

CAPÍTULO VI

FERMENTOS LÁCTICOS EN QUESERÍA
CULTURES IN CHEESE FACTORY

| | |
|--|-----|
| RESUMEN | 153 |
| ABSTRACT | 154 |
| INTRODUCCIÓN | 155 |
| DEFINICIÓN DE FERMENTOS LÁCTICOS | 155 |
| IMPORTANCIA DE LOS FERMENTOS LÁCTICOS | 156 |
| CLASIFICACIÓN DE LOS FERMENTOS LÁCTICOS | 156 |
| Clasificación en base a la composición del cultivo | 157 |
| Clasificación en base a la actividad metabólica del cultivo | 157 |
| Clasificación en base a la temperatura de crecimiento | 158 |
| Clasificación según la naturaleza de la BAL productora de aroma, gas y sabor | 158 |
| CULTIVOS EMPLEADOS EN QUESOS REPRESENTATIVOS | 159 |
| Queso Brie/Camembert | 161 |
| Queso Gouda/Edam | 161 |
| Queso Pecorino/Parmesano | 162 |
| Queso Emmental/Gruyere | 162 |
| PRESENTACIÓN COMERCIAL DE LOS CULTIVOS LÁCTICOS | 163 |
| Cultivos líquidos | 163 |
| Cultivos congelados. <i>Direct vat set</i> | 163 |
| Cultivos liofilizados. <i>Dry vat</i> | 163 |
| MÉTODO DE PROPAGACIÓN DE LOS CULTIVOS LÁCTICOS | 164 |
| Cultivos comerciales | 165 |
| Cultivo madre | 165 |
| Cultivo intermedio | 165 |
| Cultivo industrial o definitivo | 165 |

| | |
|--|-----|
| PREPARACIÓN DE CULTIVOS LACTICOS | 165 |
| Procedimiento para la obtención de cultivo madre | 165 |
| Procedimiento para la obtención de cultivos intermedios | 168 |
| Procedimiento para la obtención de cultivos industriales | 168 |
| CONCLUSIONES | 169 |
| CUESTIONARIO | 170 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 173 |

RESUMEN

Los cultivos lácticos son muy importantes en la industria de quesería, porque permiten estandarizar las etapas del proceso de elaboración de los quesos como la premaduración, cheddarización o fermentación de la cuajada y maduración a nivel de cava. Adicionalmente, los cultivos lácticos frenan el desarrollo de gérmenes patógenos contribuyendo a la inocuidad de en producto final. Esta revisión tiene como objetivos de conocer los distintos tipos de cultivos lácticos, determinar la composición de las BAL al cual estos forman parte, analizar las diferentes presentaciones comerciales de cultivos lácticos, y sus métodos de propagación. Una de las principales contribuciones en este capítulo, es que realizó un cuadro resumen de los principales cultivos lácticos empleados en quesos representativos y su composición. Además se propone una metodología para la preparación de cultivos por propagación en escala. Los cultivos lácticos pueden ser mesofílicos o termofílicos, y a su vez, son clasificados los cultivos productores de acidez y los cultivos aromáticos o los que producen aroma y flavor en producto final. La forma comercial Direct Vat Set (o DVS) o incorporación directa del cultivo comercial ya sea que este líquido, congelado o liofilizado, es más fácil de manejar a nivel de planta. Sin embargo, el método de propagación por escala, es una alternativa muy buena cuando se consideren los gastos económicos en la adquisición de cultivos comerciales. Por último, los cultivos lácticos contribuyen en asegurar la calidad constante en los quesos desde el punto de vista físico-químico, microbiológico y organoléptico.

Palabras clave. Fermentos lácticos, quesos, propagación en escala, acidificación.

ABSTRACT

Lactic acid cultures are essential in the cheesemaking industry because they standardize the cheese production process, such as pre-maturation, cheddaring, or fermentation of the curd and maturation. Additionally, lactic cultures stop the pathogen's growth, contributing to the end product's safety. This review aims to know the different kinds of lactic cultures, determine their composition, and analyze the different commercial presentations of lactic cultures besides their propagation methods. The main contributions in this chapter are cultures used in representative cheeses and their composition. In addition, a methodology for preparing cultures by scaling up was proposed. Lactic cultures can be mesophilic or thermophilic, and they can be categorized as acidity-producing and aromatic cultures. In the commercial form, Direct Vat Set (DVS), the cultures are poured directly into the milk used to make cheese. Commercial strains can be liquid, frozen, or freeze-dried, ensuring easier manipulation at the level of the cheese factory. However, the propagation method is an excellent choice when cheesemakers seek economic alternatives to reduce the cost of the cultures in the market. Finally, lactic cultures contribute to ensure the standard of cheese quality from the physical, chemical, microbiological, and organoleptic points of view.

Key words. Cultures, cheeses, propagation method, acidification.

INTRODUCCIÓN

Los cultivos lácticos o fermentos lácticos, intervienen en a lo largo del proceso de elaboración de los quesos, especialmente en la premaduración de la leche, cocción y maduración a nivel de cava, además mejora la coagulación y el desuerado, y contribuyen a la biopreservación de los quesos (Johnson, 2014). Los fermentos lácticos utilizan el metabolismo de la lactosa, lactatos y citratos, así como también, la proteólisis de las proteínas y la lipólisis de las grasas, para generar compuestos de sabor y aroma y determinan la textura final del producto (Mathur y Singh, 2005).

Los fermentos empleados en la industria de la quesería están formados por bacterias ácido lácticas de los géneros *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* y *Streptococcus*. También, es posible incorporar en ciertas variedades de quesos, algunos fermentos lácticos secundarios como *Brevibacterium* y *Propionibacterium*, así como hongos (genero *Penicillium*) y levaduras (género *Geotrichum*), el cual van a cumplir diversos roles a lo largo del proceso de maduración (Parra-Huertas, 2010).

La importancia de emplear cepas puras, o mezcla de cepas puras (cultivos mixtos) de fermentos lácticos radica en que, además de darle valor agregado al producto final, se garantiza la obtención de un queso con las características de calidad constante en cuanto a sabor, aroma y textura en el producto final obtenido (Ramírez *et al.*, 2011).

Basados en lo anteriormente señalado, esta revisión tiene como objetivos planteados de conocer los distintos tipos de cultivos lácticos empleados en la industria de quesería, determinar la composición de las BAL al cual estos forman parte, analizar las diferentes presentaciones comerciales de cultivos lácticos, y sus métodos de propagación, además conocer una metodología para la preparación de cultivos madres. Finalmente se concreta toda la información con un cuadro resumen el cual es de utilidad para la escogencia de los principales cultivos lácticos que puedan existir en el mercado.

Al final del capítulo, se proponen un cuestionario de preguntas para fijar los conocimientos relacionados con el tema de cultivos láctico. Así, el lector, junto con la práctica que pueda realizar en laboratorio, tendrá la capacidad para realizar los ajustes en los parámetros requeridos para la preparación de fermentos lacticos (mesofilicos o termofilicos), ya sea para la elaboración de quesos madurados blandos, semiduros y duros a partir de leche pasteurizada.

DEFINICIÓN DE FERMENTOS LÁCTICOS

Los fermentos lácticos se definen como preparaciones que contienen cultivos lácticos puros o una mezcla de ellos, en una gran proporción, los cuales son añadido a la leche, con el objeto de hacer uso de su metabolismo microbiano para producir alimentos fermentados (Hammes y Vogel, 1995; Leroy y De Vuyst, 2004).

Estos cultivos están constituidos por bacterias ácido lácticas y principalmente pertenecientes a los géneros *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus* y *Leuconostoc*. La primera y principal función de estos microorganismos es la formación de ácidos orgánicos, sin embargo

se adicionan a la leche o mezclas lácteas con la finalidad de impartir características deseables o predecibles en el aroma, sabor y textura a los productos lácteos fermentados (Fox y Wallace, 1997).

Como se puede notar, la definición de fermentos lácticos se encuentra delimitado en dos elementos fundamentales: 1. está constituidos por BAL; y 2. utiliza los productos del metabolismo de las BAL para agregar valor en los quesos madurados.

IMPORTANCIA DE LOS FERMENTOS LÁCTICOS

Uno de los beneficios de los fermentos lácticos es lograr alcanzar el pH adecuado en la premaduración de la leche, previo a la coagulación, esto permitirá la optimización de la actividad de la renina y conjuntamente reducir el calcio coloidal para lograr una mayor capacidad buffer, por ende mayor absorción de agua y obtener una cuajada con textura más blanda (Cogan y Hill, 1995).

Por otra parte, los fermentos lácticos son también importantes en la fase de cheddarización o fermentación de la cuajada, sobre todo en los quesos de pasta hilada y en el queso Cheddar. Esta acidificación también es importante en la etapa de cocción o escaldado de la cuajada en la elaboración de quesos semiduros y duros. La combinación de la acidez y calor conducen a una contracción de la cuajada con mayor expulsión del suero, fenómeno fundamental en la elaboración de quesos duros (Chandan y Kapoor, 2011).

Además, los cultivos lácticos pueden emplearse para incrementar el tiempo de vida útil en los quesos. De acuerdo con Gonzalez-Revello *et al.* (2016) el incremento del tiempo de vida útil se debe a la capacidad antimicrobiana de las BAL empleadas en los cultivos lácticos manifestada en la producción de ácidos (ácido láctico principalmente) con la consecuente reducción del pH, a lo que se suma la competencia de nutrientes presentes en el sustrato. Además, los mismos autores señalaron, que las BAL son capaces de producir otras sustancias inhibitorias, tales como: acetaldehído, diacetilo, peróxido de hidrógeno, CO₂ y bacteriocinas.

Otros de los beneficios del uso de los fermentos lácticos es que ellos producen componentes de aroma y sabor para producir un determinado *flavor* y atributos de textura, además de generar gas en forma de CO₂ para producir los “ojos” característicos en los quesos tipo suizo y holandeses (Parra-Huertas, 2010; Chandan y Kapoor, 2011).

Como puede notarse, los fermentos lácticos son importantes, porque ellos intervienen en el proceso de elaboración de los quesos ya sea, produciendo la acidez necesaria para reducir el pH, generar los componentes de sabor y aroma así como la textura que le confieren las características organolépticas final requerida para cada tipo de queso madurado, e incrementan inocuidad y vida útil en los quesos.

CLASIFICACIÓN DE LOS FERMENTOS LÁCTICOS

Los fermentos lácticos pueden agruparse en diferentes categorías dependiendo de su composición, actividad metabólica que tiene sobre un sustrato específico o en base a la temperatura de crecimiento.

Clasificación en base a la composición del cultivo

Según la composición se clasifican en cuatro categorías: **Cultivos definido** de cepa única, formado por una única cepa de una determinada especie de BAL, ejemplo cultivo *Streptococcus salivarius* subesp. *thermophilus*; *Leuconostoc*, algunas cepas de *Lactococcus* o un *Lactobacilo* termófilo. Estos tipos de fermentos son sensibles a los fagos o virus (bacteriofagos) y deben ser empleados en alternancia con otras marcas de fermentos que no contengan BAL emparentadas a nivel fágico o empleos de BAL resistentes a Bacteriofagos, el cual también es una alternativa de intercambio de fermentos a nivel de planta (Eck, 1990). **Cultivo definido múltiple**, formado por varias cepas conocida de una única especie, Ejemplo *Lactococcus lactis* subesp. *lactis/cremori*; **Cultivo definido mixto**, formado por diferentes cepas conocidas de distintas especies, Ejemplo *Lactococcus lactis* subesp. *diacetylactis* y *Leuconostoc mesenteroides* subesp. *cremori*; y **Cultivo indefinido** o artesano, está formado por diferentes especies total o parcialmente desconocidos (Baresford *et al.*, 2001).

Clasificación en base a la actividad metabólica del cultivo

Basados en la actividad metabólica que pueda ejercer sobre un sustrato, se distinguen los cultivos primarios y secundarios, además de los cultivos adjunto y los cultivos no iniciadores. Tanto el cultivo secundarios, como el adjunto y los no iniciadores ejercen su actividad es en la matriz de los quesos a nivel de cava de maduración, mientras que los estárter inician su actividad en la leche.

Los cultivos primarios o cultivos iniciadores (*Starters* en inglés), son empleados para fermentar la lactosa y producir ácido láctico en la fase de premaduración de la leche del proceso de elaboración de los quesos (Casey *et al.*, 2006). Con la producción de ácido láctico, se controla el pH de acuerdo al esquema de producción planificado. La tasa de producción de ácido es crítico en la textura final del producto. Es por ello que toda planta de queso, el maestro quesero debería tener un pHmetro en su laboratorio. Esto afecta la proporción de fosfato cálcico coloidal el cual tiene influencias en la textura, la acidez y funcionalidad del producto final. Ejemplo de este tipo de cultivo es la mezcla de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* con *Lc. lactis* subsp. *cremori*. Adicionalmente los cultivos primarios pueden contener enzimas proteolíticas que contribuyen a la degradación de las proteínas que influyen en la textura de los quesos. Otros ejemplos son las BAL termofílicas como *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subesp. *bulgaricus* y *Lactobacillus helveticus* (Johnson, 2014).

Los cultivos secundarios. Son cultivos que son usados para producir un determinado *flavor* y atributos de textura, además de generar gas en forma de CO₂. En este sentido, Fox y Wallace (1997) citados por Bareford *et al.*, (2001) señalaron que las enzimas proteolíticas que generan los fermentos lácticos degradan las proteínas a aminoácidos convirtiéndolos en componentes del *flavor*. Ejemplo de este tipo de cultivos están las especies *Lactococcus lactis* subesp. *lactis* biovar. *diacetylactis*. *Leuconostoc mesenteroide* subsp. *cremori*, el cual pueden ser empleados en la elaboración de queso Gouda, Edam y queso azul, ya que producen el diacetilo que es un compuesto aromático característico en estos tipos de quesos. El *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shemanii*, genera *flavor* y gas en la elaboración de quesos alpinos como el queso Gruyere y el Emmental partir del metabolismo de los lactatos (Johnson, 2014).

El termino de cultivo adjunto, es empleado cuando los cultivos primarios se usan como cultivos secundarios para reforzar la actividad de generar *flavor*, siempre en menor proporción a como si se tratara de un cultivo primario, ejemplo el *Lactobacillus helveticus* en queso Parmesano y *Geotrichun candidum* en queso Camember y (Johnson, 2014).

Bacterias acido lácticas no iniciadoras. Se conoce en términos en inglés como *Non Starter Lactis Acid Bacteria*; “NSLAB”. Según lo expuesto por Casey *et al.*, (2006), no forman parte de los cultivos iniciadores y están constituidos por cuatro principales grupos: *Lactobacilli* mesofílicos (facultativo heterofermentativo), *Pediococcus*, *Enterococcus* y *Leuconostoc*. Aparecen en forma natural o muchas veces llegan a la leche como contaminante proveniente de los equipos que no han sido saneados adecuadamente. Pueden jugar un rol importante en la formación de un *flavor* deseable o no deseable en los quesos. Varias especies han sido aisladas en forma pura y son empleados comercialmente para mejorar el *flavor* o como microorganismos probióticos. Ej. *Lactobacillus casei* y *Lb. plantarum*, en donde han sido usados en queso Cheddar y queso Manchego.

Clasificación en base a la temperatura de crecimiento

En función a la temperatura óptima de crecimiento, Johnson (2014) refiere que existen dos grupos de fermentos lácticos: fermentos mesofílicos y termofílicos.

Fermentos mesofílicos. Comprenden fermentos que contienen bacterias lácticas mesofílicas que crecen a una temperatura entre 10 a 40 °C con óptimo cercano a 30 °C (Stanley, 1998). Generalmente, los fermentos mesofílicos se les conocen como fermentos tipo “O”. Las cepas que componen este tipo son homofermentativas productores de ácido láctico como los *Lactocococcus lactis subespe. lactis* y *cremori*. Este tipo de cultivos se emplean en la elaboración de quesos de pasta blanda como el queso azul, el Camembert y en quesos de pasta dura como el Cheddar, así como también en queso Cottage y queso Feta, en donde la producción de gas no es deseable (Chr Hansen, 2014).

Fermentos termofílico. Están constituidas por BAL termofílicas que tienen un óptimo de crecimiento entre 37 a 45 °C. Estos fermentos pueden estar compuestos por *Streptococcus salivarius subesp. thermophilus* y varias especies de *lactobacillus* como *Lb. helveticus*, *Lb. delbruekii subesp. bulgaricus* y *Lb. lactis*. Se emplean en la fabricación de quesos de pasta cocida en la cual la temperatura de cocción es entre 40 y 54 °C en queso Gruyere y el queso Parmesano. donde se emplean en la elaboración de quesos hilados cuya temperatura de fermentación es de 37 °C como el Mozzarella (Cogan *et al.*, 1997).

Por lo general, cuando se emplea el *Streptococcus thermophilus*, siempre va acompañado del *L. helveticus* ya que, este último es capaz de fermentar la galactosa el cual es secretada por *S. thermophilus* y además, es altamente proteolítico, proporcionando la proteólisis requerida y el *flavor* deseado.

Clasificación según la naturaleza de la BAL productora de aroma, gas y sabor

Tomando en consideración lo publicado por la compañía Chr Hansen (2014), los cultivos lácteos mesofílicos productores de aroma, gas y sabor se pueden clasificarse en tres tipos. Cultivos L, cultivos D y cultivos LD (Cuadro 1). Siempre vienen acompañados por cultivos mesofílicos tipo “O”, por lo que representan una sub-clasificación de los cultivos definidos múltiples.

Cuadro 1. Tipos de fermentos lácticos mesofílicos y aromáticos empleados en la industria láctea.

| Tipos | Nombre | Usos |
|-------|--|--|
| O | <ul style="list-style-type: none"> • <i>Lactococcus lactis</i> subesp. <i>lactis</i> y <i>cremori</i> | Queso azul, Camembert, Cottage y Feta. |
| L | <ul style="list-style-type: none"> • <i>Leuconostoc mesenteroide</i> subesp. <i>cremori</i> | Queso Gouda, Edam, Tilsit, Manchego. |
| D | <ul style="list-style-type: none"> • <i>Lactococcus lactis</i> subesp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i> | Queso Gouda, Edam y Manchego. |
| LD | <ul style="list-style-type: none"> • <i>Lactococcus lactis</i> subesp. <i>lactis</i> • <i>Lactococcus lactis</i> subesp. <i>cremori</i> • <i>Lactococcus lactis</i> subsp <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i> • <i>Leuconostoc mesenteroide</i> subesp. <i>cremori</i> | Queso Gouda, Edam, quesos madurados por hongos (Brie y Camembert). |

Fuente: Chr Hansen (2014).

Fermentos lácticos tipo L. Cuando el productor de aroma es exclusivamente *Leuconostoc* sp. Empleados en queso Gouda, Edam Tilsit y Manchego.

Fermentos lácticos tipo D. Cuando el productor de aroma es exclusivamente *Lactococcus lactis* subesp. *diacetylactis*. Se usan en queso Edam, Gouda, Manchego y en queso Camembert.

Cultivos lácticos tipo LD. Cuando existen dos BAL productores de aroma como el *Leuconostoc* sp y el *Lactococcus lactis* subesp. *diacetylactis*. Ambos se caracterizan por producir aroma y gas convirtiendo el citrato de la leche en componente del *flavor* como el diacetilo y formación de gas en forma de CO₂. Se usan en queso Edam, queso Gouda y en quesos madurados por hongos como Camembert y Brie.

CULTIVOS EMPLEADOS EN QUESOS REPRESENTATIVOS

Para tener una visión general y aplicabilidad de los diferentes tipos de cultivos en quesos de acuerdo a la textura (Quesos blandos, semiduro y duros) y su capacidad metabólica (glucólisis, metabolismo de los lactatos, citratos, proteólisis y lipólisis) para generar diferentes componentes del *flavor* (notas de dulzor, a nuez, afrutadas, picantes), se presentan a continuación algunos quesos representativo en función al Cuadro 2, que resumen las características más importantes de estos tipos de fermentos.

Cuadro 2. Resumen de la composición de cultivos lácticos en algunos tipos de quesos representativos

| Consistencia del queso | Tipo de queso | Función de los cultivos lácticos ¹ | Composición de Cultivos | | Incorporación como fermentos en la leche |
|-------------------------|--------------------|--|---|------------|---|
| | | | BAL | Referencia | |
| Blando | Camembert/Brie | Ácido láctico, Proteólisis, Lipólisis | • Fermentos tipo "O" | 2, 3 | Tipo "O": 3% ⁶ |
| | | | • <i>Penicillium candidum</i> (Pc) | | Pc:5-10 U/1000 L ³ |
| | | | • <i>Geotrichum candidum</i> (Gc) | | Gc:5-10 U/1000 L ³ |
| Semiduro | Gouda/Edam | Ácido láctico, Diacético, CO ₂ , Proteólisis. | • <i>Lactococcus lactis</i> (LcL) | 3 | 60,75% |
| | | | • <i>Lactococcus cremoris</i> (LcC) | | |
| | | | • <i>Leuconostoc</i> sp. | | |
| | | | • <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i> (LcD) | | |
| | | | | | |
| Duro | Pecorino/Parmesano | Ácido láctico, Proteólisis, Lipólisis | • <i>Streptococcus thermophilus</i> (St) | 4 | 41% |
| | | | • <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>Lactis</i> (LbL) | | |
| | | | • <i>Lactobacillus helveticus</i> (LbH) | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| Emmental/Gruyere | | Proteólisis, CO ₂ | • <i>Streptococcus thermophilus</i> (St) | 5 | St:0,1% ⁶ Lh:0,1% ⁶ Ps:0,05% ⁶ |
| | | | • <i>Lactobacillus helveticus</i> (LbH) | | |
| | | | • <i>Propionibacterium shermanii</i> (Ps) | | |
| | | | | | |

¹Parente y Cogan (2004); ²Manual de Bergey (2009); ³Chr Hansen (2014); ⁴Manglia et al. (2014); ⁵Alavarez y Harper (2004).

⁶Chandan y Kapoor (2011).

Queso Brie/Camembert

Estos quesos presentan textura blanda, alta proteólisis y lipólisis y son madurados por superficie. El tipo de metabolismo empleado es el de los lactatos, por lo que se requiere al inicio la producción de ácido láctico. Debido a la naturaleza aeróbica de los hongos, ellos crecen principalmente en la superficie.

Los hongos empleados para la fabricación del queso Camembert y Brie son el *Penicillium candidum*, *Geotrichum candidum* y *Starters* tipo "O". Los *Starter* tipo "O", contribuyen solo a la producción de ácido láctico el cual serán usados por los hongos y levaduras como fuente de carbono para sus procesos metabólicos (Manual de Bergey, 2009).

A continuación se presentará una descripción más detallada de las funciones del *Penicillium* y *Geotrichum candidum* en el proceso de elaboración del queso Camembert/Brie. La dosis de uso recomendada de los hongos esta entre 5 a 10 unidades por cada 1000 litros de leche (Chr Hansen, 2014). Pueden ser añadidos en la leche, antes de incorporarlos al cuajo o suspender las esporas en agua estéril y luego rociarlos en la superficie (Nicolau, 2012).

Penicillium candidum, es un moho, cuyos conidios vienen liofilizada en su forma comercial. La germinación de los conidios permite el desarrollo de los micelios de color blanco sobre la superficie del queso. Los hongos contribuyen con el aroma y la textura de los quesos a través de la lipólisis de las grasas y proteólisis de las caseínas. El *Penicillium candidum* puede crecer a un rango de pH entre 4,8 y 7,5; concentración de sal entre 1 al 4%, humedad relativa entre 93 a 98% y temperaturas entre 4 a 20 °C (Nicolau, 2012). Los cultivos iniciadores tipo "O" pueden ser incorporados a la leche en una proporción del 3 % (Chandan y Kapoor, 2011).

Geotrichum candidum, es una levadura que crece junto al *Penicillium candidum* en la elaboración de los quesos madurados por superficie. Es adicionado, con el fin de evitar el crecimiento de hongos contaminantes del género *Mucor* y *Aspergillus*. Además, contribuyen con las lipasas y proteasas para liberar ácidos grasos, péptidos y aminoácidos que proporcionan el *flavor* en estos tipos de quesos y además, sus aminopeptidasas reducen el amargor impartido por los péptidos de bajo peso molecular (Marcellino y Benson, 2014).

El *Geotrichum* y el *Penicillium candidum*, al ser incorporados la leche, colonizan y dominan rápidamente la superficie del queso, metabolizando el lactato a $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ y, provocando un incremento en el pH y la formación de un gradiente desde la superficie hacia el centro. Esto causa la difusión del lactato hacia el exterior. Cuando el lactato ha sido metabolizado, las enzimas proteolíticas provenientes de los hongos, metabolizan las proteínas, resultando en la formación de amoníaco (NH_3) que difunde al interior produciendo un mayor aumento del pH (Ibidem, 2014).

Queso Gouda/Edam

Estos quesos presentan textura semidura, proteólisis intermedia, baja lipólisis y son madurados por superficie. El tipo de metabolismo empleado es el de citratos, para generar el CO_2 y el diacetilo, el cual proporciona los ojos y el aroma característicos en este tipo de queso. Requiere la producción de ácido láctico para reducir el pH hasta 5,8 en primera instancia, y continuar luego hasta pH 5,2.

Tomando en consideración lo publicado por Manual de Bergey (2009), los cultivos lácticos empleados para la fabricación del queso Gouda/Edam son el *Lactococcus lactis* (5-10%)/*cremoris* (70-75%) (Cultivos tipo "O"), *Leuconostoc sp* (2-5%) (Cultivo "L"). *Lactococcus lactis* subesp. *lactis* biovar. *diacetylactis* (15-20%) (Cultivo "D"). Los Starter tipo "O", contribuyen a la producción de ácido. Cultivos L y D, contribuyen al aroma (fermentación aromática en los citratos), sabor y formación de ojos en estos tipos de quesos. Estos cultivos iniciadores pueden ser incorporados a la leche en una proporción del 0,75% (Chandan y Kapoor, 2011).

Queso Pecorino/Parmesano

El queso Pecorino/Parmesano, son quesos que presentan una consistencia dura y necesitan largos períodos de maduración. El tipo de metabolismo empleado es el de la lactosa para producir ácido láctico, ya que se requiere desarrollar acidez en la etapa de cocción para favorecer la sinéresis extrema. La proteólisis es baja, ya que se desea mantener una estructura consistente y lipólisis es alta para generar los componentes del sabor característico en estos quesos.

Según lo planteado por Manglia *et al.* (2011), en el caso del queso Pecorino, los cultivos lácteos están constituido por las siguientes BAL: *Streptococcus salivarius subesp. thermophilus* (*Streptococcus t.*), *Lactobacillus delbrueckii subesp. lactis* (*Lactobacillus lac.*) y *Lactobacillus helveticus* (*Lactobacillus h.*) en una proporción 3:1:1, respectivamente. Es decir, el 60% de la composición del starter, está constituido por *Streptococcus t.*, el 20% por *Lactobacillus lac.* y el otro 20% por *Lactobacillus h.*, los cuales están presentes en esa proporción para generar la acidez requerida al inicio del proceso de elaboración de los quesos, potencial la acidez en la fase de cocción e iniciar el metabolismo de las proteínas, así como contribuir a la lipólisis de las grasas a nivel de cava de maduración. Además, el mismo autor señala que, el *Lactobacillus h.* tiene gran importancia en este tipo de quesos, porque permite realzar el *flavor* durante la maduración. Las notas dulces y sabor a nuez, característico de estos tipos de quesos lo proporciona el *Lactobacillus h.* (Jonhson, 2014). En el caso del queso Parmesano, emplean las misma BAL que el queso Pecorino, solo que la especie dominante es el *Lactobacillus h.* Estos cultivos iniciadores pueden ser incorporados a la leche en una proporción del 1% (Chandan y Kapoor, 2011).

Queso Emmental/Gruyere

El queso Emmental/Gruyere, son quesos suizos que presentan una consistencia dura y requieren largos períodos de maduración. El tipo de metabolismo empleado es el de la lactosa para producir ácido láctico inicial, ya que se requiere desarrollar acidez y alta temperatura en la etapa de cocción para favorecer la sinéresis extrema (Mazzeo *et al.*, 2009). Luego de que el lactato es formado, este es utilizado por las bacterias propiónicas (*Propionibacterium shermanii*) para la producción de ácido propiónico y gas en forma de CO₂. La proteólisis es intermedia ya que estos quesos se caracterizan por tener una alta consistencia, y se favorecen lipólisis para incrementar el carácter aromático en estos quesos (Jonhson, 2014).

En relación a la composición y proporción de los cultivos lácticos empleados para la elaboración de los quesos suizos Emmental/Gruyere, Alvarez y Harper (2004) precisan que están constituido por las siguientes BAL: *Streptococcus t.* (*Streptococcus thermophilus*); *Lactobacillus h.* (*Lactobacillus helveticus*) y *Propionibacterium s.* (*Propionibacterium shermanii*) en los siguientes

proporciones de 1:1:0,1, respectivamente, según lo recomendado para el cultivos congelados y en forma de extruidos (pellets). Estos cultivos iniciadores pueden ser incorporados a la leche en forma de cultivos congelados una proporción *Streptococcus t.* (0,1%); *Lactobacillus h.* (0,1%); *Propionibacterium s.* (0,05%) (Chandan y Kapoor, 2011). Vivolac (2014), recomienda una tasa de incorporación como cultivos liofilizados, de 0,0015% para *Propionibacterium s.*

PRESENTACIÓN COMERCIAL DE LOS CULTIVOS LÁCTICOS

Los cultivos lácticos pueden venir en forma líquida, congelados o liofilizados, y diseñados para ser usados como cultivo usual (*Bulk starter*; o cultivo grande, industrial), preparado por el método de propagación, previo a su incorporación en la leche, en el proceso de elaboración de los quesos, o como cultivo de incorporación directa, que consiste en la incorporación directa a la leche durante el proceso de elaboración de quesos y son los llamados *Direct Vat Set* "DVS".

Cultivos líquidos

Son cultivos que vienen refrigerados, la leche se encuentra coagulada debido a la acidificación de las BAL que crecen en una proporción de entre 1 a 200×10^6 ufc/mL. Es un cultivo recién elaborado y deben emplearse en un plazo corto (2 semanas) bajo refrigeración. Se pueden obtener entre 2 a 7 litros de fermentos pudiendo añadirse, que es lo más recomendable, al día siguiente de su fabricación (Ojeda *et al.*, 2017). Son ideales para la preparación de cultivos madre.

Cultivos congelados. *Direct vat set*

Los cultivos congelados vienen en forma de pellet, altamente concentrado (entre 10^{11} a 10^{13} ufc/mL). Tienen la ventaja de que pueden ser adicionados directamente a la leche, sin pasar por la fase de propagación en escala (Figura 1). Se puede comercializar en envases de latas, envases de cartón de o en bolsas de 1000 g. Esta tecnología se conoce como *Direct Set Starter*, o *Direct Vat Set*. Son fáciles de manejar a nivel de planta y no requieren de una sala de preparación de fermentos. La ventaja de usar esta tecnología es que se elimina la fase de preparación y propagación de fermentos, reduce la posibilidad de contaminación con bacteriófagos. Esta forma de conservación requiere de bajas temperaturas de congelación (-18 °C). Una desventaja importante de este tipo de cultivo es que se extiende el período de latencia o fase *lag*, lo que se retrasa la reducción del pH en el proceso de premaduración de la leche en la fabricación de los quesos (Johnson, 2014).

Cultivos liofilizados. *Dry vat*

Los cultivos liofilizados vienen en forma de polvo, altamente concentrado ($> 10^{10}$ ufc/mL). Tienen la ventaja de que pueden ser adicionados, al igual que los cultivos congelados DVS, directamente a la leche, sin pasar por la fase de propagación en escala (Figura 2).

El uso de este tipo de forma de conservación, ha ganado mucha popularidad, ya que, los cultivos pueden ser conservados a temperatura de congelación por 18 meses sin pérdida sustancial de viabilidad. Además, el empaque puede ser abierto y usar solo la cantidad necesaria, por lo que puede ser resellado con el resto de cultivo y posteriormente usados nuevamente (Vivolac, 2014).

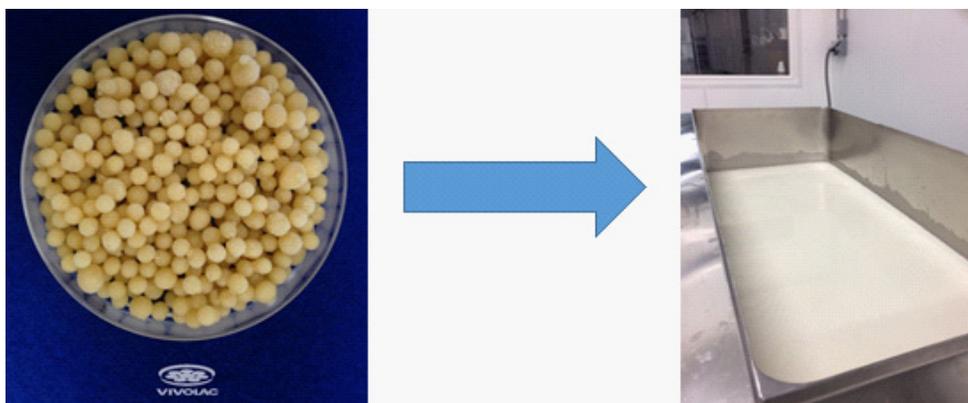


Figura 1. Cultivo láctico comercial congelado *Direct Vat Set*, empleado para la inoculación directa a la leche en la tina de coagulación. Cortesía de la empresa Vivolac/Harvest Home Dairy LLC.

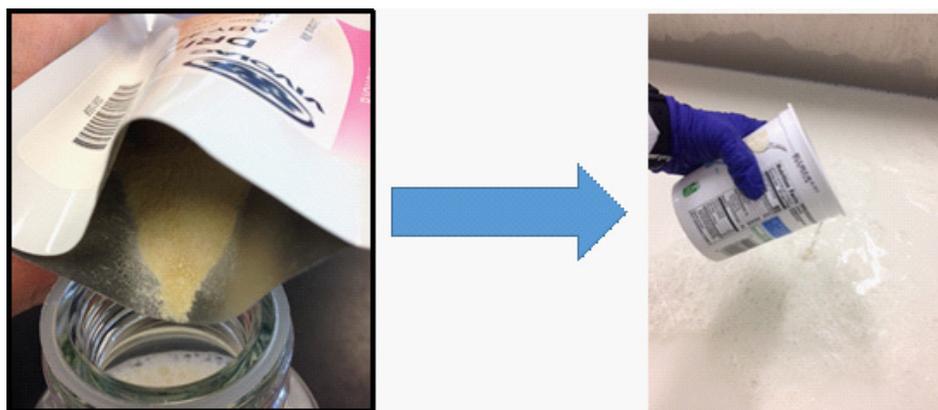


Figura 2. Cultivo láctico comercial liofilizado *Dry Vat Set*, empleado para la inoculación directa a la leche en la tina de coagulación. Cortesía de la empresa Vivolac/Harvest Home Dairy LLC.

MÉTODO DE PROPAGACIÓN DE LOS CULTIVOS LÁCTICOS

El método de propagación del cultivo *Starter* por escala, consiste en que a partir del cultivo comercial que viene ya sea congelado o liofilizados, se inicia la siembra o suspensión y crecimiento de la cepa pura o cepas múltiples o mixtas que se inoculan a en una proporción del 1% con respecto al peso de la leche esterilizada a ser inoculada, para de esta manera dar origen a lo que se denomina el cultivo madre, luego a partir del cultivo madre se resiembra en la misma proporción en el medio de crecimiento (leche pasteurizada o suero pasteurizado) para obtener el cultivo intermedio y finalmente, una última resiembra al 1%, en leche pasteurizada en mayor volumen, para así obtener lo que se denomina el cultivo industrial o definitivo (*Bulk starter*).

En este sentido, el método de propagación por escala dan origen a tres clases de cultivos según lo señalado por Castro (2006), el cultivo inicial o comercial, el cultivo madre y el cultivo usual o industrial, este último es el que se emplea directamente en los procesos fermentativos.

Cultivos comerciales

Es un cultivo puro, de bacterias lácticas seleccionadas y preparadas en laboratorios especializados y que son comercializados bajo la forma de cultivos líquidos, congelados y liofilizados. El porcentaje de incorporación de estos cultivos en la leche es del 0,15% a 0,75% (cultivo líquido), 0,05% a 0,015% (cultivo congelado) y entre 0,0010 a 0,0015% (cultivo liofilizado).

Cultivo madre

Es un cultivo lácteo, que emplea leche esterilizada como sustrato de crecimiento, a partir de la inoculación de las cepas de cultivos lácticos comerciales. La resiembra en este sustrato se realiza en una proporción del 1% con respecto al peso del medio de crecimiento a ser incorporado.

Cultivo intermedio

Es un cultivo reactivado, de bacterias lácticas seleccionadas y preparadas a nivel de planta de quesos, empleando leche completa pasteurizada y obtenidas a partir del cultivo madre. La cepa del cultivo madre es resembrados en una proporción del 1% con respecto al peso del medio de crecimiento a ser incorporado (Cultivo intermedio). El cultivo intermedio se emplea cuando las cantidades de leche a procesar son muy grandes.

Cultivo industrial o definitivo

Por lo general se preparan a partir de cultivos intermedios, pero pueden ser obtenidas a partir de cultivos madres. Es un cultivo puro, de bacterias lácticas seleccionadas y preparadas en a nivel de planta de queso, empleando leche completa pasteurizada. La cepa del cultivo intermedio o madre es resembrados en una proporción del 1 % con respecto al peso del medio de crecimiento a ser incorporado (Cultivo industrial).

PREPARACIÓN DE CULTIVOS LACTICOS

Existen dos formas de preparar los cultivos iniciadores o starter; dependiendo de la temperatura de crecimiento de las cepas presentes en el cultivo comercial. Cuando se trata de cepas mesofílicas, la temperatura de incubación es de 30 °C. Si las cepas son termofílicas, su temperatura de crecimiento en medio estéril es de 43 °C.

La proporción del cultivo definitivo, es decir, aquella que se prepara previa a la incorporación en la leche para iniciar la etapa de premaduración, en el proceso de elaboración del queso, puede estar entre 0,1 a 1%, y va a depender del pH o de la acidez que se desee lograr en las etapas de premaduración de la leche, corte y desuerado. A continuación se explicará el procedimiento para la obtención de los cultivos, tomando como base la proporción del 1 %, en base a la experiencia que ha tenido el autor en la preparación de los diferentes tipos de cultivos.

Procedimiento para la obtención de cultivo madre

Fase I. Esterilización de envases y tapas. Jarras de vidrio con capacidad de un litro y tapas con roscas del tipo twist off, son sumergidas en agua a ebullición por un tiempo de 10 minutos,

luego son colocados sobre papel absorbente, boca abajo, hasta que adquieran la temperatura del medio ambiente. Después de esto, y con el uso de guantes, tapa boca y gorro por parte del laboratorista, se tapan los envases y se guardan hasta su uso. También, se pueden esterilizar en autoclave (calor húmedo) a 120 °C por 15 minutos a 15 libras de presión, todo el envase con su tapa cerrado envuelto, o también en horno (calor seco) a 170 °C por una hora y media

Fase II. Reconstitución de la leche en polvo. La leche que será empleada para la elaboración de fermentos lácticos, debe ser a partir de leche en polvo descremada al 1% de grasas. De esta manera se garantiza que las esporas usen a la grasa como barrera de protección y, además con la leche en polvo descremada, se garantiza una mayor proporción de lactosa, que representa la principal fuente de energía. Se recomienda una reconstitución 1:8 para obtener un porcentaje de sólidos totales en la leche reconstituida al 12,5%. Esto significa, que por cada kilogramo de leche en polvo se empleará 7 kilogramos de agua destilada. Se mezclan ambos ingredientes hasta la solubilización completa de los componentes de la leche y dispersión total de las proteínas. También puede emplear, para el caso de cultivos termofílicos, reconstitución de la leche 1:6, el cual daría un 16,6% de sólidos totales en la leche. Caliente la leche reconstituida a 85 °C por 30 minutos. Finalmente, y con la ayuda de un embudo, trasvasar en caliente, la leche reconstituida a los envases o botellas de vidrio de un litro y tapar. Llène y deje un espacio de cabeza de media pulgada por debajo de la altura máxima del envase para facilitar el vacío térmico. Este procedimiento además, facilitará la disolución de sales y lactosa, emulsión de las grasas y dispersión de proteínas de la leche, así como estabilizar las proteínas para evitar su coagulación en el proceso de esterilización.

Fase III. Esterilización de la leche reconstituida. En una olla (*Water bath pot*), cuyas altura de sus paredes sean aproximadamente de 5 pulgadas por encima de la altura de los frascos de vidrio de un litro, colocar en el fondo una rejilla (rack) que permita la separación del fondo del frasco de vidrio con el fondo de la olla. Esto mejora la circulación de agua por convección, potencial rotura del envase de vidrio y evita que los frascos con leche se volteen. Coloque en el interior de la olla agua potabilizada a un nivel de agua de ¼ de pulgada por encima de la altura de la tapa. Permita que el agua llegue a su punto de ebullición, y una vez alcanzado, deje los frascos a temperatura de ebullición por un tiempo de retención de 30 minutos.

En caso de emplear una olla de presión (*Pressure cooker*), la altura de la columna de agua debe ser de ¼ de la altura de los frascos y una vez que la presión llegue a 121,1 °C (250 °F), dejar por un tiempo de 5 minutos. En el momento de apagar el equipo, no libere la presión de vapor; deje el equipo apagado y con la válvula de presión de vapor cerrada hasta que se enfríe completamente el equipo (esperar al menos 2 horas). Una vez frío, permita abrir la válvula de presión de vapor y espere una hora más. Abra la tapa de la olla de presión y coloque los envases en un lugar fresco hasta ser inoculados.

Fase IV. Inoculación del fermento láctico. Esterilice el mesón de trabajo con alcohol-etanol (70%) y cloro (1%). Todo lo que vaya a entrar en contacto con la leche o los fermentos deben estar previamente esterilizados y secos. Tenga a la disposición agua destilada estéril para disolver el fermento. De ser posible use mechero a gas o a alcohol para garantizar el aire estéril alrededor del fermento. Use guantes de nitrilo o látex, tapa gorro y tapa boca. Evite usar circulación de aire o ventiladores y en lugar alrededor del mesón debe estar limpio y aislado.

En caso de que el fermento comercial sea líquido o congelado, pese la cantidad requerida (1% del peso total del cultivo madre) en un beaker previamente esterilizado, o frasco tipo *Pyrex* con tapa roscable. Mezcle una porción pequeña de la leche esterilizada y una vez disuelta trasvasar completamente el contenido del beaker hacia la botella que contiene la leche previamente esterilizada y luego selle el envase. Este va a representar la base para el cultivo madre. Si el cultivo comercial es liofilizado, pese 0,1 gramos del cultivo comercial liofilizado, por cada 100 mL de leche esterilizada.

Cuadro 3. Obtencion del cultivo madre

| Cultivo Comercial ¹ | Leche esterilizada ² | Cultivo madre |
|--|---------------------------------|----------------|
| 1 g (A partir de fermento liquido o congelado) | 99 g | 100 g (0,1 Kg) |
| 0,1 g (fermento liofilizado) | 99,9 g | 100 g |

¹El cultivo madre representa el 1 % del cultivo comercial.² Se emplea como medio de crecimiento leche esterilizada y descremada al 1%.

Fase V. Incubación. Dependiendo del tipo de microorganismo que haya sido sembrado, habrá dos tipos de temperatura de incubación. Incubación a temperatura ambiente (30 °C), para cultivos *Starters* mesofílicos y para cepas termofílicas, la temperatura de incubación es de 37 °C.

En el caso de los cultivos lácteos mesofílicos coloque los frascos sumergidos hasta la mitad de su altura, en baño de maría y regule la temperatura del agua a 30 °C. Allí se dejan por un tiempo de 18-20 horas, hasta que forme un gel de consistencia firme con una acidez aproximada de 80° dornic (Parra-Huertas, 2010). Una vez terminado el período de incubación son transferidas a una nevera y mantenidas a temperatura de refrigeración hasta que sean usados como fermento madre.

Para los fermentos lácteos termofílicos, los frascos previamente sembrados con las cepas termofílicas, son sumergidos en agua hasta la mitad de la altura del envase, en baño de maría entre 37 a 45 °C. Mantengan los frascos a esa temperatura por un tiempo entre 4 a 8 horas o hasta que la acidez final alcance los 90° dornic (Parra-Huertas, 2010). En caso de no tener el baño de maría, coloque los envases con su rejilla en una olla con agua hasta la mitad de la altura de los frascos y caliente el agua a 50 °C por una hora. Luego coloque los envases en un horno y espere que se produzca la coagulación de la leche entre 6 a 8 horas. Si desea mantener el calor dentro del horno, previamente en una olla, hierva el agua y colóquela junto a los envases dentro del horno. El vapor del agua y el calor acumulado mantendrán los fermentos temperados a 42-45 °C. Terminado el período de incubación, los frascos son refrigerados hasta su uso como cultivo madre.

Cuando el cultivo alcance la temperatura ambiente, agite vigorosamente hasta lograr romper el gel coagulado y forme una mezcla homogénea. Esto facilitará la salida del fermento de los envases de incubación. Ambos tipos de cultivos madres, tanto mesofílicos como termofílicos, tienen un tiempo de vid útil entre 15 a 30 días bajo refrigeracion. Los cultivos madres pueden

ser replicados a una nueva generación de cultivos madres hijas hasta 4 veces, siempre y cuando la acidez no sea superior a 80 °dornic.

Procedimiento para la obtención de cultivos intermedios

Los cultivos intermedios usan la leche entera pasteurizada como medio de crecimiento. En este caso se parte de un cultivo madre que va a representar el 1% del cultivo intermedio, es decir que si se desea obtener un litro de cultivo intermedio, se pesan 10 g de cultivo madre y se disuelven en 990 g de leche pasteurizada. Si requiere más volumen del cultivo intermedio, por ejemplo 10 kg de cultivo intermedio, se inoculan 0,1 kg de cultivo madre en 9,9 kg de leche pasteurizada (Cuadro 4).

Por lo general, se preparan cultivos madres de 1 kg para obtener cultivos intermedios de 100 kg. Esto es porque a nivel de laboratorio, el manejo de los cultivos madres es mucho más riguroso y requiere un protocolo de seguridad mucho más estrictos.

Si se desean obtener cultivos intermedios por encima de los 100 kg, se requiere aplicar una batería de cultivos madres de 10 unidades de 1 kg cada uno. La cantidad va a depender de las condiciones de la planta de quesos, instrumentación, equipos y personal altamente especializado. El cultivo Intermedio puede incubarse en la planta de lácteos, ya que este no requiere un protocolo de seguridad tan estricto como en el caso de la preparación de cultivos madres.

Cuadro 4. Cantidades obtenidas de cultivos intermedios a partir de cultivo madre

| Cultivo Madre ¹ | Leche pasteurizada ² | Cultivo Intermedio |
|----------------------------|---------------------------------|--------------------|
| 10 g | 940 g | 1000 g (1 kg) |
| 100 g (0,1 kg) | 9,9 kg | 10 kg |
| 1000 g (1 kg) | 99 kg | 100 kg |

¹El cultivo madre representa el 1% del cultivo intermedio.² Se emplea como medio de crecimiento leche completa pasteurizada. Para un mejor resultado a la leche pasteurizada se le puede aplicar un tratamiento térmico de 85 °C por 30 minutos y luego enfriar a la temperatura de incubación.

Procedimiento para la obtención de cultivos industriales

Los cultivos industriales o definitivos, llamados *Bulk Starter*, usan la leche entera pasteurizada como medio de crecimiento. Se incuban en tanques de acero inoxidable de doble pared con circulación forzada de agua, o en incubadoras de baño de maría.

En este caso se parte de un cultivo intermedio que va a representar el 1% del cultivo industrial, es decir que si se desea obtener 100 kg de cultivo industrial para ser inoculado en un lote de 10.000,00 kg de leche, se pesan 1 kg de cultivo madre y se disuelven en 99 kg de leche pasteurizada. Si requiere más volumen del cultivo industrial, por ejemplo 1000 kg de cultivo, se inoculan 10 kg de cultivo intermedio en 990 kg de leche pasteurizada (Cuadro 5). El cultivo

industrial, al igual que los cultivos intermedios, pueden prepararse a nivel de la planta y con leche entera pasteurizada.

Sin embargo, a nivel comercial, ya vienen en las cepas súper concentrada, de cultivos lácteos intermedios en forma congelada y en menor volumen (Llamados *Bulk set starter*; Figura 3), listos para ser incorporado en la leche pasteurizada para preparar cultivos industriales o definitivos. La ventaja del *Bulk set starter*, es que ahorras hacer el paso para obtener el cultivo madre e intermedio, porque ya este último tipo viene en empaques comerciales de lata o en bolsas especiales tipo aluminizada, listos para ser incorporadas a la leche que vaya a ser empleada como cultivo industrial.

Cuadro 5. Cantidades obtenidas de cultivo industrial a partir de cultivo intermedio.

| Cultivo Intermedio ¹ | Leche pasteurizada | Cultivo Industrial |
|---------------------------------|--------------------|--------------------|
| 1 kg | 99 g | 100 kg |
| 10 kg | 990 kg | 1000 kg |

¹El cultivo intermedio representa el 1% del cultivo industrial



Figura 3. Cultivo láctico súper concentrado, empleado para la preparación de cultivos industriales (*Bulk Set Culture*). Cortesía de la empresa Vivolac.

CONCLUSIONES

Basados en lo plasmado como objetivos en el presente Capítulo VI, se conocieron los distintos tipos de cultivos lácticos empleados en la industria de quesería, se determinaron la composición de las BAL al cual estos forman parte, se analizaron las diferentes presentaciones comerciales de cultivos lácticos, y sus métodos de propagación, además se dio a conocer la metodología para la preparación de cultivos madres. En este sentido se llegaron a las siguientes conclusiones:

Los principales cultivos lácticos empleados en quesería son: cultivos o fermentos lácticos mesofílicos y termofílicos. A su vez, dentro de las categorías anteriormente mencionadas, están los cultivos lácticos que producen acidez y los cultivos aromáticos que generan sabor y flavor en los quesos. Por otra parte, los cultivos lácticos mesofílicos son empleados para elaborar quesos blandos y semiduros, y los termofílicos para quesos semiduros y duros.

La composición de los cultivos lácticos mesofílicos productores de acidez son: *Lactococcus lactis* subespe. *lactis/cremori* usados en quesos blandos como Azul, Camembert, Cottage y Feta. Cultivos lácticos productores de aroma y gas como el *Leuconostoc* sp y *Lactococcus lactis* subespe. *lactis* biovar. *diacetylactis*. usados en queso Gouda, Edam, Tilsit y Manchego. También, en cultivos mesofílicos se encuentran los hongos como el *Geotrichum* y *Penicillun candidun*, usados en quesos madurados por superficie como el Camembert y Brie y se caracterizan por ser altamente proteolíticos y lipolíticas.

Los cultivos lácticos termofílicos, se caracterizan por ser productores de acidez en la fase inicial del proceso de premaduración de la leche, y de aroma y flavor en la fase de maduración a nivel de cava a través de la proteólisis de la caseína y lipólisis de las grasa. Los cultivos lácticos termofílicos están constituidos por *Streptococcus salivarius subesp. thermophilus*, *Lactobacillu, delbrueckii subesp. lactis* y *Lactobacillus helveticus* empleados para la elaboración de quesos Italianos como el Pecorino y Parmesano . En quesos Emmenthal y Gruyere se usan solo el *Streptococcus salivarius subesp. thermophilus* y *Lactobacillus helveticus*.

Los cultivos lácticos pueden ser comercializados en forma líquida y conservada bajo refrigeración. Sin embargo, la mejor forma de manejar los cultivos es a través de cultivos congelados y liofilizados ya que, pueden ser incorporados directamente a la leche sin pasar por la fase de propagación a escala y se pueden mantenerse en un congelador convencional a -18 °C.

El método de elaboración de cultivos más económicos y que se adapta mejor a las queseras artesanales y semi-industriales es el método de propagación por escala. La siembra se inicia con un cultivo, en una proporción del 1% con respecto al peso del medio de crecimiento a ser incorporado. Posteriormente, son incubados a la temperatura correspondiente a un medio de cultivo mesofílico (30 °C) o termofílico (37 °C). Si el cultivo en la cual se inicia la siembra es un cultivo comercial, el cultivo obtenido se denomina cultivo madre. Si se inicia con el cultivo madre, el cultivo que se obtiene es llamado cultivo intermedio. Si se inicia con el intermedio, el cultivo final obtenido se denomina cultivo industrial.

CUESTIONARIO

1. Actividades iniciales

1. Indiquen dos elementos que permiten definir a un fermento láctico:

a. _____; b. _____;

2. Mencione dos beneficios del uso de los fermentos lácticos en quesería.

a. _____; b. _____;

3. Indique dos géneros de BAL que se utilizan en la industria de los quesos:

a. _____; b. _____;

4. Señale dos tipos de fermentos lácticos en base a la composición del cultivo:

a. _____; b. _____;

5. Nombre dos tipos de metabolismos empleado por las BAL.

a. _____; b. _____;

2. Preguntas relevantes

6. ¿Cuál es la función de un cultivo primario?

a. Producir ácido láctico

b. Producir enzimas proteolíticas

c. Generar CO₂

7. ¿Qué papel cumple los cultivos secundarios?

a. Degradar las proteínas

b. Generar gas en forma de CO₂

c. Producir diacetilo

d. Todas las anteriores

8. ¿Cuál es la temperatura optima de crecimiento de una BAL termofílica?

a. 20-32 °C

b. 37-45 °C

c. 15-20 °C

d. 4-8 °C

9. ¿Cómo están constituidos los cultivos lácticos tipo "O"?

e. *Lactococcus lactis* subesp. *lactis*

f. *Lactococcus lactis* subesp. *cremori*

g. *Leuconostoc mesenteroide* subesp. *cremori*

h. Lactococcus lactis subesp. lactis/cremori

10. ¿Cuál es la cepa que constituye el fermento láctico tipo D?

a. Lactococcus lactis subesp. cremori

b. Leuconostoc mesenteroide subesp. cremori

c. Lactococcus lactis subesp. Lactis biovar diacetylactis

3. Estudio de casos

11.- Se requiere un fermento láctico para elaborar queso Camembert. Indique la composición de BAL a emplear y la tasa de incorporación de cada uno de ellos en la leche.

12.- Se requiere un fermento definitivo para elaborar queso Gouda a partir de 390 kg de leche (100 galones a 1,032 kg/L de densidad). Mediante el método de propagación a escala, cuáles serían las cantidades de cultivo madre, intermedio y definitivo a emplear a partir de un fermento comercial líquido o congelado. **Respuesta: Cultivo madre (0,39 g); Cultivo intermedio (39,0 g); cultivo definitivo 3,9 kg.**

13.- Se desea preparar 1 kg de fermento definitivo de *Streptococcus thermophilus*. De acuerdo al método de propagación a escala, cuáles sería el peso correspondiente en cultivo comercial y cultivo madre. **Respuesta: Cultivo comercial 0,1 g; cultivo madre: 10 g.**

4. Actividades finales

14. ¿Los cultivos lácticos DVS se podrían incorporar directo a la leche? __Verdadero __Falso

15. ¿Es posible incorporar de manera directa los cultivos liofilizados a la leche? __Verdadero __Falso

16. ¿Los cultivos intermedios y definitivos usan leche en polvo como sustrato de crecimiento? __Verdadero __Falso

17. ¿Los cultivos madre se obtienen a partir de cultivos congelados comerciales? __Verdadero __Falso

18. ¿Para elaborar cultivos madre requiere leche esterilizada? __Verdadero __Falso

19. ¿La incubación de un cultivo mesófilico es a 10 °C? __Verdadero __Falso.

20. ¿El cultivo definitivo se forma con el 1% del cultivo madre? __Verdadero __Falso

5. Palabras de reflexión

Sabía usted que la actividad de los cultivos lácticos pueden ser anulada completamente por la presencia de **bacteriófagos**! Los bacteriófagos son virus que atacan a las BAL de una manera específica. Si observa en su planta que la producción de acidez en las fases de elaboración de queso, los componentes de aroma, sabor y olor, así como la textura deseada en los quesos no son las que regularmente se tenían, es hora de rotar los cultivos a un nuevo proveedor, realice la limpieza e higienización completa de los equipos y utensilios así como el uso de detergentes que contengan un agente secuestrante como el EDTA e hipoclorito de sodio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarez, T.; W. Harper. Influence of Starter culture ratios and Warm room treatment on free fatty acid and amino acid in Swiss cheese. *Journal of Dairy Science*. 87(7): 1986-1992.
- Casey, M.; J.P. Hani; J. Gruskovnjak; W. Schaeven; D. Wechsler. 2006. Characterization of the non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) of Gruyère PDO cheese. *Lait* 86: 407-414.
- Chandan, R.; R. Kapoor. 2011. Manufacturing outlines and applications of selected cheese varieties. *In: Chandan, R. Chandan, R.; A. Kilara. (Eds). Dairy Ingredients for Food Processing. Blackwell Publishing LTD. Iowa, USA. Pp. 267-316.*
- Chr Hansen, 2014. Cheese Culture Catalogue. DVS Product range. 68 p.
- Cogan, T.; C. Hill. 1995. Cheese Starters Culture. *In: Fo, P. (Ed). Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Chapman and Hall. London. Pp. 193-255.*
- Cogan, T.; M. Barbosa; E. Beuquier; B. Bianchi-Salvadori; P. Cocconcelli; I. Fernández; J. Gómez; G. Kalantzopoulos; A. Ledda; M. Medina; M. Rea; E. Rodriguez. 1997. Characterization of the lactic acid bacteria in artisanal dairy products. *Journal of Dairy Research*. 64: 409-421.
- Eck, A. 1990. El queso. Monografía. Editorial Omega, Barcelona, España. 490 p.
- Gonzalez-Revello, A.; S. Carro; K. Cal; S. Giacaman; A. Aldrorandi. 2016. *Lactococcus lactis* autóctono: evaluación del efecto antilisterial y de propiedades sensoriales en quesos tipo Cuartirolo. *Revista del laboratorio tecnológico del Uruguay*. 12: 15-26.
- Hammes, W.; R. Vogel. 1995. The genus *Lactobacillus*. *In: Wood, B; W. Hdzupfel (Eds.). The gender of Lactic acid bacteria. Vol. 2. Blackie Academic, London (UK). pp. 19-54.*
- Johnson, M. 2014. Mesophilic and thermophilic cultures used in traditional cheesemaking. *In: Donnelly, C. (Ed). Cheese and Microbes. ASM PRESS. Washington, D.C. United States. 346 p.*
- Leroy, F.; L. De Vuyst. 2004. Lactic Acid Bacteria as functional Starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science and Technology*, 15(2): 67-78.

- Manglia, N.; M. Murgia; G. Garau; P. Deiana. 2011. Microbiological and Physicochemical properties of Pecorino Romano Cheese Produced using a selected starter culture. *J. Agr. Sci. tech.* 13: 585-600.
- Manual de Bergey. 2009. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. In: De Vos, P.; G. Garrity; D. Jones; N. Krieg; W. Ludwig; F. Rainey; K. Schleifer; W. Whitman (Eds). *The Firmicutes*, 2^{da} Ed. Vol. 3, 1450.
- Marcellino, S.; D. Benson. 2014. The good, the bad and the Ugly: tales of mold-ripened cheese. In: Donnelly, C. (Ed). *Cheese and Microbes* ASM PRESS. Washington, DC. USA. Pp. 95-131.
- Mathur, S.; R. Sing. 2005. Antibiotic Resistance in Food Lactic Acid Bacteria. A review. *International Journal of Food Microbiology.* 105: 281-295.
- Mazzeo, M.; F. Diaz; L. Pérez; L. Agaton; A. Castaño; A. Jaramillo. 2009. Desarrollo de procesos productivos de quesos madurados en tres municipios del departamento de caldas. *Revista ingeniería e investigación.* 29 (3): 42-47.
- Nicolau, M. 2012. Desarrollo del proceso para la fabricación del queso Camembert en la región de San José Pírula, Guatemala. *Trabajo de Investigación.* 69 p.
- Ojeda, G.; H. Agüero; G. Almiron; E. Colque. 2017. Utilización de *Starters* en la industria láctea: Queso y Yogurt. Taller de Prácticas profesionales. Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Ciencias Veterinaria. Corrientes. Argentina. 15 p.
- Parente, E.; T. Cogan. 2004. Starter Cultures: General Aspects. In: Fox, P.; P. McSweeney; T. Cogan; T. Guinee. (Eds.). *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Volume 1: General Aspect.* Elsevier Academic Press. London. England. pp. 123-147.
- Parra-Huertas, R. 2010. Bacterias ácido lácticas: papel funcional en los alimentos. *Facultad de Ciencias Agropecuaria*, 8(1): 93-105.
- Ramírez, J.; P. Ulloa; M. Velázquez; J. Ulloa; F. Romero. 2011. Bacterias lácticas: importancia en alimentos y sus efectos en la salud. *Revista Fuente.* 2(7): 1-16.
- Vivolac. 2014. Specialty VP series. Disponible en: <http://www.vivolac.com/wp-content/uploads/2014/vp-series-0215.pdf>. [Consultado: 18 Diciembre 2019].