

Congreso nacional de lecheros de Costa Rica

**Exigencias a la microbiología de la leche
para su uso como materia prima en la quesería**

**Dr. Richard Ellner
Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Alemania**

Octubre 2015

Queso Emmental



Queso Emmental



Cuales son las fuentes del defecto ?

Queso blando

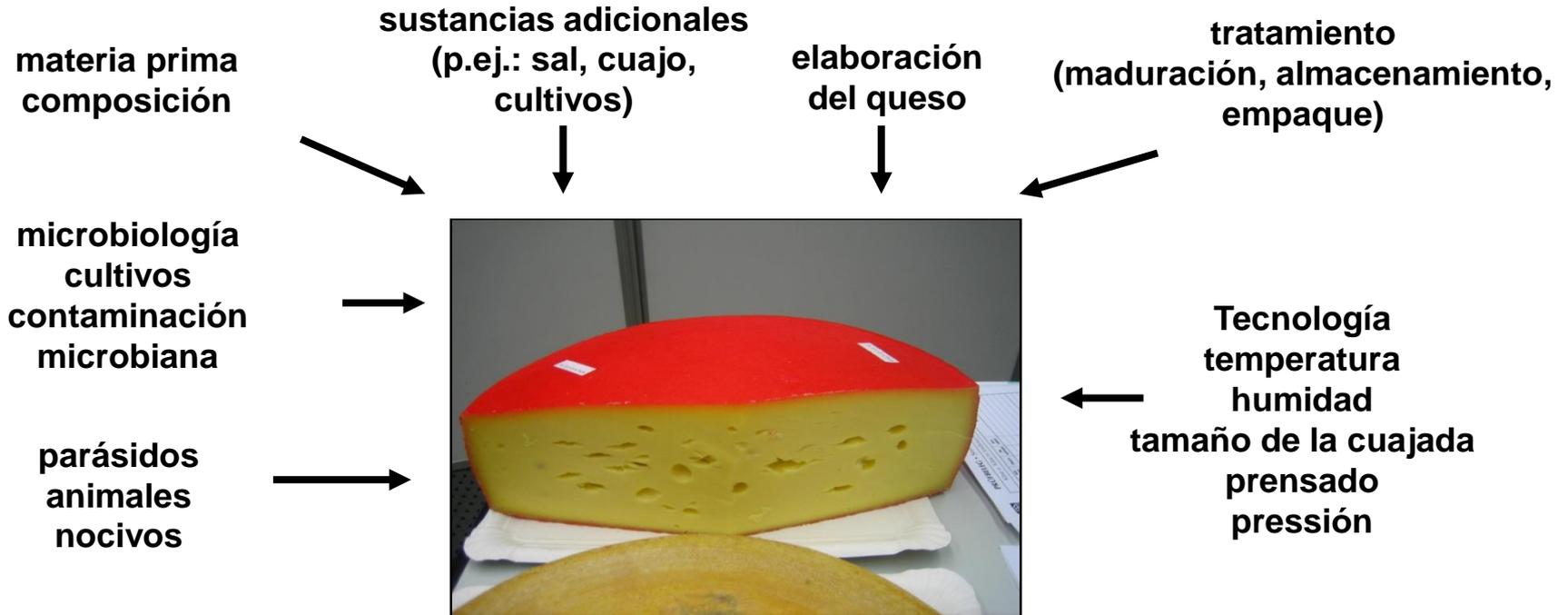


Queso blando



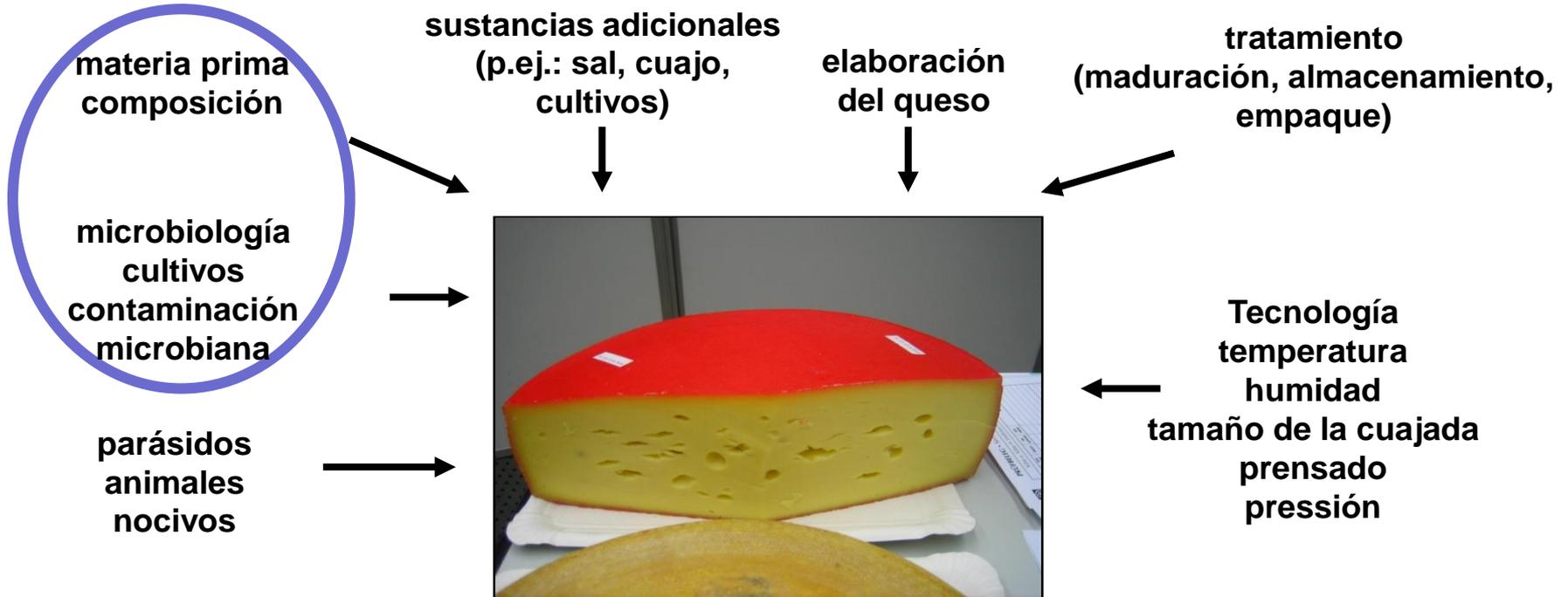
Cuales son las fuentes del defecto ?

Fuentes de defectos – Causas



características sensoriales
aspecto: exterior, interior
aroma: olor, sabor
consistencia, estructura, masa

Fuentes de defectos – Causas



características sensoriales
aspecto: exterior, interior
aroma: olor, sabor
consistencia, estructura, masa

Objetivos para la aptitud quesera

tener una leche de quesería con todas las características importantes para obtener al final un queso

- sabroso**
- nutritivo**
- higienicamente „sano“**
- tecnológicamente sin defectos**

Agenda

Exigencias a la microbiología de la leche cruda

Tecnologías para mejorar la leche de quesería en el sentido microbiológico

Agenda

Exigencias a la microbiología de la leche cruda

Tecnologías para mejorar la leche de quesería en el sentido microbiológico

Exigencias a la microbiología de la leche cruda

Directiva de la CE (2073/2005): $< 10^5$ UFC/ml

La leche cruda = un buen medio de cultivo para los microorganismos

- Composición química

**lactosa
grasa
proteína
minerales
vitaminas**

- Parámetros físicos

pH = 6,6 - 6,7

Aw = 0,99

(actividad de agua)

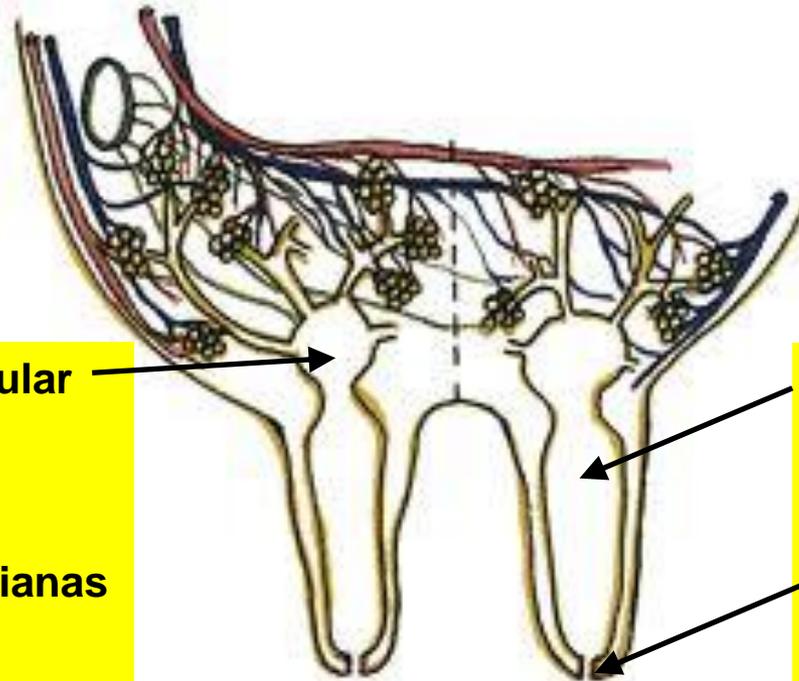
Eh = + 0,2 - + 0,3 V

(potencial óxido-reducción)

Como se contamina la leche?

Contaminación por la vaca / ...primaria

La ubre „sana“ - contaminación interna



Cisterna parte glandular

con

Sistemas antimicrobianas

- Lactoferrina
- Lisozima



sin MOs

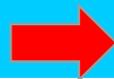
Cisterna parte mamilar

con

Barreras

1. biológica
 - Leucocitos
2. química
 - Queratina
 - Á. grasos
3. física

Riesgo de invasión
el pezón está contaminado



100 – 10⁴/ml

Contaminación interna:

microorganismos de la leche en la cisterna parte mamilar (90 %)

Micrococcus

Corynebacteria

Streptococcus

Contaminación externa

Presencia de microorganismos alrededor de la leche cruda

<u>Heces</u>	vaca	10^{10} / g	Enterobacterias (P!) Enterococcus Clostridium Pseudomonas Propionibacterias Yersinia (P!) Campylobacter (P!)
<u>Piel</u>	vaca ubre	$10^2 - 10^4$ / cm ²	Micrococcus Streptococcus (P!) Staphylococcus (P!)
	hombre	$10^2 - 10^4$ / cm ²	Micrococcus Staphylococcus (P!) Coryneformes

Contaminación externa

Presencia de microorganismos alrededor de la leche cruda

<u>Forraje</u>		$10^8 - 10^{10} / \text{g}$	Clostridium Bacterias lácteas Micrococcus Bacillus Levaduras Hongos
<u>Equipo</u>		$10^2 - 10^6 / \text{cm}^2$	Micrococcus Coryneformes Pseudomonas Enterobacterias Bacterias lácteas

Contaminación externa

microorganismos de la piel de la ubre (10 %) :

temperatura óptima 37 °C

Acinetobacter

Staphylococcus (coag. pos y neg.)

Corynebacterias

Streptococcus

Bacillus

Clostridium

Actinomyces

Bacterias coliformes

Pseudomonas

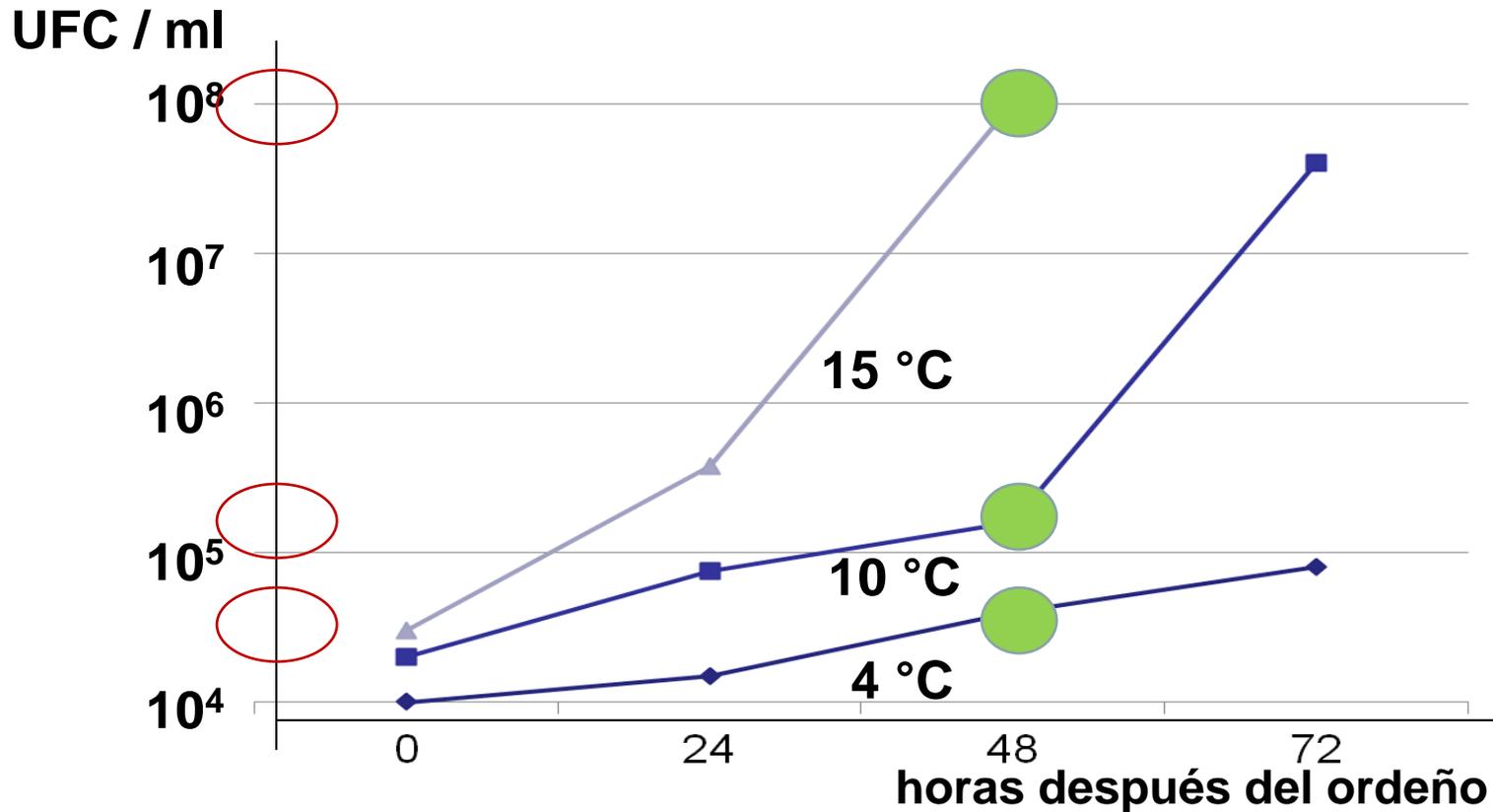
Proteus

R.T = $10^2 - 10^4 / \text{cm}^2$

Contaminación externa

- almacenamiento

Crecimiento de MOs en leche cruda



Exigencias a la carga microbiana de la leche cruda

Directiva de la CE (2073/2005): $< 10^5$ UFC/ml

(promedio actual: $< 2 \times 10^4$ UFC/ml, 96 % de los productores)

⇒- se debe enfriar la leche cruda rápidamente a $< + 6$ °C

EU 853 / 2004: "Inmediatamente después del ordeño, la leche deberá conservarse en un lugar limpio concebido y equipado para evitar cualquier contaminación. Deberá enfriarse inmediatamente a una temperatura no superior a 8°C en el caso de recogida diaria, y los 6°C si la recogida no se efectúa diariamente."

Punto de control: la refrigeración no disminuye la cantidad de MOs una vez presentes en la leche!

Medidas para suprimir la contaminación externa

Suprimir la contaminación externa

- Limpieza y actividad ordeñadora

Influencia de la limpieza sobre el R.T de la leche cruda

<u>Piel de la ubre</u>	<u>R.T. aumenta en</u>
sucia	500 – 10.000 / ml
lavada, seca	400 / ml
lavada con desinfectante seca	200 / ml

Suprimir la contaminación externa

- evitar la contaminación por el equipo

⇒ R.T. 10.000/ml → 100.000/ml

⇒ más GRAM-negativas: Pseudomonas y Enterobacterias

⇒ contaminación por MO's bien adaptados a la leche

- empiezan a crecer rápidamente**
- crecen también a temperaturas bajas**
- crecen durante el tiempo de almacenamiento**

causas de la contaminación:

- limpieza y desinfección del equipo inadecuadas**

Suprimir la contaminación externa

- limpieza y desinfección del equipo adecuadas

10 min	20 - 25 °C	agua potable
30 min	55 °C	ácido / alcalino desinfectante
10 min	20 - 25 °C	agua potable

- mejorar el manejo de la máquina ordeñadora

se deben cambiar todas las partes de goma después de 6 - 8 meses de uso

- pezoneras endurecidas de la máquina ordeñadora
- mangueras
- anillo de junta

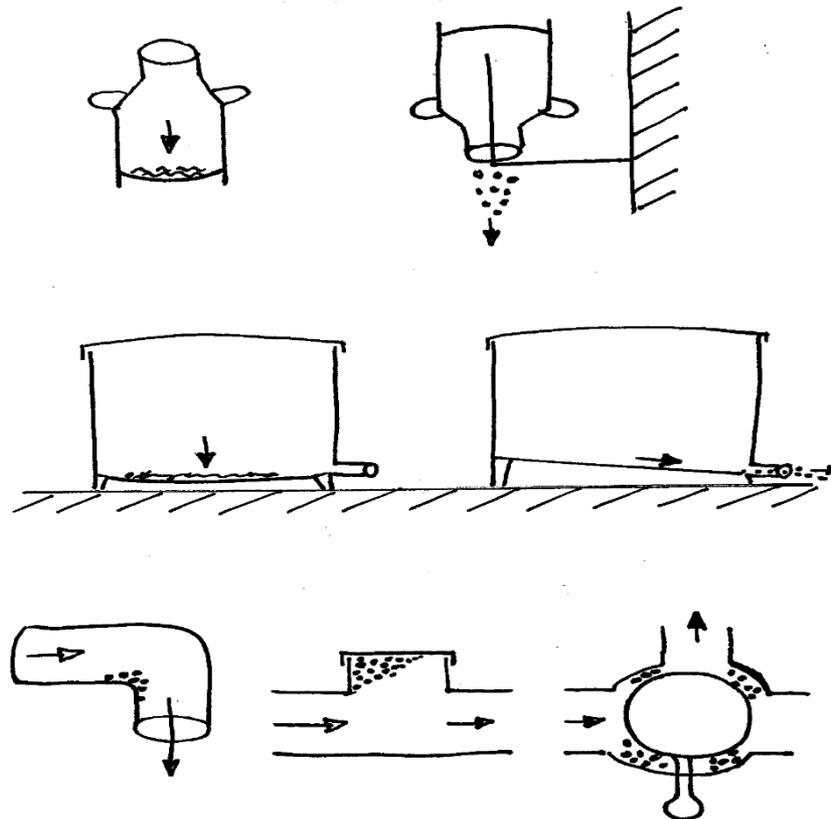
Suprimir la contaminación externa

- mejorar el diseño de tarros, tanques y de tubería

EU 853 / 2004:

“Las superficies del equipo destinadas a entrar en contacto con la leche (utensilios, recipientes, cisternas, etc. destinados al ordeño, recogida o transporte) deberán ser fáciles de limpiar y, en caso necesario, desinfectar, y mantenerse en buen estado.

Ello requiere la utilización de materiales lisos, lavables y no tóxicos.”



- mejor asi



Exigencias a la carga microbiana de la leche cruda

Directiva de la CE (2073/2005): < 10⁵ UFC/ml

Microorganismos patógenos:

patógenos transmitidos por la leche cruda

Contaminación primaria

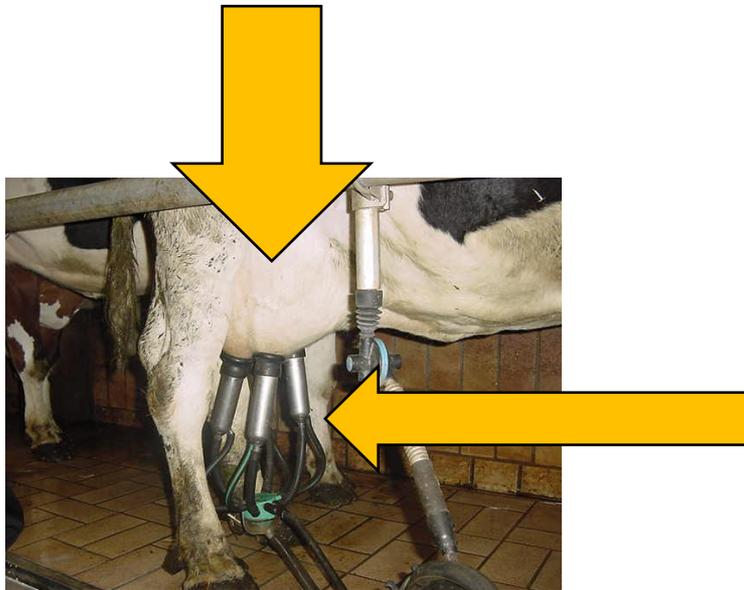
Coxiella burnetii (Q-fiebre)

Brucella abortus (Brucellosis)

Mycobacterium tuberculosis (tuberculosis)

Streptococcus agalactiae (mastitis)

Staphylococcus aureus (mastitis)



Contaminación secundaria (externa)

Yersinia enterocolitica

Campylobacter jejuni

Listeria monocytogenes

Escherichia coli

Vibrio cholera

Salmonella spp.

Staphylococcus aureus

patógenos transmitidos por la leche cruda

Exigencia

- no se detecta *Salmonella* y *Listeria* en 25 g de leche cruda

----- 0,5 % de las muestras de leche cruda eran positivas con *Listeria* en 25 g de leche cruda

(*List. monocytogenes*
dosis mínima de infección: 100 células)

Comportamiento de patógenos en queso duro y valores de pH durante la maduración

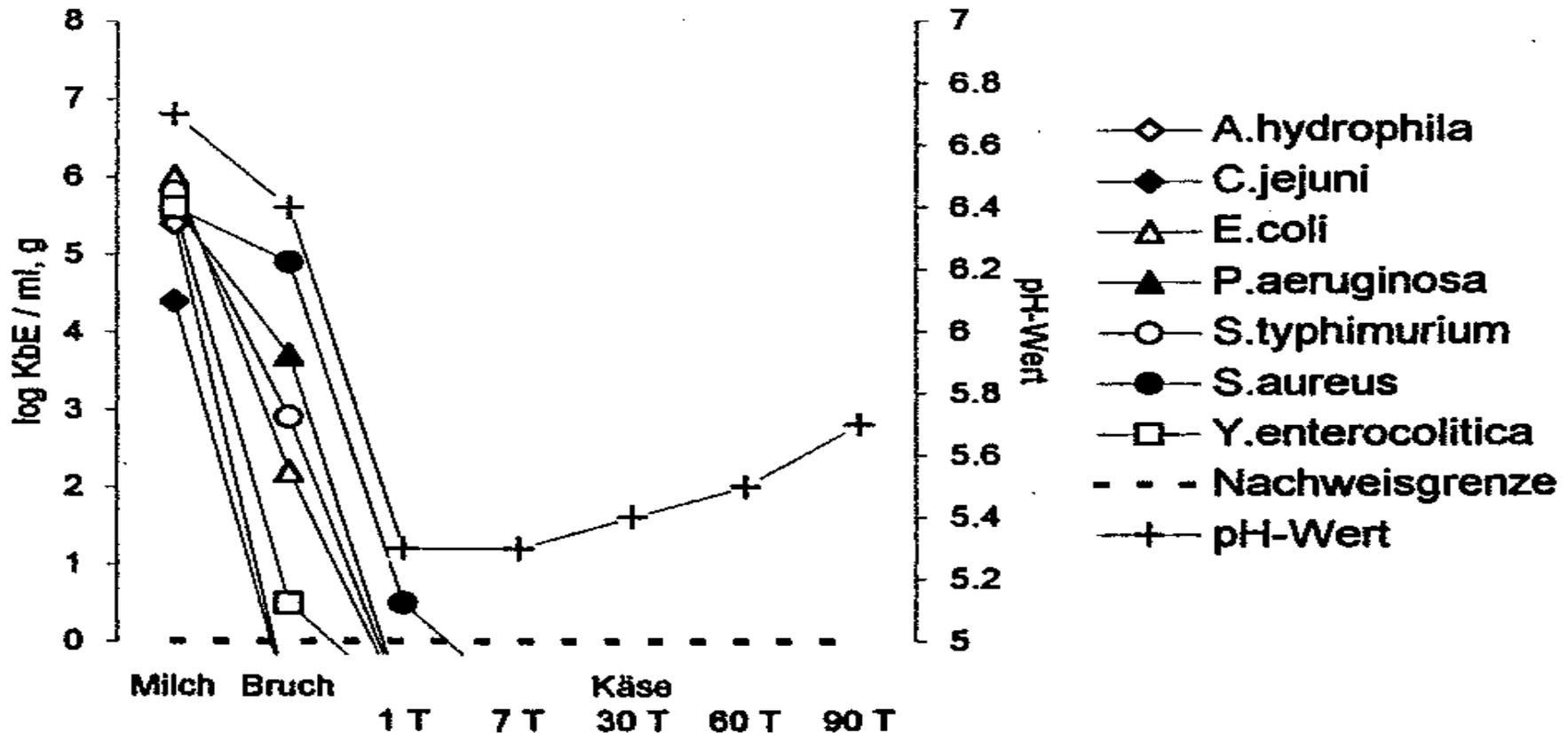


Abb. 2: Verlauf der Keimzahlen der potentiell humanpathogenen Bakterien (log KbE) im Vergleich mit dem Verlauf des pH-Wertes während der Herstellung und Reifung von Modellhartkäse (nur Versuche mit dem längsten Überleben der Bakterien dargestellt; T = Tage)
 Seg.: Bachmann, Agroscoop, 2005, CH)

Queso Emmental

- leche cruda
- formación de gas por medio de esporulados anaerobios



Que hacer ?

Exigencias a la carga microbiana de la leche cruda

Directiva de la CE (2073/2005): **$< 10^5$ UFC/ml**

Microorganismos patógenos: **no hay**

Esporulados anaerobios:

Queso Emmental

- leche cruda
- formación de gas por medio de esporulados anaerobios



Que hacer ?

- prohibir el uso de esilage (siempre esporulados anaerobios +)

Queso Emmental

Que hacer ?



Queso Emmental

Que hacer ?



- prohibir el uso de esilage (siempre esporulados anaerobios +)
en el caso del uso de la leche cruda para la fabricación de queso duro

Exigencias a la carga microbiana de la leche cruda

Directiva de la CE (2073/2005): < 10⁵ UFC/ml

Microorganismos patógenos: no hay

Esporulados anaerobios: no hay

- se procesa leche - producida sin esilage**
- en el caso de queso duro (Emmental)**

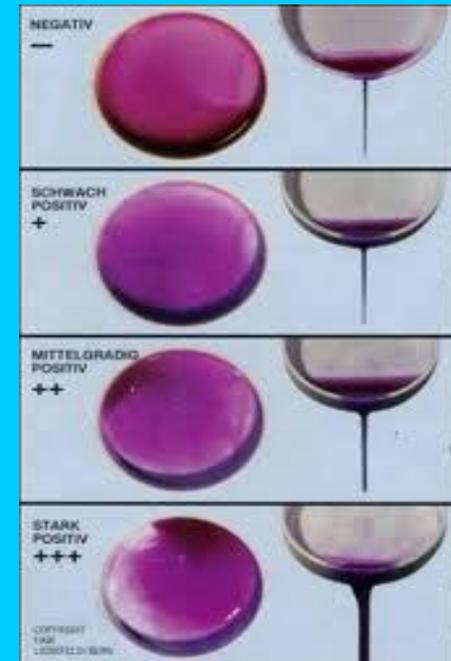
Exigencias a la microbiología de la leche cruda

Otras exigencias

- < 150.000 / ml células somáticas**

Recomendaciones

Aplique la Prueba de California Mastitis antes del ordeño



Exigencias a la carga microbiana de la leche cruda

Otras exigencias

- < 150.000 / ml células somáticas
- se analiza con regularidad:

Staph. aureus como indicador para la mastitis

Exigencias a la carga microbiana de la leche cruda

Otras exigencias

- < 150.000 / ml células somáticas
- se analiza con regularidad:
 - *Staph. aureus* como indicador para la mastitis
 - sustancias inhibitorias

Queso blando

- **leche pasteurizada**
- **formación de gas (hinchazón) por medio de bacterias coliformes (resistente a las sustancias inhibitoras)**
- **Substancias inhibitoras eliminan las bacterias de los cultivos (gram pos.)**



Queso blando

Que hacer?



- evitar la recontaminación con bacterias coliformes ?
- determinar las sustancias inhibitorias antes del proceso ?
- calentar la cuajada por más tiempo ?
- cambiar los cultivos iniciadores ?

Pruebas / Métodos para la detección de sustancias inhibidoras en leche cruda

- prueba de acidificación de yogur
- prueba de reducción de negro-brillante
- prueba de „DELVO-SP-multi[®]“
- prueba de “PENZYM[®]“
- prueba de “SNAP[®]“
- prueba de “CHARM[®]“



Prueba de reducción de negro brillante (BRT)



Exigencias a la carga microbiana de la leche cruda

Otras exigencias

- < 150.000 / ml células somáticas
- se analiza con regularidad:
 - *Staph. aureus* como indicador para la mastitis
 - sustancias inhibitorias
 - se procesa la leche cruda de solo dos ordeños

Agenda

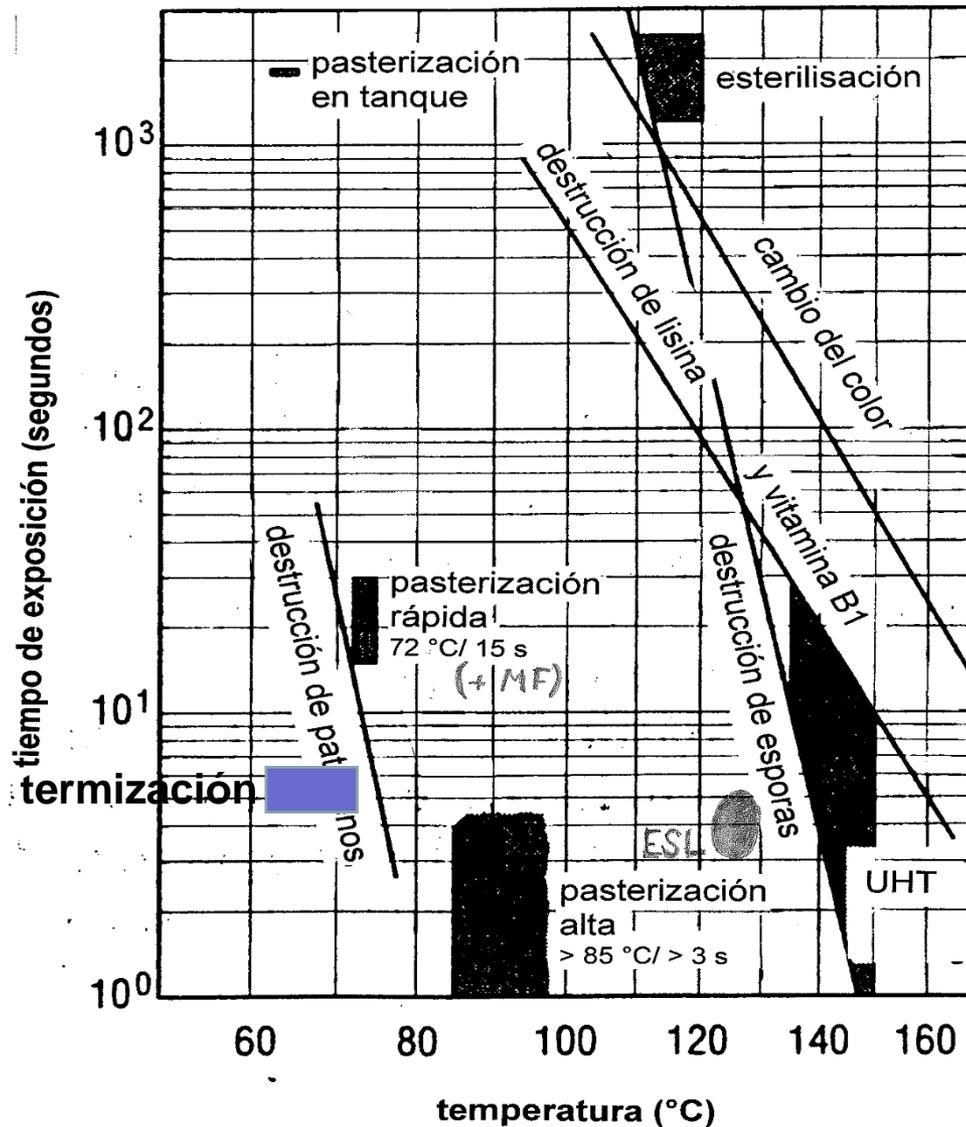
Exigencias a la microbiología de la leche cruda

Tecnologías para mejorar la leche de quesería en el sentido microbiológico

Tecnologías para mejorar la leche de quesería en el sentido microbiológico

Termización

Diagrama de temperatura / tiempo para el tratamiento térmico de la leche (líneas de efectos similares)



Tecnologías para mejorar la leche de quesería en el sentido microbiológico

Termización

64 - 69 °C, 5 - 40 s

- **tratamiento térmico moderado**
- **reducción de las bacterias gramnegativas (psicrótrofas, proteolíticas, lipolíticas)**
- **no elimina los patógenos**
- **se mantienen las características de la leche cruda**

ventajas:

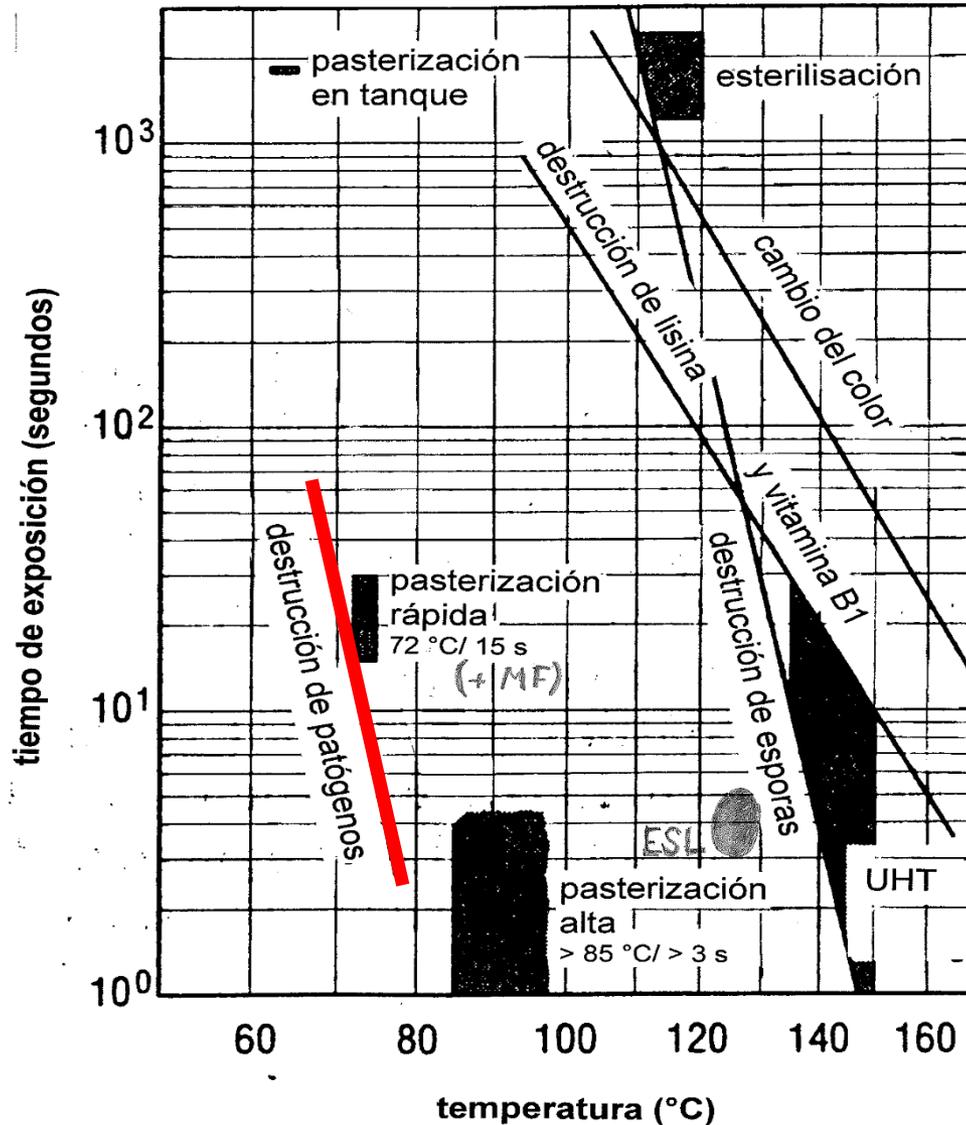
- **rendimiento sube: 0,1.....0,3 kg queso / 100 litros leche**
- **calidad de los quesos está estandarizada**
- **mejoramiento de la coagulación**
- **reducción del riesgo microbiológico**

Tecnologías para mejorar la leche de quesería en el sentido microbiológico

Termización

Pasteurización

Diagrama de temperatura / tiempo para el tratamiento térmico de la leche (líneas de efectos similares)



Seg.: Kessler, Horak, Kulozik, 2004

Tecnologías para mejorar la leche de quesería en el sentido microbiológico

Termización

Pasteurización

- elimina los MO patógenos**

Efectos de un tratamiento térmico

Tratamiento térmico	Pasteurización		UHT	Esterilización
	HTST	Past. alta		
Definición de los procesos				
temperatura (°C)	72 - 75	> 85	135 - 150	> 110 - 120
tiempo de exposición (s)	> 15 - 30	> 2	2 - 20	> 20 min
Cambios causados por los procesos				
Destrucción MO patógenos MO termodúricos MO esporulados	●●●●● ● -----	●●●●● ●●●● -----	●●●●● ●●●●● ●●●●●	●●●●● ●●●●● ●●●●●
Desnaturalización β-lactoglobulina proteínas del suero caseína membrana de los glóbulos de grasa	○ ----- ----- -----	○●● ●● ● ●●	○○●●● ○○●●● ●● ●	●●●●● ●●●●● ●● ●
Pérdida de vitaminas tiamina (Vit. B1) riboflavina (Vit. B2) À.ascórbico (Vit. C)	----- ----- ●	----- ----- ●	----- ----- ●	●● ----- ●
Pérdida de aminoácidos lisina	-----	-----	-----	●●
Cambios de sabor	-----	●	○●	●●●●

- = 100 %
- = muy fuerte
- = fuerte
- = débil
- = casi no detectable /sin efecto
- = variable
- = no detectable / sin efecto

Tabla seg. : Kessler H.G.,
Milcherhitzung – Verfahren und Effekt,
Handbuch Milch, 10/92, Behr's Verlag

Tecnologías para mejorar la leche de quesería en el sentido microbiológico

Pasteurización

- elimina los MO patógenos
- elimina los MO gramnegativos (nocivos para el queso)
- leche pasteurizada es obligatoria para leche de quesería utilizada para queso blando, queso crema, requesón

!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!! leche cruda !!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!
solamente para queso de pasta dura (emmental)
porque MO patógenos no sobreviven la maduración
(anaerobiosis); (maduración: > 3 meses)

Desventajas para la aptitud quesera de la leche implicada en la pasteurización

- cambios en la estructura de las micelas de la caseína**
- denaturalización de las proteínas del suero**
- agregación de la β -láctoglobulina a la caseína**
- reducción de la aptitud para la fermentación**
- inactivación de enzimas de la leche importantes para la maduración**
- el tiempo de coagulación se prolonga**
- reducción del desuerado**
- cuajada suave**
- la pasteurización no destruye las esporas de los clostridios, sino activa su germinación**

Tecnologías para mejorar la leche de quesería en el sentido microbiológico

Termización

Pasteurización

Desgerminación por el método peróxido - catalasa

Tecnologías para mejorar la leche de quesería en el sentido microbiológico

Desgerminación por el método peróxido – catalasa

Objetivo: disminuir la carga microbiana mediante una sustancia química

Tecnología: peróxido = peróxido de hidrógeno = agua oxigenada = H_2O_2

tratamiento:

- 0,02.....0,08 % agua oxigenada
- 52 - 60 °C, 30 s - 5 min
- 32 °C, temperatura de la coagulación enzimática
- se agrega la catalasa ($H_2O_2 + catalasa = H_2O + O$)
- se espera 30 min
- la determinación de peróxido tiene que ser negativa.

ventajas:

- las características de la leche cruda se conservan mejor comparado con la pasteurización
- el queso tiene un color más natural
- mejoramiento del rendimiento
- destrucción de las bacterias coliformes

desventajas:

- hay que agregar una sustancia química (de alta calidad, sustancia pura)
- destrucción casi total de la vitamina C
- destrucción de *Mycobacterium tuberculosis*, *Brucella abortus*, *Staphylococcus aureus* no está asegurada
- hay que agregar una cantidad más alta de los cultivos iniciadores
- es más cara y laboriosa, comparando con la pasteurización
- la tecnología esta prohibida en Alemania
- en los países del sur y en los EEUU se aplica esta tecnología para la producción de queso duro p.ej. emmental !!!!!

Tecnologías para mejorar la leche de quesería en el sentido microbiológico

Termización

Pasteurización

Desgerminación por el método peróxido – catalasa

Bactofugación

Bactofugación

Problema: esporas de clostridio provocan la hinchazón tardía en los quesos de pasta dura y semidura



Bactofugación

Objetivo:

- < 1 espora / ml
- evitar el uso de nitrato en los quesos de pasta semidura

Tecnología: - bactofugación

- reducción de las esporas en el 99 % (100 esp / ml → 1 esp / ml)

densidad

leche = 1,033 g/cm³

bacterias = 1,07 - 1,115 g/cm³

esporas = 1,32 - 1,305 g/cm³

- 100 l leche = 96 l leche + 4 l bactofugado

- el bactofugado tiene una alta concentración de proteínas (~ 5%) y de esporas
⇒ tratamiento térmico (140 °C) del bactofugado
⇒ después se agrega el bactofugado a la leche de quesería

- por la bactofugación se reduce también
el recuento total (80 %) y
el número de las esporas aerobias (90 %)

Tecnologías para mejorar la leche de quesería en el sentido microbiológico

Termización

Pasteurización

Desgerminación por el método peróxido – catalasa

Bactofugación

Premaduración de la leche de quesería

Premaduración de la leche de quesería

- Objetivo:**
- conseguir que las bacterias lácticas se adapten a la leche y que se multipliquen moderadamente (grado SH)
 - mejorar el estado de hidratación de la caseína
 - incrementar el rendimiento quesero
 - estandarizar la leche de quesería

Tecnología: - inocular la leche de quesería con bacterias lácteas

> 12 °C

riesgo de crecimiento de microorganismos de recontaminación

⇒ la leche de quesería no debe ser recontaminada

	% del inóculo	tiempo temperatura
quesos de pasta dura	0,01	14 - 24 h 6 - 10 °C
quesos de pasta blanda	0,3	14 - 24 h 9 - 12 °C

Tecnologías para mejorar la leche de quesería en el sentido microbiológico

Termización

Pasteurización

Desgerminación por el método peróxido – catalasa

Bactofugación

Premaduración de la leche de quesería

Aplicación de sustancias bacteriostáticas

Aplicación de sustancias bacteriostáticas

Nitrato (NaNO₃)

- concentración aplicada: 0,1 – 0,2 g NaNO₃ / l leche
- concentración máxima aceptada: 5 mg NaNO₃ / kg queso

Nitrato inhibe la germinación de las esporas de Clostridium.
La concentración de nitrato se baja durante de la maduración del queso (maduración > 5 semanas).

Nitrato en concentraciones altas es sustancia nociva!

Nisina

- nisina (sus. Antibact., GRAM+, E234) inhibe los esporulados anaerobios pero también inhibe propionibacterias por eso en queso de pasta dura no se desarrollan las propionibacterias y no se forman los agujeros típicos.

La aplicación de cultivos iniciadores aptos para la formación de nisina es difícil.

Lisozima (Muramidasa, E1105)

- afecta la lisis de la pared celular de las bacterias (Clostridium)
- cantidad de uso: 10 – 25 mg lisozima / l leche
- efecto óptimo en un pH 5,0 – 6,5.

Exigencias a la microbiología de la leche para su uso como materia prima en la quesería

Resumen

La leche como materia prima en la quesería tiene que cumplir con varias exigencias – baja carga microbiana, ausencia de patógenos y esporulados anaerobios.

En el lugar del ordeño y almacenamiento de la leche cruda hay que aplicar varias precauciones para que la calidad microbiana no se peora.

Hay varias tecnologías para influir la aptitud quesera en el sentido microbiológico para que la leche cumple con las exigencias microbianas.



Muchas gracias por su
atención!

Dr. R. Ellner