

ACOMPANHAMENTO MICROBIOLÓGICO DURANTE A ELABORAÇÃO DE MOZZARELLA

Seguimiento microbiológico durante la elaboración de mozzarella

Gutiérrez, C.^{1*}
Draksler, D.¹
Nuñez, M.¹
González, S.^{1,2}
Pesce de Ruiz Holgado, A.^{1,2}
Otaviano, A. R.³
Cadavid, H.C.⁴

RESUMO

La leche de búfala constituye un excelente alimento para el consumo humano directo y para la fabricación de derivados. El objetivo de este trabajo fue realizar un estudio comparativo de la variación de pH y de los recuentos de coliformes y bacterias lácticas durante la elaboración y conservación (al vacío y en suero) de mozzarella utilizando leche cruda y pasteurizada. Para ello se procesaron muestras de ambas leches, cuajada, masa hilada, mozzarella antes y después de la salmuera y a los 4, 7 y 15 días de elaboración. Diluciones adecuadas de cada una de las muestras fueron sembradas en medios de cultivos selectivos. Los resultados mostraron mayores recuentos de coliformes totales hasta la fase de hilado al utilizarse leche cruda en comparación a la pasteurizada; posteriormente esta población bacteriana disminuyó en ambas elaboraciones. En cuanto a las bacterias lácticas sólo se observaron menores recuentos una vez pasteurizada la leche. En referencia a los tipos de conservación se observó un descenso gradual del pH y una estabilidad en los recuentos bacterianos en la mozzarella conservada en suero. En el caso del queso envasado al vacío, el pH fue más bajo y presentó pequeñas variaciones en los recuentos microbianos. Estos resultados permiten concluir que la fase de hilado presenta un potencial microbicida al reducir la carga microbiana del queso, comparable al de la pasteurización. La conservación del queso en suero demostró mantener los recuentos bacterianos evaluados y el pH más estables en el tiempo.

Palavras-chave: leche, búfala, mozzarella, microbiología.

INTRODUCCIÓN

En países en vías de desarrollo, la leche de búfala es responsable de la radicación de familias en áreas rurales y de la mejora de prácticas agrícolas familiares. Por lo tanto, se trata de una excelente alternativa para el desarrollo de pequeñas cooperativas de productores, lo cual convierte al búfalo en un irremplazable productor de leche. (Preston, 2001; Rocha Loures, 2001; Zicarelli, 2001).

Si bien diversos trabajos demuestran que la composición química de la leche de búfala varía de acuerdo a la región donde es producida, su elevado valor nutritivo es invariable (Calandrelli, 2002; Cunha Neto, 2003). La leche de búfala presenta características químicas que la distinguen de la de

otras especies animales: 82,5% agua, 17,5% extracto seco total, 7,8 % de grasa, 4,9% de proteína y 0,8% de cenizas. Se destaca también por presentar menores contenidos de colesterol, sodio y potasio y por una mayor riqueza en calcio y fósforo (Biafora y col., 1999).

Su derivado lácteo más famoso en el mundial es la mozzarella, queso de "pasta filata", típico de Italia. Se trata de un producto fresco, de elaboración artesanal e industrial, de forma y tamaño variados, mojado, brillante y blanco; el mismo se vende envasado al vacío o flotando en suero. Debe ser flexible, no gomoso y poseer cierto grado de humedad en su estructura. Como es un queso fresco debe consumirse dentro de los 15 días de su elaboración. Son estas características

* Tel.: 0054-381-4310465, Tucumán, Argentina. E-mail: valeriearg@yahoo.com.ar

1 Centro de Referencia para Lactobacilos (CERELA - CONICET), Chacabuco 145, CP 4000, San Miguel de Tucumán, Argentina.

2 Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán, Ayacucho 471, CP 4000, San Miguel de Tucumán, Ar.

3 Bolsa Sanduiche/CAPES/CERELA - FCAV/Unesp - Jaboticabal, SP.

4 Doutorando - FCAV/Unesp-Jaboticabal,SP, Universidad de Antioquia - Medellín, Co.

y el hecho que al derretirse por la cocción se torne en una masa de consistencia elástica, lo que lo convierte en un producto de gran popularidad, particularmente en Italia y otros países europeos. En Argentina, la producción de leche de búfala destinada a la elaboración de mozzarella es incipiente y en pequeña escala; sólo un establecimiento lechero realiza la venta de este queso con marca registrada (Zava, 2004).

Existen pocos antecedentes científicos sobre la microbiología de la leche y mozzarella de origen bubalino. Bianchi Salvadori y col. (2000) obtuvieron recuentos elevados de coliformes en leche cruda (105 UFC/g) mientras que en el queso estos valores descendieron a 50 UFC/g. En el caso de la leche pasteurizada, esta población estuvo ausente y en el queso sólo se encontraron 20 UFC/g. Con respecto a los recuentos de bacterias lácticas totales, éstos oscilaron entre 104-105 UFC/g en leche cruda, mientras que en el producto final fueron de 104 – 106 UFC/g. En leche pasteurizada obtuvieron valores similares (102-106 UFC/g) después del agregado del fermento, manteniéndose estos valores constantes en el queso. Oommen y col. (2002) encontraron mayores recuentos de bacterias lácticas totales en quesos elaborados con leche pasteurizada, los cuales oscilaron entre 106 y 108 UFC/g.

El objetivo del presente trabajo fue realizar un estudio comparativo de la variación de pH y de los recuentos de coliformes (totales y fecales) y bacterias lácticas (mesófilas y termófilas) durante la elaboración y conservación (al vacío y en suero) de mozzarella, utilizando leche cruda y pasteurizada.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de leche de búfala

La leche utilizada para el presente estudio fue obtenida de un rodeo experimental de 14 búfalas cruce Murrah x Mediterráneo, pertenecientes al establecimiento "Los Quiles", ubicado en el departamento Leales, en la subregión denominada "Llanura deprimida Salina Seca-Subhúmeda" de la provincia de Tucumán, Argentina (Zuccardi, R.S; Fadda, G.S, 1975). La leche fue recolectada a partir del único ordeño diario realizado en forma manual. Todos los animales se encontraban en el período medio de la lactancia y su alimentación estaba basada en el pastoreo de especies vegetales naturales.

Elaboración de mozzarella

La elaboración del queso mozzarella fue realizada de acuerdo a la metodología descrita

por Nascimento y Moura Carvalho (1993). La leche fue filtrada y separada en dos lotes: 10 litros para la elaboración de mozzarella con leche cruda y otros 10 litros para la elaboración de queso con leche pasteurizada. A la temperatura de $38^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ fue agregado el fermento y posteriormente el cuajo. Una vez formada la cuajada, ésta fue cortada y colocada en moldes a temperatura ambiente para su desuerado. Al cabo de 18 horas, cuando la masa alcanzó el "punto de hilado" fue introducida en agua a una temperatura de 85°C para su amasado (Figura. 1). Al adquirir la elasticidad suficiente, se le dio forma de trenza (Figura. 2). Posteriormente, el queso fue colocado en agua fría y luego en salmuera (preparada al 20% en agua hervida y enfriada a 10°C) durante 1 hora. Finalmente fueron tomadas muestras individuales las cuales fueron envasadas al vacío y en suero.

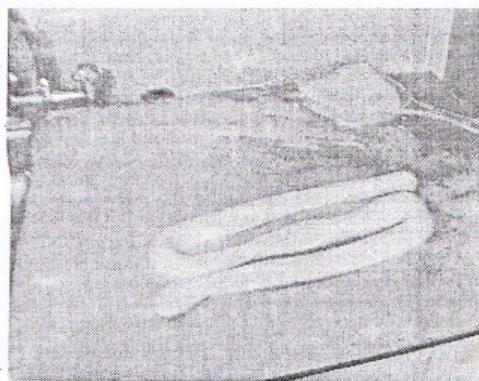


Figura 1. masa hilada

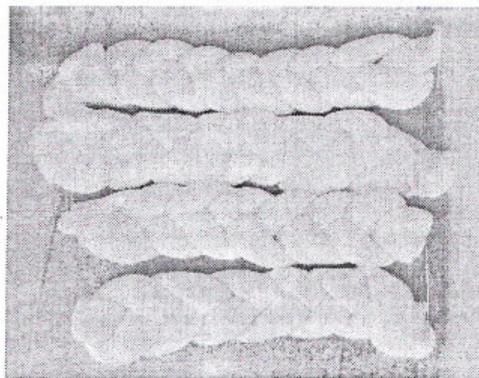


Figura 2. mozzarella en trenzas

Procesamiento de las muestras

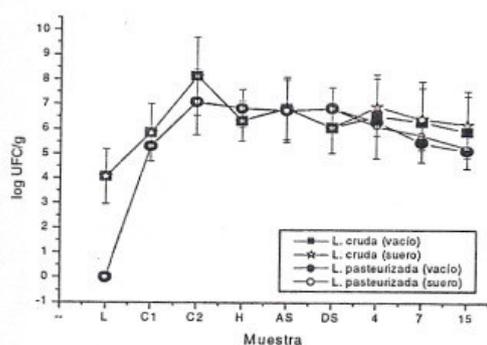
Las muestras analizadas fueron: leche (cruda y pasteurizada), cuajada 1 (recién elaborada), cua-

jada 2 (después de 18 horas a temperatura ambiente), masa hilada, queso antes y después de colocar en salmuera y mozzarella a los 4, 7 y 15 días de conservación. En cada uno de los muestreos, fueron pesados 10 g de muestra, los cuales fueron homogenizados (Stomacher 400, SEWARD) junto con 90 ml de solución de citrato de sodio (2%, p/v) precalentada a 45°C, obteniéndose así la dilución 10-1. Se realizaron diluciones sucesivas, las cuales fueron sembradas en medios de cultivo selectivos: MRS agar para bacterias lácticas y Violeta Rojo Bilis agar para coliformes. Las placas de Petri fueron incubadas a 30°C en el caso de coliformes totales y bacterias lácticas mesófilas, durante 18-24 horas y 48 horas, respectivamente, y a 45°C en el caso de coliformes fecales y bacterias lácticas termófilas durante 18-24 horas y 48 horas, respectivamente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con respecto a los coliformes fecales, solamente fueron encontrados en las muestras de leche cruda en el orden de 103 UFC/ml.

En referencia a los coliformes totales, en la leche cruda fueron observados recuentos de 104 UFC/g, los cuales aumentaron hasta 107 UFC/g en la cuajada 2 (Figura. 3). Este incremento es normal y puede ser explicado por la retención física de los microorganismos en los coágulos, como así también por su multiplicación. Este fenómeno fue comprobado por otros autores durante la elaboración de quesos de leche caprina (Tornadizo y col., 1993) y ovina (Medina y col., 1991). Valores similares fueron encontrados por Cunha Neto (2003) en muestras de leche cruda de búfala, con recuentos de 102 - 106 UFC/ml.



L = leche; C1 = cuajada recién elaborada; C2 = cuajada de 18 horas; H = hilado; AS = antes de la salmuera; DS = después de la salmuera; 4, 7 y 15 = días de conservación.

Figura 3. Evolución de coliformes totales

En la fase de hilado fue donde se evidenció una disminución significativa de la población de coliformes (105 UFC/g), lo cual estaría demostrando el potencial microbicida de esta etapa. Resultados similares obtuvieron Silva y col. (1999) y Bianchi Salvadori y col. (2000), los cuales sugirieron la eficiencia de este proceso comparable a la pasteurización de la leche.

En los pasos siguientes al hilado, los recuentos se mantuvieron constantes en el orden de 103 - 104 UFC/g, tanto en los quesos envasados al vacío como en los conservados en suero.

Con respecto a la leche pasteurizada, fueron determinados recuentos crecientes hasta 105 UFC/g en la cuajada, los cuales disminuyeron 1,3 unidades log posterior al hilado. A partir de aquí, la población de enterobacterias continuó disminuyendo hasta ubicarse en el orden de 102 y 103 UFC/g en los quesos envasados al vacío y en suero. Estos recuentos se ajustan a los requisitos microbiológicos del Código Alimentario Argentino para quesos de humedad mayor a 55% con bacterias lácticas viables y abundantes, los cuales admiten un máximo de 1000 coliformes/g (Figura. 3).

En referencia a las bacterias lácticas mesófilas (BAL m), se observó que en la leche cruda los valores se ubicaron en el orden de 104 UFC/ml, aumentando su número a 108 UFC/g en la cuajada 2. Mayores recuentos fueron obtenidos en leche cruda por Iyengar y col. (1967) y Cunha Neto (2003), con 106 UFC/ml y 107 UFC/ml, respectivamente.

En la masa hilada, los recuentos decrecieron casi 2 unidades log para mantenerse en este orden (106 UFC/g) hasta el final del ensayo (Figura. 4).

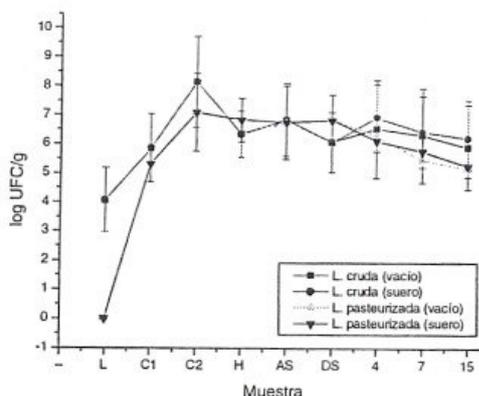


Figura 4. Evolución de bacterias lácticas mesófilas

En leche pasteurizada los recuentos de BAL m se encontraron en el orden de 107 UFC/g de cuajada 2 para disminuir a 105-106 UFC/g en las etapas siguientes y hasta el final del ensayo (Figura. 4).

4). Addeo y Coppola (1983) obtuvieron recuentos semejantes, con valores en el orden de 10⁸ antes del proceso de hilado, 10⁶ después del mismo y 10⁵ durante la inmersión en salmuera.

En cuanto a las bacterias lácticas termófilas (BAL t), éstas fueron observadas en muy bajo número en la leche fluida (10-20 UFC/ml) aumentando al orden de 10⁵ UFC/g en la cuajada 2. Posterior al hilado, este número disminuyó 2 unidades log y se mantuvo entre 10² -10³ UFC/g hasta los 15 días de conservación de los quesos (Figura. 5). Mayores valores fueron determinados por Addeo y Coppola (1983), quienes obtuvieron recuentos de 10⁸ en la cuajada antes de ser hilada, los cuales disminuyeron una unidad log luego de este proceso y descendiendo aún más en la etapa de salado (10⁴).

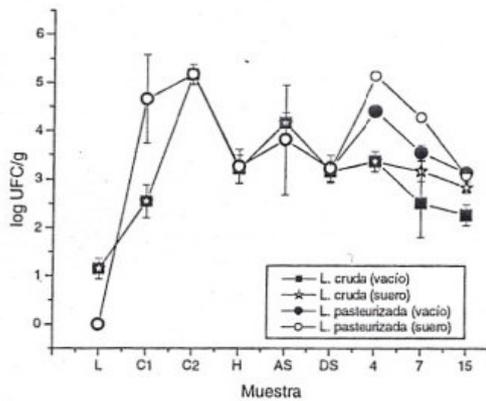


Figura 5. Evolución de bacterias lácticas termófilas

Si bien no existen diferencias significativas entre los recuentos de las poblaciones bacterianas estudiadas de los dos tipos de conservación de la mozzarella, pudo notarse un aumento de la flora termófila a los 4 días (más notorio en los quesos elaborados a partir de leche pasteurizada) y luego una paulatina disminución de esta población en los quesos mantenidos en suero; pequeñas variaciones fueron observadas en los quesos envasados al vacío.

En referencia a la flora mesófila, se observaron mayores recuentos en los quesos elaborados a partir de leche cruda, aunque sin ser estadísticamente significativos.

En lo que respecta a la cinética de la acidificación, los valores de pH determinados en leche fluida oscilaron entre 6,4 - 6,6, similares a los mencionados por otros autores (Bonassi y col., 1979; Furtado 1980; Hühn y col., 1991; Patiño, 2004).

En los pasos siguientes de la elaboración de la mozzarella, el pH continuó descendiendo hasta

un valor de 5,2, punto en el cual se comenzó a "hilar" la masa. Este tipo de elaboración, coincide con la llevada a cabo por Yu y Gunasekaran (2005), mientras que Altiero y col. (1984) comienzan el proceso de hilado a un pH menor (4,8 - 4,9).

En el queso conservado al vacío, el pH se mantuvo a un pH de 5,2 una vez retirado de la salmuera y descendió a un valor de 4,8 el día 15 de conservación.

En el queso conservado en suero, los valores de pH se mantuvieron más estables, descendiendo de 5,2 a 5,05 al final del ensayo.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos durante la elaboración de mozzarella con leche cruda y pasteurizada permitieron comprobar un efecto microbicida de la fase de hilado, comparable al del proceso de pasteurización, sobre las dos poblaciones bacterianas evaluadas (coliformes y lácticas), al disminuir los recuentos en casi 2 unidades log en ambas elaboraciones.

En cuanto a los tipos de conservación, se concluye que el flotamiento en suero presentó valores de pH más estables a lo largo de los 15 días con respecto al envasado al vacío, aunque las diferencias obtenidas no fueron significativas.

RESUMO

O leite de búfala constitui um excelente alimento para o consumo humano direto e para a manufatura de derivados. O objetivo deste trabalho foi realizar um estudo comparativo da variação do pH e das contagens de coliformes e bactérias lácticas durante a elaboração e conservação (com e sem soro) de mozzarella utilizando leite cru e pasteurizado. Para isto processaram-se amostras das duas leites, coalhada, massa filada, mozzarella antes e depois da salmoura e aos 4, 7 e 15 dias de elaboração. Diluições adequadas de cada uma das amostras foram semeadas em meio de cultura seletivo. Os resultados mostraram maiores contagens de coliformes totais até a fase de filado ao se utilizar o leite cru em comparação ao leite pasteurizado; posteriormente esta população bacteriana diminuiu em ambas elaborações. Em quanto às bactérias lácticas só observaram-se menores contagens uma vez pasteurizada o leite. Em referência aos tipos de conservação, observou-se uma redução gradual do pH e uma estabilidade nos contagens bacterianos na mozzarella conservada em soro. No caso do queijo embalado ao vazio, o pH foi mais baixo e apresentou pequenas variações na contagem microbiana. Estes resultados permi-

tem concluir que a fase de filado apresenta um potencial microbiana ao reduzir a carga microbiana do queijo comparado ao da pasteurização. A conservação do queijo em soro demonstrou manter as contagens bacterianas avaliadas e o pH mais estável no tempo.

Palavras-chave: leite, búfala, mozzarella, microbiologia.

ABSTRACT

Buffalo's milk is an excellent food for direct human consumption and manufacture. The objective of this work was a comparative study of the variation of pH and the number of coliforms and lactic bacterium during the elaboration and conservation (vacuum and in serum) of mozzarella utilizing crude and pasteurize milk. There were carried sample of milk, curdled milk paste filata, mozzarella before and after of salt and at 4, 7 and 15 days of elaboration. Adequate dilutions of each sample were seeding in selective cultivation. The results showed greater number of total coliforms until paste phase with crude milk respect to pasteurize milk; later this bacterium population decrease in both methods of elaboration. The lactic bacterium only were observed when the milk was pasteurize. Respect to types of conserved a gradual decreased in pH and um stability in the number of bacteriums in the mozzarella. In the case of cheese at vacuum, the pH was lowest and present small variations in the recount of bacteries. This results permit concluded that the paste phase had um antimicrobial potential because reduce the number of bacteries in cheese, comparable with the pasteurization. The conservation of cheese in serum demonstrated maintain bacterium recount evaluated and the pH more stable during the time.

Keywords: milk, búfalo, mozzarella, bacterium recount.

AGRADECIMIENTOS

Al propietario del Establecimiento "Los Quiles", Sr. Alberto Parra, por su contribución para realizar el presente trabajo.

A la Sra. Angélica Yolanda Borchia por su valiosa colaboración.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ADDEO, F., COPPOLA, S. 1983. Aspetti tecnologici e microbiologici della trasformazione del latte di bufala in mozzarella e ricota. *Il Latte*, vol. VIII: 706-724.

ALTIERO, V., ADDEO, F., MASI, P. 1984.

Influenza dell'acidificazione della cagliata al momento della filatura sulla qualità e sulla struttura della mozzarella di bufala. *Il Latte*, vol. IX: 764-774.

BIANCHI SALVADORI, B., ROTTIGNI, C., GERRIERO, P. 2000. Il formaggio Mozzarella Fiordilatte. Nota II: Preparazione del formaggio mediante starter formulato con batteri lattici autoctoni della zona geografica di produzione del Fiordilatte. *Ind. Latte XXXVI* (3-4): 3-18.

BIAFORA, I., CUNTO, G., ESPOSITO, M., GIORDANO, F. 1999. I formaggi prodotti nel mondo con latte di bufala. *Bubalus Bubalis I*: 17-21.

BONASSI, I. A., VILLARES, J. B., GODONI, J. S., ROCHA, G. P. 1979. Leite de búfala producido na região de Botucatu: I. Variação anual na composição química e nas propriedades físico-químicas. En: Ramos, A. de A.; Villares, J. B.; Moura, J.C. de. *Bubalinos*. Campinas: Fundação Cargill. pp. 310-323.

CALANDRELLI, M. 2002. Manual on the production of traditional buffalo mozzarella cheese. HYPERLINK "javascript:openPage ('http://www.fao.org/ag/aga/agap/lps/dairy/dap/mozzarella.doc')" <http://www.fao.org/ag/aga/agap/lps/dairy/dap/mozzarella.doc>

CUNHA NETO O. CARNEIRO DA. 2003. Avaliação do iogurte natural produzido com leite de búfala contendo diferentes níveis de gordura. Tesis de maestría. Universidad de Sao Paulo, Brasil.

FURTADO, M. M. 1980. Composição centesimal do leite de búfala, na zona da mata mineira. *Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes"*, Juiz de Fora, vol. 35 (211): 43-47.

HÜHN, S., LOURENÇO Jr., J. B., MOURA CARVALHO, L. O. D., NASCIMENTO, C. N. B., VIEIRA, L. C. 1991. Características, peculiaridades e tecnologia do leite de búfala. Belém: EMBRAPA - CPATU, 51 p. (EMBRAPA - CPATU. Documentos, 57).

IYENGAR, M. K K, NAMBU DRIPAD, V. K. N., DUDAN, A. T. 1967. Effect off heat-treatment of búfalo and cow milk in the manufacture of yogurt. *Indian Journal of Dairy Science* 20:8-10.

MEDINA, M., GAYA, P., NÚÑEZ, M. 1991. Behavior of salmonellae during manufacture and ripening of Manchego cheese. *J. Food Prot.* 45:1091-1095.

- NASCIMENTO, C., MOURA CARVALHO, L. O. 1993. *Criação de búfalos: alimentação, manejo, melhoramento e instalações*. EMBRAPA- SPI. Brasília, D.F. Brasil.
- OOMMEN, B. S., MCMAHON, D. J., OBERG, C. J., BROADBENT, J. R., STRICKLAND, M. 2002. Proteolytic specificity of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* influences functional properties of Mozzarella cheese. *J. Dairy Sci.* 85: 2750-2758.
- PATIÑO, E. 2004. Leche de búfala. Capítulo V de "Búfalos en Argentina". Moglia S.R.L., Corrientes, Argentina.
- PRESTON, T. R. 2001. Livestock as the epicentre for sustainable agricultural development in the tropics. En: "The Buffalo: an alternative for animal agriculture in the third millennium". Proceedings of the VI World Buffalo Congress. Vol 1. Maracaibo, Venezuela.
- ROCHA LOURES, R. 2001. Buffalo production system in the americas. En: "The Buffalo: an alternative for animal agriculture in the third millennium". Proceedings of the VI World Buffalo Congress. Vol 1. Maracaibo, Venezuela.
- SILVA, E. O. T. RAMOS DE, PANETTA, J. C., ISHIZUKA, M. M. 1999. Efeito microbiocida da fase de filagem, durante a fabricação de "mozzarella" elaborada com leite cru de búfala. *Hig. Aliment.* 13 (59): 28-34.
- TORNADIJO, E, FRESNO, J. M., CARBALLO, J., MARTÍN-SARMIENTO, R. 1993. Study of Enterobacteriaceae throughout the manufacturing and ripening of hard goat's cheese. *J. Appl. Bact.* 75:240-246.
- YU, C., GUNASEKARAN, S. 2005. A systems analysis of pasta *filata* process during Mozzarella cheese making. *J. Food Engin.* 69: 399-408.
- ZAVA, M. A. 2004. El búfalo doméstico. Capítulo I de "Búfalos en Argentina". Moglia S. R. L., Corrientes, Argentina.
- ZICARELLI, L. 2001. Buffalo milk production world-wide. En: "The Buffalo: an alternative for animal agriculture in the third millennium". Proceedings of the VI World Buffalo Congress. Vol 1. Maracaibo, Venezuela.