



CÉLULAS SOMÁTICAS Y PLASMINA

Influencia en la producción quesera y en el producto terminado

Actualmente, el desarrollo del conocimiento y la tecnificación de la industria láctea han permitido que tanto los productores como los procesadores comprendan mejor las diferentes variables que afectan la calidad de la leche, así como las implicaciones en proceso que conllevan las variaciones naturales de esta materia prima.

Se ha prestado especial atención a parámetros como la calidad microbiológica, composición, presencia de residuos químicos y adulteración con sueros o cualquier tipo de sustancia química que intente enmascarar el deterioro normal y natural de la leche. No obstante, existe un parámetro de vital importancia en la productividad quesera y calidad del producto terminado que no es cotidianamente supervisado: las células somáticas.

En este artículo se abordará una introducción a las células somáticas en la leche, sus efectos en la productividad de la industria quesera y, finalmente, los defectos que se pueden generar por su presencia.

Las células somáticas

Las células somáticas (CS) son una variedad de células que están presentes naturalmente en la leche en valores inferiores a 100×10^3 células/mL de leche. Sin embargo, no se trata de un solo tipo de célula, sino de un conjunto de células.

Tipos de células somáticas (CS)

- Linfocitos (L)
- Fagocitos (2 tipos)
 - Macrófagos (MØ)
 - Leucocitos polimorfonucleares (PMN)
- Células epiteliales (E)

Provenientes de la sangre del animal

Proveniente del tejido de la ubre



Macrófago



PMN



Linfocito



Célula epitelial

Vista a microscopio de los 4 tipos principales de células somáticas en la leche bovina (International Organization for Standardization, 2008)

Si bien las células somáticas (CS) ocurren naturalmente en la leche, factores como la etapa de lactación, estrés, una nutrición pobre, número de lactaciones y presencia de infección en la ubre, generan un aumento en el conteo de células somáticas (CCS). De hecho, es la presencia de infección, ya sea mastitis clínica o subclínica, el motivo más usual por el que existe un aumento de CCS en la leche, esto en consecuencia de la migración de PMN de la sangre a la ubre para combatir la infección y reparar el tejido dañado.

Rango promedio de CCS y composición

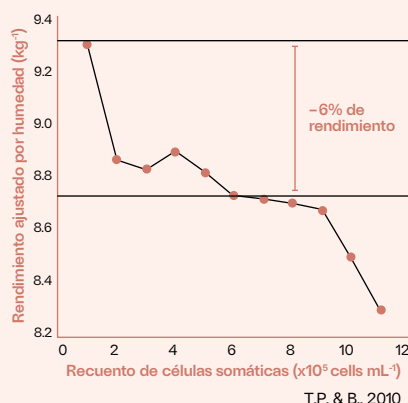
Por lo general se considera que existe una infección desde un CCS de 200×10^3 llegando incluso a niveles de 5.000×10^3 . En un escenario normal de un animal saludable y en etapa intermedia de lactación las células epiteliales corresponderían al 40-60% de las CS y los MØ y PMN el 33%. Por otro lado, en un contexto de enfermedad, las células PMN se vuelven dominantes en la proporción de CS llegando a componer el 40-70% del total, dependiendo del patógeno que genera la mastitis, recalcando así su función de eliminar bacterias patógenas presentes en la ubre.

Consecuencias en la productividad

La importancia de interiorizar el concepto de células somáticas como parámetro de calidad de la leche es que se ha logrado correlacionar la presencia de estas células con efectos negativos en la productividad de las plantas queseras y también con el desarrollo de defectos en quesos a lo largo de su vida útil. Por ejemplo, en la ilustración 2 se puede observar el efecto que tiene el aumento progresivo del conteo de células somáticas en el rendimiento de la producción de queso Cheddar. Se evidencia que sobre un CCS superior a 100×10^3 habrá una subsecuente pérdida de rendimiento en el proceso de quesería, en el caso

ILUSTRACIÓN 2

Recuento de células somáticas en el rendimiento de queso Cheddar



del estudio ilustrado, un aumento de 100×10^3 a 600×10^3 genera una pérdida de rendimiento del 6%.

Esta pérdida de rendimiento se ve acompañada y explicada por un incremento en el tiempo de coagulación, reducción en la firmeza final (Ilustración 3) y velocidad de agregación de la cuajada, generando más pérdida de finos en el proceso. También se ha evidenciado que un alto conteo de células somáticas está relacionado con una reducción en sólidos en la leche (grasa, lactosa y caseína), reducción en la recuperación de proteína en el proceso de coagulación y una disminución en el porcentaje de caseína. Consecuentemente, se presenta un incremento en la cantidad de proteína de suero y nitrógeno no proteico en la leche.

La razón por la cual las células somáticas generan este efecto se debe a un fenómeno conocido como proteólisis, es decir, la hidrólisis de las caseínas ya sea primaria (durante la etapa de coagulación) o

secundaria (durante la maduración y vida útil del queso). En la presencia de un alto CCS se presenta hidrólisis de las caseínas.

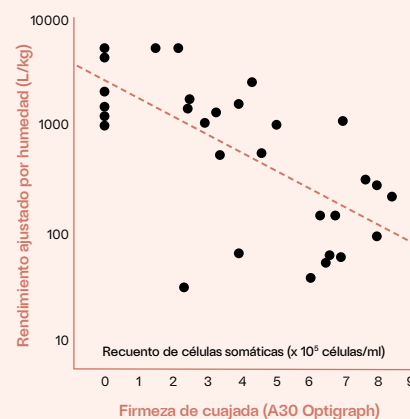
Relación entre CS y la plasmina

¿Por qué las células somáticas tienen este efecto? ¿Qué es lo que realmente genera la pérdida de rendimiento o ablandamiento prematuro de los quesos?

La respuesta, es que este tipo de células provienen de la sangre, cuando el sistema inmune detecta una infección en la ubre se activan los mecanismos de defensa y los fagocitos - especialmente PMN,

ILUSTRACIÓN 3

Firmeza de corte de la cuajada



junto con los linfocitos permean a las estructuras productoras de leche. No obstante, junto con estas células, otros componentes del plasma sanguíneo también pueden atravesar la barrera epitelial mamaria comprometida. Entre ellos destaca la plasmina, una enzima altamente proteolítica capaz de degradar las caseínas. Su presencia en la leche afecta directamente los procesos de coagulación y maduración del queso, comprometiendo el rendimiento, la textura y la calidad final del producto.



Sistema de activación de la plasmina

La plasmina es la principal enzima proteasa endógena, proveniente del torrente sanguíneo del animal y su función principal es romper los coágulos en la sangre, sin embargo, no es claro qué función posee en la leche. Más allá de encontrarse de manera individual, la plasmina ingresa a la leche en forma de su precursor inactivo, el plasminógeno. Ambos hacen parte de un complejo sistema que cuenta con activadores e inhibidores.

Al ser una proteasa, la plasmina hidroliza proteínas en la leche, específicamente la caseína. No obstante, la caseína está compuesta de 4 tipos diferentes moléculas: α -s1, α -s2, β y κ caseína. La plasmina por su parte posee alta afinidad por las caseínas tipo β y luego las α -s2. La molécula β es hidrolizada a γ caseína y pequeños péptidos, mientras que la fracción α -s2 es degradada a 14 péptidos diferentes, de los cuales 3 generalmente producen sabores amargos en el queso.

Efectos de la plasmina en la producción quesera

La presencia de células somáticas es un reflejo de la presencia de plasmina en la leche, en este sentido, los efectos proteolíticos de los altos CCS corresponden a la actividad de la plasmina y no a las células somáticas en sí. Siguiendo esta lógica, se establece que la presencia de plasmina en la leche genera propiedades de coagulación pobres, y si bien no afecta los tiempos de coagulación, sí afecta la velocidad de aumento de firmeza (velocidad de agregación) y firmeza final de la cuajada, al encontrarse parte de la β -caseína hidrolizada habrá pérdidas de fracciones de caseína en el suero.

TABLA 1

Componentes del sistema de plasmina en la leche bovina

Componente del sistema	Función	Propiedad principal
Plasmina	Enzima proteasa activa	Estable térmicamente
Plasminógeno	Zimógeno inactivo (precursor a plasmina)	Estable térmicamente
Activadores de plasminógeno	Hidroliza el plasminógeno en plasmina	Estable térmicamente
Inhibidores de activadores de plasminógeno	Inhibe los activadores	Sensible al calor y pH
Inhibidores de plasmina	Inhibe la acción de la plasmina	Sensible al calor y pH

Adicionalmente, disminuyen las interacciones entre las proteínas durante la coagulación, generando una red débil que se reflejará en una sinéresis deficiente, una estructura de la cuajada blanda incapaz de soportar estrés mecánico (corte y agitación) y consecuentemente habrá pérdida de finos en el suero, altos contenidos de humedad en el queso - que no podrá ser retenida durante la vida útil del queso por falta de estructura en la red proteica -, y pérdida de rendimiento en la producción.

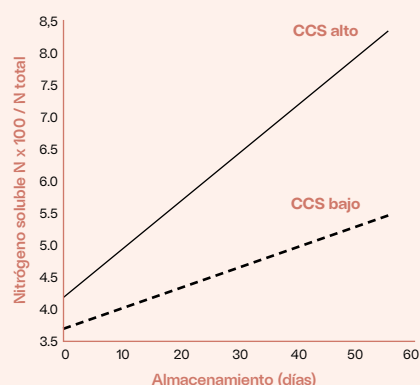
Efectos en el producto terminado

La acción de la plasmina no finaliza en la elaboración del queso, esta persiste durante la vida útil, pues se resalta que se encuentra anclada a la caseína inclusive después de la coagulación. La actividad remanente de plasmina en el producto terminado genera ablandamiento durante la vida útil del queso, también hay producción de péptidos que, con la falta de bacterias o enzimas capaces de degradarlos en compuestos aromáticos, se verá reflejado en sabores amargos. La ilustración 4 evidencia cómo

un CCS alto, paralelo a concentración alta de plasmina, genera una degradación superior de la caseína a lo largo de la vida útil de un queso cottage *versus* la elaboración con una leche con conteos de células somáticas bajo. Esta degradación de caseína es justamente la responsable del ablandamiento y sinéresis del producto terminado, pues se pierde estructura de la red proteica y no hay suficiente proteína intacta para retener humedad o brindar firmeza al queso. Estas dos

ILUSTRACIÓN 4

Nitrógeno soluble en queso cottage según CCS



Efecto sobre el contenido de nitrógeno soluble en queso cottage almacenado a 4°C y elaborado a partir de leche con CCS bajo y alto. Las pendientes de la regresión difieren ($P < 0,05$).

consecuencias se verán reflejadas especialmente en aquellos quesos con un pH alto (6,2 – 6,7), como por ejemplo el queso fresco ya sea quesito antioqueño, cuajada, queso campesino o frescal donde los sabores amargos y ablandamiento prematuro son indeseables.

Mecanismos de transporte de los componentes del sistema de plasmina

Para entender cómo las condiciones de proceso afectarán la concentración de estos componentes en la leche, es necesario entender en qué fase se encuentran. Por un lado, los inhibidores de activadores de plasminógeno y los inhibidores de plasmina se encuentran únicamente en la fase sérica, mientras que la plasmina, el plasminógeno y los activadores de plasminógeno en su mayoría están asociados a las micelas de caseína (inclusive después de la coagulación) o a las células somáticas, de aquí la relación directa entre CCS y la presencia de plasmina en la leche.

Al haber activadores de plasminógeno anclados en las CS y caseínas se hidrolizará el plasminógeno en plasmina, aumentando la actividad proteolítica ejercida por la plasmina. Es importante tener en cuenta también que además del anclaje a las células somáticas, los leucocitos contienen activadores que pueden ser secretados. A su vez los neutrófilos, directamente, producen activadores de plasminógeno.

Factores que afectan la actividad de la plasmina

Durante el procesamiento de lácteos habrá diferentes parámetros y procesos que afectan la actividad de la plasmina que pueden fomentar o dificultar la proteólisis generada por la enzima, teniendo en cuenta especialmente que la temperatura ideal de la plasmina es de 37°C y pH óptimo entre 7,5 y 8.

La temperatura es el factor principal afectando la actividad de la plasmina en la leche y quesos. La plasmina, el plasminógeno y los activadores son resistentes al tratamiento térmico de pasteurización (75°C – 15 segundos), e incluso a procesos térmicos de UHT. Aunque se ha reportado un descenso entre 17 y 10% de concentración de plasmina después de pasteurizar, la actividad proteolítica evidencia un aumento entre el 24 y el 40%. Pero ¿por qué si hay un descenso inicial en la enzima proteolítica aumenta la actividad proteolítica? Los inhibidores de plasmina e inhibidores de activadores de plasminógeno no son resistentes a tratamiento térmico, disminuyendo estos últimos su actividad entre un 30 y 50%, lo que genera una posterior activación del plasminógeno por parte de los activadores aún activos. Consecuentemente, un aumento de la conversión de plasminógeno a plasmina y así incrementando la actividad proteolítica en la leche.

No solamente la temperatura de pasteurización tiene un efecto en la

actividad de plasmina, también las temperaturas de producción como por ejemplo durante la etapa de cocción y maduración del grano en quesería. En un estudio se encontró que entre mayor sea la temperatura de cocción mayor será la actividad residual de la plasmina en producto terminado. Este fenómeno es explicado por la conversión de plasminógeno a plasmina durante el proceso de producción y por la inactivación de los inhibidores a altas temperaturas. En contraparte, los activadores de plasminógeno, plasminógeno y plasmina son inactivados únicamente en una baja proporción, adicionalmente, éstos se mantienen anclados a la caseína del producto terminado, aumentando la proteólisis en vida útil, que se refleja como ablandamiento y maduración de los quesos.

La temperatura a la que se almacena la leche también representa un elemento a considerar en la evaluación de la actividad proteolítica de la plasmina. Esta enzima, al igual que los activadores de plasminógeno, permanece activa a temperaturas cotidianas de almacenamiento de la leche (4 – 6°C), la velocidad con la que hidroliza la proteína es 20 veces menor que en su temperatura óptima.

Sin embargo, en estos rangos de temperatura surge un agravante y es la disociación de la plasmina de la caseína y la disociación de β -caseína de la micela fruto de la solubilización de calcio coloidal y debilitamiento de las interacciones hidrofóbicas en la caseína. En consecuencia, se ve facilitado el anclaje de la plasmina a la β -caseína, que es su principal sustrato, para así generar un mayor efecto de proteólisis en la caseína.



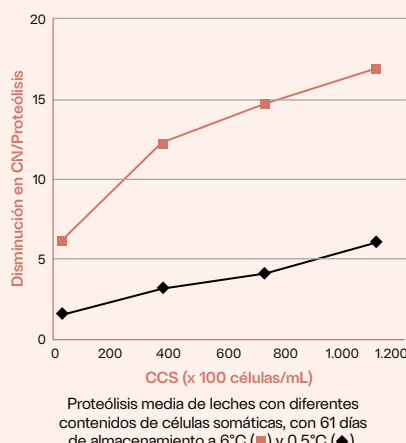
Un ejemplo claro de este efecto en la leche se encuentra en la ilustración 5, donde se demuestra cómo aún a temperaturas de refrigeración 6°C o 0,5°C se evidencia proteólisis a lo largo de 61 días de almacenamiento y se ve agravada a medida que aumenta la concentración de células somáticas en la leche, y consecuentemente el contenido de plasmina.

El siguiente factor determinante en la actividad de la plasmina es el pH de la leche, esta enzima será estable en un rango de pH entre 6,6 y 4,8, no obstante, valores inferiores a 4,6 la plasmina que antes estaba ligada a la caseína se desliga de esta proteína y pasa a formar parte de la fase sérica, disminuyendo su actividad proteolítica en el producto terminado a lo largo de la vida útil.

A su vez, esto genera que los sueros ácidos posean una mayor actividad de plasmina residual que podría llegar a tener efectos negativos (proteólisis) en productos elaborados con este suero.

Finalmente, los tratamientos de filtración con membrana modificarán la actividad proteolítica causada por la plasmina en los derivados lácteos. Cuando se lleva a cabo un proceso de ultrafiltración (UF), se concentran tanto las caseínas como las proteínas séricas nativas, estas últimas son capaces de inhibir la acción de la plasmina, generando un retraso en la actividad proteolítica de la plasmina. Durante el proceso UF se inactivan los activadores de plasminógeno, ralentizando la activación del plasminógeno y reforzando el efecto de proteólisis reducida. Por otro lado, un proceso de microfiltración única-

ILUSTRACIÓN 5
Proteólisis media de leches



mente concentrará caseína a la que se encuentran ligadas la plasmina, el plasminógeno y los activadores de plasminógeno, consecuentemente habrá una mayor transformación de plasminógeno a plasmina durante la vida útil del producto y se evidenciará un aumento en la actividad proteolítica de la plasmina.

El conteo de células somáticas y la actividad de plasmina están directamente relacionadas, la capacidad de la plasmina de hidrolizar fracciones de la micela de caseína la hace responsable de la disminución en rendimiento hasta de más del 6% y problemas relacionados con la proteólisis de los quesos como el ablandamiento, sabores amargos y apelmazamiento en quesos tajados o rayados, generando pérdida en el valor de marca.

Se resalta la importancia no sólo de conocer sino también de controlar la cantidad de células somáticas

de la leche con la que se realizará el proceso de quesería, al final, esta materia prima representa cerca del 80% del costo de producción del queso, tornándose relevante preservar los sólidos de la materia prima y sacar el máximo provecho posible. Este cuidado viene no sólo del procesamiento, calidad de ingredientes y tecnología de elaboración, principalmente viene de la calidad de la leche al momento de recepción ligado a la calidad de caseína que se recibe, caseína que puede presentar afectación por la hidrólisis de la plasmina, especialmente en las regiones donde las prácticas de ordeño y recolección de leche son deficientes y las condiciones existentes promueven la conversión de plasminógeno en plasmina.

BIBLIOGRAFIA

- Ardö, Y., McSweeney, P., Magboul, A., Upadhyay, V., & Fox, P. (2017). "Biochemistry of cheese ripening: Proteolysis". In P. McSweeney, P. Fox, P. Cotter, & D. Everett (Eds.), *Cheese: Chemistry, physics and microbiology* (622-634). Elsevier.
- Boutinaud, M., & Jammes, H. (2013). *Potential uses of milk epithelial cells: a review*. INRA, EDP Sciences, 133-147.
- Farkye, N., & Fox, P. (1990). "Observations on plasmin activity in cheese". *Journal of Dairy Research*, 413-418.
- France, T., O'Mahony, J., & Alan, K. (2021). "The Plasmin System in Milk and Dairy Products". In K. Alan, *Agents of Change Enzymes in Milk and Dairy Products* (11-55). Springer.
- International Organization for Standardization. (2008). *Milk - Enumeration of Somatic Cells ISO 13366-1*. International Organization for Standardization.
- Jones, G., & Bailey, T. (n.d.). *Understanding the Basics of Mastitis*. VirginiaTech.
- Leitner, G., Shoshani, E., Krifucks, O., Chaffer, M., & Saran, A. (1999). "Milk Leucocyte Population Patterns in Bovine Udder Infection of Different Aetiology". *Journal of Veterinary Medicine*, 581-589.
- Moradi, M., Abdullah, O., Roghayieh, R., Sima, V., & Jonas T., G. (2021). "The relationship between milk somatic cell count and cheese production, quality and safety: A review". *International Dairy Journal*, 1-10.
- Guinee, T. P., & O'Brien, B. (2010). "The Quality of Milk for Cheese Manufacture". In B. A. Law, & A. Tamime, *Technology of Cheesemaking* (34-36). John Wiley & Sons Ltd.

HA-LA BIOTEC

Autor: David Sebastian Santamaria

Coordinación y Edición: Raquel Chiliz

Consultoría: Tiago Silva y Michael Mitsuo Saito

Edición gráfica: Cia da Concepção

Para más información y contactos, visite halabiotec.com

La información proporcionada en este documento es sólo para fines de información general. Toda la información se facilita de buena fe. No se ofrece ninguna garantía ni se acepta responsabilidad alguna (incluyendo, sin limitación, cualquier daño directo o indirecto por lucro cesante o interrupción de la actividad empresarial) en cuanto a su exactitud, integridad, corrección, no infracción, comerciabilidad o idoneidad para un fin determinado. Los productos pueden estar cubiertos por patentes pendientes o emitidas, marcas registradas o no registradas o derechos de propiedad intelectual similares. Copyright© Grupo Novonesis, por propiedad o licencia. Todos los derechos reservados.