

NSLAB y los impactos en la calidad del yogur

El proceso comercial para la fabricación de yogur utiliza globalmente una mezcla definida de bacterias lácticas compuestas por *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, y puede contener otras bacterias, inoculadas en la leche a partir del cultivo en matriz de fermentación. En un mercado competitivo influenciado directamente por las oscilaciones del escenario económico, uno de los principales desafíos de la industria de la leche fermentada es reducir los impactos de las pérdidas por los desvíos de calidad y los reclamos de los consumidores.

Actualmente, varios productores lácteos que procesan leche fermentada se han enfrentado a problemas de contaminación por poblaciones de bacterias lácticas no procedentes del cultivo (NSLAB). Esta microbiota está contenida en la leche cruda y proviene de la contaminación durante el proceso de ordeño; su composición depende de factores geográficos y climáticos.

Las bacterias del grupo de las NSLAB se desarrollan espontáneamente en los procesos productivos de productos

lácteos y su crecimiento puede impactar directamente en la calidad de los productos durante el tiempo de vida útil para consumo. Porque, además del nivel de contaminación que proviene de la leche cruda, algunas cepas pueden sobrevivir al proceso de pasteurización (termodúricas) y/o a los tratamientos de limpieza, mediante la formación de biofilms, y pueden recontaminar la leche pasteurizada a partir de la contaminación del entorno de las instalaciones.

Los desvíos en la calidad del yogur derivados de la contaminación por la microbiota NSLAB pueden generar impactos financieros para las empresas, no solo en relación con el descarte y la devolución de productos, sino también en relación con la depreciación de la marca debido a la insatisfacción de los consumidores al comprar productos con calidad alterada. Para los yogures, la contaminación por este grupo de bacterias particularmente heterogéneo puede resultar en problemas como: exceso de acidez, sabores y olores extraños y variados, pérdida o alteración del color, principalmente en productos que contienen colorantes artificiales,

pérdida de viscosidad, desestabilización de la base, sinéresis y formación de gases.

Caracterización de la microbiota NSLAB

Los principales grupos de bacterias que caracterizan a las NSLAB son *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* y *Enterococcus*. Esta microbiota es esencialmente descontrolada, y puede desarrollarse en amplios rangos de pH y temperatura, y el predominio de algunas especies en detrimento de otras está determinado por la capacidad de utilizar los sustratos disponibles, a saber: metabolización de la lactosa y/o del citrato de calcio; además de la racemización de la molécula de lactato.

Las actividades proteolíticas del grupo de *Lactobacillus* pueden contribuir a la acumulación de péptidos amargos que dan lugar a sabores extraños y a defectos de textura como la formación



de gases. Estas bacterias también son capaces de formar biofilms en los equipos, sobreviviendo a los efectos de los desinfectantes y los sistemas de limpieza *in situ* (CIP por sus siglas en inglés). Algunas cepas pueden impactar en la decoloración del producto en condiciones anaeróbicas convencionales, anaeróbicas facultativas y aeróbicas; sin embargo, el grado de decoloración depende de varios factores, como la naturaleza del colorante y la estabilidad en relación con las variaciones de temperatura y las concentraciones de oxígeno.

Del grupo de las NSLAB, *Leuconostoc* es una de las más importantes bacterias productoras de gas. Algunas cepas de *Leuconostoc* producen gas, diacetilo, acetato y acetoina a través de la metabolización del citrato. Sin embargo, los *Pediococcus* también son capaces de producir acetato y CO₂ a partir del lactato en presencia de O₂ y también pueden impactar en la alteración del sabor de los yogures.

Los *Enterococcus*, por otro lado, se encuentran ampliamente en los ambientes, pero se asocian principalmente con el tracto intestinal y su presencia en la leche hervida a menudo se asocia con una mala higiene. Estas cepas tienen una alta probabilidad de sobrevivir al proceso de pasteurización y pueden metabolizar el citrato para formar acetaldehído, acetoina, diacetilo y CO₂. Pueden presentar actividades lipolíticas y proteolíticas que van a impactar en la estructura de la cuajada formada durante la fermentación, provocando desestabilización de la base láctea, pérdida de textura y aumento de la sinéresis.

Desviaciones en la calidad

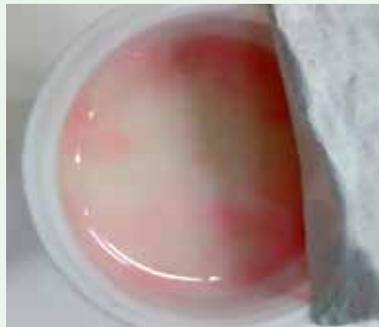
Ejemplos de contaminación por NSLAB



1 Desestabilización de la base láctea



2 Yogur con formación de gas



3 Pérdida del color en el yogur

La importancia de la higienización del proceso de producción

Además de la leche y otras materias primas, el mantenimiento de la calidad del yogur se rige por una multiplicidad de factores interrelacionados, como la limpieza de las superficies que entran en contacto con el producto, los equipos del proceso, las máquinas de envasado y los materiales de empaque.

Después de procesar la leche y derivados, los equipos comienzan a presentar residuos de alto valor nutritivo, como carbohidratos, grasas, proteínas y minerales. Este aumento de la carga de materia orgánica durante el ciclo de procesamiento es susceptible a la multiplicación microbiana, dado que proporciona los nutrientes necesarios para el crecimiento de los microorganismos que permanecen en los equipos.

Cuanto más largo sea el ciclo de producción, mayor será la carga de residuos, lo que puede dar lugar a la formación de biofilms que dificultan la limpieza debido a la adherencia de los constituyentes de la leche. El biofilm tiene el potencial de actuar como fuente de contaminación microbiana crónica, lo que puede comprometer la calidad de los productos. Están representados por poblaciones de bacterias que se adhieren entre sí y/o a las superficies y son capaces de formar micro o macro colonias en los equipos. Por tanto, es importante que el CIP se lleve a cabo con eficacia, garantizando la eliminación de la suciedad para controlar mejor la proliferación de contaminantes.





Métodos de detección

Controlar la contaminación por NSLAB es de gran importancia, dado el gran impacto que tiene en la calidad del yogur, los costos operativos de la industria, así como en la seguridad y confianza de los consumidores.

Para la detección microbiológica, se conocen las dificultades en la determinación de microcolonias y la imposibilidad de identificar cepas indígenas de NSLAB por métodos de fenotipado. Sin embargo, se puede identificar la presencia de la microbiota mediante el análisis del recuento total de NSLAB y el recuento de bacterias fermentadoras de citrato.

Para la determinación de NSLAB total se utiliza el medio de cultivo MRS y/o M17+Vancomicina, lo que da lugar al crecimiento de colonias, en su mayoría compuestas por una gran variedad de bacterias del grupo bacilos, en las que no es posible distinguirlas e identificarlas debido a la gran diversidad de cepas. Para los productos que utilizan cultivos mesófilos en su composición no se indica la aplicación de esta metodología, ya que el resultado encontrado puede ser un falso positivo.

El método de recuento total se basa en la premisa de que el yogur está compuesto, necesariamente, por las bacterias termófilas *S. thermophilus* y *L. bulgaricus*, que no se multiplican a 22 °C. Por lo tanto, si el producto no presenta en su composición la adición de bacterias mesófilas adjuntas, el crecimiento resultante puede ser relacionado con el crecimiento de la microbiota contaminante NSLAB.

Para la determinación de bacterias fermentadoras de citrato, debe consi-

Detección microbiológica

Recuento total y bacterias fermentadoras



1 Resultado microbiológico para análisis de determinación de NSLAB total.



2 Resultado microbiológico para análisis de bacterias fermentadoras de citrato.



3 Bacterias fermentadoras de citrato de la microbiota NSLAB (*Leuconostoc*)

derarse el uso de un medio de cultivo de agar Leesment, enriquecido con componentes como el citrato de calcio y la carboximetilcelulosa utilizados como sustratos, favoreciendo así el crecimiento de este grupo de bacterias. En la lectura de este análisis se pueden encontrar bacterias de la familia de las enterobacterias, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, y también bacterias del grupo de los bacilos productores de gases, como *Lactobacillus plantarum*.

Otra forma de detectar la contaminación por NSLAB en el proceso productivo de yogur es mediante la evaluación de la eficiencia de la limpieza CIP en las etapas del proceso que incluyen la pasteurización, las líneas de transferencia y los tanques de fermentación. Este método identifica puntos críticos de contaminación donde se produce un aumento en la carga celular contaminante, lo que favorece la recontaminación de la leche.

Considerando que todas las bacterias pertenecientes a la microbiota NSLAB son bacterias ácido lácticas, es decir, productoras de ácido láctico, el método se basa en la lectura comparativa del desplazamiento de pH de las muestras recogidas durante el proceso e incubadas a la temperatura de fermentación. Fijando el mismo delta de desplazamiento de pH, se puede concluir que cuanto mayor sea la carga de células contaminantes, menor será el tiempo de acidificación y, en consecuencia, menor deberá ser el intervalo entre cada CIP.

Ambas vías analíticas son eficientes y complementarias para la detección y

control de la microbiota NSLAB, y se puede correlacionar el nivel de contaminación con las desviaciones de calidad en los yogures mencionados inicialmente.

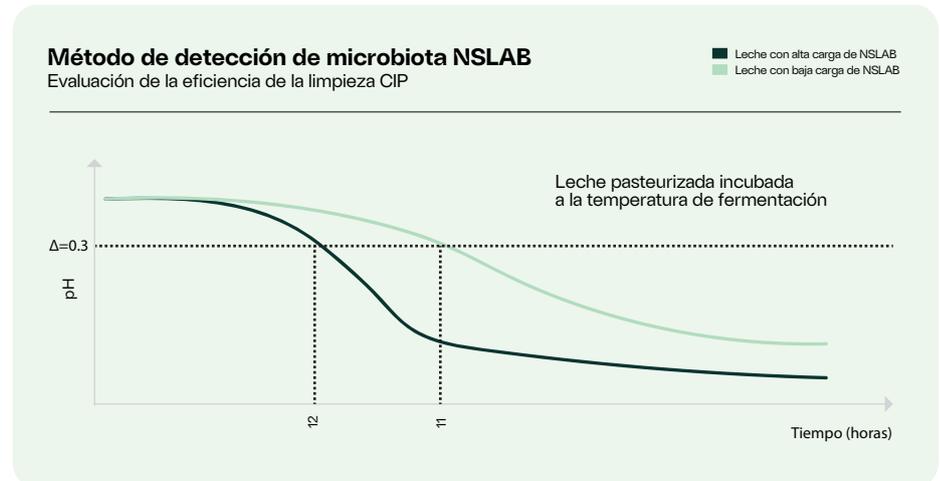
Para la detección de biofilms, el análisis de superficie (SWAB) tras la higienización de las líneas en diferentes puntos de recolección, especialmente en lugares de difícil acceso, es también una forma eficaz de identificar los puntos críticos de contaminación.

Control de la NSLAB

Asociadas con el control de calidad de la leche y la eficiencia de la limpieza en las líneas de procesamiento de yogur, algunas prácticas adoptadas en el proceso pueden contribuir a mantener bajos los niveles de contaminación por NSLAB.

Largos intervalos de almacenamiento de la base láctea en el tanque de mezcla pueden impactar en la proliferación bacteriana, considerando que la pasteurización de la leche cruda en la recepción no es eficiente para eliminar gran parte de las bacterias que componen este grupo. Sabemos que la pasteurización reduce de forma logarítmica la carga bacteriana contenida en la leche. De este modo, cuanto mayor sea la carga contaminante de la mezcla a procesar, más probable es que el producto contenga altos niveles de contaminación.

La concentración de inóculo de cultivo añadido contribuye significativamente a proteger el producto contra la proliferación de microorganismos no deseados, ya que cuando se utiliza la dosis nominal (indicada) del cultivo, mayor será la carga celular de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y, con ello, menor será la fase LAG, evitando el crecimiento de contaminantes. En la cinética de acidificación, la fase LAG representa la fase de latencia del cultivo, es decir,

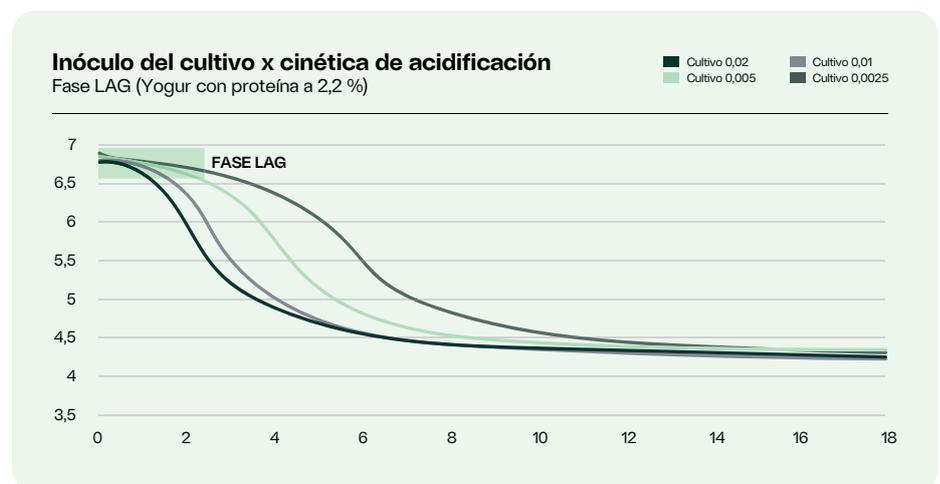


el cultivo aún no comenzó su proceso de multiplicación. En este intervalo, las condiciones son ideales para la proliferación de contaminantes, ya que además de no existir competencia por la fase de adaptación del cultivo, ofrece condiciones óptimas tanto en relación con la temperatura como la oferta de sustratos. En otras palabras, cuando “estiramos” la dosis del cultivo añadido para la fermentación, menor será la carga celular, mayor será el intervalo de la fase LAG y mayor será la probabilidad de desarrollo de contaminantes.

Otra práctica que se puede adoptar es enfriar el producto justo después de que alcance el pH de corte en la etapa de fermentación, ya que el enfriamiento

rápido contribuye a frenar el crecimiento de las bacterias contenedoras. Además, de forma alternativa, pero con un mayor impacto en la inversión, tecnologías de microfiltración y bacto-fugación se pueden emplear en el proceso para eliminar los microorganismos no deseados.

El control de la microbiota contaminante NSLAB en yogures contribuye a la reducción del desperdicio de alimentos y de generación de residuos derivados del descarte de productos, además de reducir los impactos financieros generados por problemas de desvíos de calidad y, en consecuencia, generar una mayor satisfacción y fidelización de los consumidores.



HA-LA BIOTEC

Coordinación: Ana Luisa Costa

Edición: Raquel Chiliz

Consultoría y redacción técnica: Natalia Helena Goes y Lúcio A. F. Antunes

Versión en español: Graciela Taboada

Edición gráfica: Cia da Conceção

Este boletín es una comunicación entre empresas sobre ingredientes para bienes de consumo. No está destinado a consumidores de bienes de consumo final. Las declaraciones presentes en este documento no son evaluadas por las autoridades locales. Cualquier reclamo realizado en relación con los consumidores es responsabilidad exclusiva del comerciante del producto final. El comerciante debe realizar sus propias investigaciones legales y de adecuación para garantizar que se cumplan todos los requisitos nacionales.