, ya que este microorganismo es el responsable de los hinchamientos tardíos (ver apartado 7.12.1) que afectan gravemente a la calidad de los quesos además de ser un problema económico importante.

Para que la operación sea más eficaz se suelen emplear dos *bactofugas* funcionando en serie. Además de las esporas, se separa en el fango gran parte de la microbiota banal y un pequeño porcentaje de sólidos lácteos que puede representar pérdidas en el rendimiento quesero de entre el 4 y el 9% y modificaciones de la textura en los quesos de pasta cocida. El fango, que se suele extraer en continuo de la centrífuga, se esteriliza mediante inyección de vapor a unos 140°C y se reincorpora a la leche, de esta manera se minimiza las pérdidas de rendimiento y los cambios en la textura.

Dependiendo de la temperatura utilizada, que suele estar entre los 56-57°C (temperatura de termización) o los 72-74°C (temperatura de pasteurización), la eficacia de la eliminación de las esporas se sitúa entre el 56 y el 99,9%. El efecto de la temperatura sobre la eficacia de la operación es debido a varios factores:

- La temperatura alta favorece la separación al disminuir la viscosidad de la leche.
- Cuanto más alta es la temperatura, una mayor parte de la microbiota vegetativa es destruida.
- Las aglutininas de la leche, que enganchan las esporas de *Clostridium tyrobutyricum* a los glóbulos grasos, son parcialmente desnaturalizadas a temperaturas de 72-74°C y completamente a 80°C, lo que elimina su efecto aglutinante.

Es muy difícil saber qué parte de la eficacia es debida al efecto de la temperatura y que parte a la centrifugación.

Dependiendo de la contaminación inicial en esporas de *Cl. tyrobutyricum* y de la temperatura de tratamiento, la bactofugación será suficiente para eliminar el riesgo de hinchamiento tardío o se tendrá que combinar con la adición de sustancias inhibidoras de estos microorganismos (ver apartado 7.12.1). El contenido de clostridios después de la bactofugación debe ser inferior a 0,01 por mL.

Actualmente también se utilizan técnicas de separación por membranas, concretamente la microfiltración (MF) (ver apartado 7.5.5), para eliminar esporas, bacterias y células somáticas.

7.5.4 La homogenización

La homogeneización de la leche de quesería es una práctica frecuente en la elaboración de quesos frescos y en quesos madurados con mohos en su interior. La homogeneización, al romper la membrana de los glóbulos grasos, favorece la lipólisis, lo que en la mayoría de quesos madurados puede ser un problema de calidad organoléptica. Se utiliza en determinados quesos frescos porque la textura de la pasta es más fina, más lisa y más blanca.

En los quesos madurados con mohos en su interior, como el Cabrales, el Roquefort y el Gorgonzola, en los que la lipólisis es importante para sus características organolépticas, es aconsejable realizar la homogeneización de la nata separada de la leche, a presiones comprendidas entre 5000 y 15000 kPa, e incorporarla posteriormente, debido a que la homogeneización puede afectar a las micelas de caseína y al equilibrio salino de la leche produciendo efectos complejos en las características reológicas del gel [ECKA89].

7.5.5 La concentración de la leche por ultrafiltración antes de cuajar

Este procedimiento fue desarrollado en Francia por Maubois, Mocquot y Vassal (Sistema MMV) en 1969 con el objetivo de regularizar y uniformizar las operaciones del desuerado de la cuajada.

Durante los últimos años esta tecnología se ha desarrollado considerablemente, utilizándose en la actualidad en la elaboración industrial de muchos quesos frescos, por ello este apartado será más extenso.

Antes de explicar los procedimientos que se utilizan, vamos a definir y explicar las principales características de la separación por membranas en la industria láctea.

Definición de separación por membranas y sus características [ALTA02]

La separación por membranas, también llamada *tangencial*, consiste en separar los constituyentes de un líquido haciéndolo pasar bajo presión a lo largo de una membrana semiporosa permeable.

Sus principales características son:

- a) Es una técnica de separación que opera a nivel molecular.
- b) Es un tipo de separación que no conlleva un cambio de estado.
- c) Se realiza a bajas temperaturas, entre 10 y 50°C.
- d) Es un proceso continuo con menor consumo energético.
- e) Se puede aplicar el concepto de modularidad.
- f) Se puede aplicar en diversas operaciones en la industria láctea, tales como purificación, eliminación de bacterias, concentración, fraccionamiento y separación.

Los tipos de filtración por membranas son: microfiltración (MF), ultrafiltración (UF), nanofiltración (NF) y la ósmosis inversa (OI). En la tecnología de la fabricación de quesos se utilizan principalmente la microfiltración y la ultrafiltración, aunque para aplicaciones muy concretas, por ejemplo

desalinización parcial del suero de quesería o concentración de suero, se utilizan la NF o la OI respectivamente.

La MF se utiliza para eliminar microorganismos sin que la leche sufra un tratamiento térmico y para eliminar esporas butíricas, tal como se ha mencionado antes. También para fraccionar caseínas y seroproteínas y para purificar salmueras.

La UF es la que presenta más aplicaciones, por ello es la que se va a explicar con más detalle.

Seguidamente se describen las membranas utilizadas en general en los diferentes procesos de separación.

Tipos de membranas [ALTA02] [RODR97]

Las membranas están constituidas básicamente por un material semipermeable específico para cada caso y un soporte del mismo, conformando cada elemento una configuración espacial propia de ambos constituyentes. Así se pueden clasificar de dos maneras:

a) Por el material de la membrana y su soporte:

- 1ª generación: Acetato de celulosa, actualmente en desuso debido a sus limitaciones de temperatura (50° máximo), pH (3 a 8) y su sensibilidad a los desinfectantes [AMIG92]
- 2ª generación: Orgánicas o poliméricas, de las cuales las fabricadas en polieter sulfona (PES) son las más utilizadas. Tienen un soporte orgánico/polimérico.
- 3ª generación: Inorgánicas, a base de óxido de zirconio y soporte rígido de carbono, que tienen gran resistencia térmica (400°C) y mecánica (4000 kPa) y amplia tolerancia al pH (toda la escala).
- 4ª generación: Cerámicas, a base de óxido de titanio y soporte de alúmina
- 5ª generación: Metálicas, a base de fibras de níquel con soporte de acero inoxidable que, en el momento de escribir este texto, aún no son comerciales.

b) Por su disposición espacial

Pueden ser: microtubulares o de fibra hueca, de placas y bastidor (Plate & Frame), espirales (SW) o tubulares (cerámicas). En la actualidad el uso generalizado se orienta hacia las membranas espirales (orgánicas) y hacia las tubulares. Las primeras están formadas por dos hojas de membranas entre las cuales se inserta un separador poroso; estas membranas se enrollan en torno a un colector aforado que recoge el permeado que atraviesa la membrana. Las segundas funcionan como un colector en el interior del cual pasa la alimentación con la permeabilidad hacia el exterior. Los tubos poseen una configuración sencilla y un diámetro de entre 12 y 25 milímetros.

Procedimientos utilizados en la elaboración de quesos frescos

Por un lado, la UF se puede utilizar para estandarizar la leche o concentrarla en proteína, para ello primero se desnata y después se ultrafiltra hasta la concentración deseada de proteínas, se añade la nata necesaria para estandarizar el contenido en grasa y se continúa la elaboración por el procedimiento tradicional. O bien, se realiza la UF hasta conseguir una concentración en proteínas en el retentado igual a la que tiene que tener la leche coagulada, lo que se denomina el *prequeso líquido*. Es decir, se elimina el suero antes de coagular, se estandariza en grasa y se añade el cuajo. También se

puede añadir la sal y los fermentos según el tipo de queso que se quiera elaborar, de esta manera se puede operar en continuo envasando la leche concentrada con el cuajo y la sal y dejando los envases en reposo a la temperatura de coagulación, el tiempo necesario para que se forme el queso, o realizando la coagulación en una cuba y pasando directamente al moldeado y posterior envasado sin tener que realizar las operaciones relativas al desuerado.

Características de la leche concentrada por UF [RODR97]

1) *Aumento de la capacidad tampón:*

Una de las principales características de la leche concentrada por UF es su alta capacidad tampón, debido al elevado contenido en proteínas y sales minerales y orgánicas. Cuando la elaboración requiera el uso de un cultivo iniciador se tendrán que utilizar, para evitar fallos en la acidificación, cultivos iniciadores con elevada actividad acidificante. Añadir una dosis alta de bacterias para que acidificasen más rápidamente conllevaría la acumulación de altas concentraciones de enzimas microbianas y el consiguiente incremento de la proteólisis.

2) *Aumento de la viscosidad:*

A partir de concentraciones de proteínas en el retentado superiores al 12-14%, se produce un gran incremento en la viscosidad del mismo, de hecho la viscosidad se incrementa proporcionalmente a la concentración de proteínas. Este aumento de la viscosidad dificulta la distribución del cuajo y del cultivo iniciador, lo que puede provocar diferencias de pH en el interior del prequeso, que se traducirán en diferencias en la textura final de los quesos. Otro problema asociado a la viscosidad es la dificultad de enfriamiento desde la temperatura de proceso (50-55°C) hasta la de adición del cuajo y el cultivo iniciador (30-32°C), con el consiguiente riesgo de proliferación de microorganismos no deseables.

Ventajas del empleo de la UF en la elaboración de quesos [RODR97]

- La principal ventaja es el incremento en el rendimiento quesero que se obtiene por la incorporación de las proteínas de suero al queso
- Reducción del volumen de leche a procesar, lo que implica una reducción en las necesidades de superficie industrial o un incremento en la capacidad productiva de la misma
- Menor poder contaminante del lactosuero
- Menores necesidades de cuajo y de cultivo iniciador
- Estandarización del contenido en grasa y proteínas de la leche para la elaboración de queso
- Incremento en el valor nutritivo del queso por el elevado valor biológico de las proteínas del suero
- Simplificación en el proceso de elaboración y posibilidad de utilizar sistemas de producción continuos
- Ahorro de energía y reducción del tiempo de elaboración, al no existir prácticamente desuerado de los quesos

- Mejor control del tamaño de los quesos
- pH neutro del permeado

En cuanto a la maduración de los quesos obtenidos por ultrafiltración la calidad del queso, es menor. La maduración es más lenta, el aroma permanece plano y el queso relativamente blando, debido a que la proteólisis es menos intensa [RODR97].

En la industria quesera española, la UF se utiliza en [ALTA02]:

- Fabricación de quesos tipo Burgos en tarrina
- Concentración de leches de cabra y oveja para congelación y poder así contar con esta materia prima en épocas de baja producción
- Concentración de leche de cabra para elaborar cuajadas acidificadas para exportación a Francia
- Concentración de sueros dulces de quesería

7.5.6 La maduración de la leche

La maduración de la leche consiste en sembrar bacterias lácticas y dejarlas desarrollar en la leche durante un tiempo más o menos largo antes de la coagulación.

Los objetivos son varios:

- Restablecer los equilibrios físico-químicos modificados por el almacenamiento de la leche en frío.
- Hacer que la leche adquiera las máximas cualidades como medio de cultivo para los fermentos lácticos y evitar la implantación de microorganismos perjudiciales, ya sean patógenos o tecnológicamente peligrosos.
- Provocar la acidificación de la leche previa a la coagulación en los quesos de coagulación mixta.

En todos los casos, lo que se produce es un aumento de la acidez de la leche y una disminución del pH. Este efecto palia los efectos de la refrigeración ya que se acorta el tiempo de coagulación, pero no porque los cambios físico-químicos se restablezcan (ver 7.5.1), sino porque la leche ligeramente acidificada posee un pH más cercano al pH óptimo de actuación del cuajo, lo que acorta el tiempo de coagulación.

En el segundo caso, lo que se pretende es que las bacterias lácticas, que necesitan aminoácidos y péptidos para su crecimiento, sinteticen sus enzimas proteolíticas para así disminuir la fase de latencia durante la fabricación [ECKA89], asegurando la acidificación durante la elaboración del queso.

En los quesos de coagulación mixta, es necesaria la acidificación previa de la leche, que será más o menos intensa según el tipo de queso, antes de la coagulación.

La forma de proceder es muy variada, por ejemplo: después de la pasteurización o la termización enfriar la leche a 20-22°C, sembrar un 0,3-0,5% de fermento láctico, mantener la leche a esta temperatura durante unos 30 minutos y enfriar a 10°C durante 16-18 horas. Otra manera: después del tratamiento térmico, sembrar el fermento a dosis del 0.5-1% a temperatura de coagulación e ir controlando el grado de acidificación deseado, se puede tardar 2-3 h en bajar la acidez 2-3° Dórnico.

Lo que hay que tener en cuenta es que el pH no baje de 5,2, que es el pH mínimo de actuación del cuajo; por debajo de él, el cuajo está inhibido.

7.5.7 La adición de enzimas coagulantes, cultivos iniciadores y aditivos

Finalmente, antes de la coagulación, a la leche de quesería se le añaden una serie de sustancias, algunas de ellas imprescindibles en la fabricación del queso y otras opcionales, que intervendrán en la elaboración del producto.

Las enzimas coagulantes

Las enzimas coagulantes pueden ser de origen animal, vegetal o microbiano. En todos los casos se trata de proteasas con una actividad sobre las caseínas de la leche más o menos específica y más o menos intensa, lo que influye en la calidad y las características del queso.

La legislación española sobre los coagulantes de leche (Orden de 20 de febrero de 1996 (BOE de 26 de febrero)) es bastante completa, por lo que utilizaremos sus definiciones:

Coagulantes de leche: Son preparaciones de proteinasas de origen animal, vegetal o microbiano con capacidad de provocar la desestabilización de la micela de caseína por formación de un gel lácteo en las condiciones habituales de la elaboración del queso. Se clasifican en:

- *Cuajo*: Es el producto obtenido exclusivamente por extracción de los cuajares de rumiantes cuyo componente activo está constituido por quimosina pura o en mezcla con pepsina de rumiantes.
- *Quimosina*: Es el enzima obtenido bien por extracción de los cuajares de rumiantes, procediendo posteriormente a la separación de la quimosina pura por métodos físico-químicos especiales, o bien por fermentación a partir de un microorganismo modificado genéticamente, en el que se ha incorporado el gen responsable de la síntesis de quimosina de ternera.
- *Coagulante animal*: Es el producto de diferente origen animal que el descrito en el apartado *cuajo*, cuyo componente activo está constituido por quimosina y pepsina.
- *Coagulante vegetal*: Es el producto de origen vegetal cuyo componente activo tiene actividad coagulante y está constituido por una o varias proteinasas, procedentes de las especies de cardo (*Cynara cardunculus*, *Cynara humilis*) e higuera (*Ficus carica*).
- *Coagulante microbiano*: Es el producto de origen microbiano cuyo componente activo tiene actividad coagulante y está constituido por una o varias proteinasas, procedentes de las cepas: *Endothia parasitica*, *Mucor pusillus*, y *Mucor miehei*.

La normativa prohíbe la mezcla entre sí de los coagulantes definidos anteriormente. También define:

Título: Es la indicación de la actividad coagulante (AC) de las proteinasas presentes, expresadas en unidades de coagulación (UC), de acuerdo con la Norma y técnica FIL 110B:1997 para su composición y la Norma y técnica FIL 157A:1997 para la fuerza.

En cuanto a las denominaciones de los diferentes coagulantes que deben aparecer en la etiqueta son las siguientes:

Se denominará *extracto de cuajo* a aquellas preparaciones que, ajustándose a la definición de “cuajo”, presentan una actividad coagulante (AC) debida a la quimosina, igual o mayor al 75 % de la AC total.

Se denominará *cuajo* a aquellas preparaciones que, ajustándose a la definición de “cuajo”, presenten una actividad coagulante debida a la quimosina, entre el 75 y el 25% de la actividad coagulante total.

Se denominará *cuajo bovino* a aquellas preparaciones que, ajustándose a la definición de “cuajo”, presenten una actividad coagulante (AC) debida a la quimosina igual o inferior al 25 % de la AC total.

Se denominará *quimosina* al producto definido anteriormente como “quimosina”. En el caso de proceder de microorganismos genéticamente modificados, son autorizados exclusivamente para este fin los de las cepas de *Escherichia coli K12*, que contiene el gen de la proquimosina A de ternera³, *Kluyveroyices lactis* o *Aspergillus Niger var awamori*, que contienen el gen de la proquimosina B de ternera, debidamente evaluadas por el Comité Científico de la Alimentación Humana y por el Comité de Expertos de Alimentación de la FAO/OMS, así como otros que dichos comités evalúen en el futuro.

Se indicará el género, la especie, el gen y la cepa del microorganismo productor de la quimosina y su uso específico para la producción de queso.

Se denominará *coagulante de leche* a cualquier otra preparación que cumpliendo la norma se ajuste a lo dispuesto en las definiciones de “coagulante animal”, “coagulante vegetal” o “coagulante microbiano”. La expresión “coagulante de leche” deberá ir seguida por las palabras “animal”, “vegetal” o “microbiano”, de conformidad con el origen de las enzimas que contenga la preparación. Debajo se indicará: La especie, en el caso de origen animal. El género y la especie, en los casos de origen vegetal y microbiano.

En todos los casos la denominación deberá incluir el título según se ha definido anteriormente.

De todos los coagulantes de leche descritos anteriormente, el más específico sobre la caseína y el que podríamos denominar como coagulante ideal es la quimosina, ya sea de origen animal u obtenida por ingeniería genética. Los cuajos de origen microbiano, aunque son los más baratos, son, junto con las pepsinas porcinas, coagulantes más inespecíficos y por tanto se utilizan en quesos industriales de gran tirada, ya que los quesos obtenidos son de calidad inferior.

³ Los microorganismos modificados genéticamente que se utilizan dependen de la casa comercial que ha desarrollado la tecnología para producir la quimosina. En el caso de la *Escherichia coli K12* que fue el primer microorganismo utilizado para producir quimosina por ingeniería genética, actualmente ya no se utiliza para su fabricación.

Los coagulantes de origen vegetal merecen un comentario más extenso. Existen toda una serie de extractos de plantas consideradas tradicionalmente como coagulantes enzimáticos de leche, algunos de ellos se utilizan en zonas aisladas en la que la adquisición de otro tipo de coagulante resulta difícil.

Algunas de estas plantas son: *Cynara cardunculus*, que es la más utilizada, pero también: *Ficus carica*, *Galum verum*, *Senecio jacobaea*, *Euphorbia lathyris* y algunas más [SCOT91].

En la zona mediterránea, especialmente en los países del Magreb, Portugal y España se utiliza la hierbacuajo (*Cynara cardunculus*) en la elaboración de quesos tradicionales. Por ejemplo, en Portugal elaboran varios quesos tradicionales, entre ellos: el *Queijo de Azeitao*, el *Queijo de Évora* y el *Queijo Serra da Estrela* todos con Denominación de Origen Protegida. En Canarias se elabora el *Queso de Flor* y en Extremadura las *Tortas de la Serena* y las *Tortas del Casar* ambas con Denominación de Origen Protegida. Estos quesos son muy apreciados gastronómicamente debido a las características que les confiere el uso del cuajo vegetal. También en Cataluña era tradicional, y aún lo es en algún caso puntual, la elaboración de mató de leche de cabra coagulado con hierbacuajo.

El problema del uso del extracto de la *Cynara cardunculus* radica en que su estandarización y conservación es muy difícil, por ello su uso se ha ido perdiendo y actualmente, en el Estado Español, solo se utiliza en fabricaciones de quesos muy concretas.

El uso de la *Cynara cardunculus* se traduce en un rendimiento quesero menor y en que la proteólisis durante la maduración es mas intensa [SOUS01].

Finalmente, solo cabe añadir que el coagulante enzimático es la última sustancia que se añade a la leche antes de coagular. Una vez añadido el coagulante, excepto en algunas fabricaciones en continuo, la leche ha de permanecer en reposo para que la cuajada que se obtenga sea homogénea y sin roturas.

Los cultivos iniciadores

En el capítulo 5 ya se han tratado los aspectos más importantes relativos a los cultivos iniciadores utilizados en la industria láctea. En el caso concreto de la elaboración de quesos, que es uno de los productos lácteos donde más se utilizan, los tipos de cultivos susceptibles de ser utilizados son muchos, por ello nos limitaremos a los de uso más general. Los cultivos más utilizados son los de bacterias lácticas y mohos.

a) Las bacterias lácticas

Se utilizan bacterias lácticas homofermentativas mesófilas cuando el objetivo principal es la acidificación, ya sea para realizar una cuajada ácida o para bajar el pH en los quesos de pasta prensada o coagulación mixta.

Se utilizan bacterias lácticas heterofermentativas mesófilas en la fabricación de determinados quesos con pequeños ojos en su interior.

Se utilizan bacterias lácticas homofermentativas termófilas en las fabricaciones de quesos de pasta cocida.

b) *Los mohos*

Se utilizan los mohos del género *Penicillium*.

En los quesos que maduran con hongos en su interior como el Cabrales, el Gamonedo o el queso La Peral, se utiliza el *Penicillium roqueforti*.

En los quesos de corteza enmohecida blanca como el Camembert se utilizan *Penicillium camemberti*, *Penicillium album* y *Penicillium candidum*

a) *Otros cultivos*

- Bacterias propiónicas en los quesos tipo Gruyere o Emmental.
- *Geotrichum candidum*, que es un moho que da una corteza rugosa de color marfil.
- *Brevibacterium linens*, también llamado *fermento del rojo*. Es una corynebacteria que crece en la superficie, muy proteolítica, confiriendo al queso características sensoriales peculiares como es el caso del Reblochon o el Munster.
- Cultivos de levaduras.

Aditivos

Los aditivos que se pueden utilizar en la fabricación de queso son los que contempla el R.D. 142/2002 de 1 de febrero.

7.6 Tratamientos de la cuajada

Los tratamientos de la cuajada son las acciones que se llevan a cabo una vez ha coagulado la leche para separar la cuajada del suero. Aunque operaciones posteriores acaban de completar la eliminación del suero, la mayor parte se elimina con el trabajo en la cuba. Estas operaciones son muy importantes porque determinan la composición del queso que a su vez dictará las características organolépticas.

Antes de explicar las diferentes acciones que se llevan a cabo en la cuba, definiremos la sinéresis, fenómeno que solo afecta a las cuajadas obtenidas por coagulación enzimática.

7.6.1 La sinéresis

Weber [ECKA89] define la sinéresis de la siguiente manera:

“Observamos un coágulo obtenido por vía enzimática y mantenido en reposo. Después de un tiempo variable, según las condiciones de su formación, se observa en toda la superficie del coágulo una exudación espontánea en forma de pequeñas gotas de lactosuero. Progresivamente las gotitas van creciendo de tamaño, se van uniendo las unas con las otras y finalmente constituyen una envuelta líquida alrededor del coágulo, el cual, al mismo tiempo, disminuye de volumen. Este fenómeno, durante el cual se concentra el coágulo por eliminación de agua y de constituyentes solubles, se denomina sinéresis. El fenómeno de la sinéresis se encuentra, en general, en la mayoría de los geles.”

La sinéresis se incrementa con el descenso del pH y con el aumento de la temperatura [WALS99].

En la fabricación de queso el lactosuero debe ser separado de la cuajada, ya sea por decantación o filtración. El conjunto formado por la sinéresis y la evacuación del suero es lo que se conoce por desuerado.

Primeramente nos referiremos a los tratamientos que se realizan para desuerar los quesos de coagulación enzimática y coagulación mixta en los que predomine el carácter enzimático. Los quesos de coagulación ácido-láctica, al ser la cuajada débil y de poca consistencia, tienen un tratamiento diferente que se verá más adelante.

7.6.2 Desuerado de las cuajadas enzimáticas [ECKA89] [WALS99]

Como ya se ha visto en el capítulo 1, las micelas de caseína se encuentran en la leche rodeadas de una capa de hidratación. La primera etapa de la deshidratación de la caseína se produce bajo la acción de la enzima coagulante, pero hasta que no aparecen los enlaces secundarios entre caseínas no empieza la sinéresis.

Los primeros enlaces que se establecen son de puentes de hidrógeno; estos enlaces son bastante débiles, pero como se producen en gran número confieren al coágulo una cohesión importante. En este momento la sinéresis es muy pequeña. Las reordenaciones moleculares que tienen lugar durante el proceso de coagulación desenmascaran grupos activos entre los cuales se establecen enlaces, especialmente a través de cationes divalentes, fundamentalmente de calcio. Estas reordenaciones consisten en la formación de trenzas de partículas de caseína que se unen localmente, entre las que aparecen algunos poros. Este proceso es lento, porque la formación de estos enlaces es geoméricamente dificultosa, las partículas de caseína están todas incorporadas a la red y tienen muy poca libertad de movimiento, para que la sinéresis avance algunos enlaces se tienen que deshacer, para poder formar nuevos enlaces.

La retracción del coágulo y la expulsión del suero sucede lentamente, porque éste tiene que fluir a través de la malla de caseínas mineralizadas, que es poco permeable. Finalmente, cuando la sinéresis está suficientemente avanzada, se forman puentes disulfuro, a partir de los aminoácidos azufrados de la paracaseína, entre proteínas. Su naturaleza covalente, de enlaces fuertes determina el final de la sinéresis.

Según Darcy [WALS99], la velocidad superficial v del líquido de viscosidad η fluyendo a través de un material poroso viene dada por:

$$v = \frac{Q}{A} = B\Delta p/l\eta$$

Donde Q es el volumen del flujo por unidad de tiempo que pasa a través de la sección A .

Inicialmente, el coeficiente de permeabilidad B de la cuajada es aproximadamente de $0,2 \mu\text{m}$. Cuanto más grande es l (l es la distancia a través de la cual el líquido fluye), más grande es la resistencia al flujo; por tanto, cuanto más pequeño sea l más deprisa el líquido fluirá. Esto se consigue cortando el gel en cubos. El cortado también aumenta el área a través de la cual el suero fluye (Figura 7.1).

La presión endógena de sinéresis Δp resulta ser excepcionalmente pequeña, alrededor de 1 Pa (correspondiente a una columna de agua de $0,1 \text{ mm}$ de altura), por tanto es una práctica normal incrementar la sinéresis mediante la presión mecánica, que tiene un efecto considerable.

Después de ver lo que sucede durante la coagulación y la sinéresis, vamos a describir las operaciones concretas que se realizan en la cuba para favorecer la eliminación del suero.

Cortar

Consiste en dividir la cuajada en cubos mediante unos instrumentos llamados liras. El tamaño de los cubos dependerá del tipo de queso que se desea fabricar. Cuanto más pequeños sean los cubos, más intenso será el desuerado. Lo importante de esta operación es realizarla de manera que los cubos sean, dentro de lo posible, del mismo tamaño para asegurar la homogeneidad del desuerado y de la cuajada.

También es importante realizar esta operación con cuidado para evitar que la cuajada se rompa en partículas muy pequeñas (finos de caseína), que pasarían al suero y ocasionarían pérdidas de rendimiento.

En las queserías, el tamaño de los granos se designa utilizando símiles con granos de diferentes alimentos; en la tabla siguiente se pueden ver algunos ejemplos:

<i>Grano</i>	<i>Tamaño (arista de los cubos)</i>	<i>Tipo de queso</i>
Arroz	2 mm	Pasta prensada tipo Manchego
Avellana	10-20 mm	Quesos azules tipo Cabrales
Haba	20-30 mm	Queso fresco tipo Burgos

El momento de iniciar el cortado de la cuajada es difícil de determinar. Se han realizado muchos intentos para llegar a un sistema de determinación objetiva de este momento. Uno de los aparatos empleados para estas mediciones suele basarse en la medida de la presión o tensión necesaria para cortar el coágulo, o en la tensión para mover un vástago en el interior del mismo; otros en la transmisión de vibraciones en la masa del coágulo [SCOTT91]; pero en la práctica el uso de estos aparatos es engorrosa y a menudo complicada porque se tienen que hacer las mediciones en muestras de leche que no siempre reflejan la situación real de la leche en la cuba de cuajado. El método más corrientemente empleado consiste en introducir en el coágulo, una varilla, una espátula o el vástago de un termómetro para provocar su rotura. Un corte limpio y un suero en éste de color verdoso indican que ha llegado el momento adecuado para el corte. Si éste no es limpio sino irregular y si el suero es de color blanquecino, el coágulo es todavía demasiado blando.

Los instrumentos que se utilizan para cortar la cuajada pueden ser de uso manual, en el caso de pequeñas queserías, o sistemas mecánicos en instalaciones industriales. Son dispositivos de alambres, hilo de pescar o cuchillas. En los sistemas mecánicos se puede regular la velocidad del cortado. En las cubas rotatorias, el ángulo de ataque de la cuchilla a la cuajada es de tal incidencia que si se invierte el sentido de rotación, el corte se transforma en agitación.

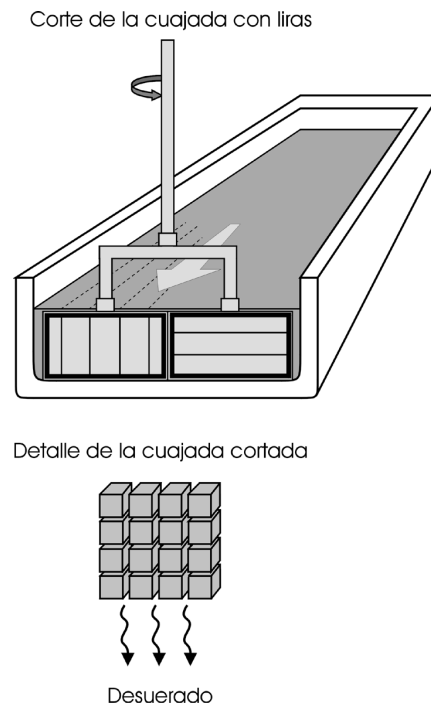


Fig. 7.1

Remover

Después de cortar la cuajada, los granos se dejan en el suero durante un tiempo más o menos variable, según el queso que se quiera elaborar, para que se deshidraten, de esta manera se mantiene la temperatura que ha de ser como mínimo la misma de la coagulación o 2-3°C por encima. Para ayudar a los granos a eliminar el suero y para evitar que se vuelvan a juntar, se remueven suavemente evitando que se rompan.

Se sabe cuando los granos están suficientemente deshidratados por la consistencia que van adquiriendo. Este tiempo puede ser variable porque la deshidratación depende, como factores más importantes, de la temperatura, la acidez y la composición de la leche de partida, parámetros que pueden variar ligeramente de una fabricación a otra aunque se elabore el mismo tipo de queso.

Calentar

La temperatura favorece el desuerado, ayudando a la formación de enlaces intermoleculares. En el apartado anterior se ha visto que para conseguir un buen desuerado es conveniente mantener, como mínimo, la misma temperatura de la coagulación; de esta manera también se favorece el desarrollo de las bacterias lácticas.

Las temperaturas aplicadas durante el desuerado están comprendidas entre 20 y 55°C; no obstante, para cada tipo de queso, esta temperatura se sitúa dentro de un margen mucho más estrecho, favorable a la obtención del extracto seco y del pH deseados al final del desuerado [ECKA89]. Cuando se aumenta la temperatura 2-3°C la influencia sobre el desuerado es notable. En los quesos de pasta cocida, en los que además de un desuerado intenso se consiguen características reológicas de la pasta diferentes (texturas más elásticas y continuas), la temperatura se eleva entre 10 y 15°C por encima de la temperatura de coagulación. En este tipo de quesos, Gouda, Emmental o Gruyere, el calentamiento también favorece la selección de las bacterias lácticas termófilas y, en el caso del Emmental y el Gruyere, de las bacterias propiónicas que intervendrán en la maduración del queso.

El aumento de la temperatura debe hacerse paulatinamente, del orden de 1°C por minuto, para evitar que se forme en la superficie de los granos una película impermeable que impida su deshidratación.

Lavar

El lavado de los granos de cuajada consiste en, una vez que la cuajada está cortada, eliminar una parte del suero, normalmente entre 1/3 o 1/2 del suero y añadir la misma cantidad de agua a la misma temperatura. El objetivo es eliminar parte de la lactosa para que la acidificación sea menos intensa. Se suele utilizar en la fabricación de quesos de gusto suave o para corregir una acidificación excesiva. Si el agua que se añade está a una temperatura elevada de manera que se aumente la temperatura del conjunto más de 10°C, además de una pasta lavada será una pasta cocida.

7.6.3 Desuerado de las cuajadas ácidas [ECKA89]

El coágulo resultante de la coagulación obtenida exclusivamente por vía ácida está compuesto de pequeñas partículas de caseína dispersadas y desmineralizadas. En este tipo de cuajadas no existe el fenómeno de la sinéresis, ya que en ausencia de calcio, no se forman más que enlaces débiles incapaces de asegurar la contracción del coágulo. Además, la ausencia de proteólisis enzimática impide la formación de nuevos enlaces. Debido a esta estructura particular de la cuajada, el desuerado de este tipo de coágulo se produce como un simple escurrido a través de una masa porosa. La retención de agua es elevada, no solamente por el hecho de la falta de fuerzas de contracción sino porque la caseína, privada de su estructura de fosfato cálcico, forma una masa plástica que encierra al lactosuero.

En la práctica, el desuerado se realiza depositando trozos de cuajada lo más enteros posible en moldes con muchos orificios, tipo rejilla, o telas que permitan el escurrido de la cuajada. Dependiendo del tipo de queso que se quiera fabricar, este se escurre durante varias horas (12 a 24 h para quesos frescos) o varios días (2 o 3 días para quesos madurados).

7.7 El moldeado y el prensado

El moldeado consiste en depositar los granos de cuajada desuerada en recipientes agujereados, los moldes, con el objetivo de obtener piezas individuales de queso con una forma determinada.

La forma del queso es muy importante por varios motivos. Por un lado, la forma del queso, en el caso de los quesos tradicionales, es su tarjeta de presentación, ya que nadie se imagina un queso Manchego

cuadrado, un queso de Tetilla en forma cilíndrica o un queso Garrotxa en forma de barra; y por otro lado, la forma del queso y, ligada a ella la relación superficie/volumen, condiciona su maduración, que a su vez repercute en sus características organolépticas.

En el caso de las cuajadas enzimáticas, después del trabajo en cuba para desuerar, se juntan los granos y se les presiona al ponerlos en el molde de manera que se unan y formen una masa continua, si el tiempo de permanencia en la cuba ha sido demasiado largo y el pH ha bajado demasiado o se ha enfriado la cuajada, los granos pierden la capacidad de soldarse y darán un queso con aberturas y en caso extremo al presionar la masa se desintegrará [WALS99]. Como el desuerado ya se ha realizado en la cuba, la operación de prensar tiene como objeto ayudar a salir del molde al suero que haya quedado atrapado entre los granos de cuajada al llenar el molde y dar la forma definitiva al queso, por ello los moldes que se utilizan en los quesos de coagulación enzimática desuerados intensamente en la cuba tienen pocos y pequeños agujeros. En cambio, si se trata de un queso fresco que se corta en cubos grandes y que tiene que retener una cierta humedad, se coloca en moldes con muchos agujeros, tipo rejilla, y se deja escurrir sin presionar.

En el caso de las cuajadas ácidas, el moldeado se ha visto en el apartado anterior; normalmente en este tipo de quesos, los formatos suelen ser pequeños, no se presiona o se presiona muy ligeramente y la maduración rara vez excede de los dos meses.

7.7.1 Tipos de moldes

Tradicionalmente, la gente utilizaba para moldear los quesos los materiales que tenía a su alcance: cuencos de madera o de barro agujereados, cinchas de esparto y tablas de madera con incisiones para dejar salir el suero, etc. Actualmente los moldes que se utilizan son de plástico, de esta manera la limpieza e higienización es mucho más fácil, pero imitan las formas de los materiales tradicionales.

El uso de los moldes se complementa a menudo con telas o gasas que se intercalan entre el queso y el molde para facilitar la evacuación del suero. Estas gasas se han de lavar con detergentes especiales y desinfectar después de cada uso.

Existen en el mercado los moldes microperforados, son moldes que en vez de agujeros tienen toda la superficie ocupada por microperforaciones que hacen que la evacuación del suero sea más homogénea. Entre los profesionales de las queserías, existe una cierta controversia sobre el uso de estos moldes, ya que por un lado son mucho más caros que los convencionales y a veces hay colapso de los microporos, es decir, que su limpieza es más delicada.

La operación de moldear puede realizarse manualmente o a máquina, en el caso de grandes producciones industriales.

7.7.2 Intensidad del prensado y tipos de prensas

La intensidad del prensado depende del tipo de queso que se quiera fabricar. Como norma general se recomienda no prensar al principio demasiado intensamente para no fusionar excesivamente los granos y evitar que el suero atrapado entre ellos pueda fluir hasta la superficie del queso, es decir, se recomienda empezar por un prensado suave e ir aumentando progresivamente la intensidad. Las presiones que se suelen utilizar pueden llegar a alcanzar los 24,5 KPa [ECKA89]. En los quesos frescos o de pasta blanda el prensado se reduce al propio peso de la cuajada.

Existen en el mercado muchos tipos de prensas: de peso muerto, de muelle, neumáticas, etc. Unas de las más utilizadas son las prensas neumáticas que funcionan de la siguiente manera: los moldes con los quesos se disponen en posición horizontal, es decir, de lado, a lo largo de un carril con un tope al final, en la cabecera del carril hay un pistón que se desplaza mediante la ayuda de aire comprimido y aprieta la fila de moldes con una presión previamente seleccionada. Una prensa puede constar de varios carriles dispuestos en altura y también en paralelo.

7.8 El salado

El salado es una etapa esencial en la fabricación de los quesos. La sal (NaCl) es un componente esencial y juega varios papeles en el queso [ECKA89]:

- Completa el desuerado del queso favoreciendo el drenaje de la fase acuosa libre, modifica la hidratación de las proteínas e interviene en la formación de la corteza.
- Actúa, bien directamente o bien indirectamente, modificando la actividad de agua, sobre el desarrollo de los microorganismos y la actividad enzimática, es decir, influye en el afinado.
- Aporta el sabor salado y la potenciación o el enmascaramiento de otros sabores que aparecen durante el proceso de maduración.

Los métodos de salar los quesos son los siguientes:

- a) Salado con sal seca
- b) Salado de la cuajada en la cuba
- c) Salado por inmersión en salmuera de los quesos moldeados y prensados

La cantidad de sal que se añade a los quesos es muy variable, pero en la mayoría de los quesos suele estar alrededor del 1-2 % sobre peso total.

a) *Salado con sal seca*

Consiste en añadir los cristales de NaCl a la pieza de queso bien durante el escurrido, en el caso de los quesos frescos o de coagulación ácida, o después del moldeado y el prensado. Se tiene que calcular la cantidad de sal necesaria para cada pieza de queso y adherirla a la superficie frotando con la mano hasta que toda la sal quede pegada.

b) *Salado de la cuajada en la cuba*

Se utiliza en quesos frescos tipo Burgos, consiste en añadir la sal cuando la cuajada está cortada, se espera un tiempo removiendo para que la sal penetre en los granos y después se moldea el queso. Tiene el inconveniente de que una parte de la sal se queda en el lactosuero, lo que por una parte quiere decir que hay que añadir más sal de la necesaria y por otra que el lactosuero será salado.

c) *Salado por inmersión en salmuera*

Los quesos, una vez moldeados y prensados, se sumergen en una disolución de aproximadamente el 20% de concentración de sal. Se aconseja que la concentración esté siempre por encima del

16% para que el proceso de la penetración de la sal y la salida del lactosuero residual se efectúe correctamente, ya que si la concentración de sal es muy baja, lo que puede suceder es que se desmineralice el queso y entre agua en vez de sal.

Este proceso es lento, el tiempo de permanencia del queso en la salmuera es muy variable, depende de múltiples factores como son el tamaño y la forma del queso, la relación superficie/volumen, la humedad, la concentración de sal y la temperatura. Puede variar desde unas pocas horas hasta varios días.

Los parámetros a controlar son: la concentración de sal, el pH y la temperatura.

La misma salmuera se utiliza durante bastantes fabricaciones de quesos, por ello hay que ir ajustando el contenido de sal ya que en los sucesivos salados se va diluyendo. El pH acostumbra a ser el mismo de los quesos que se salan, se puede ajustar al principio con ácido láctico. La temperatura que se recomienda es alrededor de los 14°C, pero puede variar notablemente en función del tipo de elaboración o de queso.

Las partículas en suspensión y la acidez informan de la contaminación de la salmuera. Para regenerarla se filtran las partículas y se le da un tratamiento de calor para eliminar a los posibles microorganismos de contaminación.

Hay que tener en cuenta que aunque la concentración de sal es muy alta, la *Listeria monocytogenes* es un microorganismo patógeno, ubicuo, psicrotrófico y halotolerante.

7.9 El oreo

Una vez salados los quesos, antes de entrar en la cámara de maduración es conveniente que la superficie se seque y se forme la corteza, para que los mohos y las levaduras que se instalen en ella sean las correctas para la maduración del queso. Para ello se colocan los quesos en un espacio con una ventilación entre moderada e intensa y una HR de entre el 65 y el 80 %. El tiempo depende del tipo de queso, puede durar unas horas o varios días.

7.10 La acidificación del queso

La correcta acidificación del queso durante los procesos de fabricación es muy importante, es por ello que se le dedica el presente apartado.

En la elaboración de quesos de coagulación enzimática que se maduran, antes de añadir el cuajo se ponen fermentos lácticos con el objetivo de que acidifiquen la cuajada, contribuyendo por un lado a la higienización del queso y por otro preparándolo para que los procesos de la maduración (ver apartado 7.11) se realicen correctamente.

El cultivo iniciador puede añadirse un tiempo antes de la coagulación (cuando se quiere madurar la leche, ver apartado 7.5.6) o inmediatamente antes de añadir el cuajo. Estas bacterias van acidificando la cuajada a partir del final de la coagulación, ya que la fase de latencia es larga, es decir, que durante el trabajo en cuba para ayudar al desuerado es cuando empieza a notarse la acidificación, que también contribuye a la eliminación del suero.

La acidificación afecta principalmente a la composición del queso, el grado de sinéresis y la fusión de los granos de cuajada en una masa continua. Para que los procesos de la maduración se realicen correctamente, la cantidad de lactosuero que tienen que quedar en el queso después del moldeado debe ser la justa para que la lactosa residual utilizable por las bacterias lácticas permita disminuir el pH hasta aproximadamente 5,0-5,1 en el momento de entrar el queso en la cámara de maduración. Esta acidificación comporta la disolución de gran parte del fosfato coloidal, la bajada del potencial redox (E_h) y la formación de algunas sustancias aromáticas y antibióticas.

Todos estos factores combinados: bajada del pH, ausencia de una fuente de C apropiada para muchos microorganismos, bajo potencial redox (E_h), presencia de sustancias inhibidoras y condiciones anaerobias limitan en gran manera el crecimiento de otros microorganismos, lo que se traduce en la preservación higiénica del queso.

Es importante, además, que el pH que posea el queso a la entrada de la cámara no baje más de 5,0-5,1 para que la microbiota responsable de los procesos de maduración pueda trabajar correctamente.

En los quesos de coagulación mixta o ácida el pH del queso al comienzo de la maduración es más bajo: 4,4-4,6 (quesos de coagulación ácida), 4,8-5,0 (quesos de coagulación mixta). Estos pH condicionan los procesos de la maduración de estos quesos.

Por todo lo expuesto anteriormente, el control de la acidificación del queso durante las etapas de fabricación es muy importante.

7.11 La maduración

Durante la maduración del queso ocurren una serie de cambios en la cuajada que conducen a su transformación en un queso determinado. Algunos cambios, como la transformación de la lactosa en ácido láctico, ocurren durante el proceso de elaboración del queso.

En esta transformación intervienen: los microorganismos presentes en el queso, reacciones bioquímicas debidas a las enzimas, así como reacciones químicas y cambios puramente físicos. La transformación de la lactosa, de la proteína, de la grasa y del citrato comportan cambios de estructura que conducen a una determinada textura del queso, así como la producción de sustancias responsables del gusto y del aroma.

Los procesos bioquímicos son:

- la glucólisis
- la proteólisis
- la lipólisis
- la transformación del citrato

Las enzimas involucradas proceden de:

- la leche
- las enzimas coagulantes
- de los microorganismos del cultivo iniciador
- de los microorganismos presentes en la leche

- de la microbiota ambiental

7.11.1 La glucólisis

La glucólisis consiste en la transformación de la lactosa en ácido láctico por las bacterias lácticas presentes en el queso, ya sean del cultivo iniciador o bacterias presentes en la leche. Como ya se ha visto antes, la transformación de la lactosa se realiza durante las etapas de la elaboración del queso.

7.11.2 La proteólisis

La proteólisis es la transformación del paracaseinato cálcico en sustancias de peso molecular más pequeño. Es la transformación principal la que produce los cambios más importantes de textura y gusto en el queso.

La secuencia de transformación es la siguiente:

Proteína → Péptidos grandes → Péptidos pequeños → aminoácidos → amoníaco

La proporción de cada grupo de productos varía considerablemente según el queso considerado, así se utilizan conceptos como *amplitud* o proteólisis primaria y *profundidad* o proteólisis secundaria de la maduración. En el primer caso se refiere al grado de hidrólisis de la paracaseína y al aumento de compuestos nitrogenados solubles, en el segundo caso se refiere a la proporción de compuestos de degradación de bajo peso molecular [WALS99].

Las principales enzimas responsables

a) *Proteinasas de la leche* [WALS99]

- La *proteínasa alcalina o plasmina*: en el queso hidroliza las caseínas α_{s1} , α_{s2} , y β ; en la leche predomina el plasminógeno inactivo, que es el precursor de la plasmina.
- La *proteínasa ácida*: es menos importante que la anterior, hidroliza la caseína α_{s1} y más lentamente a la caseína β

Las proteinasas de la leche no se inactivan con la pasteurización, además del pH que tiene que ser relativamente alto (6-6,8), los factores siguientes afectan a su actividad en el queso:

- El contenido en proteinasas de la leche, la concentración de activadores del plasminógeno y la concentración de inhibidores de los activadores del plasminógeno pueden variar entre ordeños de una misma vaca y entre vacas individuales.
- El tratamiento de calor de la leche de quesería: en la leche cruda la actividad de la plasmina es menor que en la leche de pasteurización baja, seguramente debido a la inhibición parcial de los componentes que inhiben a los activadores del plasminógeno.

- La temperatura de calentamiento de la cuajada durante la elaboración de los quesos de pasta cocida: las altas temperaturas aplicadas en la fabricación de algunos quesos italianos o suizos aumentan considerablemente la actividad de la plasmina en el queso.
- El contenido de sal: un bajo contenido en sal, por ejemplo un 2% en la fase acuosa del queso tiene un efecto estimulante.
- La temperatura de maduración

La actividad proteolítica de las proteinasas de la leche aumenta la cantidad de compuestos nitrogenados solubles formados principalmente de péptidos de bajo peso molecular (<1400 D).

b) Las enzimas coagulantes

- *El cuajo*, compuesto por quimosina o una mezcla de quimosina y pepsina. Su acción depende en gran parte de la cantidad retenida en la cuajada, que viene determinada por los siguientes factores [WALS99]:
 - a) La cantidad añadida a la leche
 - b) El pH alcanzado durante la elaboración de la cuajada; cuanto más bajo, más cantidad es absorbida por la paracaseína.
 - c) La temperatura alcanzada durante la cocción de la pasta en los quesos de pasta cocida como, por ejemplo, en el Emmental, donde se alcanzan los 55°C. A esta temperatura la mayor parte de la quimosina es inactivada.
 - d) El contenido en agua del queso; cuanto más alto más enzima retenida.

El pH óptimo es 5-5,2. Las enzimas del cuajo degradan rápidamente la caseína α_{s1} y más lentamente a la caseína β , dependiendo del contenido en sal.

Como en el caso anterior, la actividad proteolítica de las enzimas del cuajo aumenta la cantidad de compuestos nitrogenados solubles formados principalmente de péptidos de bajo peso molecular (<1400).

La temperatura de maduración no afecta a la actividad siendo prácticamente la misma a 4°C que a 14°C

- *Sustitutos del cuajo*, como la pepsina bovina o porcina o las proteasas obtenidas de hongos. Se diferencian del cuajo fundamentalmente en que la actividad proteolítica es mucho más intensa, lo que puede producir defectos de consistencia, gusto y aroma, como por ejemplo dar amargor.
- *Coagulantes vegetales*, especialmente las flores de la *Cynara cardunculus*, que son las más utilizadas, según Sousa M. J. *et al.* [SOUS01]. Del extracto de la hierbacuajo se han identificado dos proteinasas: cardosina A y cardosina B; tienen una intensa actividad proteolítica que puede dar lugar a péptidos amargos, así como una textura muy blanda, como pasa en las tortas de La Serena y del Casar.
- *Enzimas del cultivo iniciador*, se pueden considerar las enzimas proteolíticas de las bacterias lácticas, de los mohos y de otras bacterias habitualmente utilizadas como cultivo iniciador. Son los

responsables de la proteólisis profunda o secundaria. Estas enzimas degradan los péptidos grandes formados por la plasmina y los enzimas coagulantes produciendo péptidos pequeños y aminoácidos responsables de cambios de textura y contribuyendo al sabor y al aroma o como precursores del aroma. Las diferencias entre los quesos son debidas a variaciones en la composición de la microbiota utilizada como cultivo iniciador y a las variaciones en la actividad de sus diferentes enzimas.

Hay que diferenciar entre las bacterias lácticas proteinasa-positivas que poseen enzimas en su membrana para obtener de la proteína de la leche péptidos y aminoácidos necesarios para su crecimiento y las que son proteinasa-negativas que dependen de la formación de péptidos pequeños por parte de las anteriores. Algunos péptidos pequeños son transportados en el interior de la célula bacteriana y convertidos en aminoácidos por las peptidasas endógenas, algunos de estos aminoácidos difunden al exterior o cuando las bacterias mueren y son lisadas. La alta presión osmótica existente fuera de las células debido al salado de los quesos contribuye a la lisis de las bacterias lácticas liberando las peptidasas que contribuyen a la maduración.

La variación en cuanto a la actividad de los enzimas del cultivo iniciador es muy amplia, debido a las siguientes variables: tipos y cantidad de enzimas de cada microorganismo utilizado, las condiciones de crecimiento, la extensión de la lisis, la estabilidad de los enzimas en el queso y la actividad específica todo ello según el pH, la concentración de sal y la temperatura como parámetros más importantes [WALS99].

- *Enzimas de microorganismos diferentes del cultivo iniciador.* Como microorganismos diferentes del cultivo iniciador se pueden considerar los de contaminación, ya sean los que están relacionados con la falta de higiene u otros microorganismos banales como los micrococos y las corynebacterias presentes en el ambiente y que van a parar al queso, bien como supervivientes de la pasteurización, o bien, durante los procesos de elaboración.

Si el queso se elabora con leche cruda, las bacterias lácticas y otros microorganismos están presentes naturalmente en la leche.

Esta microbiota variada posee sus proteasas, que actuarán, como se explica en el apartado anterior, según sean las variables que regulan su actividad. Estos microorganismos pueden producir gustos y texturas desagradables en los quesos o, a veces, en el queso de la leche cruda, sabores muy particulares que contribuyen a la complejidad organoléptica de manera positiva.

Los micrococos y las corinebacterias presentes en los quesos contribuyen a la proteólisis secundaria o profunda, son los microorganismos que se consideran como microbiota alcalinizante (ver 7.11.4).

7.11.3 La lipólisis

La lipólisis es la transformación de la grasa de la leche, debida a la hidrólisis de los triglicéridos en ácidos grasos y glicerol, monoglicéridos y diglicéridos. La grasa de la leche contiene altas concentraciones de ácidos grasos de cadena corta que contribuyen directamente en el gusto y el aroma de los quesos. A partir de los ácidos grasos, se forman otros compuestos más pequeños como aldehídos, cetonas y metil cetonas responsables del gusto y del aroma.

La extensión de la lipólisis es muy variable y está en función del tipo de quesos, por ejemplo los quesos azules y algunos quesos italianos tienen una lipólisis importante respecto de otros tipos de quesos.

Principales enzimas responsables

- *La lipasa de la leche (lipoprotein lipasa)*: Se encuentra asociada a las micelas de caseína. La concentración en el queso depende del proceso de pasteurización de la leche, en condiciones estándar de pasteurización se pierde entre un 10 y un 15 %.

Libera los ácidos grasos de los triglicéridos y solamente es activa en la interfase grasa-agua. Este enzima trabaja lentamente debido a que su pH óptimo es 8 y el mínimo 6 y a que las altas concentraciones de sal del queso no son las más adecuadas para su actividad [WALS99].

- *Las lipasas microbianas*, que provienen de:
 - a) la microbiota de la leche, especialmente de las bacterias psicrófilas de la leche refrigerada
 - b) los microorganismos que constituyen la microbiota específica según el tipo de queso, por ejemplo de los *Penicillium* en los quesos azules
 - c) las bacterias lácticas de la leche que no son muy lipolíticas, pero descomponen mono y diglicéridos; su actividad depende de la actividad lipásica previa.

En la tabla 7.2 se puede ver la evolución de la proteólisis y de la lipólisis en el queso de cabra *Serrat Gros*, que es un queso de coagulación ácida y de corteza enmohecida madurado durante sesenta días que se elabora en la comarca de L'Alt Urgell, en el Pirineo catalán.

7.11.4 La transformación del citrato [MCSW00]

La leche contiene cerca de 8 mmol.L^{-1} de citrato, el 94 % forma parte de la fracción soluble, con lo que la mayor parte, durante la fabricación del queso, se elimina durante el desuerado. La pequeña cantidad que permanece en la cuajada, unos 10 mmol.Kg^{-1} , es de gran importancia porque puede ser metabolizado por algunas bacterias lácticas homofermentativas como el *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar *diacetylactis* y por las bacterias lácticas heterofermentativas del género *Leuconostoc*. Los microorganismos citrato positivos no utilizan el citrato como fuente de energía, pero es metabolizado junto con la lactosa.

Los principales componentes del aroma producidos en el metabolismo del citrato son: acetato, diacetilo, acetoina, 2,3-butanediol y 2-butanona, de gran importancia en algunas variedades de queso, así como CO_2 , responsable de la presencia de pequeños ojos en determinados quesos.

Tabla 7.2

INTERIOR				
	3 días	15 días	45 días	60 días
Nitrogeno total (NT)	1,91	2,38	2,88	3,51
Nitrogeno total (s.m.s.)	4,57	5,86	5,74	5,34
Nitrogeno soluble (NS)	0,20	-	0,41	0,70
NS (s.m.s)	0,48	-	0,82	1,07
NS/NT	10,53	-	14,32	19,97
Nitrogeno no Proteico (NnP)	0,09	0,16	0,26	0,38
NnP (s.m.s)	0,22	0,40	0,52	0,57
NnP/NT	4,87	6,84	9,07	10,71
Materia Grasa	21,97	27,45	29,21	36,72
Grasa (s.m.s.)	52,57	67,44	58,24	55,91
Acidez de la grasa (en ácido oleico)	2,39	2,49	3,01	3,82
PH	4,45	-	4,37	4,76
CORTEZA				
Nitrogeno total	1,98	2,43	2,89	2,98
Nitrogeno total (s.m.s.)	4,88	5,63	5,33	4,24
Nitrogeno soluble (NS)	0,22	0,62	0,92	1,24
NS (s.m.s)	0,54	1,42	1,70	1,77
NS/NT	11,06	25,31	31,90	41,71
Nitrogeno no Proteico (NnP)	0,10	0,50	0,58	0,59
NnP (s.m.s)	0,24	1,17	1,08	0,85
NnP/NT	4,90	20,70	20,21	19,93
Materia Grasa	20,61	24,21	30,56	39,81
Grasa (s.m.s.)	50,83	56,08	56,38	56,69
Acidez de la grasa (en ácido oleico)	2,26	14,23	20,71	33,27
PH	4,59	5,29	5,96	5,65

Excepto el pH todos los valores se expresan en % s.m.s.: sobre materia seca.

Las variaciones que se observan en algunos parámetros son debidas a que los análisis se realizaron sobre quesos diferentes de la misma fabricación. [ROME99]

7.11.5 Los principales grupos de microorganismos responsables de la maduración de los quesos

Una gran variedad de microorganismos participa en la maduración de los quesos. La población total supera generalmente los 10^9 ufc.g⁻¹. Esta cantidad varía muy poco a lo largo de la maduración, pero el equilibrio entre los distintos grupos microbianos y consecuentemente la importancia relativa de las poblaciones de cada grupo está en constante evolución. Este equilibrio depende de las condiciones de crecimiento propias de cada tipo de microorganismos que dependen a su vez de las características físico-químicas del queso (pH, a_w , potencial redox) y del ambiente (temperatura, humedad relativa, composición de la atmósfera). Además, entre los diferentes grupos de microorganismos pueden producirse fenómenos de asociación, estimulación o antagonismo [ECKA87].

Los diferentes microorganismos de la maduración del queso los podemos agrupar, en función de la evolución del pH a lo largo de la maduración, en tres grupos principales: la microbiota acidificante, la desacidificante y la alcalinizante.

Al primer grupo pertenecen las bacterias lácticas, tanto las utilizadas como cultivo iniciador como las propias de la leche. El principal proceso que llevan a cabo es la glucólisis, la transformación de la lactosa en ácido láctico, proceso que empiezan a realizar en el momento en que son añadidas a la leche, o sea, antes de la coagulación, y que tiene lugar durante las operaciones de fabricación y tiene que estar completado en el momento de la introducción del queso en la cámara de maduración.

Al segundo grupo pertenecen los hongos y las levaduras, responsables del principio de la proteólisis secundaria y de la lipólisis. Las levaduras degradan el ácido láctico, lo que contribuye junto algunos productos de la proteólisis a aumentar el pH del queso.

Finalmente, al tercer grupo pertenecen los micrococcos y las corinebacterias, que son microorganismos que generalmente llegan al queso a través de la leche y de la salmuera, aunque hay casos, como el del *Brevibacterium linnens*, en que se añaden como cultivo iniciador. Estos microorganismos son responsables del final de la proteólisis secundaria que produce algunos pequeños péptidos y aminoácidos de carácter básico, así como amoniaco, que contribuyen a la alcalinización del queso.

En el cuadro siguiente se muestran los principales microorganismos pertenecientes a cada grupo y algunas de sus características:

Tabla 7.3 Microbiota responsable de la maduración de los quesos

ACIDIFICANTE	DESACIDIFICANTE		ALCALINIZANTE	
Bacterias lácticas:	Levaduras:	Hongos:	Micrococcos:	Corynebacterias:
- <i>Lactococcus</i>	- <i>Saccharomyces</i>	- <i>Penicillium candidum</i>	Aerobios y débilmente anaerobios	Del género <i>Corynebacterium</i>
- <i>Lactobacilos</i>	- <i>Debaromyces</i>	- " <i>album</i>	Halotolerantes	Halotolerantes
- <i>Leuconostoc</i>	- <i>Kluyveromyces</i>	- " <i>camemberti</i>	Halotolerantes	Bastante termorresistentes
Producción de ácido láctico	- <i>Rhodotorula</i>	- " <i>roqueforti</i>	Crecen a 10-12 ⁰ C	Aerobias
10 ⁹ ufc/g (interior)	- <i>Candida</i>	- <i>Geotrichum candidum</i>		La más importante: <i>Brevibacterium linnens</i> (*)
Anaerobias	Degradación del ácido láctico y producción de CO ₂ .	Proteolíticos y lipolíticos		
	Proteolíticas y lipolíticas	Halotolerantes		
	10 ⁸ ufc/g (superficie)	Aerobios		
	10 ⁶ ufc/g (interior)			
	Aerobias			

(*) Es el llamado "fermento del rojo", puede ser un defecto o una virtud (Reblochon o Munster).

Otras bacterias que intervienen en la maduración de algunos quesos (Emmental, Gruyere):

Bacterias propiónicas: *Propionibacterium freundenreichi*, *P. janssenii*, *P. shermanii*

Producen ácido acético y propiónico y CO₂. Son anaerobias.

7.11.6 La maduración acelerada de los quesos

La calidad organoléptica óptima de los quesos madurados se consigue después de un cierto período de maduración, más o menos largo según el tipo de queso. En los quesos de humedad baja y maduración lenta este tiempo es bastante largo, por ello en los últimos 25-30 años se han realizado numerosos trabajos con el objetivo de acortar este tiempo y así poder reducir los costos de manufactura y almacenamiento que conlleva tener el producto inmovilizado [IZCO99].

El objetivo de la maduración es acelerar la formación de aroma y gusto manteniendo una textura satisfactoria. Las condiciones para un proceso de maduración acelerada son las siguientes [WALS99]:

- Las características del queso final deben ser lo más parecidas posible a las del queso de referencia.
- Se ha de prevenir la sobremaduración del queso.
- El coste del proceso no debe exceder la ganancia económica que supone el acortamiento del tiempo de maduración.
- Deben cumplirse los aspectos legales y de salud pública, por ejemplo, respecto de la utilización de preparaciones enzimáticas y su posible toxicidad.

7.11.6.1 Métodos que se utilizan en la maduración acelerada de los quesos [IZCO99], [WALS99]

Aumento de la temperatura de maduración

Se basa en el aumento de la actividad proteolítica de la microbiota normal del cultivo iniciador. La actividad de las proteasas del cuajo residual está menos afectada por el aumento de la temperatura de maduración, en cambio la lipólisis se potencia mucho más con el aumento de la temperatura.

Es un método simple, económico y legal que se aplica en quesos que habitualmente se maduran a baja temperatura, por ejemplo quesos que normalmente se maduran a 7°C se pueden madurar a 13°C, como el Cheddar, elaborado con leche de vaca, en el que se ha comprobado que el aumento de temperatura no afecta adversamente a su calidad, pero en el caso de los quesos que se maduran habitualmente alrededor de los 12°C no es recomendable aumentar más la temperatura porque se potenciarían mucho los posibles defectos como el amargor y las fermentaciones de microorganismos no deseados. Esto es debido a que las reacciones que ocurren durante la maduración se ven afectadas de manera diferente con el aumento de la temperatura, por ejemplo en el queso Manchego, según Núñez y col. (1986) [IZCO99], se ha observado una mayor estimulación sobre la actividad exopeptidásica bacteriana que sobre la actividad endopeptidásica bacteriana o del cuajo. Este hecho, según Fernández-García y col. (1990,1994) [IZCO99] puede ser debido a diferencias entre la hidrólisis de las caseínas de la leche de vaca y las de la leche de oveja, es decir, que los resultados obtenidos para un tipo de queso no pueden extrapolarse a otros.

Otra conclusión de los estudios realizados sobre la maduración acelerada aumentando la temperatura es que la leche de partida debe ser de excelente calidad microbiológica, para evitar el crecimiento descontrolado de microorganismos no deseables.

Utilización de preparaciones enzimáticas

En la maduración acelerada de los quesos se utilizan diversas preparaciones enzimáticas proteolíticas y lipolíticas, su correcta utilización resulta difícil, debido a que un desequilibrio entre las diferentes enzimas que intervienen en la maduración origina aromas extraños o una textura inadecuada.

Existen varias preparaciones comerciales en el mercado tanto de proteasas solas como de mezclas de proteasas y peptidasas o proteasas y lipasas. La proteasa que mejor funciona es la proteasa neutra producida por *Bacillus subtilis*, ya que las proteasas ácidas pueden dar defectos de amargor. Las preparaciones lipolíticas se utilizan solamente en quesos con una lipólisis especial, como son los quesos italianos de pasta dura o los quesos azules.

Las preparaciones enzimáticas se pueden añadir de diferente forma, hay que tener en cuenta que son productos caros que se añaden en dosis muy pequeñas y que es importante que la distribución en el queso sea homogénea. Así se pueden añadir:

- A la cuajada, cuando éstas se salan con sal seca; no se puede hacer cuando se salan en salmuera.
- A la leche; es el método más utilizado porque garantiza la homogeneidad, pero se pierde enzima en el suero y si la actividad proteolítica es muy intensa, baja el rendimiento quesero.

Un sistema para paliar en parte los problemas de la adición de enzimas a la leche es su encapsulación en liposomas de fosfolípidos o cápsulas de polisacáridos, aunque la cantidad de enzima perdida en el suero es menor con este sistema, es difícil predecir cuánto tiempo permanecen las cápsulas intactas y si los productos difundirán de forma homogénea por la masa, siendo además una técnica bastante cara.

Aunque estas preparaciones se comercializan en España, su uso no está legalizado.

Aumento del número de bacterias lácticas

La base de este método es que el sistema enzimático de las bacterias origina características organolépticas equilibradas, por tanto el riesgo de aparición de defectos se minimiza, pero no se puede aumentar el número de bacterias lácticas simplemente añadiendo más cantidad de cultivo, ya que la producción de ácido sería mucho más rápida, lo que aceleraría la sinéresis y sería necesario ajustar el proceso de obtención de la cuajada. La técnica que se utiliza consiste en aplicar a las bacterias un tratamiento térmico del orden de 56-67°C durante 10 a 18 segundos [IZCO99], de esta manera pierden casi por completo su capacidad de producción de ácido, manteniendo su capacidad proteolítica. Estas bacterias así tratadas se añaden junto con el cultivo iniciador normal. También pueden utilizarse cepas mutantes seleccionadas sin capacidad de acidificación o bacterias lácticas (Lac⁻) obtenidas por ingeniería genética a las cuales se les ha eliminado la capacidad de acidificación, o bien, se puede diseñar el sistema proteolítico de la bacteria introduciendo o eliminando determinados genes responsables de actuar en diferentes sustratos, aunque esto último está actualmente en fase de experimentación. El uso de bacterias modificadas genéticamente está regulado por las leyes de los diferentes países, no siendo legal su uso en la UE en el momento de escribir este texto.

7.11.7 El acondicionamiento de los quesos durante la maduración y el almacenamiento

La superficie de los quesos varía según el tipo de queso, así los quesos de pasta blanda pueden ser de corteza enmohecida o lavada y los de pasta prensada de corteza lavada o, a veces, en la corteza crecen corinebacterias como el *Brevibacterium linens*.

Los quesos de pasta prensada y corteza lavada pueden parafinarse o pintarse con una pintura plástica para evitar el crecimiento de hongos y mantener la humedad interior.

Todas estas variaciones comportan una serie de prácticas que hay que realizar antes o después de la maduración o durante la permanencia de los quesos en la cámara de maduración.

7.11.7.1 Operaciones de manipulación de los quesos durante la maduración y el almacenamiento

- 1) *Volteado de los quesos*: Los quesos tienen que ser volteados periódicamente para que el proceso de secado se reparta homogéneamente en toda la masa, lo que comporta que la acidificación también sea homogénea, de este modo la cara que está contra la superficie de apoyo puede realizar el intercambio de vapor de agua y gases en las mismas condiciones que el resto del queso y la corteza se forma satisfactoriamente. La frecuencia de volteado depende del tipo de queso y del tiempo que lleve en la cámara de maduración. Los quesos de pasta blanda, que como máximo permanecen unas tres semanas en la cámara de maduración, se tienen que voltear diariamente. El resto de los quesos es suficiente con voltearlos tres veces por semana durante los primeros 14 días, después dos veces por semana hasta las 7-8 semanas y después solo una vez por semana [BUCH99].
- 2) *Lavado de la corteza*: Si se quiere evitar el crecimiento de hongos en la superficie, además de hacer un oreo que permita la correcta formación de corteza, se puede ayudar lavando la superficie de los quesos con salmuera, con agua y vinagre, con agua caliente o con suero, prácticas que tradicionalmente se realizaban según la experiencia acumulada con los años. Por ejemplo, en los quesos de Mahón explica A. Camps [CAMP97]: “Cuando la superficie del queso se empezaba a secar y a cubrirse de limo y moho,..., se tenía que lavar con agua caliente, o mejor con suero crudo, si había, con la ayuda de un estropajo viejo y usado, para no rascar demasiado la superficie de la pieza. Esta operación se repetía cada vez que se enmohecía (cada tres o cuatro días si el tiempo era húmedo, o cada semana o quince días si era más seco). Cuando la superficie del queso empezaba a tomar un color amarillento, se tenía que untar con aceite de oliva, con manteca de cerdo o con mantequilla cocida, preferentemente de leche de vaca mezclada con aceite de oliva, cada siete u ocho días, hasta que dejaba de enmohecerse. Al cabo de dos o tres meses, el queso se había bebido todo el aceite y la mantequilla, y la corteza había vuelto a adquirir su color amarillo”. También se pueden lavar los quesos añadiendo al agua un producto antifúngico como sorbato o natamicina
- 3) *Parafinado*: Consiste en sumergir el queso en un baño de parafina fundida que, cuando se enfría, forma una película continua que envuelve toda la superficie. Esta operación puede realizarse en cualquier momento durante la maduración. Una vez que el queso se ha parafinado, se mantiene la humedad y la maduración es igual en toda la masa, es decir, no hay corteza, todo el queso madura en condiciones anaerobias, por eso es muy importante calcular bien la humedad que ha de tener el queso. Un ejemplo son los quesos tipo Gouda, popularmente conocidos como quesos de bola, o los quesos de barra tipo holandés. Para el parafinado se utiliza, o bien parafina ordinaria, que tiene un punto de fusión de entre 45 y 65°C, o cera microcristalina que funde entre 65 y 80°C.

4) *Pintura plástica* [BUCH99]: Es una emulsión de copolímeros en agua, las partículas sólidas del polímero están rodeadas de agua y durante la evaporación se van uniendo entre ellas cada vez más estrechamente hasta que se forma una película continua al final del secado de la pintura. Normalmente, la pintura plástica se utiliza en quesos en los que se quiere formación de corteza, pero no crecimiento de microorganismos en ella.

La pintura plástica proporciona al queso las siguientes características:

- Le da un aspecto “limpio”.
- Lo protege de daños mecánicos.
- No tapa la corteza completamente, por lo que la maduración natural continúa, pero por otro lado actúa de barrera, previniendo grandes pérdidas de humedad y por tanto de peso.
- Se puede combinar con tratamientos antimoho, como la netamicina.

Una vez acabada la maduración, los quesos se guardan en cámaras frigoríficas hasta su expedición. Para mantener mejor las características óptimas conseguidas, los quesos de corteza lavada se pueden envasar al vacío. Los *films* más utilizados son laminados de polietileno y celulosa que tienen la porosidad adecuada. El envasado al vacío se puede combinar con un tratamiento antifúngico de superficie. Los quesos frescos no se pueden envasar al vacío porque se desmonta la estructura.

7.11.7.2 Las condiciones de las cámaras

La actividad de los microorganismos responsables de la maduración de los quesos esta regulada por varios factores. Los más importantes son la humedad relativa, la temperatura, la velocidad del aire y la renovación del mismo, por ello es muy importante que las cámaras estén bien diseñadas en cuanto a la capacidad de contener a los quesos y en cuanto a los sistemas de regulación y control de la temperatura, la humedad relativa y la aireación.

Las cámaras no deben sobrecargarse de producto ya que conllevaría dificultades a la hora de regular la humedad relativa y bajaría el nivel de oxígeno del aire debido a que habría más desprendimiento de amoníaco y CO₂. Tampoco deben estar infrautilizadas, porque una manera de regular la humedad ambiental son los propios quesos.

Dependiendo del objetivo o del tipo de queso, en quesería se utilizan diferentes tipos de cámaras, las condiciones estándar de las cuales están reflejadas en la tabla 7.4.

En dicha tabla se puede observar que los quesos más húmedos necesitan una humedad ambiental más baja que los quesos con menos humedad interior, esto es debido a que hay que evitar que los quesos que contienen poca humedad se resequen aún más para evitar pérdidas de peso innecesarias y para evitar que se reseque y agriete la corteza; en cambio, en los quesos más húmedos, una humedad excesivamente alta podría provocar un crecimiento de mohos más descontrolado, de alguna manera la humedad ambiental propuesta, en los quesos de pasta blanda, mantiene un equilibrio entre queso y ambiente.

Tabla 7.4 Condiciones de las cámaras utilizadas en la producción de quesos [ANGL98]

Tipo de cámara		Temperatura	Humedad relativa	Velocidad del aire
Cámara de secado (u oreo)		12 - 18°C	65 - 80%	A la salida del evaporador: máx. 3 m/seg, óptimo 1-2 m/seg. En la superficie de los quesos: 0,2 a 0,5 m/seg
Cámara de maduración	Pastas blandas y corteza enmohecida	8 - 14 °C	80 - 90%	A la salida del evaporador: 0,5 a 1 m/seg
	Pastas blandas y corteza lavada	8 - 14 °C	90 - 95%	A la salida del evaporador: 0,5 a 1 m/seg
	Pasta prensada	8 - 12 °C	> 95%	A la salida del evaporador: 0,2 m/seg
Cámara fría		2 - 6 °C	< 80%	A la salida del evaporador: 0,2 m/seg

7.12 Defectos de los quesos

Los defectos en los quesos pueden tener tres causas principales: el uso de leche de mala calidad, hacer una mala aplicación de la tecnología y la contaminación microbiológica. Aunque las dos primeras, a veces, no impliquen directamente a los microorganismos, en la mayor parte de los casos, el defecto se debe a un desarrollo impropio de los microorganismos.

Antes de explicar los principales defectos haremos la siguiente consideración: la alteración microbiológica del queso no implica que suponga riesgo alguno para la salud. Excepto en el caso de quesos frescos elaborados con leche cruda, se puede afirmar que el queso es un alimento seguro desde el punto de vista higiénico. Los defectos en los quesos disminuyen su calidad organoléptica y/o su apariencia.

Debido a la limitación en extensión de este texto, en este apartado solo se describen los defectos más corrientes; igualmente, para no extender más este capítulo, no abordamos ni la prevención ni la lucha contra los defectos.

7.12.1 Hinchamiento

El hinchamiento de los quesos se debe a una producción excesiva de gas por parte de diferentes tipos de microorganismos susceptibles de crecer en su interior. Los microorganismos productores de gas pueden ser: levaduras, lactobacilos heterofermentativos halotolerantes, algunas cepas de *Streptococcus thermophilus* termodúricas, bacterias del género *Leuconostoc*, bacterias propiónicas, etc., pero lo más habitual es que se deba al crecimiento de coliformes o de clostridios butíricos que producen los hinchamientos llamados: precoz en el primer caso y tardío en el segundo.

Hinchamiento precoz

Es aquel que aparece durante las primeras 48 horas de fabricación del queso. Si la leche es pasteurizada y las condiciones higiénicas de fabricación son buenas, este defecto no tendría que aparecer pero una recontaminación de la leche durante el proceso de elaboración, si la temperatura y el pH son favorables, puede hacerlos proliferar con rapidez. Los microorganismos responsables solo pueden crecer mientras haya azúcar para fermentar. Los principales metabolitos formados son CO₂ y H₂ y en menor cantidad, ácido láctico, ácido acético, ácido succínico, ácido fórmico, etanol y 2,3-butilenglicol [WALS99]. Además del hinchamiento, que no siempre se manifiesta suficientemente como para tirar los quesos, los coliformes originan defectos de gusto y aroma: a levadura, a podrido, a sucio.

Hinchamiento tardío

El principal agente de esta alteración es el *Clostridium tyrobutyricum*, y en menor medida el *Clostridium butyricum*; ambos son microorganismos esporulados que fermentan el ácido láctico produciendo ácido butírico, CO₂ y H₂. Como resultado, se originan defectos de textura, gusto y aroma; el ácido butírico tiene sabor picante. En los casos más graves se forman rajadas o grandes agujeros en el queso. Cuando esto ocurre, los quesos son incomedibles debido a los defectos de gusto y aroma y también al aspecto del queso. La hinchazón butírica se manifiesta después de algunas semanas o incluso meses, con el gran perjuicio económico que esto comporta.

El origen de las esporas de microorganismos butíricos en la leche puede ser, o bien debido a leche de vacas que han comido ensilado de mala calidad o a un ordeño poco higiénico. Se considera el umbral crítico unas 200 esporas por litro de leche. El que sean capaces de germinar y reproducirse depende de muchos factores entre ellos el pH; a pH por debajo de 4,6 no se desarrollan, por ello no son un problema en los quesos de coagulación ácida o mixta de carácter ácido, pero si lo son para los quesos de pasta prensada.

La manera de evitar su proliferación, además de la higiene, es: la bactofugación (ver apartado 7.5.3), la adición de nitrato y de lisozima.

7.12.2 Defectos de gusto y aroma

Los principales defectos de gusto son:

- *Gusto amargo*, que puede ser debido a que la proteólisis no se ha realizado correctamente, bien por un exceso de microorganismos proteolíticos, por un exceso de enzima coagulante o porque la leche estaba muy contaminada con bacterias psicrotróficas, lo que lleva a la acumulación de péptidos amargos porque se ha inhibido la acción de los enzimas que los degradan. La inhibición de estas enzimas puede ser debida, entre otros factores, a un contenido en sal bajo. Este defecto es más acusado en el caso de la leche de vaca que en otras leches, ya que presenta más cantidad de caseínas α_s , que son las que contienen la secuencia de aminoácidos que origina estos péptidos. Una acidificación excesiva por un mal desuerado también puede dar gusto amargo, porque se impide el correcto desarrollo de la proteólisis.
- *Gusto a jabón*: debido a que se ha producido una hidrólisis excesiva de los ácidos grasos y éstos han reaccionado con sales alcalinas del queso dando un jabón.

- *Gusto a rancio* debido a la oxidación de los ácidos grasos. Esto puede ser debido a que la leche estaba contaminada con bacterias psicotróficas que producen lipasas termorresistentes y pueden enranciar la grasa del queso. Este defecto es más común en los quesos grasos como son los quesos de oveja.
- *Otros defectos de gusto y aroma*: Como las sustancias responsables del gusto y aroma de los quesos son metabolitos resultantes de la actividad microbiana, cualquier desequilibrio en este sentido o la presencia de sustancias extrañas en la leche, bien porque se han añadido, o bien porque llegan a través de lo que comen los animales, pueden producir defectos de gusto y aroma. La falta de higiene se traduce en un regusto que se puede calificar como de leche sucia.

7.12.3 Defectos de textura

Los defectos de textura más habituales son:

- *Textura licuada*: se produce cuando el queso adquiere textura de crema, casi líquida, debido a una proteólisis excesiva. Un ejemplo serían las tortas extremeñas de La Serena, el Casar o Barros, aunque en este caso su textura no constituye un defecto, sino una virtud.
- *Textura de yeso o quebradiza*: se produce cuando al partir el queso se deshace como una pared de yeso o se rompe, esto es debido a una acidificación excesiva y es más acusado en algunos quesos de cabra de coagulación ácida.
- *Textura abierta o con fisuras*: como se ha mencionado antes, debido a microorganismos productores de gas.
- *Grietas o aberturas en la superficie*: debido a que la humedad relativa de la cámara es baja o a cambios bruscos de temperatura.

7.12.4 Crecimiento de microorganismos no deseados en la superficie

- *Pelo de gato*: debido al desarrollo de hongos del género *Mucor*, se caracteriza por la invasión de la superficie del queso por una capa espesa de filamentos de color grisáceo más o menos oscuro que parece el pelo de un gato cuando está erizado; los quesos de pasta blanda y corteza enmohecida como el Camembert son especialmente sensibles a este defecto.
- *Piel de sapo*: En los quesos de pasta blanda, *Geotrichum candidum* puede provocar, si su desarrollo es importante, la aparición de una piel espesa más o menos inflada, de ahí el nombre de “piel de sapo”. En general, debajo de esta piel, el queso tiene una apariencia pegajosa, esta licuefacción ha estado tradicionalmente atribuida a las enzimas proteolíticas del *Geotrichum*, pero estudios más recientes han demostrado que se debe a una contaminación de la leche de quesería con el microorganismo *Enterococcus faecalis*. Al elevar el pH, el *Geotrichum* facilita la actividad máxima de las proteasas del *E. faecalis*.

- *Presencia de coloraciones especiales:* A veces en la superficie del queso aparecen zonas coloreadas de negro, verde oscuro, amarillo, rojo, rosa, etc., esto es debido al crecimiento de diferentes microorganismos productores de pigmentos como algunas levaduras, corinebacterias. Por ejemplo: *Brevibacterium linens* da coloraciones rojas, y mohos como algunos pertenecientes al género *Mucor* o el *Cladosporium herbarum* producen unas pequeñas manchas verde oscuro.

7.12.5 Presencia de ácaros

También se les llama *polilla de los quesos*. Se trata de ácaros de pequeño tamaño, que con su aparato masticador en forma de pico, taladran la corteza de los quesos de pasta dura y semi-dura durante su maduración o almacenamiento, excavando galerías más o menos extensas, profundas y entrecruzadas.

El ataque de ácaros se detecta en su comienzo por la presencia de polvo fino de color blanco-amarillento, diseminado sobre la superficie del queso, compuesto por ácaros vivos, huevos, detritus, restos de segmentos de larvas, ácaros muertos, etc. Cuando este polvillo se coloca sobre un fondo oscuro, se aprecia a simple vista el movimiento de los ácaros vivos en todas direcciones.

Los daños producidos por los ácaros en el queso son graves, pues disminuyen la calidad de los mismos, tanto en su aspecto exterior como en el interior, ya que provocan la pérdida de humedad de la pasta haciéndola seca y quebradiza, además de disminuir el rendimiento de los quesos y su calidad organoléptica [MORE88].

7.13 Los quesos fundidos

La legislación española (*Orden de 29 de noviembre de 1985, BOE núm. 292, 6 de diciembre de 1985*) define los quesos fundidos de la siguiente manera:

“Se entiende por queso fundido el producto obtenido por molturación y/o mezcla, fusión y emulsión con tratamiento térmico de una o más variedades de queso con o sin adición de agentes emulgentes, de leche y productos lácteos y de otros productos alimenticios”.

En un principio la fabricación de quesos fundidos tenía la finalidad de dar salida a fabricaciones defectuosas de quesos de pasta dura. Actualmente, en la mayoría de casos, los quesos fundidos son una variedad más de queso con una demanda específica en el mercado.

En la fabricación de quesos fundidos hay que tener en cuenta dos cosas: la primera, que es muy importante trabajar en buenas condiciones higiénicas para garantizar la estabilidad microbiológica del producto final, y la segunda, que las cualidades organolépticas de los quesos empleados condicionan el resultado final.

Para fabricar un queso fundido de calidad hay que escoger cuidadosamente la materia prima y eliminar los productos que presenten mal gusto, además, el pH desempeña un papel crucial en la fabricación, por tanto hay que elegir una mezcla de quesos que den un pH de 5,6-5,7 que es el pH que favorece el mantenimiento de la emulsión grasa en la pasta [WEISS88].

Existen dos tipos de quesos fundidos: los quesos para untar y las barras para cortar lonchas. La diferencia entre uno y otro tipo es el contenido en humedad y las sales de fundido empleadas en su fabricación

Los quesos fundidos para untar contienen más humedad que los quesos en lonchas. La legislación española regula el contenido en extracto seco de los quesos fundidos para untar: debe ser mayor del 40% y menor del 50%, es decir el contenido en humedad estará entre el 50 y el 60%.

En cuanto a las sales de fundido, a los quesos para untar no se les puede añadir citratos solo porque dan una pasta larga, hay que añadirles ortofosfatos [ECKA90].

El procedimiento de fabricación es el siguiente: los quesos se descortezan, después se trocean y trituran. El contenido en sólidos, proteína y grasa a veces se ajusta añadiendo leche en polvo, caseínatos, lactosuero en polvo y/o mantequilla. La mezcla se pone en el “cutter” donde se realiza la fundición y agitación, es en este momento en que se añaden las *sales de fundido*, citratos y fosfatos, que tienen por misión:

- Regular el pH final de la masa, si el pH es inferior a 5,6-5,7, la grasa se separa y sobrenada; un pH superior comprometerá la estabilidad microbiológica del producto durante la conservación.
- Estabilizar el paracaseinato cálcico, complejando el calcio y convirtiendo el paracaseinato cálcico, que es inestable al calor y daría un precipitado, en paracaseinato sódico que da una solución coloidal termoestable.

La cocción dura de 8 a 12 minutos, manteniendo la temperatura de 75-85°C durante unos 2-3 minutos, la agitación debe ser muy enérgica ya que es importante que la pasta del queso, totalmente fundida, sea perfectamente homogénea.

Después de la cocción, la pasta aún fluida se reparte automáticamente en porciones, que se recubren con papel de aluminio. Esta operación es particularmente delicada, porque hay que evitar las contaminaciones.

La fabricación también puede realizarse en continuo en cambiadores de calor de superficie rascada, a veces el calentamiento puede llegar hasta los 115-145°C (en el caso de los quesos fundidos para untar), con el objetivo de destruir las esporas butíricas [WEISS88] [WALS99].

7.14 Los quesos españoles

España es el tercer país del mundo en cuanto a variedades de queso, junto con Francia, que es el primero, e Italia, que es el segundo, pero no es un gran productor de quesos como se puede observar en las cifras de producción que se presentan a continuación.

En el panorama mundial, el mayor productor de quesos es la Unión Europea, que en el 2001 produjo 6.575.900 TM de queso, de las cuales 1.767.000 TM corresponden a Francia, 1.766.000 TM a Alemania y 1.062.000 TM, a Italia, mientras que la producción española fue de 269.000 TM. La producción de Estados Unidos, que es el segundo productor después de la Unión Europea, en el mismo año, fue de 3.687.300 TM. [BULL02].

En cuanto al consumo, en España es de 8,7 Kg por persona y año, cifra que se encuentra muy por debajo de la media Europea, que es de 18,6 Kg por persona y año, siendo 24,3 Kg por persona y año el consumo de Francia, 21,6 el de Alemania y 21,4 el de Italia [BULL02].

Aunque no podemos extendernos mucho más sobre el tema del queso, sí que quisiéramos, antes de terminar este capítulo, hacer una descripción de los principales quesos españoles con el objeto de dar a conocer al lector los productos de calidad que vale la pena potenciar y mejorar con la aplicación de la ciencia y la tecnología que en parte se explican en este libro.

Los quesos, como producto, llevan implícitas muchas más cosas que su composición nutritiva. Son una expresión del territorio donde se producen y son el resultado de la experiencia de generaciones de personas que por diferentes circunstancias han perpetuado un modo de hacer. Es por esto que existen tantas variedades de queso.

El somero repaso que vamos a hacer de los quesos españoles lo referiremos al territorio donde se elaboran, que es el elemento más importante que los caracteriza:

- En el norte, en las comunidades autónomas de Galicia, Asturias y Cantabria predominan los quesos de vaca. En Galicia los cuatro quesos tradicionales son: Tetilla, Arzúa Ulloa, ambos Denominación de Origen Protegida (DOP), San Simón y Cebreiro. Asturias es la región europea con más variedades de queso: 28, según la Cofradía de Amigos de los Quesos del Principado de Asturias [COFR99], destacando los quesos azules de Cabrales (DOP), Gamonedo y La Peral, el peculiar queso Afuega'l pitu, o los quesos Beyos, Casín o Urbiés. En Cantabria encontramos tres quesos con DOP, el Cantabria o Nata de leche de vaca, el Picón Bejes-Tresviso, que es un queso azul mezcla de cabra, oveja y vaca, y el Quesucos de Liébana, también de mezcla como el anterior; además hay que destacar el queso fresco de Pido y el Ahumado de Áliva.
- En los Pirineos Occidentales, que son parte de Navarra y País Vasco, predominan los quesos de oveja, el Idiazábal, que puede ser ahumado o no, y el Roncal, ambos con DOP.
- En los Pirineos Centrales y Orientales, que abarcan parte de Aragón y Cataluña, la elaboración tradicional de queso de oveja se ha perdido y recientemente (sobre todo durante la segunda mitad del siglo XX) se ha retomado la actividad quesera con la elaboración de quesos de vaca y de cabra, destacando el queso de vaca Urgelia con DOP y los quesos de cabra que se elaboran en las comarcas de l'Alt Urgell y la Cerdanya.
- En Cataluña, aparte de los quesos elaborados en el Pirineo, la mayoría de quesos son de vaca y cabra. Hay que destacar el Mató, que es un queso fresco sin sal, que puede ser de leche de cabra o vaca [ROME00] y el Garrotxa, que es un queso de cabra de corteza enmohecida que se elabora en todo el territorio catalán [PRAT98].
- En el levante, Valencia, parte de Teruel, Murcia y Andalucía, predominan los quesos de cabra, pero también de vaca sola o mezclada con cabra y oveja; así en Valencia cabe destacar el queso Blanquet o de Cassoleta, que se elabora en la zona costera entre Valencia y Castellón con leche de vaca a veces mezclada; es un queso fresco que tiene forma característica de volcán, como los quesos de Tronxón. El queso de Tronxón, que tiene su origen en el pueblo de Tronxón en Teruel, pero que se elabora en todo el Maestrazgo, abarcando parte de las provincias de Teruel, Castellón

y sur de Tarragona, es un queso de mezcla de cabra y oveja. También el Servilleta o Tovalló, de cabra pero a veces mezclado con vaca, que se elabora entre Valencia y Alicante.

- En Murcia se elabora tradicionalmente queso de cabra, el queso al vino de Murcia es un DOP reciente.
- En Andalucía hay que destacar los quesos de cabra de la Serranía de Ronda, Albox o los Filabres en Almería, Aracena en la serranía de Huelva y Grazalema en la sierra de Cádiz [CANU90].
- En la zona central consideramos a Castilla La Mancha, Castilla y León y Extremadura donde predominan los quesos de oveja; así en Castilla y León destaca el queso Zamorano con DOP, el castellano, el Villalón o Pata de Mulo, el Burgos y el Valle de Esgueva.

En Castilla-La Mancha, el queso español más emblemático: el Manchego con DOP y en Extremadura hay que destacar los quesos de la Serena con DOP, las tortas del Casar o de Barros y el queso de los Ibóres que es de leche de cabra.

- Finalmente, en las islas Baleares los quesos son de vaca, destacando el queso de Mahón o de Menorca, que es DOP, y el queso Mallorquín, que es muy parecido.
- En las Canarias se elaboran quesos de leche de cabra, ya que poseen tres razas autóctonas: la majorera, la palmera y la tinerfeña, que dan leche de muy buena calidad. Cada isla posee su queso, así tenemos: queso de la Gomera, el Herreño, de Guía, que se elabora en Gran Canaria, Majorero, Palmero, el Lanzarote y el queso fresco de Tenerife.

Esta lista de quesos españoles no es exhaustiva, podríamos añadir bastantes más, su única pretensión es mostrar la riqueza gastronómica, en cuanto a quesos se refiere, del territorio español.

Bibliografía

- [ALAI85] ALAIS, CH. *Ciencia de la leche*. Barcelona, Ed. Reverté S.A., 1985
- [ALTA02] ALTAMIRANO, J.V. *Membranas en la Industria Láctea*. Tetra Pak Hispania. 2002
- [AMIG92] AMIGO, L., FERNÁNDEZ, E. "Utilización de los procesos de membrana en la elaboración de queso". *Revista Española de Ciencia y Tecnología de los Alimentos* 32 (4), pág. 353-370, 1992
- [ANGL98] ANGLADE, P. *La fromagerie à la ferme*. Provence-Alpes-Côte d'Azur. Ed. Centre Fromager de Carmejan & Méthodes et Communication, 1998
- [BATT85] BATTISTOTTI, B., BOTTAZZI, V., PICCINARDI, A., VOLPATO, G. *Quesos del Mundo*. Barcelona, Ed. Ediciones Elfos, 1985
- [BOZZ93] BOZZETTI, V., RAMPILI, M., GEURTS, T.G.E., VAN DEN BERG, J. A., REPELIUS, K. *Coagulando. Rassegna storica, scientifica e tecnologica sulla coagulazione del latte*. Casteggio (Pavia), Ed. Gist-brocades S.p.A., 1993

- [BUCH99] BUCH, J.M. *Cheese Technology*. Aarhus (Dinamarca), Ed. International Dairy Books, 1999
- [BULL02] BULLETIN OF THE INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. *World Dairy Situation*. 378/2002
- [CAMP97] CAMPS, A. *L'Elaboració tradicional del formatge i els seus derivats a Menorca*. Menorca, Ed. Ajuntament de Ciutadella, 1997
- [CANU90] CANUT, E., NAVARRO, F. *Catálogo de quesos de España*. Madrid. Ed. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. 1990
- [COFR99] COFRADIA DE AMIGOS DE LOS QUESOS DEL PRINCIPADO DE ASTURIAS. *Quesos de Asturias*. Asturias. Ed. Cajastur. 1999
- [ECKA89] ECK, A. *El Queso*. Barcelona, Ed. Omega S.A., 1989
- [LEJA90] LE JAOUEN, J. C. *La fabrication du fromage de chèvre fermier*. París, Ed. Institut Technique de L'élevage ovin et caprin. Société de presse et d'édition ovine et caprine, 1990
- [LUQU91] LUQUET, F.M. *Leche y productos lácteos. Vaca – oveja – cabra*. Tomo I. Zaragoza. Editorial Acribia S.A., 1991
- [IZCO99] IZCO, J.M., TORRE, P., BARCINA, Y., “Maduración acelerada de los quesos. Revisión”. *Alimentaria*, Junio, pág. 135-144, 1999
- [MCSW00] McSWEENEY, P.L.H., SOUSA, M.J., “Biochemical pathways for the production of flavor compounds in cheeses during ripening: A review”. *Lait* 80, pág. 293-324, 2000
- [MORE88] MORENO, R. *Defectos y alteraciones de los quesos*. Sevilla. Ed. Consejería de Agricultura de la Junta de Andalucía. Dirección General de Investigación y Extensión Agrarias. 1988
- [PRAT98] PRATGINESTÓS, F., ROMERO DEL CASTILLO, R. “Producció actual del formatge de pell florida o Garrotxa”. *Pastors* 14, maig, pág. 10-12, 1998
- [RODR97] RODRIGUEZ, J. “Procesos de membrana en la industria láctea”. *Alimentación, Equipos y Tecnología*, julio/agosto, pág. 31- 38. 1997
- [ROME99] ROMERO DEL CASTILLO, R., CARBO, R. “Tipificació i estudi de la maduració dels formatges artesans de cabra elaborats a l'Alt Urgell”. *Arxius de l'Escola Superior d'Agricultura de Barcelona*, sèrie cinquena, núm. 3, pág. 3-21. 1999
- [ROME00] ROMERO DEL CASTILLO, R., RODRÍGUEZ, A., VILCHEZ, F., GUIRADO, J.F., ALFRANCA, O., CLOTET, R. “Producció de mató a Catalunya”. *Arxius de l'Escola Superior d'Agricultura de Barcelona*, sèrie cinquena, núm. 4, pág. 59-74. 2000

- [SCOT91] SCOTT, R. *Fabricación de queso*. Zaragoza, Ed. Acribia S.A., 1991
- [SOUS01] SOUSA, M.J., ARDÖ, Y., McSWEENEY, P.L.H. "Advances in the study of proteolysis during cheese ripening". *International Dairy Journal* 11, pág. 327-345, 2001
- [VEIS88] VEISSEYRE, R. *Lactología Técnica*. Zaragoza, Ed. Acribia, 1988
- [WALS99] WALSTRA, P., GEURTS, T.J., NOOMEN, A., JELLEMA, A., VAN BOEKEL, M.A.J.S. *Dairy Technology*. Ed. New York, Marcel Dekker Inc., 1999

8 La mantequilla

8.1 Definición

Según la Orden de la Presidencia del Gobierno de 7 de enero de 1975 (BOE 55 del 5 de marzo y posteriores modificaciones, BOE 274 de 16 de noviembre de 1977, BOE 305 de 22 de diciembre de 1977 y BOE 70 de 22 de marzo de 1997), se define que:

“Mantequilla es el producto graso obtenido exclusivamente de leche o nata de vaca higienizadas.”

“Mantequilla de suero es el producto graso obtenido del suero higienizado que no contenga ninguna otra grasa más que la de la leche de vaca.”

La mantequilla se obtiene a partir de la nata mediante un proceso de batido que transforma la emulsión grasa en agua (*o/w*) en la emulsión de agua en grasa (*w/o*), que es la mantequilla, y la eliminación de una parte del agua y de los componentes solubles, que es el suero de mantequería o la mazada.

8.2 Composición

La composición de la mantequilla, según la legislación que se cita en el apartado anterior, es un 80% mínimo de grasa de la leche y un máximo del 16% de agua, un extracto seco magro de la leche de procedencia máximo del 2% masa / masa. El 2% restante puede ser sal.

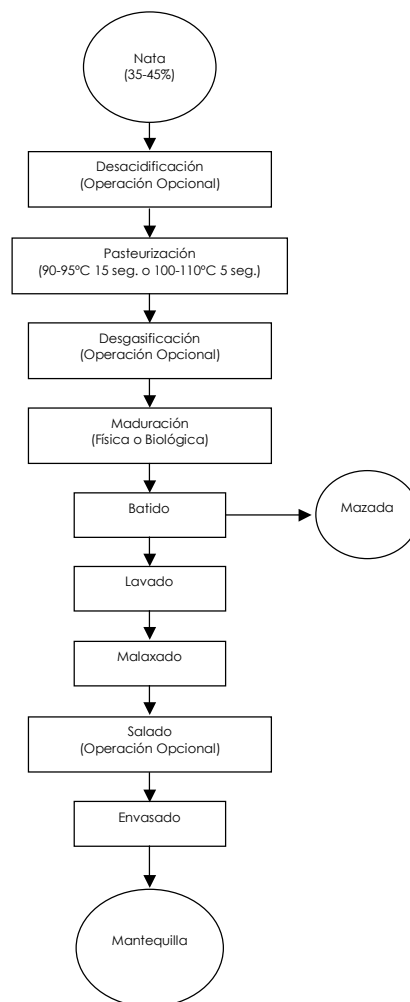
8.3 Tecnología de fabricación de la mantequilla

Antes de empezar a exponer la tecnología de fabricación de la mantequilla es conveniente hacer un repaso de la composición de la grasa de la leche y de la estructura del glóbulo graso (apartado 1.3.2, del capítulo 1). La grasa de la leche se encuentra organizada en forma de glóbulos grasos, en los que los triglicéridos están rodeados de una membrana formada por fosfolípidos, proteínas, partículas lipoproteicas y otras sustancias como vitaminas y enzimas; esta membrana protege a los triglicéridos de ser hidrolizados u oxidados por los enzimas u otras sustancias presentes en la leche. En el interior

del glóbulo graso los triglicéridos se ordenan, del interior hacia el exterior, en función de su punto de fusión, de manera que los más insaturados se sitúan en el centro y los más saturados hacia el exterior [VEIS88], es decir, la grasa más líquida ocupa el centro y la más sólida el exterior. El tipo de triglicéridos que podemos encontrar en el interior del glóbulo graso es muy variable, según Alais [ALAI85] se han descrito más de 400 triglicéridos diferentes presentes en la leche. El hecho de que una determinada leche contenga unos u otros depende fundamentalmente de la alimentación y de la especie animal, a su vez la alimentación varía con la época del año, por eso se habla de las natas de invierno y de las natas de verano.

La composición en triglicéridos de la grasa de la leche es especialmente importante en la elaboración de mantequillas porque uno de los atributos de calidad organoléptica y de uso de este producto es la consistencia, que depende del tipo de triglicéridos y del número y tamaño de sus cristales. También hay que considerar la consistencia de la mantequilla en relación al diseño de la maquinaria por la que circulará el producto.

8.3.1 Diagrama de flujo de la fabricación de mantequilla



8.3.1.1 Obtención de la nata

Las operaciones de obtención de la nata y sus características se describen en el capítulo 3.

8.3.1.2 Desacidificación

Operación necesaria cuando se tienen que pasteurizar natas almacenadas excesivamente ácidas, de 15 a 20°Dórníc, ya que la nata demasiado ácida coagula en el pasteurizador confiriendo al producto gusto a cocido. Además, la caseína precipitada dificulta el batido. Si la nata se va a madurar biológicamente, la acidez impide el desarrollo del cultivo iniciador y favorece la aparición de algunas alteraciones como el gusto a pescado, cuando hay que hacer una desacidificación demasiado importante [VEIS88].

Se realiza mediante dos técnicas:

- a) Lavado: mediante el sistema Alfa-Laval, que consiste en diluir en agua una o dos veces el volumen de la nata y centrifugar para eliminar el agua, que arrastra el ácido láctico; no obstante, este método no es muy efectivo.
- b) Adición de un neutralizante, los más utilizados habitualmente son: carbonato sódico, bicarbonato sódico o sosa [VEIS88] [WALS99].

8.3.1.3 Pasteurización

El tratamiento térmico de la nata juega un papel decisivo en el proceso de fabricación de la mantequilla y en la calidad del producto final. Es muy importante que la leche y la crema se manipulen lo más cuidadosamente posible para evitar daños mecánicos a los glóbulos grasos. [SCHW86].

El objetivo de esta operación es:

- destruir los microorganismos patógenos y los lipolíticos
- desactivar los enzimas, especialmente las lipasas
- reducir el número de microorganismos
- liberación de sustancias antioxidantes (grupos sulfhidrilo (-SH) de las proteínas) que evitan oxidaciones posteriores de la mantequilla
- licuar completamente la grasa para controlar mejor su cristalización posterior

Se puede realizar sobre la leche antes de desnatar o sobre la nata, aunque lo más habitual es desnatar y luego pasteurizar por un lado la nata y por el otro la leche desnatada (ver apartado 8.4). Para la pasteurización de la nata se utilizan pasteurizadores de placas que, a parte de la ventaja que supone el trabajo en continuo y el calentamiento y enfriamiento rápidos, evitan el contacto con el oxígeno y previenen de este modo la oxidación de la grasa y la destrucción de vitaminas.

El tratamiento que se hace habitualmente es de 95-112°C de 5 a 30 segundos [VEIS88] [SCHW86], este baremo de pasteurización es más alto que el estándar de la leche debido a:

- la mayor resistencia térmica de los microorganismos en un medio graso;
- la mayor termorresistencia de las lipasas producidas por la flora psicrotrófica;
- que a temperaturas superiores a los 105°C, la formación de compuestos antioxidantes (grupos sulfhidrilo de las proteínas) es mayor [SCHW86].

Cuando la nata tiene un alto contenido en lipasas microbianas altamente termorresistentes, que pueden alterar la mantequilla almacenada, la mejor manera de desactivarlas es precalentar la nata a 70-80°C durante unos minutos y después pasteurizar a las temperaturas habituales más altas [SCHW86].

8.3.1.4 Desgasificación

Cuando se presentan olores indeseables, se pueden reducir con un tratamiento de vacío a la salida del pasteurizador. Si la nata está fuertemente aromatizada con olores debidos a los alimentos del ganado, se utiliza para el calentamiento vapor, que se introduce en la nata y se hace el vacío, que elimina el vapor de agua sobrante y de paso los malos olores. Esto supone un coste para la factoría que se puede obviar si la nata es de buena calidad.

8.3.1.5 Maduración

La maduración consiste en un tratamiento previo de la nata para conseguir un producto final de más calidad. Puede ser de dos tipos:

- a) la maduración física o cristalización, cuyo objetivo es la cristalización de la fase grasa para evitar pérdidas en el batido y conseguir la consistencia adecuada
- b) la maduración biológica, cuyo objetivo es la producción de aroma y acidez

8.3.1.6 La cristalización

Existen gran variedad de técnicas de cristalización utilizadas en el tratamiento de la nata antes de fabricar la mantequilla, ya que la consistencia es un parámetro de calidad importante.

La consistencia depende de:

- la composición química de la grasa de la mantequilla
- la relación entre la fase sólida y la fase líquida
- la estructura física de la mantequilla (cristalización)
- el tratamiento del producto final

En las últimas décadas la composición de la grasa de la leche en los países occidentales ha ido haciéndose más consistente, especialmente en invierno, por el uso de piensos concentrados y debido a cambios en la composición de estos piensos.

El tipo de alimentación tiene una influencia directa sobre la consistencia de la grasa de la leche; ésta varía según la estación puesto que el tipo de alimentación del ganado también varía, así se distinguen las natas de invierno y las natas de verano.

En primavera-verano, la ingestión de hierba fresca confiere a la grasa mayor proporción de ácidos grasos de cadena corta e insaturados, que tienen un punto de solidificación más bajo que en invierno, cuando la proporción de ácidos grasos saturados de cadena larga es mayor, con el consiguiente aumento del punto de solidificación.

Como orientación (ya que la composición química de la grasa depende de varios factores), a 8°C la proporción de grasa líquida en invierno es de un 50% y en verano de un 65% [KESS81].

Así que, dependiendo de la composición de la grasa de la nata (que varía a lo largo del año), para conseguir siempre la misma consistencia en el producto final, el tratamiento también deberá variar. Para conocer la composición de la nata en relación con el tratamiento de cristalización adecuado, se determina el índice de yodo, que informa del grado de insaturación de la grasa. Si se quiere conseguir una textura suave, hay que bajar rápidamente la temperatura para conseguir muchos núcleos de cristalización y por tanto cristales pequeños; si por el contrario, la temperatura se baja lentamente, se formarán cristales más grandes que darán una consistencia más fuerte.

Según Walstra y Jeness [WALS87], la nucleación de la grasa de la leche es casi completa después de unos 30 minutos a 5°C, 1 h a 10°C, 2.5 h a 15°C y 6 h a 20°C, estos tiempos no incluyen el periodo requerido para el crecimiento del cristal. Existen muchos métodos de cristalización, de hecho cada industria tiene que aplicar el que más le convenga según la composición de la grasa de su nata y las características deseadas de la mantequilla.

Un método es el "Alnarp" o "6-21-12", para producir mantequilla blanda en invierno, que consiste en [KIME86]:

- enfriar hasta 6-8°C, o temperatura inferior, durante 2 h
- calentar cuidadosamente hasta 21°C (no más de 21°C), manteniendo esta temperatura durante 2- 5 h (cuanto más dura es la consistencia, más tiempo)
- repetir el enfriamiento a 6°C y el calentamiento a 21°C, para incrementar el efecto positivo
- enfriar a 10-12°C, manteniendo esta temperatura 10-12 horas (que será la temperatura de batido). Este procedimiento resulta muy complicado en la práctica.

Este tratamiento, que se puede combinar con la maduración biológica (ver apartado 8.3.1.7), se realiza en tanques con camisa (20-25 TM), con equipos de agitación especial (que consiguen mezclar bien a velocidad baja). También se puede realizar en intercambiadores de calor de placas. Es un procedimiento bastante complicado y a menudo, en la práctica, lo que se hace es poner directamente la nata en silos de cristalización a la temperatura de batido (10-12°C) y dejarla varias horas.

Este tema se complica, cuando además de la cristalización para obtener la consistencia adecuada interesa realizar una maduración biológica para conferir a la mantequilla aroma y acidez, ya que las temperaturas de trabajo de los fermentos son más altas que las utilizadas para la cristalización.

8.3.1.7 La maduración biológica

La fermentación de la nata produce un aroma y un gusto agradable en la mantequilla. Esta característica es un factor de calidad añadido al producto que lo diferencia de otras grasas amarillas como las margarinas.

La temperatura correcta de tratamiento de la nata se tiene que escoger según la blandura de la grasa de la leche, que, como se ha expuesto antes, se expresa generalmente por el índice de yodo, que puede variar de menos de 28 a más de 40. Después de la pasteurización, la nata se enfría a 6°C o 8°C y se deja durante 2 horas, para conseguir la cristalización suficiente de la grasa. Entonces se añade el cultivo iniciador, a una dosis de 3-5% de la nata.

La temperatura se sube lentamente hasta 16-21°C con agua caliente a 27-30°C en la camisa. Se deja de 4-6 h. El proceso se controla con un pHmetro colocado en el tanque de maduración. Cuando se alcanza una acidez suficiente, se para la maduración volviendo a enfriar. El pH recomendado es de 4.5-4.7. El proceso de enfriamiento debe hacerse en dos pasos, el primero hasta 16°C y el siguiente hasta 8-10°C. Estos procesos de enfriado se pueden programar.

Según el índice de yodo, el programa de temperaturas elegido será el siguiente [PESO86]:

Índice de yodo	Programa de temperaturas
< 30	8-21-16
30-34	8-19-12
34-39	6-16-10
>40	20-8-11

A veces se deja directamente la nata a 12°C, con el cultivo iniciador, durante uno o dos días hasta que la acidificación es de unos 18°D.

Microorganismos utilizados como cultivo iniciador en la mantequilla

El aroma característico de la nata madurada es debido al diacetilo y a la acetoina, sustancias que resultan del metabolismo de la lactosa y del ácido cítrico de la leche. Suelen utilizarse mezclas de bacterias lácticas acidificantes (homofermentativas) y aromatizantes (heterofermentativas), las que se utilizan habitualmente son:

- bacterias lácticas acidificantes: *Lactococcus lactis* y/o *Lactococcus cremoris*
- bacterias lácticas aromatizantes: *Leuconostoc cremoris* y/o *Lactococcus lactis*, subespecie *diacetylactis*

La producción de diacetilo, que depende del tipo de cultivo iniciador, empieza a pH inferior a 5,2 [KESS81]. Natas con un contenido de entre 0.5 y 1 mg/kg tienen un aroma suave y natas con 1 a 3 mg/Kg tienen un aroma fuerte.

El método Nizo

Este método, desarrollado por Nizo, consiste en añadir a la mantequilla obtenida de nata dulce, con un contenido en humedad bajo (menos del 16%), un cultivo iniciador especial rico en diacetilo y ácido láctico concentrado obtenido de suero de quesería. Esto permite ajustar el pH al nivel deseado de 4.8 a 5.3. La mantequilla así obtenida contiene entre 1.5 y 2.5 mg de diacetilo por kg y un aroma como el de una mantequilla madurada.

En la figura 8.1 se puede ver el diagrama de flujo del método *Nizo*.

El ácido láctico concentrado se prepara a partir de suero de quesería parcialmente delactosado, se inocula con un cultivo muy acidificante, por ejemplo *Lactobacillus helveticus*, que transforma la lactosa en ácido láctico durante 2 días a 37°C. Por ultrafiltración, se eliminan las proteínas y las bacterias y se concentra el ácido láctico por evaporación. La solución de ácido láctico así obtenida se puede almacenar a 4°C durante 4 meses.

De forma separada y con leche descremada con un extracto seco alto, se prepara un cultivo iniciador muy aromático, que se mezcla con el ácido láctico concentrado y se airea antes de introducirlo en la mantequilla. La mezcla posee suficiente diacetilo para dar aroma y ácido láctico concentrado para dar acidez, que a la vez mata las bacterias del cultivo aromático. Además, se añade un segundo cultivo iniciador, que aporta otros componentes del aroma y que, eventualmente puede seguir produciendo diacetilo.

Este procedimiento es más complicado que el tradicional, pero en grandes plantas de fabricación muy tecnificadas puede implantarse sin problemas.

Las diferencias con el proceso tradicional son las siguientes:

- Se parte de nata dulce (principal propósito)
- Se necesita menor cantidad de cultivo iniciador
- Los cultivos iniciadores aromáticos son muy sensibles a los fagos; con este método se previenen problemas debido a malas fermentaciones de la nata debido a los fagos.
- Se consigue un aroma más pronunciado.
- El contenido en cobre en la mantequilla puede ser mucho más bajo¹ logrando un producto más estable frente a la oxidación [WALS99].

¹ La leche de vaca contiene entre 10 y 1200 (25 de media) μL^{-1} de cobre, este elemento es de gran importancia debido a su acción catalítica en la autooxidación de la grasa de la leche. Una parte de este cobre se encuentra de forma natural en la leche y normalmente no da problemas de oxidación, pero puede haber una parte no despreciable de cobre de contaminación (contacto con tuberías, utensilios, cubas, agua, etc.) que es el que puede ser peligroso, ya que es mucho más activo como catalizador que el cobre natural; la leche es uno de los líquidos más eficaces que se conocen para eliminar el cobre iónico de las superficies. En el caso de la nata acidificada, del 30-40% del cobre de contaminación se concentra en los glóbulos grasos, debido a que el pH bajo (óptimo \cong 3,8) favorece que parte del cobre pase a los glóbulos grasos [WALS87].

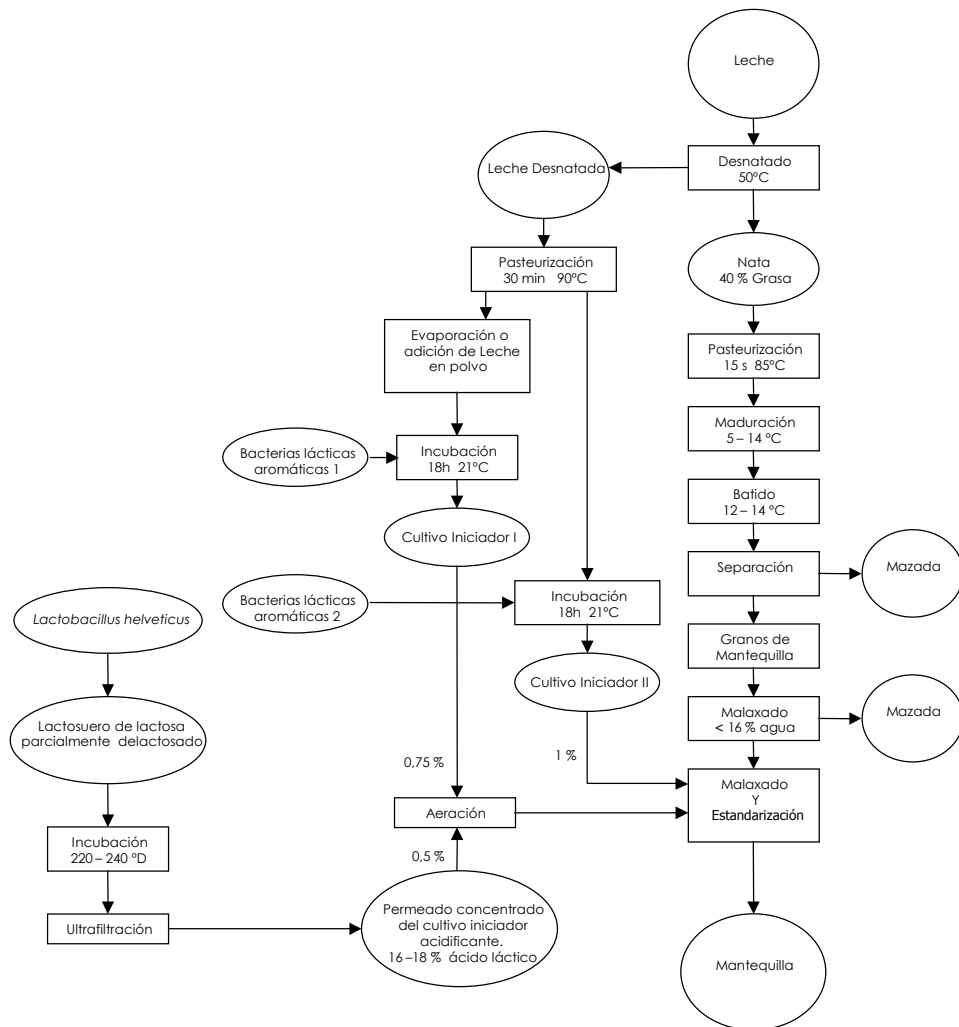


Fig. 8.1 Diagrama de flujo del método Nizo

- La cantidad de ácidos grasos libres en la mantequilla puede ser menor debido a que en las cremas ácidas con un pH bajo (4.8) la solubilidad en la grasa aumenta y disminuye en el agua, esto hace que la mantequilla de natas ácidas tenga un contenido mayor de ácidos grasos libres que puede conferir aroma rancio y de jabón.
- Es más fácil seleccionar la temperatura óptima de cristalización porque no hay que depender de la maduración biológica.
- Las natas dulces se bombean y pasan a través del intercambiador de placas más fácilmente; se obtiene mazada dulce, con las ventajas que conlleva la caseína sin precipitar.

8.3.1.8 El batido

Es en esta operación en la que se produce la mantequilla, es decir, es el momento en que se produce el cambio de emulsión de la o/w (nata) a w/o (mantequilla). Durante esta operación se separa la mazada o suero de mantequería.²

La fabricación de mantequilla requiere dos fases: la primera de aproximación de los glóbulos grasos para facilitar su unión en una fase continua grasa (la obtención de la nata) y la segunda es la formación de la fase grasa continua y la emulsión de una pequeña parte de suero.

Esta segunda fase es la que corresponde al batido, durante el cual el aire se incorpora en la nata y se dispersa en pequeñas burbujas, los glóbulos grasos tocan estas burbujas y parte de la membrana y de la grasa líquida se enganchan a la burbuja, cada burbuja atrapa a varios glóbulos. Durante el batido estas burbujas de aire colisionan unas con otras y su área superficial disminuye, como consecuencia los glóbulos grasos adheridos se enganchan unos con otros, entonces la grasa líquida actúa como cemento y los glóbulos grasos quedan incluidos formándose pequeños gránulos de grasa.

Estos gránulos, a su vez, participan en el proceso de batido, con lo que se forman gránulos más grandes sin aire, ya que se incrementa la probabilidad de colisionar. Además, se desprende de los glóbulos grasos más grasa líquida y restos de membrana, es la llamada *grasa coloidal*, formada por diminutos glóbulos de grasa líquida y restos de membrana. Hacia el final del batido se forma una pequeña cantidad de espuma, presumiblemente debido a que algunas burbujas de aire siguen cubiertas por glóbulos grasos que las estabilizan [WALS99].

8.3.1.8.1 Factores que afectan al batido [VEIS88] [WALS99].

Agitación

Cuanto más enérgica, más rápida es la operación

Tiempo de batido

El tiempo de batido disminuye con el incremento del contenido en grasa, pero menos de lo que se espera al aumentar la probabilidad de colisión entre los glóbulos grasos.

Tamaño de los glóbulos grasos

El tamaño de los glóbulos grasos es importante, la nata homogeneizada no se puede batir.

² La mazada o suero de mantequería tiene una composición similar a la leche desnatada, 91-92% de agua, 8-9% de extracto seco, 0.1-1% de grasa, 3-3,5% de proteína, 0.7% de minerales, si es de nata ácida: 3-3,6% de lactosa y 0.7% de ácido láctico y si es de nata dulce: 4,2-4,6% de lactosa y 0.1-0,2% de ácido láctico. Se puede utilizar directamente como leche ácida, mezclarla con la leche de fabricación de queso, para alimentación animal de cerdos, o para la fabricación de caseinatos y coprecipitados. En polvo se utiliza para muchas aplicaciones en panadería, pastelería, preparación de postres, helados, galletas y embutidos.

Relación entre la grasa líquida y la grasa sólida

La proporción entre grasa sólida y líquida es crucial. Si es demasiado líquida, durante el batido ocurre una especie de homogeneización, los glóbulos grasos que se enganchan a las burbujas de aire se rompen en gotitas muy pequeñas, pero si hay demasiada grasa sólida, el batido se hace lento porque los glóbulos de grasa permanecen enganchados en las burbujas de aire en las primeras etapas del batido, en este caso también se aumenta la pérdida de grasa en el suero; si esto sucede, se puede arreglar agitando mas vigorosamente y aumentando la temperatura, entonces se forman los gránulos de mantequilla

La temperatura

Como se ha ido viendo, es muy importante la historia de temperaturas de la nata antes del batido porque es la que determina la proporción de grasa líquida y grasa sólida. Si la temperatura del batido es demasiado alta, pueden haber pérdidas de grasa en el suero o mazada; si es demasiado baja, habrá poca grasa líquida, con las consecuencias que se han descrito en el apartado anterior.

Acidez

Si es alta (30-40°D, que corresponden a 60-65°D en la fase acuosa), se facilita la operación de batido por neutralización de las cargas negativas de la membrana, lo que comporta la desnaturalización de las proteínas que cambian el carácter hidrófilo y se vuelven hidrófobas. De todas maneras, hay que procurar no acidificar excesivamente la nata para evitar accidentes durante la conservación de la mantequilla, ya que la acidez favorece los procesos de oxidación.

Riqueza en grasa

Si es muy alta, se bate mal a causa de la viscosidad excesiva. En las mantequeras continuas el porcentaje ha de ser más elevado (30-50%) [KESS81], debido a que la agitación es muy enérgica y de esta manera dura más el batido; para evitar pérdidas en la mazada, se compensa operando con temperaturas más bajas, por ejemplo la nata se enfría a 4°C y se bate a 8-10°C, mientras que en las discontinuas el porcentaje acostumbra a ser mas bajo. Kessler [KESS81] recomienda:

- entre el 25-35% para las mantequeras discontinuas
- entre el 30-50% para la fabricación en continuo, siendo lo mas habitual:
 - entre el 36-40% para la mantequilla de nata ácida
 - entre el 38-42% para la mantequilla de nata dulce
- el 82% para la fabricación de mantequilla mediante el procedimiento Alfa (ver apartado 8.3.2.2)

8.3.1.9 Lavado, malaxado, salado y envasado de la mantequilla

Una vez se han formado los granos de mantequilla, se elimina el suero de mantequería o mazada y se procede al lavado y/o al amasado. El lavado es una operación opcional cuyo objetivo es la eliminación

de restos de suero que quedan enganchados al grano de mantequilla, que antiguamente se realizaba porque se creía que mejoraba la calidad de la mantequilla. Con esta operación se pretendía rebajar el contenido en materia seca de la parte acuosa de la mantequilla, con el objeto de que los posibles microorganismos contaminantes no dispusieran de suficientes nutrientes, pero en la práctica es muy difícil sustituir el agua de la mantequilla y según Veisseyre [VEIS88], después de lavada perfectamente, la mantequilla aún contiene de 0.5 a 1% de materias no grasas. Además, con el lavado se pueden eliminar las sustancias antioxidantes producidas durante la pasteurización. En el caso de las mantequillas maduras, las bacterias lácticas constituyen una garantía sanitaria, aunque a veces el lavado puede corregir un exceso de acidificación. Hoy en día solo se añade agua para estandarizar el contenido en humedad o para regular la temperatura [VEIS88] [WALS99].

El malaxado o amasado tiene por objetivo completar la inversión de fases (w/o). En los gránulos de grasa obtenidos durante el batido, la fase continua aún es el agua; con esta operación se regula el contenido en agua, bien expulsando el agua que sobra o añadiéndola, si hace falta, y se forma la fase continua grasa en la que se dispersa la humedad residual (<16%) en pequeñísimas gotas de unos 2µm. El malaxado consiste en deformar la mantequilla someténdola a un trabajo mecánico, que en el caso de los procesos discontinuos consiste en hacerla pasar entre rodillos (procedimiento más antiguo) o hacer que ascienda a la parte alta de la batidora mediante unas paletas desde donde cae a la parte contraria, lo que provoca la pulverización de las gotas de la fase acuosa (procedimiento que sustituye al anterior); o bien, en el caso de las mantequeras continuas se le hace pasar a través de placas perforadas (extrusionado) y bises sin fin.

Si el malaxado se realiza bajo vacío, se facilita mucho la repartición del agua.

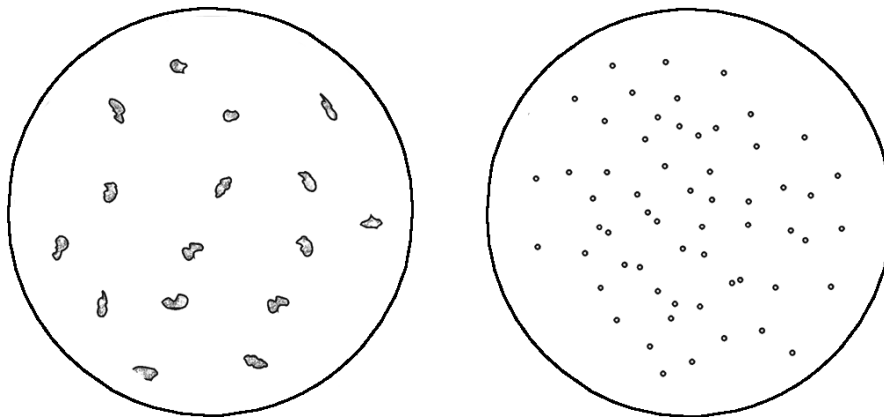


Fig. 8.2 Malaxado

A la izquierda se observa la mantequilla sin amasar con gotas de mazada diluida que pueden contener microorganismos. A la derecha, después del amasado, las gotas son tan pequeñas que difícilmente un microorganismo puede desarrollarse en ellas

El malaxado es una operación importante que tiene que durar el tiempo justo para conseguir la máxima dispersión de la fase acuosa, ya que la buena realización de esta operación es uno de los factores más decisivos para garantizar la conservación de la mantequilla, pues del tamaño y la repartición de las gotas de suero depende la disposición de nutrientes para los microorganismos

contaminantes y el reparto de las sustancias antioxidantes. Si el malaxado dura más de lo necesario, se obtiene una mantequilla de una textura pegajosa provocada por la liberación de un exceso de grasa libre en estado líquido [VEIS88].

Si se desea fabricar mantequilla salada, es durante el malaxado que se incorpora la sal, la cantidad de sal varía, en función del objetivo perseguido, entre el 0.5 y el 3%.

La mantequilla debe envasarse lo más rápidamente posible, una vez fabricada, para evitar la exudación de agua. Debe ser suficientemente blanda para poder ser transportada a la envasadora. En el caso en que se tenga que almacenar un tiempo antes del envasado y se vuelva más consistente, conviene homogeneizarla para ablandarla y para redispersar las gotas de humedad que hubieran podido sufrir coalescencia. La mantequilla debe envasarse en materiales protegidos interiormente contra la humedad: papel sulfurizado o plastificado, hojas de aluminio o materiales plásticos. Es extremadamente importante la limpieza escrupulosa de las máquinas moldeadoras-envasadoras de mantequilla porque es la última operación para prevenir la higiene del producto.

8.3.2 Mantequeras discontinuas y mantequeras continuas

8.3.2.1 Mantequeras discontinuas

Tradicionalmente, para la elaboración de mantequilla se han venido utilizando batidoras de formas variadas: cúbicas, bicónicas, poliédricas, etc. (Figura 8.3), que giran alrededor de un eje horizontal. Las más antiguas se fabricaban de madera de teca, aún hoy se utilizan en establecimientos de elaboración artesanal o a pequeña escala, pero la mayoría de las mantequeras discontinuas de uso industrial son de acero inoxidable con la superficie interior rugosa o esmerilada para evitar que la mantequilla se quede adherida. En su interior hay unas paletas perpendiculares al eje que al girar favorecen la formación de espuma y de los gránulos de mantequilla. Tienen una ventanilla para vigilar lo que ocurre en el interior.

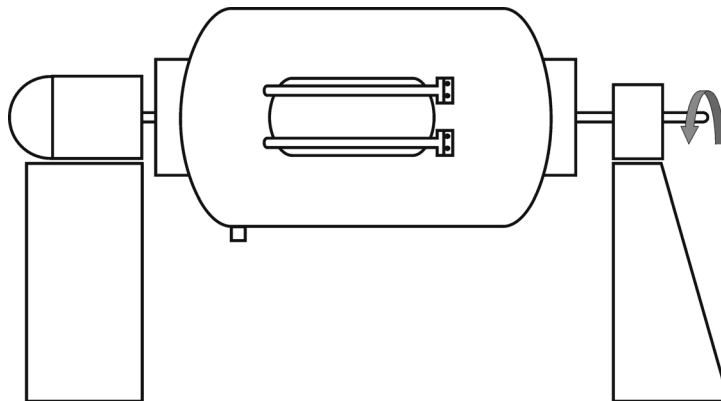


Fig. 8.3 Batidora

Suelen girar a unas 25-30 r.p.m. durante unos 45 minutos. La eficacia del batido depende de factores mecánicos, tales como el volumen de llenado y la velocidad de rotación, han de llenarse hasta un 45%

de su capacidad. Si la velocidad es muy lenta no se produce la turbulencia necesaria para el montado, si es demasiado rápida la fuerza centrífuga ($m \cdot \omega^2 \cdot R$) supera a la gravitacional ($m \cdot g$) y la nata queda enganchada en la pared girando al mismo tiempo que la mantequera, y no se consigue nada.

Las mejores condiciones se logran cuando se produce el máximo de turbulencia, que es cuando la fuerza centrífuga es ligeramente inferior a la de la gravedad:

$$m \times \omega^2 \times R < m \times g ; \quad (2 \times \pi \times n)^2 R < g ; \quad n < \frac{\sqrt{g}}{\sqrt{R}} \times \frac{1}{2\pi} \cong \frac{1}{2\sqrt{R}} ;$$

donde:

m	=	masa
ω^2	=	velocidad angular,
R	=	radio
g	=	fuerza de la gravedad
n	=	nº de revoluciones por segundo

El volumen de las batidoras es muy variable, pueden llegar hasta los 12.000 litros. El malaxado se realiza mediante paletas o rodillos, que la batidora lleva incorporados o se introducen en el momento de realizar la operación.

8.3.2.2 Mantequeras continuas

La fabricación de mantequilla en continuo se inició en 1940, cuando W. Fritz desarrolló la primera máquina que funcionaba en continuo y que podía fabricar mantequilla de calidad a partir de nata y en poco tiempo [KESS81]. Actualmente existen varios tipos de procedimientos. Se pueden englobar en tres grupos.

En el primer grupo de procedimientos (Fritz, Senn, Contimab), la mantequilla se obtiene por agitación energética de la nata, realizándose a continuación la evacuación del suero y el malaxado.

En un segundo grupo de procedimientos (Alfa, Meleshine, New-Way), la inversión de la emulsión se efectúa físicamente, por simple enfriamiento acompañado de un ligero trabajo mecánico. La nata ha de ser de una riqueza del 80-82%.

En el tercer grupo de procedimientos (Golden-Flow, Cremery, Package), se separa primero la materia grasa de la nata y después se emulsiona una solución acuosa, que puede ser agua o leche acidificada o sin acidificar, en esa materia grasa. La emulsión obtenida se solidifica finalmente por refrigeración. Es un procedimiento semejante al empleado en la fabricación de margarina.

A continuación se explicará el funcionamiento de las mantequeras pertenecientes al primer grupo, que son las que más se utilizan en Europa.

Mantequeras continuas basadas en el principio de la máquina de Fritz

En la figura 8.4 se puede observar el principio de la máquina de Fritz. Al principio, la máquina consistía solo en el cilindro de batido y los dos tornillos sin fin imbricados que giraban en sentido opuesto, al final de los cuales se situaban unas placas perforadas que servían para texturizar la mantequilla. El segundo cilindro de batido fue desarrollado más tarde por Eisenreich [KESS81]. Con

el proceso de Fritz original solo se podía tratar la nata dulce con un 40-50% de grasa; el segundo tornillo, que funciona a velocidad más baja, permite trabajar con natas ácidas y natas con menos de un 30% de grasa.

El funcionamiento es el siguiente: la nata entra en el primer cilindro y se bate intensamente, a unas 2.000 r.p.m., produciéndose unos granos de mantequilla muy finos. En el segundo cilindro el batido se produce a velocidad más baja, unas 30 r.p.m., los granos se aglomeran y se forman gránulos más grandes. En la segunda sección de este cilindro se produce la evacuación de la mazada, que drena a través de un tamiz. Los gránulos caen en el amasador, donde son amasados en el tornillo sin fin y se acaba de drenar la mazada residual. Finalmente la masa se enfría con agua, se impulsa a través de una serie de platos perforados y sale de la máquina como un churro. El ajuste de la humedad de la mantequilla, ya sea con agua, agua y sal o suero, se realiza en la última parte del amasado antes de la extrusión. Las máquinas más modernas tienen un compartimento de vacío para reducir el contenido en aire de la mantequilla, este compartimento aumenta el tiempo de malaxado, lo cual es una ventaja porque se incrementa la extensibilidad de la mantequilla.

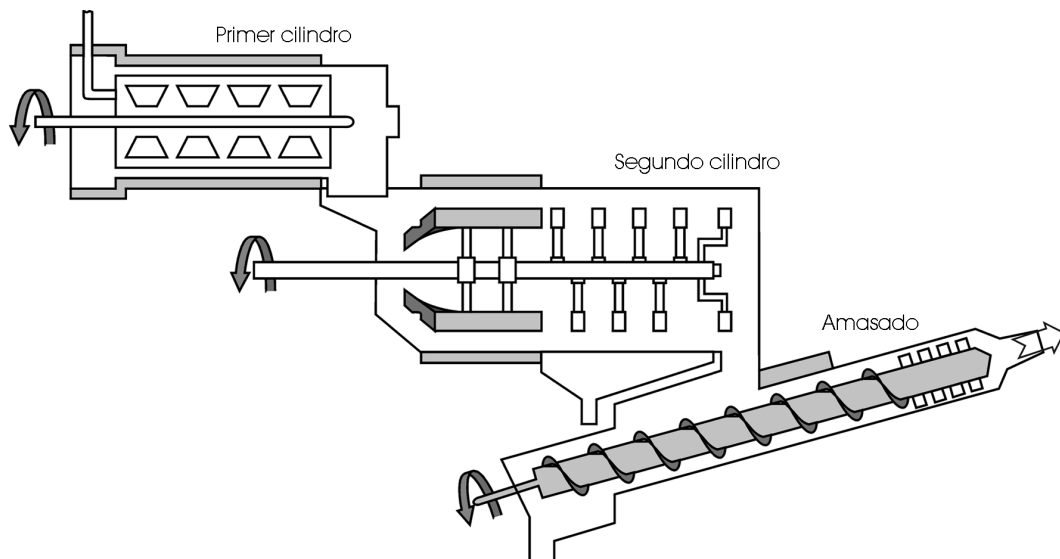


Fig. 8.4 Máquina de Fritz

8.4 Defectos de la mantequilla

Si la mantequilla se ha elaborado según las buenas prácticas de fabricación y la leche de partida no contenía un número excesivo de bacterias con lipasas termorresistentes, la mantequilla durará mucho tiempo almacenada en frío. Cuando este tiempo se prevé muy largo, es conveniente hacerlo a -20°C .

En estas condiciones, el principal problema de deterioro de la mantequilla será debido a la autooxidación de la grasa, que producirá defectos de gusto y aroma entre un mes y dos años después de la fabricación, según las condiciones de fabricación y almacenamiento.

Los factores que favorecen la autooxidación de la mantequilla son [WALS99]:

- a) La contaminación con cobre aunque se trate de cantidades muy pequeñas (ver nota del apartado 8.3.1.7). Si se enfría la leche durante algún tiempo antes de utilizarla, por ejemplo durante 2 horas a 5°C, una parte del cobre de los glóbulos grasos pasa al plasma de la leche, lo que restringirá la autooxidación, pero el enfriamiento causa también la migración de la proteína que es la que libera los grupos sulfhidrilo durante el tratamiento térmico y la que produce el olor a cocido. Por todo ello es conveniente, después de enfriar un tiempo la leche, separar la nata y pasteurizarla en vez de pasteurizar la leche, ya que el tratamiento térmico favorece el efecto contrario, es decir la migración del cobre del plasma a los glóbulos grasos. El baremo de tiempo y temperatura ha de ser el óptimo para que se formen grupos sulfhidrilo antioxidantes y el aroma a cocido sea mínimo.
- b) Las natas ácidas son más susceptibles de contaminación por las razones que se han visto anteriormente.
- c) La adición de sal en las natas ácidas acelera considerablemente la autooxidación, en cambio en las natas dulces, un contenido en sal elevado disminuye la oxidación.

Por el contrario, si la leche o la nata de partida no estaban en buenas condiciones o si no se ha procedido correctamente durante la fabricación, se pueden producir los siguientes defectos [VEIS88]:

- a) Coloraciones extrañas debido a la proliferación de hongos (*Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Geotrichum*), levaduras (*Rodothorula*) y más raramente bacterias (*Pseudomonas*).
- b) Textura quebradiza y grumosa, debida a la presencia de cristales grandes de glicéridos; este defecto acostumbra a aparecer en invierno. Si la textura es blanda y pegajosa es, por el contrario, debido a un exceso de grasa líquida o a un amasado excesivamente prolongado. Si es arenosa acostumbra a ser debido a que la nata se ha obtenido en la granja y en las operaciones de transporte y pretratamiento se ha producido un principio de batido, los glicéridos liberados acostumbran a formar cristales grandes al enfriar la nata después de la pasteurización. Otras veces este defecto es debido a una desacidificación con alguna sal cálcica muy concentrada, lo que provoca la formación de aglomerados de caseinato cálcico.
- c) Distribución defectuosa del agua, porque no se ha amasado bien.
- d) Enranciamiento debido a la acción de las lipasas microbianas que producen ácidos grasos volátiles como butírico, caproico, etc., que luego pueden transformarse en aldehídos y cetonas.
- e) Gustos y olores indeseables, como gusto ácido debido a una acidificación excesiva de los fermentos; a pescado debido a la degradación de las lecitinas; a levadura por la presencia de *Candida*, *Torula* o *Saccharomyce*; a metal debido a la presencia de metales procedentes del material de trabajo favorecido por una acidez baja; a queso debido a la hidrólisis de la caseína por acción de las proteasas de la microbiota de contaminación; a sebo cuando se forman hidroperóxidos.

Estos son los defectos más habituales que podemos encontrar en una mantequilla, aunque hay algunos más. También se pueden encontrar mantequillas adulteradas con grasa de origen diferente que la leche.

8.5 Producción de mantequilla en Cataluña y en el Estado Español

La producción de mantequilla en el Estado Español fue en 2001 de 26.700 Tm, que corresponden aproximadamente al 1,6 % de la producción de mantequilla de la Unión Europea, donde los principales productores son Alemania y Francia, con 536.000 Tm y 485.000 Tm respectivamente [BULL02].

El Estado Español no se caracteriza especialmente por la producción de productos lácteos, mantequilla en particular, si nos comparamos con el resto de países europeos, pero es interesante destacar dos mantequillas de calidad reconocida que se producen en nuestro país: la mantequilla de l'Alt Urgell y la Cerdanya y la mantequilla de Soria.

La mantequilla de l'Alt Urgell y la Cerdanya, está pendiente de la ratificación de la Unión Europea para obtener la Denominación de Origen Protegida (DOP), cuyo reglamento está publicado en el BOE núm 5, del 5 de enero de 2002.

La zona de producción de leche para la elaboración de la mantequilla y la producción de mantequilla está constituida por las comarcas de l'Alt Urgell y la Cerdanya, en el Pirineo catalán. Actualmente la elabora la Cooperativa Cadí, que produce unos 500.000 Kg al año.

Las características más destacadas de este producto son: el control exhaustivo al que se somete la leche que se recoge diariamente, la maduración de la nata con bacterias lácticas mesófilas hasta una acidez de 40-50° Dórníc durante 48 h y la no adición de ningún tipo de colorante.

La mantequilla resultante, según el Reglamento de la DOP, debe poseer las siguientes características organolépticas:

- a) sabor a nata fresca y de intensidad global en la entrada, mantequilla de gusto ligeramente ácido y que recuerda al de la avellana, debido al diacetil formado por los fermentos específicos que durante las cuarenta y ocho horas llevan a cabo la maduración de la nata
- b) olor característico, intenso, como a nata fresca, pero a la vez moderado y ligeramente ácido que recuerda a la nata madura como consecuencia de la larga maduración de ésta por los fermentos específicos
- c) sensación en boca y textura: la mantequilla amparada produce una alta sensación de frescor en la boca, muestra una excelente untabilidad, es muy fundente y se adhiere muy poco al paladar.

La mantequilla de Soria actualmente tiene entregada al Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación la solicitud para obtener la DOP *Mantequilla de Soria*. Bajo la denominación quedarán amparadas las tres variedades de mantequilla de Soria: natural, dulce y salada.

La producción anual media es de: mantequilla natural 73.000 Kg/año, mantequilla salada 12.000 Kg/año, mantequilla dulce 20.000 Kg/año.

Las características que la diferencian de otras mantequillas son las siguientes:

- a) un porcentaje en materia grasa más alto que otras mantequillas nacionales, el 84,58% frente al 82,18%
- b) una proporción entre ácidos grasos saturados e insaturados (70:30) diferente a la de otras mantequillas y, dentro del grupo de los ácidos grasos saturados, una mayor proporción de los de cadena corta

Igual que ocurre con la mantequilla del Alt Urgell y la Cerdanya, la mantequilla de Soria madura durante unas 10 h, a una temperatura de entre 12-15°C, con fermentos lácticos mesófilos hasta una acidez de entre 18 y 28° Dórníc.

Las características sensoriales son: color pálido, sabor característico, suave y agradable y buena untuosidad.

La mantequilla salada se sala antes del amasado, y la dulce, mediante la adición de jarabe y batido.

Bibliografía

- [ALAI85] ALAIS, CH. *Ciencia de la leche*. Barcelona, Reverté S.A., 1985
- [BULL02] Bulletin of the International Dairy Federation nº 378, 2002
- [KESS81] KESSLER, H.G. *Food Engineering and Dairy Technology*. Freising , Verlag A. Kessler, 1981
- [KIME86] KIMENAI, M.P. “Continuous butter manufacture. Ch. 4: Cream crystallization. Section III Nizo Method”, *Internacional Dairy Federation, Bul. nº 204, pág. 13-15*, 1986
- [PESO86] PESONEN, H. “Continuous butter manufacture. Ch. 4: Cream crystallization. Section II: Ripened Cream”, *International Dairy Federation, Bul. nº 204, pág. 12*, 1986
- [SCHW86] SCHWEIZER, M. “Continuous butter manufacture. Ch. 3: Heat Treatment”, *International Dairy Federation, Bul. nº 204, pág. 10*, 1986
- [VEIS88] VEISSEYRE, R. *Lactología Técnica*. Zaragoza, Acribia, 1988
- [WALS99] WALSTRA, P., GEURTS, T.J., NOOMEN, A., JELLEMA, A., VAN BOEKEL, M.A.J.S. *Dairy Technology*. New York, Marcel Dekker Inc., 1999
- [WALS97] WALSTRA, P., JENESS, R. *Química y Física Lactológica*. Zaragoza, Acribia, 1987

9 Helados y postres lácteos

9.1 Breve historia de los helados

Desde los orígenes de la civilización, utilizando como base la nieve y el hielo, se empezaron a preparar los primeros alimentos congelados.

Se sabe que los chinos mezclaban hielo, leche y jugos de frutas unos 2000 años antes de Cristo, según contó Marco Polo después de uno de sus viajes, y que la nieve y el hielo eran utilizados por los griegos y los romanos para la fabricación de bebidas y manjares fríos.

El lujo imperante en las cortes de los califas y sultanes árabes en Damasco, Bagdad y El Cairo en la Alta Edad Media era comparable al de los romanos y, como ellos, está descrito que se hacían traer nieve para preparar platos y bebidas frías.

A Europa, parece ser que llegaron con los árabes a través de Sicilia o a través de Venecia por la ruta de Oriente.

Un paso adelante en la fabricación de los helados fue, a mediados del s. XVI, el descubrimiento de las mezclas frigoríficas, es decir, el enfriamiento del agua al disolver determinadas sales.

Fue en la corte de Catalina de Médicis y posteriormente en la corte francesa donde la preparación de postres y bebidas frías tuvieron gran aprecio, siendo las recetas consideradas secreto de estado.

Los primeros helados comerciales se deben a Francesco Procopio de Coltelli, que en 1672 abrió en París el café *Procope*, que aún existe, donde se servía una amplia oferta de helados y sorbetes. A partir de aquí, la comercialización de los helados se fue extendiendo por toda Europa.

A Estados Unidos llegaron en el año 1700 y fue en este país donde se desarrolló la industria de los helados. En el año 1843 se patentó la primera máquina congeladora de helados y en 1851, Jacob Fusell, un empresario lechero de Baltimore, empezó a fabricar helados a escala industrial, aunque no es hasta finales del siglo XIX cuando se perfeccionan las máquinas productoras de frío.

Es a principios del siglo XX cuando se produce la industrialización generalizada de los helados en el mundo industrializado de la época.

En la introducción del libro *Fabricación de helados* de Fritz Timm [TIMM89], el lector interesado puede encontrar más información sobre la historia de los helados.

9.2 Definición

En el Código Alimentario Español (Cap. XXVIII, 3.28.01), a los helados se los define de la siguiente manera:

"Es el producto resultante de batir y congelar una mezcla debidamente pasteurizada y homogeneizada, de leche, derivados de leche y otros productos alimenticios."

La Reglamentación técnico-sanitaria para la elaboración, circulación y comercio de helados y mezclas envasadas para congelar (R.D. 618/1998), actualmente vigente, en el apartado 1 del art. 2, desarrolla la definición anterior de la manera siguiente:

"Helados de forma genérica: los helados son preparaciones alimenticias que han sido llevadas al estado sólido, semisólido o pastoso, por una congelación simultánea o posterior a la mezcla de las materias primas utilizadas y que han de mantener el grado de plasticidad y congelación suficiente, hasta el momento de su venta al consumidor."

En los apartados 2 y 3 del mismo artículo se define también:

"Mezclas envasadas para congelar: se entiende por mezclas envasadas para congelar, aquellos productos preparados, debidamente envasados, que en forma líquida o en polvo se destinen a la elaboración de helados, sea en máquinas automáticas elaboradoras-expendedoras, o bien en los establecimientos definidos en este artículo que se dediquen a la elaboración de helados, y cuya composición cuanti-cualitativa, una vez reconstituídos con agua potable o leche esterilizada, se ajuste a alguno de los tipos de helados definidos en el artículo 3.1."

"Helados no pasteurizados (...): se entiende por helados no pasteurizados aquellos productos que han sido elaborados sin la adición de leche o productos lácteos y cuyo pH es inferior o igual a 5,5".

El artículo 3.1 se refiere a la clasificación de los helados, que se verá en el siguiente apartado.

9.3 Clasificación de los helados

La clasificación de los helados según el artículo 3 de la R.T.S. (R.D. 618/1998), es la que se presenta en la tabla 9.1.

Además, los helados especificados en la tabla podrán denominarse con su nombre específico, seguido de la preposición "con" y del nombre/s de la/s frutas que corresponda, siempre que se les adicionen los siguientes porcentajes mínimos de fruta en masa, o su equivalente en zumos naturales o concentrados, dependiendo de los siguientes tipos de fruta:

- Un 15% con carácter general
- Un 10% para los siguientes tipos de frutas: todos los agrios o cítricos, limones, naranjas, mandarinas, tangerinas y pomelos; otras frutas ácidas, como las frutas o mezclas de frutas en las que el zumo tenga una acidez valorable, expresada en ácido cítrico, igual o superior al 2.5%, frutas exóticas o especiales, principalmente las de sabor muy fuerte o consistencia pastosa, tales como piña, plátano, corajo, chirimoya, guanábana, guayaba, kiwi, lichi, mango, maracuyá y fruta de la pasión
- Un 7% en el caso de los frutos con cáscara

Si no se alcanzan estos porcentajes, llevarán la mención "sabor" a continuación de la denominación del producto, que es la que indica la clase de helado.

Las frutas se pueden añadir enteras, o bien la pulpa, el zumo, extractos, concentrados de zumo o pulpa y también deshidratadas.

Los helados a base de leche que contengan un mínimo del 4% de yema de huevo podrán denominarse con su nombre específico seguido de la palabra *mantecado*.

Los helados de agua que se presenten en estado semisólido se denominarán *granizados* y tendrán un extracto seco total como mínimo del 10%.

Tabla 9.1 Clasificación de los helados según la R.T.S. (R.D. 618/1998)

TIPO DE HELADO	Densidad aparente (g/L)	Grasa (%) (mínimo)	Proteína (%) (mínimo)	E.S.M. (%) (mínimo)	E.S.T. (%) (mínimo)
Helado crema	430	8 (*)	2.5 (*)	-	-
Helado de leche	430	2.5 (*)	-	6.0 (*)	-
Helado de leche desnatada	430	<0.3 (*)	-	6.0 (*)	-
Helado	430	5	(*)	-	-
Helado de agua	-	-	-	-	12
Sorbete	-	-	-	-	20 (**)

(*): Los componentes señalados con este símbolo deben tener procedencia láctea.

(**): Un 15% en masa como mínimo será de frutas. Si los helados pesan entre 430 y 375 g, se denominarán *espuma*, *mousse* o *montado*.

Ya se ha visto en la tabla 9.1 que los helados a base de leche pesarán como mínimo 430 gramos por litro. Se pueden fabricar helados con un peso comprendido entre 430 y 375 gramos por litro, pero entonces se añadirá a su nombre específico la palabra *espuma*, *mousse* o *montado*.

Además, se definen los siguientes productos:

Postre de helado: "Es toda presentación de los helados definidos en esta Reglamentación, en cualquiera de sus variedades o de sus mezclas, que posteriormente se sometan a un proceso de elaboración y decoración, con productos alimenticios aptos para el consumo humano."

Mezcla líquida para helados: "Esta mezcla en estado líquido contendrá todos los ingredientes necesarios en las cantidades adecuadas, de modo que, al congelarlo, dé un producto alimenticio final que se ajuste a una de las clasificaciones definidas anteriormente."

Mezcla líquida concentrada para helados: Es aquella que después de añadirle la cantidad de agua potable o leche esterilizada, dé como resultado un producto que se ajuste a una de las clasificaciones definidas anteriormente."

"Mezcla deshidratada para helados: Es el producto seco (conteniendo una humedad no superior al 4%) que, después de añadirle la cantidad de agua potable o leche esterilizada, dé un producto que se ajuste a una de las clasificaciones definidas anteriormente."

La clasificación anteriormente expuesta y las diferentes definiciones de los productos que podemos englobar bajo el nombre genérico de *helado* se refieren fundamentalmente a su composición. Según su composición, estos productos forman dos grupos: los elaborados a base de leche y los elaborados a base de agua. Refiriéndonos al primer grupo, podemos observar que aunque la base sea la leche (o productos lácteos), las variaciones en cuanto al tipo y cantidad de grasa, cantidad de proteína y otros ingredientes opcionales pueden ser importantes, esto es debido a que la base de la definición es que se trata de una mezcla. Por todo ello es especialmente importante que el etiquetaje se ajuste escrupulosamente a la normativa, sobre todo en lo que se refiere a denominación de producto, ingredientes e información nutricional, ya que una parte importante de los consumidores de helados son los niños, de los que hay que cuidar especialmente su nutrición.

9.4 Componentes básicos y aditivos. Funcionalidad

En los helados se puede utilizar como ingrediente cualquier producto alimenticio que cumpla los requisitos previstos en sus normativas específicas. En cuanto a los aditivos han de utilizarse los autorizados por las normativas vigentes, que actualmente son:

- a) Real Decreto 2001/1995, de 7 de diciembre, por el que se aprueba la lista positiva de aditivos colorantes autorizados para su uso en la elaboración de productos alimenticios, así como sus condiciones de utilización
- b) Real Decreto 2002/1995, de 7 de diciembre, por el que se aprueba la lista positiva de aditivos edulcorantes autorizados para su uso en la elaboración de productos alimenticios, así como sus condiciones de utilización, modificado por el Real Decreto 2027/1997, de 26 de diciembre
- c) Real Decreto 142/2002, de 1 de febrero, por el que se aprueba la lista positiva de aditivos distintos de colorantes y edulcorantes para su uso en la elaboración de productos alimenticios, así como sus condiciones de utilización

Aunque se pueden utilizar productos muy variados, hay unos ingredientes y aditivos básicos de los que conviene conocer sus características y la relación de estas con la tecnología de fabricación de los helados. Antes de pasar a describir los ingredientes y aditivos más utilizados, es importante saber que la peculiaridad tecnológica más importante de este producto es: unir tres fases (aire, agua y grasa) difíciles de mezclar entre sí y mantener esta unión íntima en estado congelado. En última instancia,

mantener todos los ingredientes íntimamente unidos para que en el momento de la degustación por el consumidor, el helado tenga la textura y consistencia adecuadas, es decir que sea agradable y en parte con las características esperadas por el consumidor.

9.4.1 Agua

Ya se ha mencionado que el helado es una mezcla, la base de la cual es el agua, por tanto ésta representa un constituyente importante.

El agua tiene que ser potable (según el RD 1138/1990).

9.4.2 Aire

Otro ingrediente básico es el aire, que tiene que ser limpio y libre de microorganismos. Si se trata de aire comprimido tiene que estar libre de aceite y agua, y filtrado en filtro estéril. Para conseguir la mejor textura y cuerpo, las burbujas de aire en el helado tienen que ser más pequeñas de 100 μm , de esta manera también se intensifica el aroma. Cuanto más alto es el contenido en sólidos del helado, más cantidad de aire se acostumbra a añadir, aunque los helados que contienen fruta y frutos secos requieren menos aire [KESS81].

El contenido de aire del helado se cuantifica por el parámetro denominado *overrun* que se define como índice de aireación del helado y se calcula de la siguiente manera:

$$\text{Overrun} = \frac{V_H - V_M}{V_M} \times 100$$

Donde:

$$\begin{array}{ll} V_H & = \text{volumen del helado obtenido} \\ V_M & = \text{volumen de la mezcla de partida (mix)} \end{array}$$

9.4.3 Grasa

De la grasa que se acostumbra a añadir a los helados hay que distinguir entre la grasa láctea y la no láctea, ya que es un componente que hay que especificar expresamente en la etiqueta, según la clasificación de los helados de la legislación (ver Tabla 9.1).

La grasa láctea

Es el constituyente más caro y juega un papel esencial en el helado: baja la tendencia del helado a derretirse, tiene un efecto estabilizante, promueve la incorporación y dispersión del aire, incrementa la viscosidad, imparte el aroma típico y favorece la formación de pequeños cristales de hielo [KESS81].

El efecto estabilizante de la grasa láctea en el helado es debido a la formación de agregados de glóbulos grasos que forman una red que retiene las burbujas de aire. Estos agregados son el resultado de la coalescencia parcial que ocurre durante el batido. Durante la agitación de los glóbulos de grasa, que contienen gran parte de los triglicéridos cristalizados, se rompe la película protectora y al aproximarse quedan enganchados por el contacto grasa/grasa, es la grasa cristalizada la que impide

que la coalescencia sea completa, formándose agregados de formas irregulares que se enganchan entre sí, constituyendo una red continua en la matriz del producto.

Este fenómeno es esencial para el mantenimiento de la forma y del aspecto seco del helado. Como este fenómeno se produce durante la congelación, es muy importante ajustar muy bien el tiempo de congelación de modo que se formen exclusivamente los agregados necesarios para que la textura no resulte excesivamente grosera.

La capacidad de la grasa de promover y mantener la dispersión del aire en el helado es debida a que ésta se coloca en la superficie de las burbujas de aire proporcionándoles una fina capa que las estabiliza. Este efecto impide que durante el almacenamiento en congelación las burbujas de aire se junten entre sí y se escapen del producto. Para lograr que esto suceda es necesario añadir una cantidad suficiente de grasa que cubra toda la superficie de las burbujas de aire. Dependiendo del *overrun* del helado, se estima que la superficie de las burbujas de aire es de unos 30 m²/L por tanto interesa que los glóbulos de grasa sean pequeños para que puedan cubrir el máximo de superficie, esto se consigue con la homogeneización de la grasa. También se estima el diámetro de los glóbulos de grasa en unas 0.6 µm y el de los agregados de unas 3 µm, lo que sucede es que los glóbulos de grasa homogeneizados son muy estables debido a su pequeño tamaño y a la capa proteica que los envuelve. Es decir, es necesario encontrar el equilibrio entre la cantidad de glóbulos grasos pequeños para cubrir las burbujas de aire y un cierto grado de grasa agregada para que forme la estructura que mantendrá la forma del helado, prolongando al máximo el tiempo sin derretirse y manteniendo el aspecto seco. Se habla de un helado “seco” cuando permite hacer adornos o figuras con bordes agudos sin que se redondeen por fusión.

Para ayudar a la formación de agregados en una grasa láctea previamente homogeneizada se añaden emulsionantes, cuyo papel principal no es precisamente emulsionar, sino desplazar parte de la proteína de la superficie del glóbulo graso homogeneizado para facilitar la coalescencia parcial. Por tanto, también es muy importante la cantidad y el tipo de emulsionante. Demasiado emulsionante hace a los glóbulos grasos excesivamente inestables porque desplaza casi toda la proteína y se forman demasiados agregados que dan una estructura burda [WALS98].

Más adelante, en el apartado de los emulsionantes y cuando se traten las operaciones de fabricación, se profundizará un poco más en este aspecto.

La grasa láctea que se añade al helado suele ser nata del 35% de grasa o mantequilla.

La grasa no láctea

La grasa láctea es la grasa ideal para el helado debido, por un lado, al aroma que imparte, y por otro, a su funcionalidad debido a la estructura y composición característica de los glóbulos grasos de la leche; pero es cara, por ello a menudo se sustituye la por otros tipos de grasa .

Se pueden utilizar margarinas o grasa anhidras tanto de origen animal como de origen vegetal, aunque se acostumbran a utilizar estas últimas, especialmente aceite de coco, de palma, de palmiste o combinaciones de ellas. Estas grasas deben cumplir la reglamentación técnico-sanitaria correspondiente y debe indicarse en la etiqueta si el origen es animal o vegetal.

9.4.4 Leche y derivados

Es el componente mayoritario de los helados que no son sorbetes. A los helados se les puede añadir leche entera, desnatada, concentrada, evaporada, o bien, yogurt, suero o proteínas de suero. Lo más habitual es añadir leche en polvo desnatada debido a que es un producto homogéneo, estable y que se puede conservar a largo plazo. La composición aproximada de la leche en polvo es: 36% de proteína láctea (caseínas y proteínas solubles), 56% de lactosa y 8% de materias minerales. Seguidamente veremos cual es el papel que juegan cada uno de estos componentes en el helado.

La *proteína láctea* en el helado cumple varias funciones; las más importantes son: actuar como emulsionante durante la homogeneización del *mix*¹, que es como se denomina la mezcla base, y como agente tensioactivo durante el proceso de congelación. No obstante, estos dos papeles también los pueden ejecutar emulsionantes añadidos. Es necesario que después de la homogeneización la proteína láctea se deposite, en parte, en la superficie de los glóbulos grasos para evitar una coalescencia excesiva, puesto que la ausencia de proteína puede producir glóbulos muy inestables. Esta función, además de las caseínas, también la puede realizar la proteína del suero.

La caseína micelar contribuye a la viscosidad necesaria para la buena consistencia del helado de la fase acuosa junto con los estabilizantes que gelifican en parte la fase acuosa. La caseína a pH bajo, como sucedería en el caso de utilizar yogurt en vez de leche, forma un gel que puede interactuar con algunos polisacáridos como por ejemplo la κ -carragenina [WALS98].

La *lactosa* y las *materias minerales* son dos componentes que disminuyen el punto de congelación de los helados, esto es importante tenerlo en cuenta a la hora de la formulación. La lactosa tiene también el inconveniente de ser poco soluble y de que si hay fluctuaciones de temperatura y un almacenamiento prolongado, recristaliza formando unos cristales largos de α -lactosa hidratada que pueden conferir al producto una textura arenosa [KESS81].

9.4.5 Azúcares y edulcorantes

Las funciones del azúcar en el helado son las siguientes [ROTH98]:

- a) Proporciona el dulzor requerido para el producto y ayuda a conseguir la cremosidad de la grasa.
- b) Supone un aumento de los sólidos totales que confieren al producto volumen, textura y cuerpo y aumenta la cremosidad.
- c) Incrementa el efecto de las substancias aromáticas y sápidas.
- d) Es el ingrediente con el que podemos controlar el punto de congelación y por tanto afecta a la dureza y palatabilidad del helado.
- e) Aumenta el valor nutritivo del producto.

¹ En la industria de los helados se denomina *mix* a la mezcla base de ingredientes y aditivos.

A continuación se describen los azúcares que se utilizan en la fabricación de helados:

9.4.5.1 Sacarosa

Es un ingrediente ideal por su alta solubilidad, dulzor y bajo coste. Contribuye a aumentar los sólidos y proporciona un buen soporte a los aromas añadidos. Normalmente se utiliza en cantidades que van del 12 al 15-16% en el total del *mix* de los helados de leche; en cambio, en los sorbetes es necesario añadir entre el 20% y el 30% ([KESS81] [ROTH98]).

El uso de la sacarosa como único azúcar en el helado puede ocasionar una consistencia muy dura a temperaturas de -18°C . Otro problema que se puede presentar en helados de agua sin agitación (polos) y sorbetes, es que si solamente se utiliza sacarosa se puede formar una costra en la superficie debido a la cristalización de una parte del mismo azúcar. Estos problemas se pueden obviar añadiendo jarabe de glucosa o dextrosa al *mix*.

9.4.5.2 Glucosa o jarabe de glucosa

Los jarabes de glucosa se obtienen de la hidrólisis ácida o enzimática del almidón de maíz principalmente. Según la intensidad de esta hidrólisis se produce más o menos cantidad de dextrosa (glucosa).

La concentración de dextrosa en el jarabe se define por el *DE (Dextrose Equivalent)* que es el porcentaje de azúcares reductores expresados como dextrosa sobre los sólidos totales del jarabe. El *DE* de la dextrosa pura es 100%. Normalmente en los jarabes comerciales el rango va del 28 a 65 *DE*.

Si se selecciona el tipo y proporción del jarabe de glucosa a utilizar, se puede controlar el punto de fusión, el cuerpo y el dulzor del helado

En cuanto al dulzor, en la tabla 9.2 se puede observar la dulzura relativa de los diferentes azúcares utilizados en la fabricación de helados.

Tabla 9.2 Dulzor relativo de algunos azúcares y otras sustancias relacionadas, en una solución en agua al 5% en peso según Flack (1989) [ROTH98].

Sacarosa	100
Dextrosa monohidrato	70
Fructosa	130
Lactosa	30
Jarabe de glucosa DE 30	25
Jarabe de glucosa DE 42	30
Jarabe de glucosa DE 65	60
Azúcar invertido	110
Sorbitol	70
Jarabe de almidón de maíz con alto contenido en fructosa	100

En lo que concierne al punto de fusión y al cuerpo del helado, la reducción relativa del punto de congelación de la dextrosa respecto de la sacarosa es de 2; esto confiere al producto mayor palatabilidad a una temperatura más baja. Si se requiere un punto de fusión aún más bajo, se puede añadir sorbitol, cuya reducción relativa del punto de fusión respecto de la dextrosa es de 2, es decir, de 4 respecto de la sacarosa.

La utilización habitual de la dextrosa respecto de la sacarosa es de 4 sobre 10 u 11, según el dulzor requerido.

El principal problema con el uso del jarabe de glucosa es que es muy viscoso y difícil de manipular. A gran escala se utilizan mezclas líquidas de sacarosa y dextrosa previamente diluidas según la fórmula del helado; a pequeña escala, se utilizan los azúcares deshidratados, en este caso la dextrosa es más cara que la sacarosa, al revés de si se utiliza el jarabe de glucosa [ROTH98].

9.4.5.3 Fructosa

Aunque forma parte de la composición de las frutas, de algunos vegetales como las alcachofas y las dalias, y de la miel, se obtiene de la sacarosa y del almidón por inversión enzimática y posterior separación y purificación. Este procedimiento de obtención es caro, por lo que su uso está restringido a los helados para las personas diabéticas que la pueden consumir.

9.4.5.4 Miel

La miel es un producto natural que contiene fundamentalmente azúcar invertido. La composición media de una miel estándar es: agua 17%, fructosa 38%, glucosa 31%, sacarosa 1,3%, maltosa 7,3% y una mezcla compleja de diversos enzimas, aminoácidos, ácidos orgánicos, minerales, sustancias aromáticas, pigmentos, ceras, granos de polen, etc. [BELIT97]. El aroma de la miel depende de su origen y su intensidad puede ir de muy suave a muy fuerte pero siempre es muy peculiar, por ello no se puede mezclar con otras sustancias aromáticas, especialmente la vainilla. Esta característica limita su aplicación en los helados, a no ser que se quiera hacer un helado de miel. Cuando se usa miel, se suelen elegir las variedades menos aromáticas.

Otro aspecto a tener en cuenta es que, al estar compuesta de monosacáridos, puede disminuir el punto de congelación considerablemente, por lo que hay que utilizarla con cuidado, para evitar que el producto final tenga problemas de descongelación si fluctúan las temperaturas durante el almacenamiento. Normalmente es necesario utilizarla a partes iguales con la sacarosa [ROTH98].

9.4.5.5 Azúcar invertido

Se obtiene mediante la hidrólisis ácida de una solución de sacarosa, resultando una mezcla de glucosa y fructosa, similar a la miel, pero sin su aroma. Debido a la presencia de fructosa, es ligeramente más dulce que la sacarosa. Al tratarse de una mezcla monosacáridos, disminuye considerablemente el punto de congelación. Resulta más caro que la sacarosa, por todo ello su aplicación es limitada en los helados, se utiliza sobre todo en los sorbetes en los que reduce la cristalización de la sacarosa [ROTH98].

9.4.5.6 Lactosa

Aunque es un disacárido como la sacarosa sus propiedades físicas son muy diferentes. Es mucho menos dulce, menos soluble (ver apartado 1.3.1) y además otro factor a tener en cuenta es que existe un buen número de consumidores que muestran intolerancia a la lactosa.

La principal fuente de lactosa es el suero de quesería del cual es el componente principal: un 70% de la materia seca, el resto son proteínas solubles y minerales. El suero en polvo se utiliza en la fabricación de algunos helados como parte de los sólidos lácteos magros, en este caso, se recomienda no pasar del 25% del total de sólidos lácteos magros para evitar que el exceso de lactosa cristalice y de un producto de textura arenosa inaceptable.

Para evitar estos problemas se usan enzimas inmovilizadas en el suero para hidrolizar la lactosa en glucosa y galactosa, obteniéndose de este modo jarabes más o menos purificados de lactosa. Su uso en los helados es satisfactorio, dan un producto más blando, pero a un coste elevado porque, aunque hay abundancia de suero de quesería, los azúcares que se usan normalmente como la sacarosa y los jarabes de glucosa son productos muy baratos [ROTH98].

Además, aunque con una incidencia poco frecuente, hay personas que tienen intolerancia a la galactosa (1 de cada 20.000-70.000). Este problema se conoce como galactosemia y se debe a la falta hereditaria del enzima hepático galactosa-1-fosfato-uridiltransferasa. Los síntomas de la galactosemia son, entre otros: vómitos, diarrea, detención del crecimiento, cataratas y retraso mental [WALS87].

9.4.5.7 Otros edulcorantes

La sustitución de la sacarosa y los jarabes de glucosa en los helados se justifica en la producción de helados para personas diabéticas.

Si se reemplazan por edulcorantes artificiales como sacarina, aspartame o acesulfame-K, se producen algunos problemas como la pérdida de cuerpo en el helado debido a la disminución de sólidos. La sacarina deja un regusto amargo, el tratamiento térmico también puede producir gustos amargos en algunos edulcorantes, etc.

Últimamente se han experimentado fórmulas, con mayor o menor éxito, utilizando sorbitol, que da cuerpo, pero tiene un uso limitado debido a su efecto laxante, y polidextrosa y celulosa microcristalina junto con edulcorantes. En este tipo de fórmulas hay que tener en cuenta lo que permite la legislación en cada país [ROTH98].

9.4.6 Yema de huevo

En los helados se puede añadir yema de huevo deshidratada o congelada. La cantidad que se suele añadir es del orden del 0.3 al 0.5% cuando es deshidratada y del 0.5 al 1% cuando es congelada. Si se quiere hacer un helado tipo mantecado se tiene que añadir un mínimo de un 4% de yema de huevo. Además de añadir valor nutritivo y conferir características organolépticas peculiares, la yema de huevo es interesante por sus funciones tecnológicas: liga agua, mejora la cremosidad y ayuda a mantener la forma del helado.

Principalmente se adiciona en los *mix* en los que se añade mantequilla para compensar la pérdida de la membrana de los glóbulos grasos [KESS81].

9.4.7 Otros ingredientes

Además de los ingredientes anteriormente mencionados, se añaden a los helados frutas, chocolate, cacao, café, turrón, frutos secos, etc. Cualquier producto alimenticio es susceptible de ser añadido a un helado con el único límite de la fantasía y el respeto a la legislación vigente, siempre que tecnológicamente sea posible y que las características organolépticas sean las apropiadas. El lector observador habrá constatado que, de un tiempo a esta parte, en la oferta renovada de cada temporada de las casas comerciales esto es así, se utilizan los ingredientes más variopintos como apio, vinagre de módena, queso roquefort, etc., y las presentaciones, especialmente en los helados para niños, son más llamativas.

Debido a la falta de espacio solo mencionaremos el chocolate, ya que se utiliza ampliamente tanto como ingrediente del *mix* como para hacer coberturas.

9.4.7.1 Cobertura de cacao

La composición aproximada de la cobertura de chocolate es: 65% de grasa vegetal, 10% de cacao en polvo desgrasado, 24% de azúcar, 0.75% de lecitina como emulsionante y un 0.25% de componentes aromáticos. El punto de fusión debe situarse entre 20 y 30°C, esto le permite deshacerse en la boca sin dejar la impresión de una textura cerosa. La grasa utilizada consiste mayoritariamente en derivados del aceite de semillas de palma o aceite de coco parcialmente hidrogenado. El color marrón oscuro de la mezcla se obtiene añadiendo cacao en polvo desengrasado (10-12%) finamente pulverizado (<0.1 mm).

Cuando el helado se introduce en esta mezcla, la temperatura de la cobertura debe estar 5°C por encima de su punto de fusión. También debe tener una viscosidad baja, se debe solidificar rápidamente y mantener una cierta plasticidad cuando se solidifica para evitar que se rompa.

Para obtener la capa de cobertura tan fina como sea posible, el helado sumergido en ella debe tener un *overrun* elevado, de esta manera se consigue una conductividad calorífica baja, así como una menor capacidad calorífica y, por tanto, se solidifica menos chocolate sobre el helado [KESS81].

9.4.8 Aditivos

Los aditivos utilizados en la elaboración de helados industriales son fundamentalmente, y aparte de los organolépticos (saborizantes, colorantes), los estabilizantes tipo espesantes y los emulsionantes.

No están permitidos ni conservantes ni antioxidantes, aunque la composición del helado rico en grasa y con una gran cantidad de agua libre a disposición de los microorganismos, parecería aconsejarlo. Se confía en no romper la cadena del frío, desde su fabricación hasta su consumo. Por ello, los problemas sanitarios se dan siempre en la venta ambulante de helados a los que se somete a repetidos choques térmicos que propician la contaminación.

Evidentemente se pueden elaborar helados sin espesantes ni emulsionantes, pero entonces adolecen de una formación de cristales de hielo grandes que se notan en la boca y de una fusión acelerada en cuanto se abre el envase.

El consumo de helados en España no alcanza aún los 5 litros/habitante/año, pero este consumo se constriñe a los meses calurosos del verano. La industria no podría suministrar las cantidades de helado solicitadas en estos pocos meses, por lo que se ve obligada a empezar a fabricar mucho antes y a almacenar garantizando que no vaya perdiéndose la estructura esponjosa característica.

9.4.9 Estabilizantes

Para mantener la estabilidad de la emulsión aire-grasa-agua en el *mix* homogeneizado se utilizan hidrocoloides. Los estabilizantes o espesantes que se suelen utilizar en la fabricación de los helados son polímeros más o menos complejos de glúcidos simples. Estos compuestos se embeben intensamente en agua y forman soluciones coloidales, su función es mejorar la textura, incrementar la firmeza y la viscosidad y reducir la tasa de difusión del agua y de las sales. También demoran el crecimiento de los cristales de hielo y lactosa mejorando con ello la estabilidad de los helados durante el almacenamiento. Si se añade poco estabilizante se puede producir sinéresis, cuando la temperatura ambiente es elevada y en estado congelado, el helado se desmenuza y las burbujas de aire pueden no quedar repartidas homogéneamente con el riesgo añadido de que la grasa se separe en el congelador.

Si se añade demasiado estabilizante, se obtiene una consistencia demasiado gomosa [KESS81] [TIMM89].

La elección de un determinado espesante o de una mezcla de ellos depende de las propiedades que les confieren sus diferentes características, como son:

- a) la carga eléctrica: cuanto más cargados eléctricamente más solubles resultan, la carga eléctrica depende de grupos ácidos presentes en la macromolécula (sulfato, en el caso de los carragenatos o carboxilos ionizados, en el caso de alginatos, pectinas o xantana);
- b) la configuración de la cadena polimérica: los hidrocoloides muy ramificados se solubilizan más fácilmente, ya que las ramificaciones facilitan la entrada de agua y su retención, en cambio las cadenas poco ramificadas, que se superponen unas a otras, retienen menos agua;
- c) la viscosidad: depende de la concentración de espesante (aunque no de manera lineal), de la temperatura y de la agitación, que normalmente se reduce para volver a aumentar a partir del inicio de la fase de reposo. Hay excepciones a este comportamiento como es el caso de la goma guar, donde la viscosidad permanece prácticamente invariable con la agitación;
- d) la capacidad de reaccionar con las proteínas presentes en el medio;
- e) la sinergia: algunos estabilizantes se refuerzan mutuamente en su acción.

Los espesantes que se usan habitualmente en los helados son:

9.4.9.1 Goma arábica

Se obtiene de diversas especies de *Acacia spp*, esta compuesta por L-arabinosa, L-ramnosa, D-galactosa y ácido glucurónico, las proporciones de cada monosacárido dependen de la especie vegetal de la cual se obtiene. Se trata de una cadena ramificada que se presenta como sal neutra de calcio, magnesio o potasio o ligeramente ácida. Es extremadamente soluble en agua. La viscosidad de la disolución se incrementa fuertemente sólo a altas concentraciones [BELIT97] [FENN00].

9.4.9.2 Goma guar

Se obtiene de la semilla de la leguminosa *Cyamopsis tetragonoloba*. Está formada por una cadena lineal de manosa, con ramificaciones de galactosa cada dos manosas. Es soluble en agua fría, forma soluciones muy viscosas y muestra acción sinérgica con la goma xantana, el carragenato y la CMC (carboximetilcelulosa). [BELIT97] [TIMM89] [FENN00].

9.4.9.3 Goma de algarrobo

Se obtiene de la harina de las semillas del algarrobo (*Ceratonia siliqua*). Igual que la goma guar está formada por una cadena lineal de manosa con ramificaciones de galactosa, pero en este caso la proporción de manosa es de 3 a 6 respecto de las moléculas de galactosa, con la peculiaridad de que presenta zonas lineales sin ramificaciones; esto, por una parte, dificulta la penetración del agua y obliga a calentar para disolver, pero, por otra parte, permite formar uniones en estas zonas con otros hidrocoloides.

Otra diferencia con respecto a la goma guar es que con la goma de algarrobo, a igualdad de dosis, no se alcanzan viscosidades tan altas. Muestra sinergia con la goma xantana o los carragenatos [BELIT97] [FENN00].

9.4.9.4 Goma xantana

Es un polisacárido constituido por D-glucosa, D-manosa y ácido D-glucurónico. Tradicionalmente se obtenía por biosíntesis bacteriana de la *Xanthomonas campestris*, actualmente también se obtiene por biotecnología. Resulta fácilmente hidrosoluble y es estable en un amplio intervalo de pH.

Como se ha visto en el apartado anterior, muestra sinergia con la goma de algarrobo y la goma guar. Es incompatible con la carboximetilcelulosa (CMC) [TIMM89] [FENN00].

9.4.9.5 Alginato sódico

Se obtiene de las algas pardas (*Phaeophyceae*). Está formado por cadenas de los ácidos β -D-manurónico y α -L-gulurónico en diferentes proporciones. Los grupos carboxilo ionizados confieren a la macromolécula una fuerte carga eléctrica por lo que resulta soluble en agua fría. La viscosidad aumenta en presencia de cationes polivalentes, fundamentalmente con el calcio, con los que forma la estructura conocida como *caja de huevos*. [BELIT97] [FENN00].

9.4.9.6 Carragenatos

Se obtienen de las algas rojas. Están constituidos por D-galactosa y anhidro-L-galactosa parcialmente esterificadas con grupos sulfato. Se distinguen cinco fracciones que se designan con las letras κ , λ , τ , μ y ν , según el polisacárido dominante en una determinada especie de alga.

Los que más se utilizan en la industria alimentaria son el κ , el ι y el λ , se diferencian por su carga eléctrica, y por tanto, por su mayor o menor solubilidad, por su viscosidad y por sus propiedades gelificantes. [FENN00] [TIMM89].

9.4.9.7 Gelatina

Es el estabilizante más antiguo utilizado en la elaboración de los helados [DAVE94], aunque actualmente se halla en desuso.

Se obtiene a partir del colágeno por hidrólisis ácida o alcalina de la piel y los huesos de bovinos y, mayoritariamente, de porcinos [BELIT97]. Al ser una proteína, tiene valor nutricional, ya que contiene aminoácidos esenciales. Por ello la Comisión Europea la considera un alimento y no se incluye en la lista positiva de aditivos [ORTE97].

9.4.9.8 Pectina

Forma parte de la pared celular de los vegetales, es un polímero del ácido galacturónico parcialmente eterificado con grupos metilo. Se obtiene de subproductos de la fabricación de los zumos de frutas (cáscara de limón o bagazo de manzana). Se utiliza en la fabricación de sorbetes de frutas, mezclada con otros estabilizantes, pero no resulta conveniente para el resto de los helados [DAVE94].

9.4.9.9 Carboximetil celulosa

Es un producto derivado de la celulosa que se utiliza cada vez más por su alta capacidad de hidratación. Se disuelve fácilmente y proporciona una textura “seca”; normalmente se utiliza junto a otros espesantes [TIMM89].

Actualmente, las casas comerciales de aditivos venden mezclas de espesantes ya preparadas para su uso en la fabricación de helados, con una composición que va en función de las características del tipo de producto que se quiera elaborar.

9.4.10 Emulgentes

Según Belitz y Grosch [BELIT97], los emulgentes son sustancias capaces de estabilizar las emulsiones debido a su estructura molecular: deben estar constituidos por una parte lipófila o hidrófoba que se disuelva bien en la fase no acuosa y otra parte polar o hidrófila que se disuelva bien en agua. La parte hidrófoba consiste, en general, en una larga cadena alquílica y la parte hidrófila contiene grupos disociables o también grupos hidroxilo o poliglicoléter. En los sistemas no miscibles, por ejemplo aceite/agua, los emulgentes ocupan la superficie limitante entre ambas fases, haciendo disminuir la tensión interfacial. Facilitan así un fino reparto de una fase en el seno de la otra.

Pero, al contrario que en la mayoría de las emulsiones alimentarias, en los helados una de las misiones de los emulsionantes es la de desestabilizar parcialmente la emulsión, es decir, ayudar a que se produzca una cierta coalescencia y agregación de las gotas de grasa para que puedan formar la red que englobará a las burbujas de aire. Por ello, generalmente se utilizan dos emulsionantes de diferente HLB (balance hidrofílico-lipofílico).

En el *mix* ayudan a la dispersión de la grasa. Al pasar por el homogeneizador, los grandes glóbulos de grasa iniciales se convierten en miles de gotitas; si esta grasa procedía de la leche, los grandes glóbulos estaban protegidos por una capa de lipoproteínas que impedía la coalescencia. Pero al pasar por el homogeneizador, esta capa se rompe, además, la superficie libre de las gotas ha aumentado extraordinariamente por lo que se necesita un tiempo para que vuelva a formarse una “cáscara”

protectora. En este momento, el emulsionante de bajo HLB (monoglicéridos) actúa como poste de anclaje, introduciéndose en la gotícula y permitiendo atrapar de nuevo la capa lipoproteica.

El efecto protector de la proteína láctea sobre la grasa es muy alto y evita la formación de agregados y la coalescencia, pero como para poder airear el helado y que la espuma se mantenga estable tiene que hacerse (como se describe en el apartado 9.3.3) formando la red de grasa, se añade el emulsionante de alto HLB, el cual, durante el tiempo de maduración del *mix*, desplazará en parte a la proteína, permitiendo la agregación de la grasa en forma de racimos.

El proceso de desestabilización que sucede en el *mix* del helado durante la maduración (ver apartado 9.5.8), que se realiza a baja temperatura, es un proceso muy complejo, en el que están involucrados muchos cambios físicos en la emulsión del helado. Los dos más importantes son [KROG98]:

- la cristalización de los glóbulos de grasa
 - la sustitución parcial de la proteína interfacial por los emulsionantes
- a) Durante la maduración, la grasa del *mix* se va solidificando o incluso cristalizando en dependencia de la composición de ácidos grasos de aquella. Es muy importante que esta solidificación no sea total, sino que quede un núcleo o corazón interior de grasa líquida. Si las gotitas grasas se solidificaran totalmente no podría obtenerse la textura cremosa y el helado sería “frío” (como un polo acuoso).
- b) La cantidad de proteína adsorbida en la superficie del glóbulo graso, que es importante para la estabilidad inicial de la emulsión, disminuye durante la maduración del *mix*. Esta disminución se debe en parte a la cristalización de los glóbulos de grasa y en parte a la disolución parcial de la β -caseína de las micelas de caseína adsorbidas en el glóbulo de grasa. Paralelamente, si se han añadido emulsionantes de alto HLB (polisorbatos, sucroésteres), éstos se colocan en la interfase grasa/agua formando una película mixta con las proteínas. Esta película mixta proteína/emulgente tienen una adherencia menos fuerte en la superficie del glóbulo de grasa que la capa de proteína sola y, durante el batido del *mix* en su paso por el *freezer* o mantecadora (ver apartado 9.5.9), es parcialmente desplazada. Este parece ser el mecanismo de acción de los emulsionantes que conduce a la desestabilización parcial de la grasa [KROG98] [TIMM89].

Además, la utilización de emulsionantes proporciona a los helados un aspecto seco y mate cuando salen de la mantecadora [KROG98] [DAVE94] y simultáneamente mejora la resistencia a la fusión del helado, ambas cualidades deseables [KROG98].

Como emulgentes se pueden utilizar monoglicéridos saturados, insaturados y polisorbatos. Los polisorbatos están prohibidos por la legislación europea, pero se utilizan en Estados Unidos [KROG98] [TIMM89]. Los monoglicéridos insaturados, por su menor punto de fusión, logran una mayor desestabilización de la emulsión y una mayor resistencia a la fusión que los saturados. Esta diferencia podría ser debida a las distintas propiedades reológicas del *film* interfacial proteína/emulsionante que envuelve a los glóbulos de grasa [KROG98].

Los monoglicéridos se obtienen industrialmente haciendo reaccionar la glicerina con un triglicérido, a 200°C en presencia de un catalizador. De esta manera se obtiene una mezcla con aproximadamente las proporciones siguientes: 40-60% de monoglicéridos, 35-45% de diglicéridos y un 5-15% de

triglicéridos; los monoglicéridos se separan a continuación por destilación al vacío. En el destilado predominan los monoglicéridos (90-95%) y el resto son diglicéridos [BELI97].

Del mismo modo como sucede en el caso de los espesantes, las casas comerciales de aditivos venden mezclas preparadas de los emulsionantes según las materias primas o las características del helado que se desea obtener. De hecho, las casas comerciales ofrecen la mezcla ya preparada, así como las recomendaciones de uso de emulgentes y espesantes juntos. Por lo común, las mezclas consisten en un 60% de emulsionante y un 40% de estabilizantes espesantes y la dosificación oscila entre 4 y 5 gramos por litro de *mix*.

9.5 Estructura del helado

Al explicar la funcionalidad de los aditivos ya hemos apuntado algunas características de la estructura de los helados. El helado tiene una estructura muy compleja, pues está compuesto por cuatro sistemas: una emulsión (grasa), una espuma (aire), una suspensión (hielo) y, todo ello englobado en una matriz de agua en la que están disueltas o dispersas varias sustancias. Los volúmenes correspondientes de cada fase son aproximadamente: 50% de aire, 25% de hielo, 5% de grasa y 20% de la matriz que contiene azúcares, la mayor parte de las proteínas y los estabilizantes [CAMP98].

La espuma sólida se mantiene en parte debido a la red de grasa emulsionada y parcialmente desestabilizada y en parte a la red de pequeños cristales de hielo dispersos en la matriz muy viscosa gracias al alto contenido en azúcares, a las proteínas y a los espesantes. Una parte de las proteínas se encuentran, junto a los emulsionantes, estabilizando los glóbulos de grasa. En la figura 9.1 se puede observar la estructura aproximada de un helado a -5°C , que es la temperatura a la que sale de la mantecadora o *freezer*.

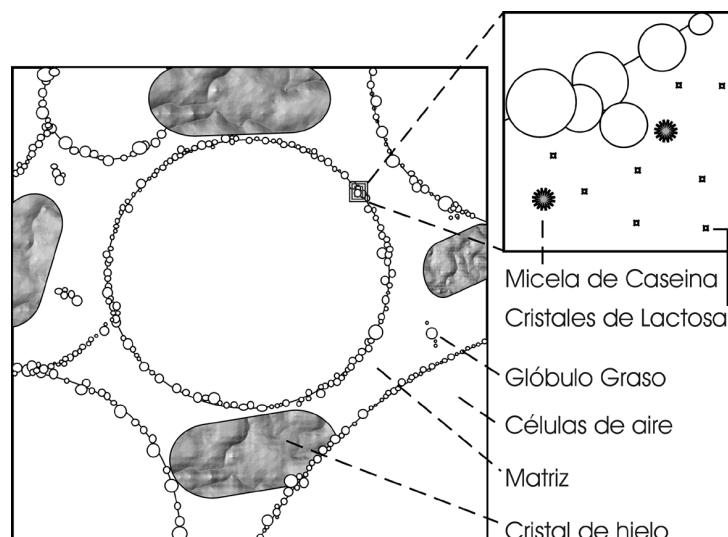
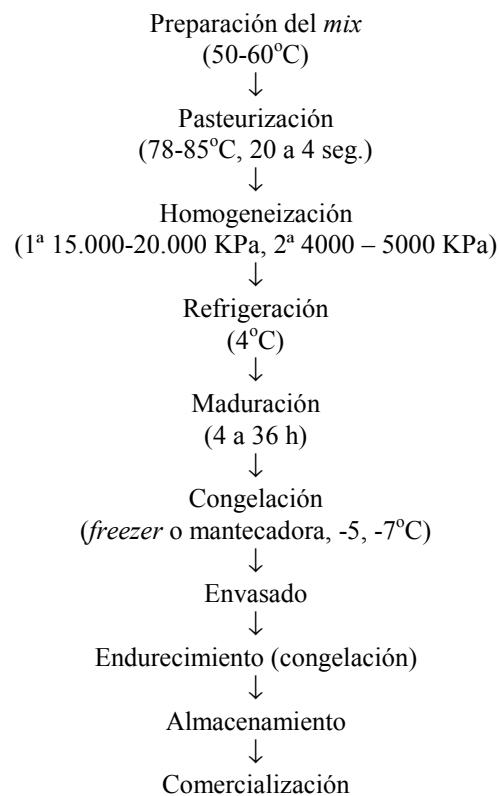


Fig. 9.1 Estructura del helado

El papel de las burbujas de aire es proporcionar al helado una textura ligera y suave. Sin aire, la emulsión congelada daría una sensación muy fría en la boca y sería demasiado densa para el estómago [DICK92], además el aire logra que la conductividad térmica del helado sea más baja y se mantenga congelado durante el tiempo que dura la consumición.

9.6 Proceso de fabricación

9.6.1 Diagrama de flujo de la fabricación de los helados



9.6.2 Preparación del *mix*

En primer lugar se mezclan los ingredientes líquidos (agua, leche, nata, leche concentrada, jarabes, zumos, etc.) y se empieza a calentar la mezcla; a continuación se añaden los ingredientes sólidos (leche en polvo, yema de huevo deshidratada, cacao, azúcar, estabilizantes, emulsionantes, etc.) y se mezclan. La mantequilla, la nata congelada o las grasa vegetales que se utilicen se añaden en pequeñas porciones, cuando se alcanza una temperatura de 50-60°C [KESS81]. Antes de pasar a la operación siguiente, todos los ingredientes tienen que estar bien mezclados.

9.6.3 Pasteurización

El objetivo de la pasteurización en los helados es eliminar los gérmenes patógenos y los enzimas que pueden producir modificaciones de sabor durante el almacenamiento. Se realiza a unos 78-85°C durante 40-20 segundos respectivamente. Es un baremo ligeramente superior al que se utiliza para la leche líquida, debido a que el *mix* tiene más extracto seco, más grasa y mayor viscosidad [TIMM89]. La pasteurización del *mix* se realiza habitualmente en un pasteurizador de placas, pero en las industrias muy pequeñas se puede pasteurizar en una cuba, calentando a 65°C durante 30 minutos.

9.6.4 Homogeneización

Una de las condiciones para que una emulsión se mantenga estable es la de que las gotas de grasa dispersas en la matriz acuosa sean lo más pequeñas posible. La homogeneización consiste en hacer pasar el *mix* por unos orificios pequeños que rompen los grandes glóbulos, fragmentándolos hasta dimensiones de 1-2 μm [TIMM89] [KESS81]. Estas gotitas, todavía “desnudas” de protección, seguirían chocando entre sí y formando gotas cada vez mayores. En este punto, el emulsionante de bajo HLB ayuda a reformar la cobertura lipoproteica que impedirá aquellas aglomeraciones y la coalescencia subsiguiente.

La homogeneización del *mix* se puede realizar en dos pasos o sólo en uno. Cuando se realiza en dos pasos el primero suele hacerse a 15.000-20.000 KPa y el segundo a 4000-5000 KPa, de esta manera se previene la formación de agregados. Si se hace solo una pasada, la presión ha de ser menor, de 14.000-17.000 KPa., de lo contrario se puede producir una aglomeración de los glóbulos de grasa. Estos valores de presión son orientativos, puesto que la presión depende del contenido en grasa; por ejemplo, mezclas con alto contenido en grasa se homogenizan a 7.000 KPa. La temperatura suele ser de unos 70°C [KESS81].

Otra consecuencia de la dispersión fina de la grasa es que se potencia mejor el sabor del helado.

9.6.5 Enfriamiento

Después de la homogeneización, la mezcla debe enfriarse lo más rápidamente posible a un temperatura de entre 0-5°C, para evitar que los microorganismos supervivientes de la pasteurización proliferen. Este enfriamiento se realiza en un intercambiador de placas o, si la mezcla es muy viscosa, en un intercambiador tubular.

A partir de este momento deben tomarse todas las precauciones necesarias para asegurar la higiene, tanto de la manipulación como de las instalaciones, ya que la mezcla no volverá a pasar por ningún tratamiento que elimine los gérmenes de contaminación, es decir, debe evitarse la contaminación cruzada por microorganismos patógenos o alteradores.

9.6.6 Maduración

Una vez enfriado el *mix* se mantiene durante unas horas en tanques o depósitos de maduración. Habitualmente el tiempo de maduración suele ser entre 4 y 36 horas. La RTS (RD 618/1998) prohíbe que la maduración dure más de 72 horas, pero por razones obvias este es un tiempo que los fabricantes

intentan acortar al máximo, aunque es una operación necesaria que no se puede obviar, porque es durante este tiempo en que se acaba de configurar la estructura del helado antes de añadirle el aire. Cuando el contenido en grasa es alto y la presión de homogeneización baja, los tiempos de maduración han de ser más largos.

Durante la maduración sucede [KESS81]:

- a) la cristalización parcial de la grasa, manteniendo un interior de grasa líquida que, como se ha visto anteriormente, provocará la agregación parcial de las partículas de grasa para formar la red que englobará a las partículas de aire;
- b) la máxima absorción de agua por parte de las proteínas lácteas y los estabilizantes, que tiene como consecuencia la formación de la matriz muy viscosa que contendrá los cristales de hielo, la red de grasa y las burbujas de aire;
- c) se afina la textura;
- d) se desarrolla el aroma uniformemente en toda la masa;
- e) se incrementa la resistencia a la fusión;
- f) los emulgentes acaban de formar, junto a las proteínas, la película mixta alrededor de los glóbulos de grasa que permitirá la agregación parcial de la grasa.

Cuando el contenido en grasa es alto y la presión de homogeneización baja, los tiempos de maduración han de ser más largos.

Además, es en este momento cuando se añaden los aromas, colorantes, frutas, frutos secos, etc., que no aguantarían el tratamiento térmico o que por su tamaño no admiten el paso por el pasteurizador de placas o el homogenizador. Por supuesto que todas estas adiciones deben estar en condiciones higiénicas estrictas, libre de carga microbiana no deseable.

9.6.7 Congelación

Después de la maduración, la mezcla se congela y se le inyecta aire en un congelador tubular de superficie rascada que en las industrias de helados se llama *freezer* o mantecadora. La mezcla entra en el *freezer* a una temperatura de entre 0 y 5°C y sale entre -3.5 y -7°C. Es necesario que la congelación sea muy rápida para obtener muchos núcleos de cristalización y consecuentemente cristales muy pequeños [KESS81].

El funcionamiento del *freezer* es el siguiente [TIMM89]: La mezcla es impulsada mediante una bomba regulable hasta el cilindro de congelación situado en posición horizontal y que está rodeado por un medio refrigerador (Fig. 9.2). En el cilindro de congelación discurre un eje rotatorio sobre el cual y en toda su longitud se encuentran fijas las cuchillas rascadoras. Estas cuchillas desprenden continuamente, mediante raspado, la película de helado que se forma por intercambio calórico en la pared interna del tubo, a la vez que incorporan el aire. El medio refrigerante utilizado en la industria

de los helados es el amoníaco que tiene una temperatura de evaporación de $-33,4^{\circ}\text{C}$ a presión atmosférica. El amoníaco líquido, al ponerse en contacto con la mezcla del helado, se calienta y se evapora, para el cambio de estado utiliza el calor del *mix* y consecuentemente éste se enfría. El amoníaco evaporado recircula hasta el compresor que lo vuelve a licuar. La temperatura del congelador suele estar entre -20 y -30°C .

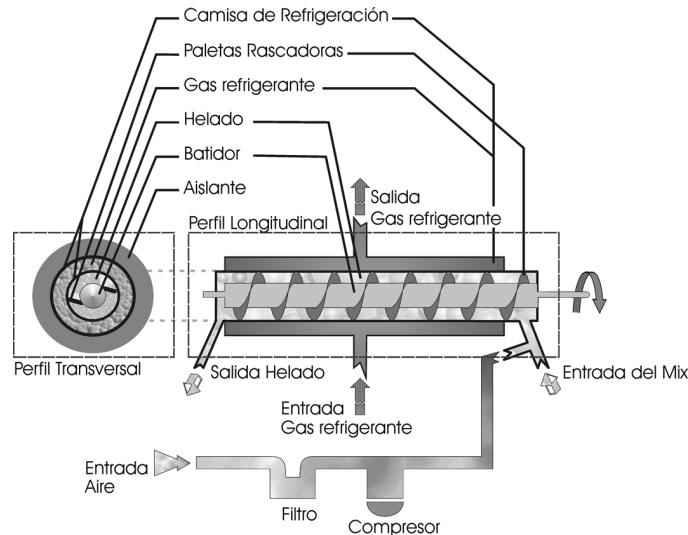


Fig. 9.2 Congelador de superficie rascada, mantecedora o freezer

El volumen de aire se añade a la entrada del congelador, generalmente en proporción 1:1, es decir, 100% de *overrun*. La presión a la que está sometida la mezcla para poder circular ayuda a la incorporación del aire.

Durante la congelación, el *mix* se transforma en helado: se forman los cristales de hielo por el descenso de la temperatura. El batido incorpora el aire y rompe parte de las membranas de los glóbulos de grasa como consecuencia del tratamiento mecánico y de que previamente, durante la maduración, se habían formado los cristales de grasa y los emulsionantes habían formado la película mixta proteína/emulsionante, menos estable. La grasa líquida que permanecía en el interior de las gotas endurecidas se libera y facilita la aglomeración arracimada que mantendrá atrapadas a las burbujas de aire.

La textura del helado constituye uno de sus principales atributos de calidad. Dos factores claves de la textura dependen del funcionamiento del congelador: la distribución y el tamaño de las burbujas de aire, que como máximo han de medir $100\ \mu\text{m}$ de diámetro y el tamaño de los cristales de hielo, que ha de ser menor de $40\ \mu\text{m}$. Si se superan estas dimensiones, al ingerir el helado da una impresión áspera y glacial [KESS81].

Los parámetros de funcionamiento del congelador que afectan a la textura son:

- a) la velocidad de descenso de la temperatura
- b) el grosor de la película de hielo
- c) la velocidad a la que es eliminada la película de hielo (tamaño de los cristales de hielo) y como consecuencia, la velocidad de movimiento de las cuchillas rascadoras
- d) la velocidad del batido (tamaño y distribución de las burbujas de aire)

La temperatura final depende de la consistencia deseada, según el tipo de helado que se desea obtener. Por ejemplo, si se envasa en bloques, la consistencia será más alta que si hay que rellenar cucuruchos. A veces las frutas y los frutos secos se incorporan a la salida del congelador y por tanto se requiere una cierta plasticidad de la mezcla para poder incorporarlos.

9.6.8 Envasado

Una vez obtenido el helado, se procede a su envasado mediante máquinas automáticas, añadiendo previamente, si el helado lo requiere, frutos secos, frutas, trocitos de chocolate, etc. Existen en el mercado una gran diversidad de modelos de máquinas envasadoras e infinidad de presentaciones comerciales de los helados: bloques, tarrinas, polos, tartas, cucuruchos, etc.

Solo mencionaremos el caso de los helados de cucurucho que llevan incorporado el barquillo. Es muy importante que éste se mantenga seco y crujiente, para ello se reviste de una pasta de glaseado que es grasa con cacao y actúa como aislante [TIMM89]

9.6.9 Endurecimiento

Para almacenar el helado y que conserve las propiedades conseguidas en el *freezer* durante un largo periodo de tiempo, es necesario congelarlo a temperaturas más bajas, es lo que se conoce como *endurecimiento* del helado. Se utilizan para ello diferentes tipos de congeladores industriales, los más habituales son los túneles de congelación donde el aire circula a unos -40°C o los túneles de nitrógeno, donde primero se pulveriza el helado con nitrógeno gaseoso y después se pulveriza nitrógeno líquido [KESS81] [TIMM89].

La temperatura a la que se congela toda el agua del helado es de -30°C . El helado se considera endurecido cuando el 80-90% del agua que contiene está congelada. Esto ocurre entre -15°C y -5°C , de esta manera se previene la recrystalización que tendría como consecuencia la formación de cristales grandes [KESS89].

9.6.10 Almacenamiento

Los helados se almacenan en la fábrica en congeladores a -30°C . Si no hay cambios de temperatura, son estables durante 12 meses. Los helados que contienen frutos secos se conservan la mitad del tiempo porque los frutos secos se enrancian, el helado desarrolla aroma a rancio y ya hemos indicado que no están presentes los aditivos antioxidantes que podrían tener un efecto protector [KESS81].

9.6.11 Comercialización

Durante la distribución de los helados a los puntos de venta, se mantienen a -18°C . Este período resulta muy importante para mantener la calidad del helado, ya que si las temperaturas fluctúan se produce recristalización con formación de cristales mayores y separación de las fases. No es raro encontrar helados con una capa de cristalitas de hielo en su superficie y esto es debido a que no se han respetado las temperaturas de almacenamiento.

Otro aspecto a considerar sobre la comercialización es la manipulación de los helados de cucurucho o tarrina que se sirven a granel. El instrumento que se utiliza para servir las bolas de helado debería lavarse después de cada uso con agua corriente para eliminar los restos de helado y después mantenerse en una solución al 1,5% de ácido cítrico o tartárico (RD 618/1998). En la práctica, esto acaba resultando engorroso y muy a menudo se opta por sumergirlo directamente en la solución ácida, que a lo largo del día se va enriqueciendo con los restos de helado; si a este proceder se añade que la temperatura ambiental es elevada, el foco de contaminación puede llegar a ser importante.

En la RTS 618/1998, actual reglamentación vigente, se encuentran todos los requisitos obligatorios sobre diferentes aspectos de la elaboración del producto, de las instalaciones y del personal, así como las normas microbiológicas que deben cumplir los helados.

9.7 Postres lácteos

Actualmente en el comercio se encuentran muchos productos fabricados a base de leche que se pueden englobar bajo el nombre de *postres lácteos*. Los postres lácteos se pueden definir como “preparados cremosos o gelificados de la leche sin acidificar o ligeramente acidificada”.

La tecnología de fabricación de estos productos responde al siguiente esquema:

Se parte de leche UHT a la que se le añaden diferentes ingredientes y aditivos, según el producto que se quiera fabricar:

- a) Azúcar
- b) Colorantes
- c) Aromas
- d) Agente gelificante, pudiéndose elegir entre:
 - huevos, para hacer flan o natillas
 - almidones modificados
 - gelatina
 - carragenatos
 - agar-agar
 - pectinas; etc.
 -

A continuación, se envasa y el producto envasado se esteriliza o se cuece.

Los batidos de cacao se preparan siguiendo una pauta parecida: se añade a la leche azúcar, cacao, aroma y un emulsionante (por ejemplo lecitina) para estabilizar el cacao. A veces, según la consistencia que se desea para el batido, se añaden polisacáridos que le dan cuerpo. Si se envasa en tetrabrick, se esteriliza y se envasa asépticamente, o bien, se envasa en botella y se esteriliza convencionalmente en un autoclave.

Bibliografía

- [BELI97] BELITZ, H.-D., GROSCHE, W. *Química de los Alimentos*, Zaragoza, Ed. Acribia, 1997
- [CAMP98] CAMPBELL, I.J., PELAN, B.M.C. "Ice cream. Ch.: The influence of emulsion stability on the properties of ice cream", *International Dairy Federation, Proceedings of the International Symposium, Atenas, Grecia 18-19 de Septiembre de 1997*, Alemania, Ed. W. Buchheim, 1998
- [DAVE94] DAVENAT, B. *La Tecnología de los Helados y Sorbetes*, Barcelona, Ed. Montagut Editores, 1994
- [DICK92] DICKINSON, E. *An Introduction to Food Colloids*, Oxford, Ed. Oxford University Press, 1992
- [FENN00] FENNEMA, O.R. *Química de los Alimentos*, Zaragoza, Ed. Acribia, 2000
- [KESS81] KESSLER, H.G. *Food Engineering and Dairy Technology*. Freising , Verlag A. Kessler, 1981
- [KROG98] KROG, N. "Ice cream. Ch.:The use of emulsifiers in ice cream", *International Dairy Federation, Proceedings of the International Symposium, Atenas, Grecia 18-19 de Septiembre de 1997*, Alemania, Ed. W. Buchheim, 1998
- [ORTE97] ORTEGA, D. *Estudi comparatiu dels efectes de diferents additius en un gelat de greix vegetal*. Trabajo de Final de Carrera, Escola Superior d'Agricultura de Barcelona, 1997
- [ROTH98] ROTHWELL, J. "Ice cream. Ch.: Sugars and other sweeteners for ice cream and other frozen desserts" , *International Dairy Federation, Proceedings of the International Symposium, Atenas, Grecia 18-19 de Septiembre de 1997*, Alemania, Ed. W. Buchheim, 1998
- [TIMM89] TIMM, F., *Fabricación de Helados*, Zaragoza, Ed. Acribia, 1989
- [WALS98] WALSTRA, P., JONKMAN, M. "Ice cream. Ch.: The role of milkfat and protein in ice cream", *International Dairy Federation, Proceedings of the International*

Symposium, Atenas, Grecia 18-19 de Septiembre de 1997, Alemania, Ed. W. Buchheim, 1998

[WALS87] WALSTRA, P., JENESS, R. *Química y Física Lactológica*. Zaragoza, Acribia, 1987

