

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL

**Facultad de Ingeniería Química**

**Facultad de Ciencias Veterinarias**



*Carrera de Especialización en Ciencia y Tecnología  
de la Leche y Productos Lácteos*

“Coagulantes en la industria láctea artesanal: análisis del  
cuajo de cabrito en la tecnología quesera del noroeste  
Argentino”

**Autor:** Lic. Mauro Bonafede

**TRABAJO FINAL INTEGRADOR PRESENTADO COMO PARTE DE LOS  
REQUISITOS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL PARA LA  
OBTENCIÓN DEL GRADO ACADÉMICO DE ESPECIALISTA EN CIENCIA Y  
TECNOLOGÍA DE LA LECHE Y PRODUCTOS LÁCTEOS**

**Tutor:** Mg. Mario Candiotti  
**Instituto de Lactología Industrial (UNL-CONICET)**

Santa Fe, Mayo de 2017

---

**A todos los que me acompañan de uno u otro lado...**

---

---

## **Agradecimientos**

- A los todos los docentes de la Carrera de Especialización en Ciencia y Tecnología de la Leche y Productos Lácteos, por brindar sus conocimientos.
  - A todos los colegas de INTI por sus aportes de manera desinteresada
  - Al Mg. Mario Candiotti director del trabajo final, por su tiempo y comprensión
  - A todos los productores caprinos del Noroeste de la provincia de Córdoba y de la provincia de Salta, que colaboraron con este trabajo.
-

## ÍNDICE

<i>Resumen</i> .....	3
<i>Introducción</i> .....	6
<i>Consideraciones generales</i> .....	7
<i>Panorama nacional de la lechería</i> .....	7
<i>Establecimientos e impacto de leche de distintas especies</i> .....	8
<i>La leche: un producto complejo y altamente valioso</i> .....	9
<i>Industrialización de la leche</i> .....	14
<i>Queso</i> .....	16
<i>Definición y clasificación</i> .....	16
<i>Quesos de Cabra: “Les fromages de chèvre”</i> .....	18
<i>Proceso de elaboración de quesos</i> .....	18
<i>Coagulación de la leche</i> .....	20
<i>¿Cómo están formadas las micelas?</i> .....	20
<i>Coagulación enzimática de la leche</i> .....	25
<i>Coagulación de la leche en la elaboración de quesos</i> .....	28
<i>Tipos de coagulantes</i> .....	28
<i>a. Cuajos de origen animal</i> .....	28
<i>b- Coagulantes de origen microbiano</i> .....	30
<i>c- Coagulantes de origen vegetal</i> .....	32
<i>Objetivos</i> .....	34
<i>Objetivos Generales</i> .....	35
<i>Objetivos Específicos</i> .....	35
<i>Metodología de trabajo</i> .....	36
<i>Recopilación de información referida a diferentes establecimientos elaboradores de quesos artesanales de cabra</i> .....	37
<i>a- Regiones comprendidas en el presente relevamiento</i> .....	37
<i>b- Perfil ganadero de los establecimientos elaboradores de quesos artesanales de cabra</i> .....	38
<i>Ciclos productivos</i> .....	40
<i>Elaboración artesanal del líquido coagulante: “Un saber empírico”</i> .....	43
<i>Coagulante líquido artesanal frente a otros cuajos</i> .....	48
<i>Desarrollo Experimental</i> .....	50

<i>Determinaciones analíticas llevadas a cabo sobre el agente líquido coagulante desarrollado en laboratorio .....</i>	<i>51</i>
<i>a- Sobre suero dulce de quesería.....</i>	<i>52</i>
<i>b- Sobre el líquido coagulante.....</i>	<i>53</i>
<i>Resultados y Discusión .....</i>	<i>57</i>
<i>Primera experiencia.....</i>	<i>58</i>
<i>Segunda Experiencia.....</i>	<i>63</i>
<i>Conclusiones .....</i>	<i>73</i>
<i>Bibliografía.....</i>	<i>76</i>

# **RESUMEN**

Habida cuenta de la experiencia adquirida, a través de estudios previos acerca de la producción caprina, especialmente en la región del Noroeste Argentino, en el presente Trabajo Final Integrador (TFI) se aborda la temática de la fabricación artesanal de quesos, enfocándose, principalmente, en los diversos sistemas de procesamiento de los cuajos caprinos empleados para tal fin, tanto a nivel nacional como internacional.

Para ello, en una primera etapa, se llevó a cabo una profusa búsqueda bibliográfica, a los efectos de disponer de una adecuada información acerca de las principales características de las leches de las especies de mayor difusión en el país, su procesamiento e insumos.

La producción caprina, de amplia presencia en las provincias del Noroeste Argentino, cuenta con numerosos establecimientos abocados a la elaboración de quesos, entre ellos los quesos de cabra. Muchas de las producciones queseras, cuentan con insumos elaborados in situ, como es el caso del coagulante artesanal. A diferencia del cuajo en pasta ampliamente utilizado por países del centro de Europa, en nuestro país se utiliza el coagulante líquido, producto de la combinación del cuajo deshidratado agregado en suero fresco de quesería.

Una vez completada la primera etapa, y contándose con la información necesaria, se realizó un relevamiento de los principales establecimientos elaboradores de quesos artesanales de cabra, ubicados en la zona del norte y noroeste Cordobés, y en la región de los Valles Calchaquíes, localidad de Amblayo (Prov. de Salta). Para ello, se recabaron datos, aportados por los mismos productores, acerca de las diversas metodologías adoptadas, haciendo hincapié en las prácticas observadas para la preparación de sus agentes coagulantes, por cuanto éstos representan un insumo fundamental durante el proceso de elaboración.

La mayoría de los establecimientos coinciden con el método de elaboración, uso y conservación del cuajo, por ello se elaboró un protocolo de elaboración de cuajo natural con recomendaciones a seguir, respetando las tradiciones de usar insumos naturales regionales en condiciones de inocuidad alimentaria.

Finalmente, a fin de profundizar la información obtenida en la segunda etapa, se realizaron experiencias de laboratorio en las que se reprodujeron fielmente los procedimientos de elaboración del agente coagulante implementados por los productores entrevistados.

Como colofón, se pudo comprobar que los resultados obtenidos a través del estudio de los coagulantes elaborados en laboratorio, mostraron que éstos exhibieron buenas aptitudes tecnológicas, habiéndose logrado un correcto poder de coagulación, en conjunción con bajos recuentos microbiológicos, lo que lo hace un insumo apto para el proceso de elaboración del queso.

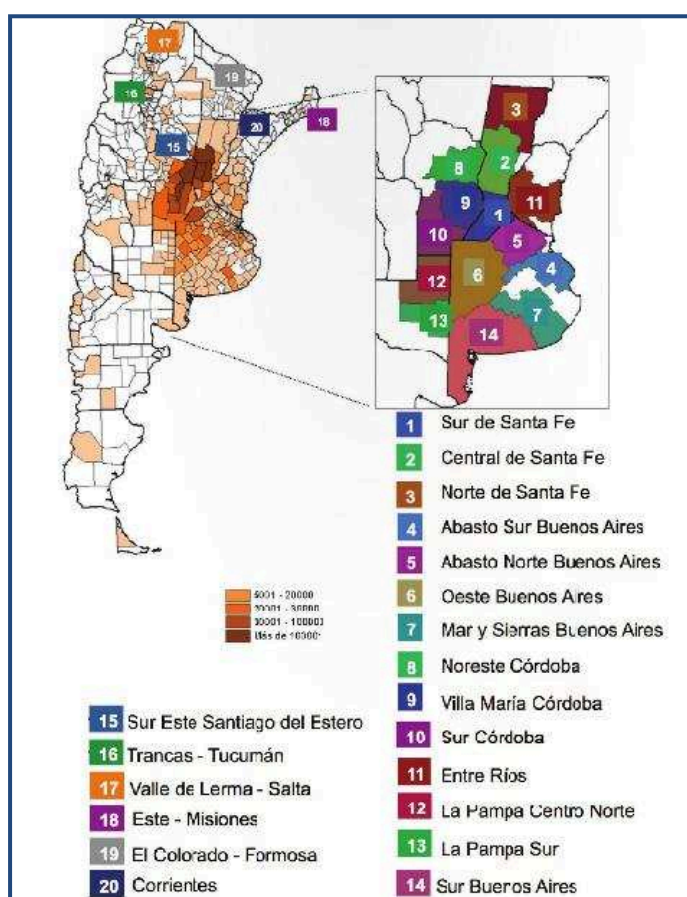


# **INTRODUCCIÓN**

## Consideraciones generales

### *Panorama nacional de la lechería*

La producción lechera en Argentina tiene ya una larga tradición, heredada, sin dudas, de los inmigrantes europeos que llegaron a nuestro país hace más de 150 años atrás. Desde entonces se puede decir que esta actividad ha experimentado un continuo desarrollo, transformándose y adaptándose a nuestras regiones. Actualmente, la distribución geográfica de las zonas productoras de leche abarca la cuenca central argentina, compuesta por la provincia de Santa Fe, Córdoba, Buenos Aires, Entre Ríos y La Pampa, cuencas lecheras extra pampeanas, que ocupan otras provincias fuera de la región central según se puede apreciar en la Figura 1.



**Figura 1:** Principales cuencas lácteas existentes en Argentina

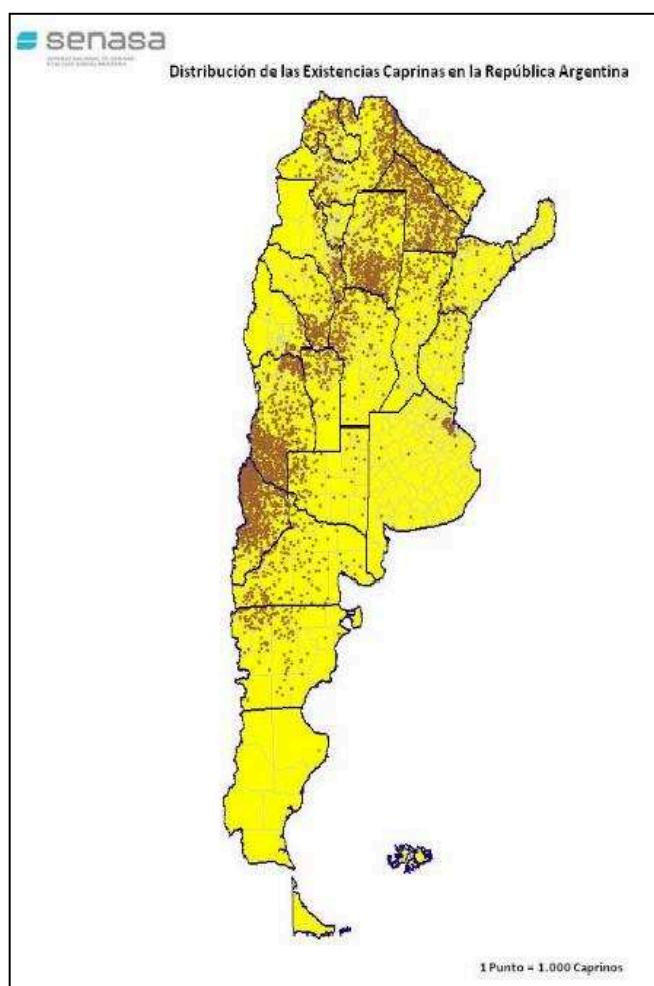
Durante el año 2012, la producción nacional de leche fue de 11.339 millones (MAGyP, 2013), de la cual, se destinó un 78% al mercado interno, y el 22% restante a exportación.

## *Establecimientos e impacto de leche de distintas especies*

En nuestro país hay unas 12000 unidades productivas con actividad de tambo, con un rodeo lechero de aproximadamente 1.747.914 vacas totales, lo que representa un promedio de 146 vacas por rodeo, estimándose una producción media de 2600 L/día por unidad productiva (CIL 2013).

En cuanto a la fracción caprina, según el último relevamiento de la Dirección Nacional de Sanidad Animal - SENASA, en marzo de 2013, se contabilizó un total de 4.238.370 animales en pie, lo que representa el 1% de la población mundial.

En la Figura 2 se presenta un mapa en el que se puede observar la distribución del ganado caprino en el territorio nacional.



**Figura 2:** Distribución de existencia caprina marzo 2016 SENASA

Fuente: Dirección de Control de Gestión y Programas Especiales – Dirección Nacional de Sanidad Animal  
Información según SIGSA al día 31.03.2016

La producción mundial de leche de cabra es de 11.5 millones de litros y la producción nacional se calcula que está entre 3,5 a 4 millones de litros/año, los que procesados podrían representar unas

450 – 500 toneladas de queso. Sin embargo, se trata de un mercado que aún no está explotado comercialmente por cuanto sólo el 3 % de la población consume estos productos.

Chávez M. et al. (2006), llevaron a cabo estudios sobre la producción y calidad de leche caprina de dos sistemas de explotación en los que se incluyen como biotipos, cabras de raza Saanen, Anglo Nubian y sus cruza. Los análisis se hicieron durante el segundo período de la lactancia, contemplando, especialmente, los efectos debidos a la raza (o biotipo racial), y su manejo, que son los principales factores que afectan la producción y la calidad de la leche caprina y consecuentemente su impacto en los rindes económicos de su industrialización. Según los resultados arrojados por el estudio, se pudo concluir que el sistema intensivo con raza Anglo-Nubian y ordeño manual presenta resultados similares al sistema semintensivo con ordeño mecánico para Saanen y Cruza. Los indicadores de higiene de la leche fueron iguales en ambos sistemas. La Cruza ofrece mejores rendimientos (producción y calidad) que la Saanen bajo el mismo sistema productivo. No obstante, se hace necesario realizar estudios más específicos relativos a la producción y calidad de leche entre biotipos raciales caprinos, que permitan elaborar un dictamen más acabado.

### *La leche: un producto complejo y altamente valioso*

Si se tiene que formular una definición de leche, la forma más acabada de hacerlo sería en base a su finalidad o rol fisiológico, diciendo que *es el producto segregado por la glándula mamaria de los mamíferos con el fin de alimentar a sus crías*. Sin embargo, la complejidad de este producto y sus múltiples aplicaciones hacen que se lo pueda definir desde otros puntos de vista. Así se formulan las siguientes definiciones:

- ✓ Definición física. Según los estados físicos presentes, es la coexistencia de una emulsión de lípidos recubiertos por una membrana, una suspensión de micelas de proteínas y una solución coloidal de proteínas en una solución verdadera de lactosa y minerales (Jensen et al., 1991).
- ✓ Definición química. Según sus principales grupos químicos presentes, se distinguen; grupo de proteínas, grupo de lípidos, grupo de glúcidos y grupo de compuestos con actividad biológica.
- ✓ Definición industrial: “*La leche es la materia prima para la producción de los derivados lácteos*”.
- ✓ Definición hipocrática: “*La leche es un líquido que consiste en una mezcla de suero, queso y manteca*”.

Por otra parte el Código Alimentario Argentino en su Artículo 554 - (Res 22, 30.01.95), da una definición bromatológica diciendo: "*Con la denominación de Leche sin calificativo alguno, se entiende el producto obtenido por el ordeño total e ininterrumpido, en condiciones de higiene, de la vaca lechera en buen estado de salud y alimentación, proveniente de tambos inscriptos y habilitados por la Autoridad Sanitaria Bromatológica Jurisdiccional y sin aditivos de ninguna especie. La leche proveniente de otros animales, deberá denominarse con el nombre de la especie productora*".

Naturalmente, dado que los requerimientos nutricionales de cada especie son diferentes, la composición de la leche variará según sus características (velocidad de desarrollo, hábitat, etc.). En la siguiente Tabla, se pueden observar las principales diferencias composicionales entre la leche de algunos mamíferos.

**Tabla 1:** Composición porcentual de leches de distintas especies

Mamífero	Sólidos totales	Materia grasa	Proteínas	Lactosa	Cenizas
Humano	12,20	3,80	1,00	7,00	0,20
Cebú	13,45	4,97	3,18	4,59	-
Vaca	12,70	3,70	3,40	4,80	0,70
Cabra	12,30	4,50	2,90	4,10	0,80
Oveja	19,30	7,40	4,50	4,80	1,00
Búfala	17,96	7,64	4,360	4,83	0,80
Cerdo	18,80	6,80	4,80	5,50	-
Caballo	11,20	1,90	2,50	6,20	0,50
Asno	11,70	1,40	2,00	7,40	0,50
Bisonte	14,60	3,50	4,50	4,50	0,80
Camella	13,00	4,10	3,40	3,80	0,70
Perra	22,70	9,50	7,50	3,30	1,20
Gata	20,70	8,50	7,50	4,00	0,60
Coneja	32,80	18,30	11,90	2,10	1,80
Elefante	31,90	11,60	4,90	4,70	0,70
Reno	33,10	16,90	11,50	2,80	-
Oso polar	47,60	33,10	10,90	0,30	1,40
Foca	67,70	53,10	11,20	0,70	-

Como puede verse, entre las especies de mayor difusión en nuestro país, bovina, ovina, caprina y bufalina, la leche de oveja es la que presenta la concentración de sólidos totales más elevada lo cual contribuye a acrecentar el valor nutritivo de la leche (Haenlein, 1996; Sanz Sampelayo M. R. et. al., 2003). Por otro lado, más allá de la calidad nutricional el mayor contenido en sólidos en una leche utilizada como materia prima, le confiere una excelente aptitud tecnológica por cuanto permite obtener productos con mayor rendimiento, como por ejemplo queso y yogur sin necesidad a recurrir a ningún tipo de aditivo (Sanz Sampelayo M R et. al., 2003).

Cabe destacar que, además de las variaciones encontradas entre las distintas especies, la composición global de la leche se ve influenciada por otros factores tales como la raza, el estado y ciclo de lactación, la alimentación, el clima, etc. Así por ejemplo, las notorias disparidades en la composición físico-química encontradas entre la leche bovina y las de otras especies tales como caprina, ovina o bufalina, (pequeños rumiantes de mayor comercialización) dependerán de la coyuntura del estudio.

La leche de cabra en particular, presenta determinadas características que la diferencian de las de otras especies e incluso dentro de su misma especie según el sistema de explotación y su manejo. En este sentido, en nuestro país, distintos investigadores han abordado esta temática, centrándose principalmente en la provincia de Córdoba. Entre los trabajos más destacados se encuentran los realizados por Aimar et al (2012), quienes realizaron una caracterización fisicoquímica y microbiológica de la leche de cabra perteneciente a la cuenca lácteo-caprina de San Pedro Gutenberg (Prov. de Córdoba).

A modo de ejemplo, en la Tabla 2 se presentan los valores medio y las desviaciones estándar, obtenidos para los parámetros fisicoquímicos de la leche de cabra obtenida durante la temporada productiva estacional entre diciembre del 2010 y marzo del 2011, en la cuenca de San Pedro Gutenberg, provincia de Córdoba.

**Tabla 2:** Valores medio y desviaciones estándar de Materia Grasa (MG), Proteínas y Sólidos Totales (ST) de la leche de cabra producida durante el periodo diciembre del 2010 y marzo del 2011 (promedios de todas las muestras para cada mes.), en la cuenca de San Pedro Gutenberg, provincia de Córdoba.

Mes	MG (% ± DS)	Proteínas (% ± DS)	ST (% ± DS)
Diciembre	5,47±0,63 <sup>a</sup>	4,70±0,15 <sup>a</sup>	15,34±0,73 <sup>a</sup>
Enero	5,68±0,70 <sup>a</sup>	4,83±0,23 <sup>a</sup>	15,72±0,84 <sup>a</sup>
Febrero	5,09±0,63 <sup>a</sup>	4,72±0,13 <sup>a</sup>	15,47±0,62 <sup>a</sup>
Marzo	5,68±0,56 <sup>a</sup>	5,04±0,19 <sup>a</sup>	16,33±0,64 <sup>a</sup>

Como puede observarse la leche producida en la cuenca lácteo-caprina de San Pedro Gutenberg presenta altos valores de sólidos totales, principalmente en lo que respecta a proteína y materia grasa con niveles comparables a los encontrados en estudios realizados sobre cabras criollas serranas. Esta característica como ya se mencionó, además de ser un rasgo de la calidad composicional de la leche es un indicador de una óptima aptitud casearia.

En lo atinente al contenido de materia grasa de la leche de cabra, se ha demostrado que, además de estar estrechamente influenciado por las características de la alimentación, también está asociado a los biotipos, como es el caso de los anglo-nubian y criollo que, naturalmente, presentan los niveles más altos (Chávez M. et al 2011).

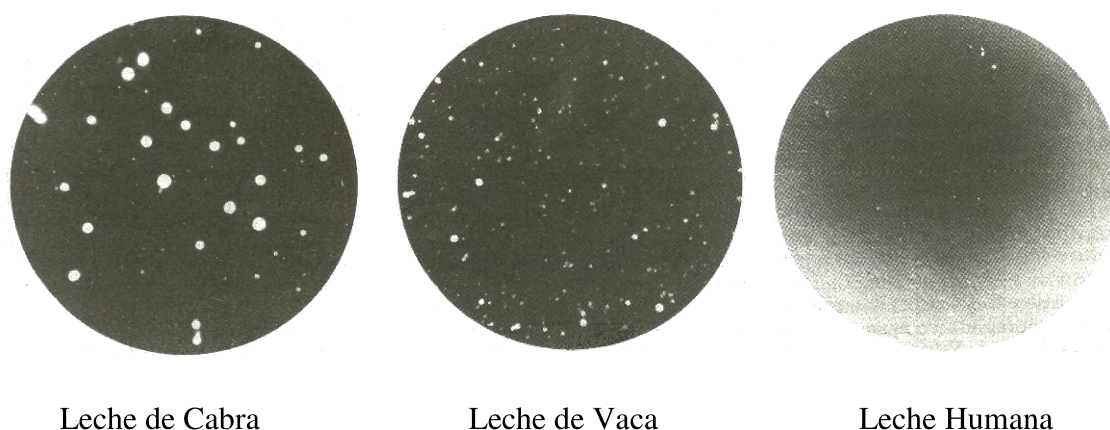
Desde el punto de vista constitutivo, la materia grasa de la leche de los pequeños rumiantes también exhibe ciertas particularidades que la diferencian de la de la leche bovina. Así, por ejemplo, la grasa de leche de cabra y oveja, está distribuida en glóbulos de tamaño mucho menor que el de otras especies, con una mayor proporción de triglicéridos de cadena media (ácidos grasos de 6 a 14 átomos de carbono) y cadena corta (ácidos grasos de menos de 6 átomos de carbono) (Sanz Sampelayo et al 2003).

Asimismo, otros investigadores como V.H. Holsinger (1982) y Haenlein (1992), haciendo un estudio comparativo entre la composición de la leche de los pequeños rumiantes, especialmente de la de cabra, frente a la de vaca, reportaron mayores contenidos en los ácidos cáprico (C6:0),

caproico (C8:0), caprílico (C10:0) y láurico (C12:0), difiriendo también en cuanto al contenido en ácidos grasos de cadena ramificada.

Cabe destacar que esta característica reviste un singular interés, por cuanto mejora la digestibilidad de la grasa láctea, especialmente de cabra y oveja, siendo, incluso, un conveniente recurso terapéutico frente a ciertas enfermedades metabólicas (Haenlein, 1992; Haenlein, 1996; Boza y Sanz Sampelayo, 1997).

Con respecto a las proteínas, como se sabe, las caseínas principales proteínas de la leche, se encuentran agrupadas en pequeñas partículas complejas, conocidas como micelas cuya conformación será ulteriormente descrita con mayor detalle. En la Figura 3, se puede apreciar el resultado de estudios microfotográficos llevados a cabo sobre muestras de leche descremada, bovina, humana y caprina, los cuales revelaron diferencias en el grado de dispersión, debido a que el tamaño de las micelas de caseína caprina es mayor al de las caseínas bovinas y éste, a su vez, al de las de origen humano (Alais, 1985).



**Figura 3:** Fotografías obtenidas mediante microscopio electrónico de partículas de caseína nativa de leche descremada de cabra, vaca y humana (Aumento 8000 x).

Asimismo, además de la desigualdad de tamaños entre las micelas de las leches de distintas especies, sus caseínas también exhiben ciertas diferencias composicionales. Por ejemplo, la caseína  $\alpha_1$  caprina presenta 11 sitios fosforilados, frente a los 9 sitios de la bovina.

Otra particularidad detectable entre proteínas de diferentes especies es el polimorfismo genético ligado a la composición de la proteína. Como es sabido, existen seis productos genéticos componentes de la proteína láctea;  $\alpha_1$ -caseína,  $\alpha_2$ -caseína,  $\beta$ -caseína y  $\kappa$ -caseína,  $\beta$ -lactoglobulinas y  $\alpha$ -lactoalbúminas. En relación a esto la leche de cabra, muestra un polimorfismo genético ligado a la composición de su proteína en razón de la presencia en mayor o menor

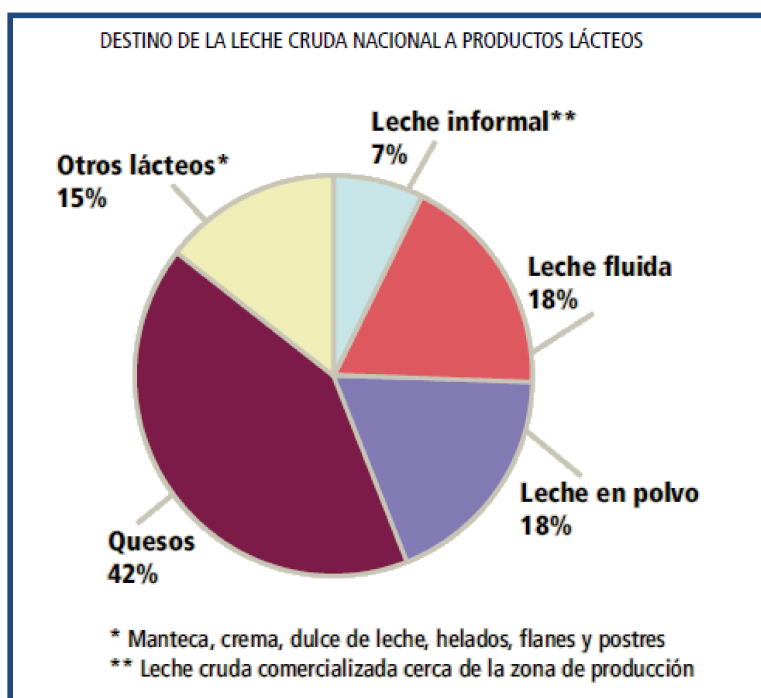


cantidad, o incluso ausencia de la  $\alpha_1$ -caseína, aspecto de singular interés, ya que es capaz de determinar la calidad tecnológica de esta leche, así como la nutritiva o incluso saludable de la misma, distinguiéndose en este sentido, cuatro clases diferentes: nivel nulo (0), ausencia total de  $\alpha_1$ -caseína, niveles bajos (F, D), niveles altos (A, B, C,) e intermedios (E) (Haenlein, 1996).

### *Industrialización de la leche*

A través de la expresión “industrialización de la leche”, se hace referencia a su producción primaria, acopio, tratamientos, elaboración de distintos productos mediante diferentes tecnologías y la posterior comercialización de los mismos.

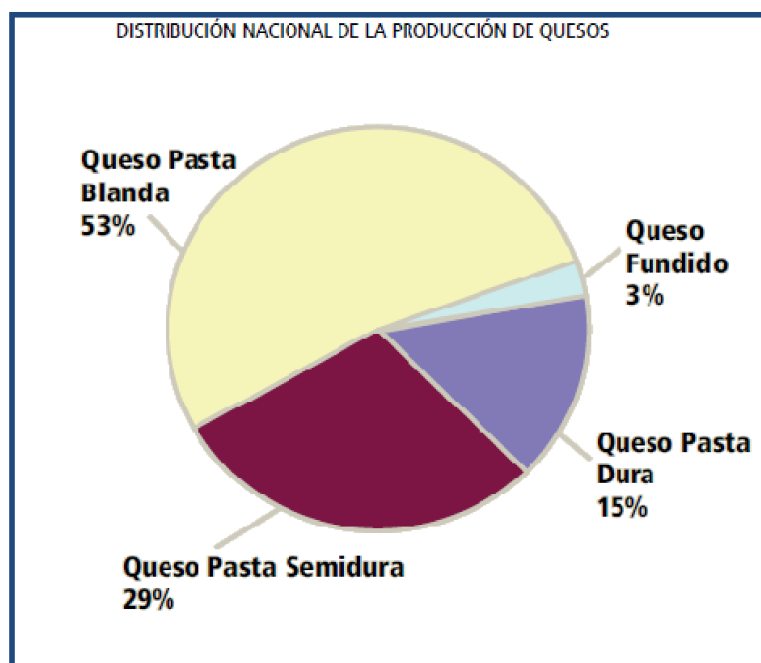
Así, verbigracia, de las 10.560 miles de toneladas (equivalente a millones de litros) de leche bovina procesadas por la industria durante el año 2012, 8600 millones de litros fueron empleadas para la elaboración de productos lácteos, mientras que el resto se comercializó como leche fluida. En este contexto, los grupos más representativos correspondieron a quesos, leche en polvo y leche fluida, tal como puede observarse en la Figura 4.



**Figura 4:** Principales destinos de la leche bovina industrializada en Argentina durante el 2012

(MAGPYA 2009)

En lo que respecta a las variedades de queso que conformaron la producción nacional los principales porcentajes correspondieron a los de Pasta Blanda (53%), Pasta Semidura (29%) y, en menor proporción a los de Pasta Dura (15%), como se muestra en la Figura 5.



**Figura 5:** Principales destinos de quesos elaborados en nuestro país (MAGPYA 2009)

Cabe señalar que si bien, tanto con leche de cabra como de oveja se pueden obtener los mismos tipos de productos que con leche bovina (leche fluida media y larga vida, yogurt, dulce de leche y quesos), en el caso particular de la primera (caprina), su mayor aplicación está orientada a la fabricación de queso. Sin embargo, teniendo en cuenta, como ya se mencionó, que el mercado nacional está restringido sólo al 3% de la población, la demanda potencial podría estimarse en unas 2.000 toneladas anuales. No obstante, se espera un mayor desarrollo de la actividad asociado al turismo (Taverna et al. 2010).

La producción y consumo de quesos a nivel mundial ha venido en aumento los últimos 40 años. En efecto, actualmente se producen unas 15 millones de toneladas de queso por año, lo que representa un incremento en el consumo per cápita, el cual pasó de 0,9 a más de 3 Kg por habitante.

El país que ostenta el mayor consumo de queso es Grecia, con un promedio de 27 Kg por habitante al año, seguido por otros países europeos tales como Francia con 26 Kg, y Suiza, Italia, Países Bajos y Austria con 20 Kg por habitante al año.

En Argentina el consumo de queso ronda los 11,5 Kg anuales/habitante, con lo que se destaca como un importante país consumidor además de productor (Battro P, 2014).

## Queso

### *Definición y clasificación*

En su forma más general, el queso puede ser definido como el producto sólido o semisólido resultante de la concentración de una parte de la materia seca de la leche por medio de una coagulación. Por su parte, el Código Alimentario Argentino es más específico y en su Art 605 - (Dec 111, 12.1.76), expresa: "*Con la denominación de Queso, se entiende el producto fresco o madurado que se obtiene por separación del suero de la leche o de la leche reconstituida (enteras, parcial o totalmente descremadas), coaguladas por acción del cuajo y/o enzimas específicas, complementada o no por bacterias específicas o por ácidos orgánicos permitidos a este fin, con o sin el agregado de sustancias colorantes permitidas, especias o condimentos u otros productos alimenticios*".

Salvo pocas excepciones, tanto los métodos de fabricación y como de control de la fermentación, fueron descubiertos y desarrollados empíricamente, lo cual ha propiciado la génesis de productos que son típicos de una determinada región, clima, tradición, etc. Actualmente, sin embargo, el desarrollo tanto de la tecnología como de la microbiología, permite la reproducción en cualquier lugar, de quesos que originalmente resultaron típicos de un cierto lugar.

Dada la gran variedad de quesos que existe, resulta difícil establecer una clasificación general de los mismos, por cuanto ésta puede hacerse según múltiples criterios, basándose en cuestiones documentales, jurídicas o tecnológicas. No obstante, entre los criterios de clasificación más utilizados se pueden mencionar:

- a- Según el método de coagulación: ácidos o enzimáticos.
- b- Según el contenido en Materia Grasa: Extra Graso (Materia Grasa/Extracto seco total: >60%), Graso (Materia Grasa/Extracto seco total: 45-60%), Semigraso (Materia Grasa/Extracto seco total: 25-60%), Bajo contenido graso (Materia Grasa/Extracto seco total: 10-25%), Descremados (Materia Grasa/Extracto seco total: <10%).
- c- Según la consistencia de la pasta: Extraduro (humedad del queso desgrasado: <51%), Duro (humedad del queso desgrasado: 49-56%), Semiduro (humedad del queso desgrasado: 54-63%), Semiblando (humedad del queso desgrasado: 61-69%) y Blando (humedad del queso desgrasado: >67%).

- d- Según el período de maduración: Frescos (puede consumirse al finalizar su elaboración), Madurados (requieren ser mantenidos durante cierto tiempo a una temperatura y humedad bien definido, para que se puedan producir los cambios físicos y químicos característicos del mismo).
- e- De acuerdo al tipo de leche utilizada: de leche cruda (leche no calentada a más de 40°C), de leche pasteurizada (leche tratada a 72-73°C por 15 s. ó 61°C - 63° C por 30 min.), de leche termizada (leche tratada a 57°C - 62°C durante 15 a 20 seg.), o bien de leche Microfiltrada.
- f- Según la textura y abertura: quesos con ojos, quesos “ciegos” o de pasta cerrada.
- g- Según la tecnología de fabricación (quesos de pasta hilada, quesos de pasta lavada, etc.),
- h- Según a la adición de hongos específicos para el proceso de maduración (quesos azules), etc.

A estos criterios, también pueden sumarse aquellos relacionados con el tipo de elaboración, atendiendo a dónde se elaboran, quiénes lo hacen y qué procedimientos se utilizan. De acuerdo a ello, se pueden distinguir los siguientes epígrafes:

- ✓ Quesos “Fermier” o de Granja: son elaborados con métodos tradicionales y en la propia granja, utilizando únicamente la leche cruda procedente de animales criados en su explotación. Por lo general, son quesos de alta calidad, de producción limitada y donde la estacionalidad afecta a la singularidad del queso. El quesero interviene en todas las etapas del proceso; desde el manejo y alimentación del ganado, hasta la elaboración y maduración del queso, sin introducir ningún proceso automatizado o continuo.
- ✓ Quesos Artesanales: se los fabrica siguiendo métodos tradicionales y, comúnmente, mediante estructuras pequeñas que suelen oscilar entre 1 y 5 personas. La leche procede de granjas cercanas y son controladas por el quesero, quien interviene constantemente durante toda la elaboración. Normalmente se emplea leche cruda (aunque también puede usarse leche pasteurizada) y, al igual que en los quesos Fermier, no existe automatización alguna durante el proceso.
- ✓ Quesos “*Latiere*” o Cooperativas: se producen con la leche que aportan los propios miembros de la cooperativa, lo cual amplía sensiblemente el área de abastecimiento, y por ende, la mezcla de leches. La fabricación es semi-automatizada y la normalización está orientada al rendimiento medio, amalgamado con la seguridad y la productividad.
- ✓ Quesos Industriales: es un producto industrial obtenido a partir de leche adquirida a diferentes tambos (a veces muy distantes unos de otros), con un proceso de fabricación automatizado y a gran escala. De ahí la necesidad de estandarizar la materia prima, e implementar su pasteurización, termización o microfiltración.

### *Quesos de Cabra: “Les fromages de chèvre”*

En general, los quesos de cabra se distinguen más por las características de la leche que por la tecnología de elaboración, razón por la cual, sería factible clasificarlos según los criterios precedentes. Sin embargo, las variedades más tradicionales corresponden a los que son de pasta blanda y de corteza enmohecida (ceniza).

Los quesos de cabra cubren un bajo porcentaje del mercado local, a diferencia de los quesos de origen bovino. Sólo hay 30 plantas elaboradoras de queso que se ubican en un 70% en el Noroeste Argentino. (Paz et al 2014).

### *Proceso de elaboración de quesos*

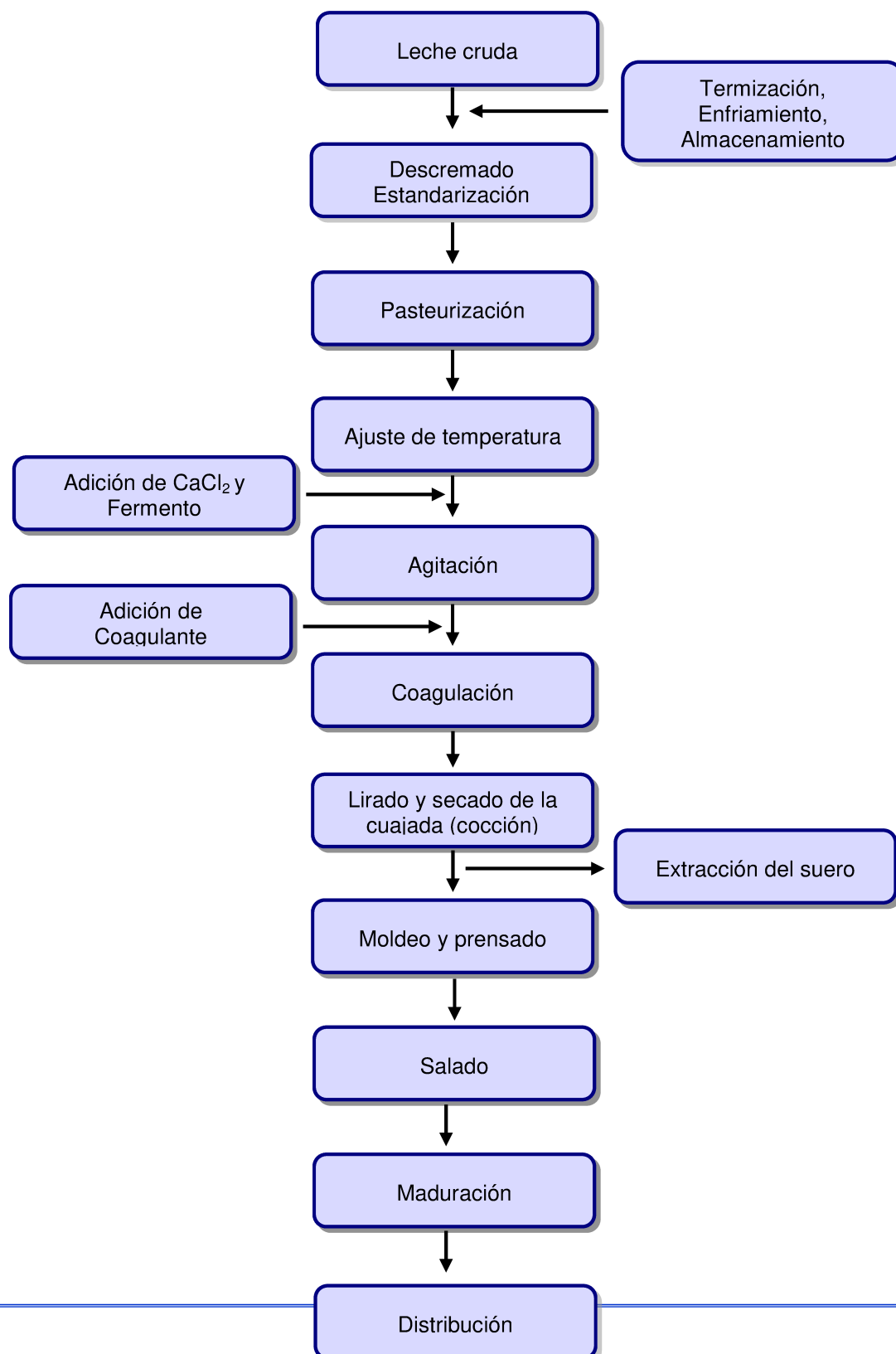
En general, la elaboración de quesos, comprende una serie de etapas básicas que son comunes a la mayoría de las distintas variedades que existen, y cuya secuencia se detalla en la Figura 6.

Para ciertos tipos de queso, antes de ser pasteurizada, la leche se estandariza ajustando su tenor graso. Finalizado el tratamiento térmico, y ajustada la temperatura al valor adecuado, se adiciona el fermento primario o estárter, que será quien conducirá la acidificación en la tina o premaduración de la leche, como resultado de la metabolización de la lactosa, con producción de ácido láctico. Transcurrido el tiempo necesario para que los microorganismos comiencen a desarrollar su actividad, lo cual dependerá de las características del fermento y del tipo de queso, se procede a la etapa coagulación.

La coagulación de la leche puede realizarse mediante el empleo de enzimas específicas (cuajo), fenómeno conocido como *coagulación enzimática* o *presámica*, o bien por la adición de un ácido que reduzca el pH hasta 4,6 (Alais, 1985; Bozzetti et al, 1993; Fox and Mc. Sweeney, 1998) Cuando la acidificación es producida por las bacterias lácticas propias de la leche, se lo denomina *coagulación láctica* (Alais, 1985).

Una vez que el coágulo ha adquirido la consistencia necesaria, se lo corta progresivamente (mediante una lira) hasta lograr granos del tamaño propio de la variedad de queso que se quiere obtener. A continuación, mediante el efecto combinado de la temperatura (cocción), acidificación por acción del fermento y la acción mecánica (agitación), los granos de cuajada son llevados, por sinéresis, al nivel de humedad preciso. Seguidamente, se extrae el suero remanente y la cuajada se

coloca en los moldes, donde se la somete a presión (si el tipo de queso así lo requiere). Finalizado el prensado, los quesos se extraen de los moldes, y se pasan a la etapa de salado, en la que una vez adquirido el nivel de sal adecuado, se los mantiene en las condiciones necesarias para la maduración (temperatura, humedad relativa y tiempo), para su posterior comercialización (Rajinder Nath, 1993; Fox, 2011).



**Figura 6:** Principales etapas que componen la elaboración de un queso

## Coagulación de la leche

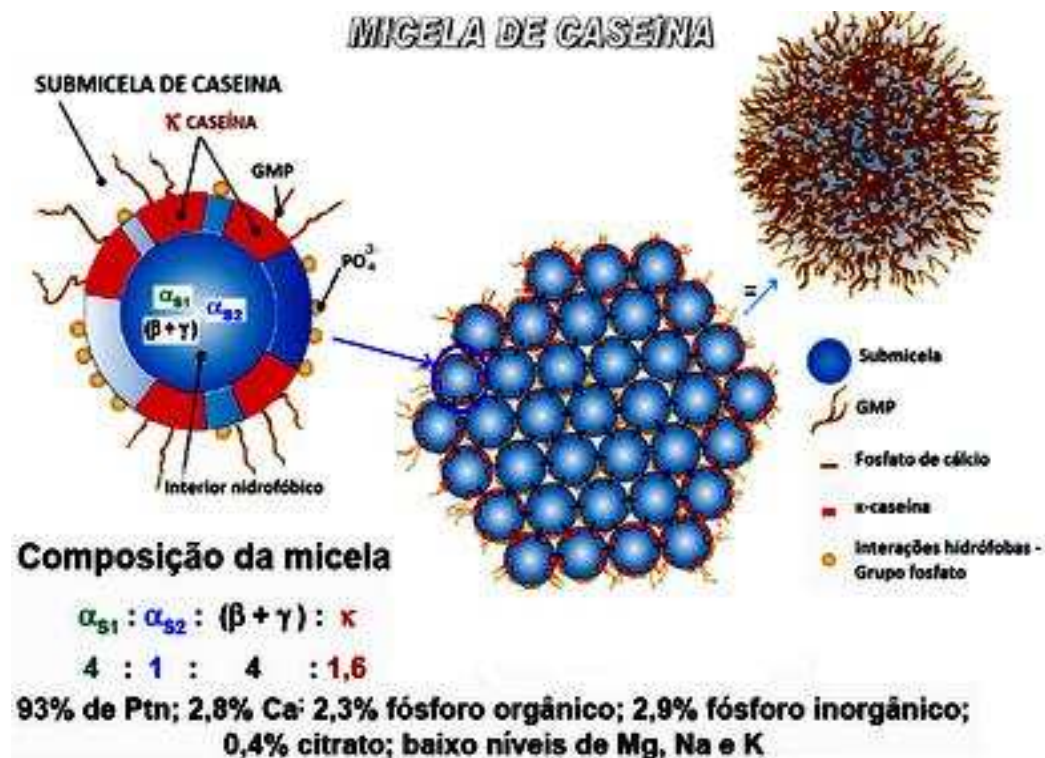
La coagulación de la leche es, sin dudas, una de las etapas tecnológicas más importantes y, por ello, decisiva en el proceso de elaboración de quesos. En efecto, independientemente de la escala con que se trabaje, es decir, ya sea artesanal ó industrialmente, la obtención de los sólidos de la leche, requiere, insoslayablemente, un cambio en su estado de agregación, pasando de la forma líquida natural a la de gel. De este modo, todos los constituyentes de la leche quedan retenidos en una red proteica tridimensional, cuyas características dependerán de la forma en que fue originada. Como ya se mencionó previamente, la coagulación de la leche puede realizarse por vía ácida ó por vía enzimática.

Para lograr una mejor interpretación de este fenómeno, conviene revisar brevemente la forma en que se encuentran naturalmente las caseínas en la leche. La fracción caseínica es un complejo compuesto por cuatro tipos de proteínas conocidas como caseínas  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$  y  $\kappa$ , las cuales se distribuyen en una proporción aproximada 3:1:3:1 respectivamente (Fox and McSweeney 1998). Dado que las tres primeras son sensibles a los iones  $\text{Ca}^{+2}$ , naturalmente presente en la fase acuosa de la leche, y la  $\kappa$ -caseína es insensible, en su estado nativo, estas proteínas se encuentran organizadas en micelas (partículas coloidales, esféricas y voluminosas), cuyos diámetros pueden ir desde 20 a 300 nm, que aseguran su estabilidad (Swaigood, 2003; Horne, 2011). Estos agregados son porosos, poseen un alto grado de hidratación (aproximadamente 2 g  $\text{H}_2\text{O}/\text{g}$  de proteína), e incluyen una importante carga mineral conocidas comúnmente como fosfato de calcio coloidal (CCP), constituida principalmente por calcio, fosfato, magnesio, citrato y otros compuestos en cantidad traza (Fox and McSweeney, 1998; De Kruif and Holt, 2003).

### *¿Cómo están formadas las micelas?*

Durante más de cincuenta años, se han estudiado y postulado diferentes teorías y modelos tendientes a explicar estructura y estabilidad de las micelas caseínas en la leche. Los modelos tradicionales más aceptados describen a la micela como un conjunto de submicelas unidas por CCP y otras interacciones (Schmidt, 1980; Alais, 1985; Walstra, 1986). En la Figura 7 se ilustra un modelo de micela, concebido como un agregado coloidal, constituido por un determinado número de submicelas de caseína (unidades básicas), consolidado mediante uniones de fosfatos de calcio

coloidal e interacciones hidrofóbicas. A través de este ordenamiento, las micelas adquieren solubilidad y estabilidad en la leche. (Fox and McSweeney, 2001).

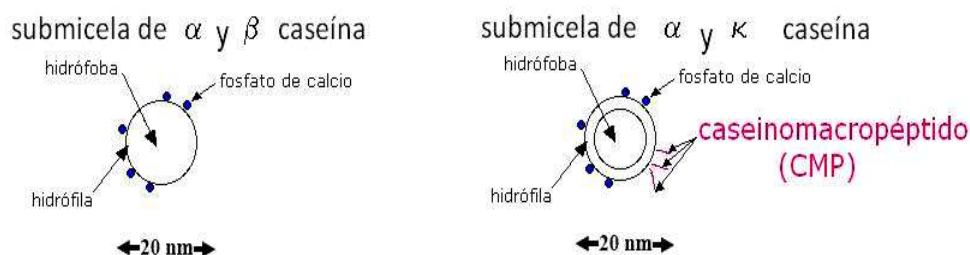


**Figura 7:** Modelo de organización micelar basado en el concepto de la existencia de submicelas

Si bien este modelo explica los fenómenos observados experimentalmente de una manera fácil y lógica, recientemente, algunos resultados obtenidos introducen dudas que cuestionan la existencia de las submicelas, así como la localización y papel que juega el fosfato de calcio dentro de las micelas. En efecto, hay crecientes evidencias de que en la estructura micelar no presenta submicelas bien definidas, sino que más bien se trata de un entramado o red proteica flexible, aproximadamente esférico, más o menos homogéneo, fuertemente hidratado y mineralizado, formado por la asociación de moléculas de caseínas individuales generada por su interacción con partículas de fosfato cálcico coloidal de tamaño nanométrico (nanoclusters). De este modo, la estructura micelar sería menos organizada, más abierta, laxa y fluida, a lo que algunos autores denominan “bola de spaghetti”. Ferrandini E. et al, 2006



Uno de los primeros en formular esta teoría fue Holt (1992,1994), quien describe la micela como una red enmarañada de moléculas de caseína flexibles, formando una estructura parecida a un gel, integrada por gránulos de fosfato de calcio, y que posee una capa superficial de pelos hidrofílicos de  $\kappa$ -caseína, como se muestra en la Figura 8.



**Figura 8:** Estructura micelar basada en el Modelo de Holt

En el núcleo, las cadenas polipeptídicas están parcialmente entrecruzadas por los grupos de fosfato de calcio (de tamaño nanométrico), mientras que en la región externa, quedan expuestos al medio los segmentos hidrofílicos de las  $\kappa$ -caseína (extremo C-terminal), denominado Caseinomacropéptido (CMP). Esta disposición, conocida como “capa pilosa” confiere a la micela estabilidad de carga y/o estérica, impidiendo así su interacción con las partículas vecinas.

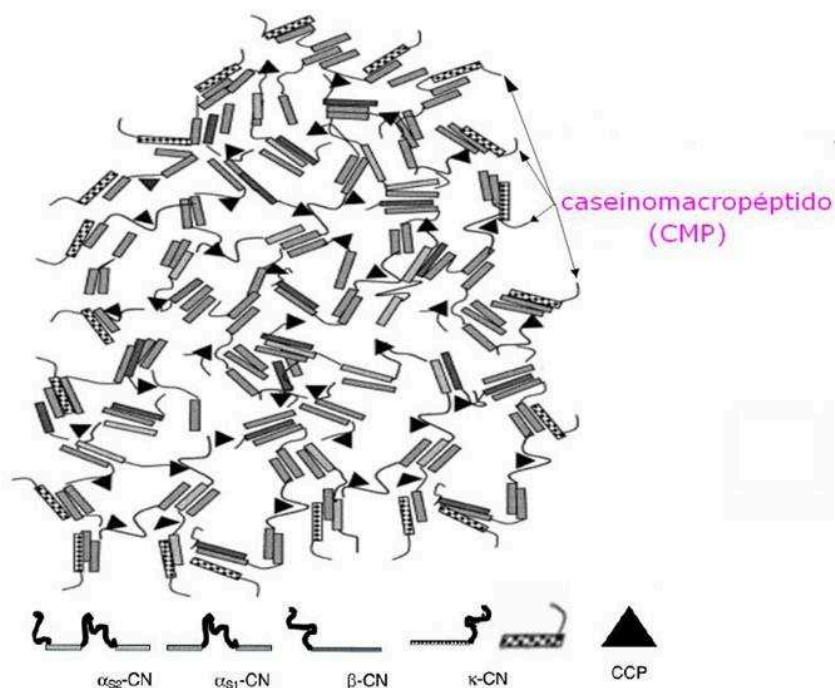
Los nanogránulos de fosfato de calcio constituirían el centro de crecimiento de la micela.

Si bien este modelo justifica el reducido diámetro (unos pocos nanómetros) de las regiones de fosfato de calcio observadas por Knoop et al (1973) en el interior de las micelas, no explica la formación de la capa pilosa ni la reducida presencia de  $\kappa$ -caseína en el interior de las micelas (a pesar de su fuerte tendencia a asociarse entre sí).

Intentando dar respuesta a algunos interrogantes, Horne (1998), propone el “Modelo de unión dual (o “Modelo de doble unión””, el cual podría considerarse como una extensión del modelo de estructura interna de Holt. A diferencia de este último, Horne estima que las interacciones proteína-proteína son esenciales y sostiene que la naturaleza anfifílica de las caseínas es la responsable de la polimerización y estructuración micelar (Horne, 2011). En este modelo, las uniones hidrofóbicas serían las responsables de la fuerza de atracción que contribuye a la formación y estabilización de la micela, mientras que las repulsiones de tipo electrostático serían las limitantes del crecimiento ininterrumpido de la misma. Asimismo, Horne considera al fosfato de calcio, no como un “cementante”, sino más bien como modulador de la función del  $\text{Ca}^{2+}$  y del fosfato de la micela, lo cual justifica el hecho de que el CCP se pueda extraer fácilmente de las micelas de caseína mediante

acidificación de la leche a temperaturas por debajo de 20°C sin producir una alteración aparente de la estructura micelar, o bien que la adición de urea induzca a la disociación de la micela caseínica sin disolución del CCP.

En la Figura 9 se presenta un esquema del Modelo propuesto por Horne.

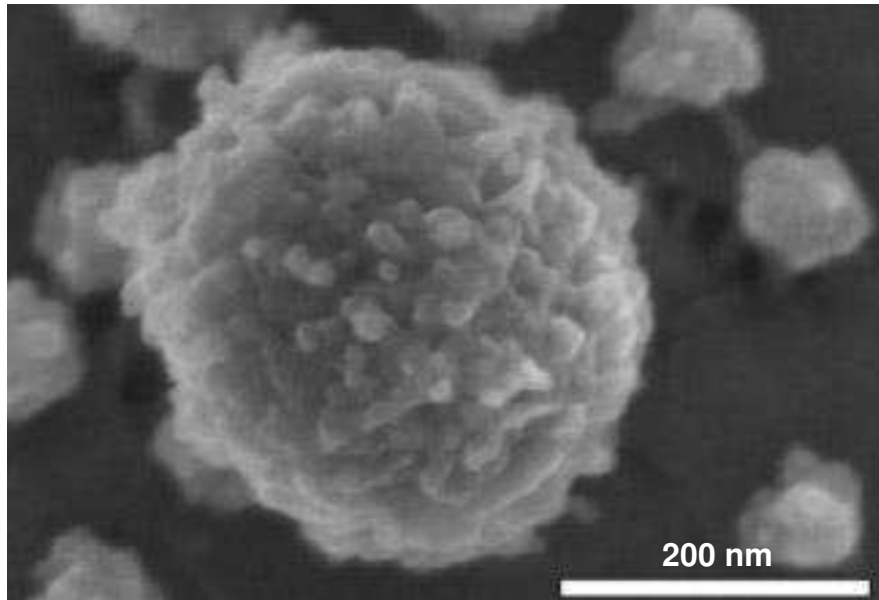


**Figura 9:** Asociaciones entre caseínas según el modelo propuesto por Horne.

En la parte inferior se pueden apreciar las regiones hidrofóbicas (trazos claros, horizontales) e hidrofílicas (trazos oscuros, elevados) identificados, para cada caseína, responsables de las interacciones que mantienen la estructura. Las regiones hidrofílicas, que contienen los cluster de fosfoserina (excepto en  $\kappa$ -caseína), que se proyectan hacia la fase acuosa.

El modelo propuesto por Horne constituye una buena herramienta para profundizar en el análisis y comprensión de algunos de los fenómenos físicos y reológicos más complejos, y de mayor trascendencia funcional, que caracterizan a los geles lácteos.

En la Figura 10 se puede apreciar una micrografía electrónica de una micela de caseína individual (Dalglish et al, 2004).



**Figura 10:** Micrografía electrónica de una micela de caseína individual. Las partículas más pequeñas pueden corresponder a fracciones disociadas. La barra de escala (trazo blanco) representa 200 nm (Dalgleish et al, 2004).

### *Desestabilización ácida de la leche*

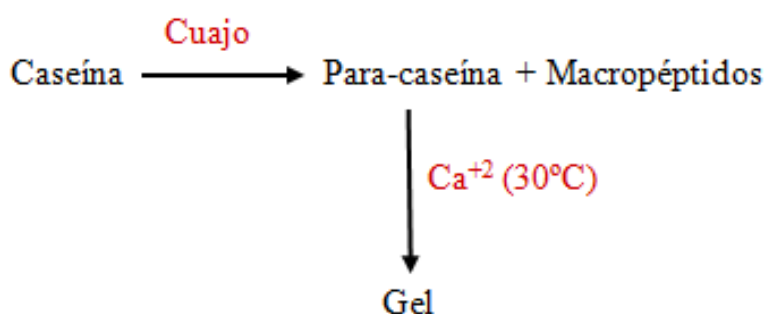
Básicamente consiste en precipitar las caseínas disminuyendo el pH de la leche hasta el punto isoeléctrico de las mismas; 4,60 (Fox, 2003), lo cual da lugar a la formación de un gel que ocupa todo su volumen. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que esta inestabilidad por pH se encuentra fuertemente influenciada por la temperatura, por cuanto se ha encontrado que, a menos de 5°C, la precipitación prácticamente no ocurre, y sólo se forman finos que quedan en suspensión y aumentan ligeramente la viscosidad (Walstra et al 1999) mientras que a altas temperaturas la caseína puede precipitar en un rango de pH que puede ir desde 3,0 a 5,5.

Dado que a  $\text{pH} < 5.0$ , las micelas pierden su carga mineral (por disolución del fosfato de calcio coloidal), algunos investigadores asumen que éstas ya no pueden mantener su estructura original. Por el contrario, otros autores, afirman que aún desmineralizadas, las micelas pueden permanecer como tales y asociadas, probablemente debido a la disminución de la carga ó por un aumento en las interacciones hidrofóbicas. En este sentido, se ha demostrado que, aún después de la coagulación ácida, las micelas mantienen su apariencia por horas o días (Fox, 2003).

En lo que respecta a las características del gel obtenido, al ser relativamente frágiles las fuerzas que mantienen ligadas a sus unidades (interacciones de naturaleza electrostática e hidrofóbica), un coágulo ácido resulta friable, y carente de fuerza de contracción, no apto para la caseificación (Zalazar, 1994).

### *Coagulación enzimática de la leche*

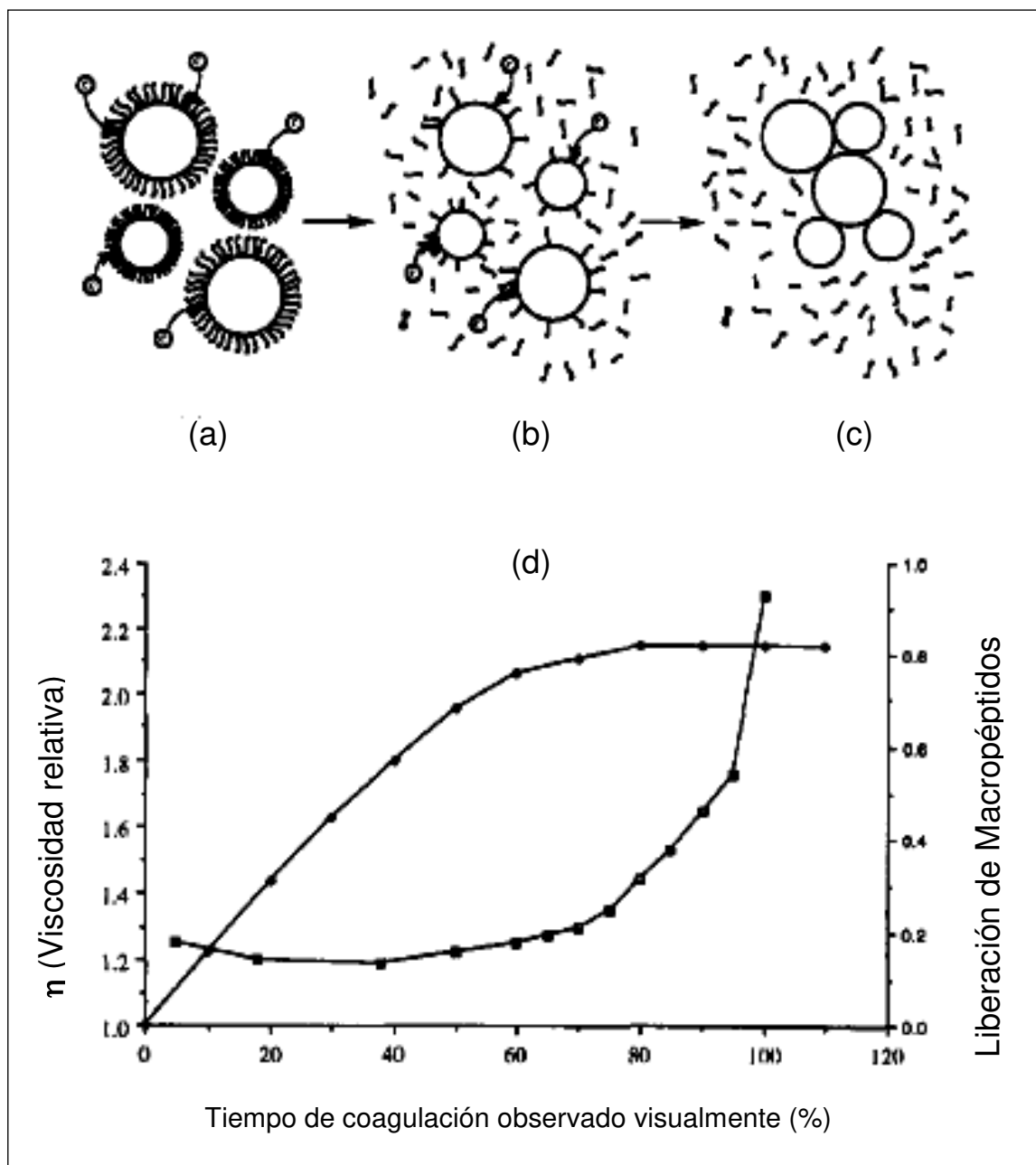
La coagulación enzimática de la leche involucra una modificación de las micelas de caseína a través de una proteólisis limitada llevada a cabo por proteasas seleccionadas, comúnmente llamadas cuajo, dando como resultado Para-caseína y Macro-péptidos, lo cual se conoce como *Fase primaria*. A continuación se produce una agregación de las micelas alteradas, inducida por la presencia de calcio, denominada *Fase secundaria* de la coagulación enzimática. Esquemáticamente se puede representar:



Cabe destacar que, aunque los glóbulos de grasa quedan ocluidos en la matriz del gel, no participan en su formación.

Durante la *Fase primaria*, se produce una profunda modificación en la organización micelar, debido a la acción específica ejercida por el cuajo sobre la  $\kappa$  caseína. En efecto, como ya se mencionó, dada su insensibilidad a los iones  $\text{Ca}^{+2}$  (a diferencia de las caseínas  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  y  $\beta$ ), esta proteína se localiza preferentemente en la superficie de las micelas (orientando su región hidrofílica al medio), ejerciendo un rol de coloide protector sobre las mismas. En forma muy sintética se puede decir que cuando el cuajo hidroliza el enlace peptídico  $\text{Fen}_{105}\text{-Met}_{106}$ , de la  $\kappa$ -caseína, se libera ese segmento hidrofílico  $\kappa$ -CN (f106-169), conocido como Glico-macropéptido (GMP) ó Caseína-macropéptido (CMP), mientras que el resto de la molécula, denominado para- $\kappa$  caseína permanece unida a la micela. Bajo estas condiciones, se pierde el efecto protector que la  $\kappa$  caseína ejerce sobre las micelas, quedando expuestas las zonas sensibles al calcio  $\text{Ca}^{+2}$  por lo que en presencia de éste, comienzan a agregarse espontáneamente, dando como resultado un gel que abarca la totalidad del volumen reaccionante. Es importante destacar que, a estas uniones intermicelares a través de iones  $\text{Ca}^{+2}$ , se suman interacciones hidrofóbicas propiciadas por la reducción, tanto en la carga superficial como en la estabilización estérica, que produce la hidrólisis de la  $\kappa$ -caseína.

En la Figura 12, se puede observar una representación esquemática del fenómeno de coagulación de la leche, conjuntamente con su incidencia en la viscosidad de la misma.



**Figura 12:** Representación esquemática de la coagulación de la leche. (a) Micelas de caseína con recubrimiento de  $\kappa$ caseína intacta, siendo atacadas por quimosina. (b) Micelas con la  $\kappa$ caseína parcialmente hidrolizada. (c) Micelas con la  $\kappa$ caseína extensamente hidrolizada, en proceso de agregación. (d) Liberación de macropéptidos (◆) y cambios en la viscosidad (■) durante el curso de la coagulación enzimática.

## *Coagulación de la leche en la elaboración de quesos*

Si bien, tanto en la coagulación ácida como en la coagulación enzimática de la leche, se produce el cambio de su estado líquido al de gel, las características, tanto estructurales como sensoriales, del coágulo obtenido en ambos casos, son sustancialmente diferentes. Es por ello que, en la elaboración de prácticamente todos los quesos, se usa un sistema de coagulación mixto, en el que predominará un mecanismo u otro, según las propiedades del producto que se quiera lograr. Por lo general, se realiza una acidificación suave, aportada por bacterias lácticas o fermento primario (estárter), y luego se coagula más o menos rápidamente por acción enzimática (Gauna, 2005).

Cabe señalar que tanto las condiciones en que se produce la coagulación (cantidad de enzima coagulante, tiempo, temperatura), como así también la forma en que se manipula el gel obtenido (período de adquisición de firmeza, corte, tamaño de grano, agitación, temperatura de cocción, etc.), tienen un impacto directo, no sólo en la calidad del producto, sino también en el rendimiento quesero, ya que, si se malogra esta serie de acciones combinadas unas con otras, habrá una alta probabilidad de pérdida de proteínas en suero, comúnmente conocida “pérdida por finos”.

De lo expuesto, puede inferirse la importancia que reviste hacer una correcta elección del coagulante a emplear, con miras a lograr un óptimo proceso, independiente al tipo de escala y al grado de tecnología adoptada.

### *Tipos de coagulantes*

Durante siglos, el coagulante más utilizado ha sido el cuajo animal (enzima renina extraída del cuarto estómago de los rumiantes lactantes). Sin embargo, las dificultades para el abastecimiento de cuajo, sumadas al avance tecnológico y a los requerimientos industriales, favorecieron el desarrollo de diversos tipos coagulantes, provenientes de diferentes fuentes de obtención. Entre los más difundidos se encuentran los de origen animal (pepsinas bovina y porcina), de origen microbiano (proteasas fúngicas y bacterianas) o vegetal (flores de *Cynara cardunculus* etc.).

#### **a. Cuajos de origen animal**

El cuajo, antiguamente llamado renina, comprende un conjunto de enzimas pertenecientes al grupo de las aspartatoproteinasas. Pepsina A (EC. 3.4.23.1), Pepsina B (EC. 3.4.23.2), Gastricina (EC. 3.4.23.3). Estas enzimas son secretadas por el abomaso (estomago verdadero de los rumiantes jóvenes) en forma inactiva o zimógeno, denominada pro-quimosina, la cual se activa

autocatalíticamente por liberación de un péptido N-terminal, proceso acelerado por la presencia de iones  $H^+$ .

La quimosina incluye dos formas, A y B que difieren en la secuencia de sus proenzimas solamente en un aminoácido (sustitución de un Asp por Gly en la posición 290). La quimosina y la pepsina se hallan en mayor proporción que la gastricsina, cuya actividad frente a la caseína no ha sido muy estudiada (Ferradini et al, 2007).

Los cuajos provenientes de animales rumiantes, presentan una relación enzimática entre quimosina/pepsina de ~80%-20% respectivamente. Sin embargo, a medida que los animales crecen y comienzan con la ingesta de pasturas, esta relación se invierte, pasando a ser del orden de un 20% para la quimosina y un 80% para la pepsina.

Por otro lado, cabe señalar también que la secreción de zymogenos en la mucosa gástrica también se encuentra significativamente afectada por la edad y la dieta del animal (Moschopoulou, 2011).

Por lo tanto, si bien ambas enzimas estarán siempre presentes en el cuajo, su proporción variará con la peculiaridad del animal, lo cual es importante tener en cuenta, dado que la pepsina exhibe una menor actividad específica y poder coagulante que la quimosina.

Por otro lado, existen también coagulantes de leche, obtenidos a partir de animales no rumiantes, como es el caso de la pepsina porcina y pepsina de pollo, los que son utilizados en algunos países debido a cuestiones culturales-religiosas como por ejemplo el Estado de Israel y República Checa. La utilización de estas enzimas en la elaboración de quesos, conduce al desarrollo de características de textura, aroma y sabor muy diferentes a las obtenidas cuando se emplea cuajo bovino. (Ferradini et al, 2007).

La pepsina porcina se utiliza en Estado Unidos, mezclada con pepsina bovina y quimosina, aunque en forma muy limitada debido a que su actividad es altamente dependiente del pH. En efecto, dado que su pH óptimo es cercano a 2 (no coagula la leche a su pH normal), que es un valor muy lejano al de un queso, su contribución a la proteólisis durante la maduración es muy escasa (Zalazar, 1994).

Una de las prácticas más difundidas en quesería, especialmente en Europa, es la utilización del cuajo animal en pasta. Este tipo de producto, preparado generalmente por los maestros queseros en forma artesanal, posee una composición enzimática ampliamente variable, por cuanto la misma se ve afectada por la edad del animal, tipo de alimentación, métodos de extracción, manipulación, conservación, etc., lo cual, indudablemente, condiciona mucho su actividad coagulante (Moschopoulou, 2011). Sin embargo, la presencia de ciertas lipasas que se suman a las enzimas proteolíticas, contribuye al desarrollo del flavor propio del queso, el cual no puede lograrse con otros coagulantes, ó en diferentes regiones de elaboración.



En este sentido, uno de los coagulantes de mayor difusión en regiones europeas para la fabricación de queso de oveja, es el cuajo en pasta de cabrito, el cual es utilizado en el 80% de las fábricas tradicionales de Catanzaro, región de Calabria, Italia. (Moschopoulou, 2011). Esto se debe al rol fundamental que cumple este coagulante durante la maduración del queso. En efecto, se ha encontrado que en este tipo de cuajo, además de estar presente la proteasa responsable de la coagulación de la leche, también se encuentran activos otros equipos enzimáticos que dan lugar a la formación de las sustancias sápidas y aromáticas propias del producto, como es el caso de las lipasas, que generan ácidos grasos libres (principalmente de cadena corta) que aportan al queso un característico sabor picante (Virto et al, 2003; Castillo et al, 2007).

En virtud de lo expuesto, se puede decir que los coagulantes en pasta poseen determinadas características que les confieren una cierta particularidad con respecto a otros cuajos del tipo comercial. Por ejemplo, Ferrandini et al (2007) expone las diferencias en los resultados fisicoquímicos, microbiológicos y reológicos obtenidos entre quesos elaborados con cuajo natural en pasta de cordero y cuajo comercial, en especial el menor tiempo de maduración requerido por los primeros. Por esta razón, la mayor aplicación de estos coagulantes corresponde a quesos elaborados bajo denominación de origen controlada, en los que se respetan estrictos protocolos que sólo permiten el uso del cuajo animal en pasta, obtenido según las pautas tecnológicas autóctonas y propias de cada región. En general, los cuajos de cabra u oveja son tradicionalmente utilizados en países del sureste europeo, para la fabricación de quesos en los que se emplea la misma leche de dichas especies, bajo denominación de origen como, por ejemplo, Idiazabal y Roncal, en España, Pecorino Romano, Provolone picante, Fiore Sardo y Canestrato Pugliese, en Italia y queso Feta, en Grecia. (Zalazar, 1994; Moschopoulou, 2011).

#### **b- Coagulantes de origen microbiano**

Como ya se indicó, debido a la limitada disponibilidad y elevado costo del cuajo de ternero mamón, se han desarrollado sustitutos de distinto origen. Entre los más destacado se encuentran los de origen microbiano, los que actualmente abarcan una fracción considerable de la demanda de enzimas coagulantes de todo el mundo.

Los primeros coagulantes de origen microbiano que se implementaron fueron los obtenidos por fermentación a partir de distintos microorganismos, como por ejemplo las enzimas fúngicas con capacidad de coagular la leche, provenientes de *Rhizomucor miehei*, (EC.3.4.23.23), *Rhizomucor pusilus*, (EC.3.4.23.23) y *Cryphonectria parasítica* (antiguamente conocida como *Endotia parasitica*), (EC 3.4.23.22) Wolfgang Aehle, 2007.

De estas proteasas, la producida por *C. parasitica* es la que presenta la mayor actividad, habiéndose evidenciado que su concentración residual en quesos no calentados (ya que siendo termolábil se destruye durante la cocción) produce una notable acumulación de péptidos amargos provenientes principalmente de su acción sobre la  $\beta$ -caseína (Quijano Velazco, 2010), por lo que prácticamente ha caído en desuso.

Paralelamente, también se han reportado enzimas coagulantes producidas por bacterias tales como *Bacillus cereus*, *Bacillus polymixas*, *Bacillus mesentericus*, etc., pero éstas existen como parte de mezclas crudas que contienen otras enzimas altamente proteolíticas que son nocivas para las características de los quesos (Zalazar, 1994).

Por otro lado, el rol preponderante que cumple el cuajo de ternero mamón, ha inducido a los científicos a emplear técnicas de ingeniería genética para obtener quimosina, la cual, como ya se mencionó, es su principal enzima. Por consiguiente, a partir de 1988, ingresa al mercado un nuevo grupo de coagulantes, obtenidos mediante microorganismos genéticamente modificados, conocidos comercialmente como quimosinas producidas por fermentación (RPF). Básicamente, el gen que codifica la producción de pro-quimosina bovina tipo B (aislado del cuarto estómago de un ternero mamón) se implanta en el genoma de una levadura como *Kluyveromyces lactis* o de hongos tales como *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger*. La enzima se sintetiza en forma de pro-quimosina, que se activa tras el lisado de las células, una vez detenida la fermentación. Si bien la cadena polipeptídica obtenida por esta vía, es evidentemente idéntica a la de la quimosina bovina, la glicosilación de la misma es distinta.

En lo que respecta a la quimosina tipo A, aunque ésta ha sido clonada y expresada en *E. coli*, no tiene una gran disponibilidad comercial.

Recientemente, Kappeler et al (2006), expresaron el gen que codifica la quimosina de camello (*Camelus dromedarius*) en *Aspergillus niger* y produjeron quimosina de camello por fermentación, conocida como “quimosina de camello recombinante”. Esta quimosina exhibió una mayor termoestabilidad, y una marcada diferencia en su capacidad hidrolítica; teniendo, sobre la leche bovina, un 70% más de actividad coagulante por mol que la quimosina ternero mamón, pero sólo el 20% de su actividad proteolítica general (Kappeler et al, 2006).

Estas diferencias, sin embargo, no afectan su performance en la fabricación de quesos. En efecto, a través de una experiencia en la que se compararon quesos Cheddar, elaborados con quimosina de camello recombinante con los obtenidos mediante quimosina bovina, se pudo constatar que, si bien la composición global en ambos casos fue la misma, los primeros alcanzaron una menor proteólisis primaria, con gran diferencia en los perfiles peptídicos, pero con menores niveles de compuestos amargos y sabores indeseables en los primeros (Bansal et al. 2009).

### c- Coagulantes de origen vegetal

De acuerdo a su origen, existe un tercer grupo de coagulantes, que corresponde a los que se obtienen a partir de la secreción y maceración de plantas tales como el cardo silvestre (*Cynara cardunculus*), la higuera y el mamón, siendo la primera la de mayor aplicación. La principal característica que poseen estas enzimas, es su bajo poder coagulante y su elevada e inespecífica actividad proteolítica, que puede conducir a la formación de compuestos indeseables. Por ejemplo, en quesos tipo Manchego elaborados con coagulante vegetal obtenido de flores secas de cardo *Cynara cardunculus* L, se detectó una mayor intensidad de sabores ácidos y amargos, conjuntamente con un menor grado de dureza que los elaborados con cuajo bovino (Prados et al 2006). No obstante, estudios más recientes, realizados sobre la performance del coagulante de *C cardunculus* en quesos semiduros de oveja, han demostrado que, en distintas concentraciones, esta enzima constituye una buena alternativa para acelerar la maduración de los mismos, sin detrimento de sus características organolépticas (Galán et al, 2008).

Esta problemática, sumada a la dificultad que presenta su obtención en grandes cantidades, ha hecho que estos coagulantes no posean una amplia difusión, y que su uso se vea circunscripto a acotadas regiones del mundo, para la elaboración de quesos artesanales tales como el Serra y el Serpa de Portugal (Zalazar, 1994), la torta del Casar (queso español, con denominación de origen protegida, elaborado con enzima de *C cardunculus*) (Rey, 2013).

Por otra parte, también se ha informado acerca de otros compuestos de diverso origen botánico con capacidad de coagular la leche, como por ejemplo la resina de la higuera (*ficus carica linnaeus*), utilizada como cuajo vegetal (leche de higo verde) en la elaboración del queso fresco en Ecuador, (Novillo Carchi, M R, 2011). Mazorra-Manzano y colaboradores (2013) evaluaron las propiedades de tres extractos vegetales, Kiwi, Melón y Jengibre, y el efecto de la temperatura sobre la actividad de coagulación que presentan dichos extractos.

Actualmente, los coagulantes se comercializan como confecciones líquidas, en pasta o en polvo, según sus características y composición, y con distintos niveles de fuerza de acuerdo a su título (Tarchini et al, 1997; Meinardi et al, 2002).

Un aspecto que reviste gran importancia al momento de adoptar un determinado coagulante, es su pureza. En este sentido, sin embargo, resulta menester diferenciar qué se entiende por pureza enzimática y pureza química. La pureza enzimática se refiere a aquellos productos que no contienen enzimas adventicias (como impurezas procedentes de la fuente de obtención o del proceso de preparación), que puedan dar lugar a reacciones secundarias indeseables que conduzcan a la generación de sabores y/o aromas impropios en el producto final.

Por el contrario, los productos de alta pureza química son aquellos en los que todas las sustancias que lo componen están químicamente identificadas. Sin embargo, en este caso, no se puede garantizar que sólo estén presentes las enzimas de interés tecnológico, y no existan aquellas con actividades secundarias inadecuadas.

Los cuajos y coagulantes pueden poseer distintos grados de pureza enzimática, habiéndose encontrado, en muchos de ellos, un gran número de actividades secundarias, responsables de la formación de sabores amargos o no deseados, como así también de conducir a defectos en la textura del queso. Asimismo, también es importante tener en cuenta el impacto que estos efectos indirectos tendrán frente a un ulterior uso del suero como ingrediente alimenticio.

## **OBJETIVOS**

## Objetivos Generales

- En el presente trabajo se plantea, ampliar, profundizar y discutir la información existente en la bibliografía, acerca de las maneras más frecuentes de preparación de un coagulante a partir del abomaso de cabra, sus principales características y formas de uso. Para ello, se tomará como base la información recabada a partir de los trabajos de campo, llevados a cabo en el marco de los Proyectos en los que participa INTI Lácteos e INTA, atendándose especialmente a las metodologías utilizadas por los productores artesanales de queso de cabra en el noroeste argentino (NOA), particularmente de la zona noroeste de la provincia de Córdoba y del Valle Calchaquí, localidad de Amblayo (Prov. de Salta).

## Objetivos Específicos

- Realizar una investigación bibliográfica sobre metodologías de elaboración, usos y conservación del cuajo en general y de cabrito en particular, fundamentalmente los utilizados para elaboraciones de quesos a escala artesanal, tanto en el orden nacional como internacional.
- Organizar y sistematizar la información de campo, obtenida a través de las visitas a establecimientos elaboradores de quesos artesanales de cabra, ubicados en el noroeste Cordobés, en lo concerniente a:
  - ✓ La metodología utilizada para obtener sus propios coagulantes a partir de cuajares de cabrito.
  - ✓ La actividad coagulante y las características microbiológicas y fisicoquímicas de las muestras de cuajo recolectadas.
- Establecer un análisis comparativo de las principales propiedades de los agentes coagulantes usados en la zona del norte y noroeste Cordobés, y en la región de Valles Calchaquíes, Amblayo (Salta), con los aportados por la bibliografía.
- Elaborar y diseñar un cuadernillo/protocolo de obtención artesanal de cuajo de cabra, que contemple las buenas prácticas de elaboración.

# **METODOLOGÍA DE TRABAJO**

## Recopilación de información referida a diferentes establecimientos elaboradores de quesos artesanales de cabra

### a- Regiones comprendidas en el presente relevamiento

Como ya se mencionó, el desarrollo del presente Trabajo estuvo enfocado en el estudio de los coagulantes empleados en los distintos establecimientos elaboradores de quesos artesanales de leche de cabra, ubicados en la zona del norte y noroeste Córdoba y en la región de los Valles Calchaquíes, localidad de Amblayo de la provincia de Salta, Figuras 13 y 14.

Dichas regiones cuentan con una rica historia dentro del territorio nacional, en cuanto a elaboración de queso criollo (semiduro) y quesillo (pasta hilada) de cabra. Por esta razón la importancia de contemplar las mismas a la hora de trabajar en un relevamiento, en lo que hace a elaboración y producción artesanal de quesos de cabra.

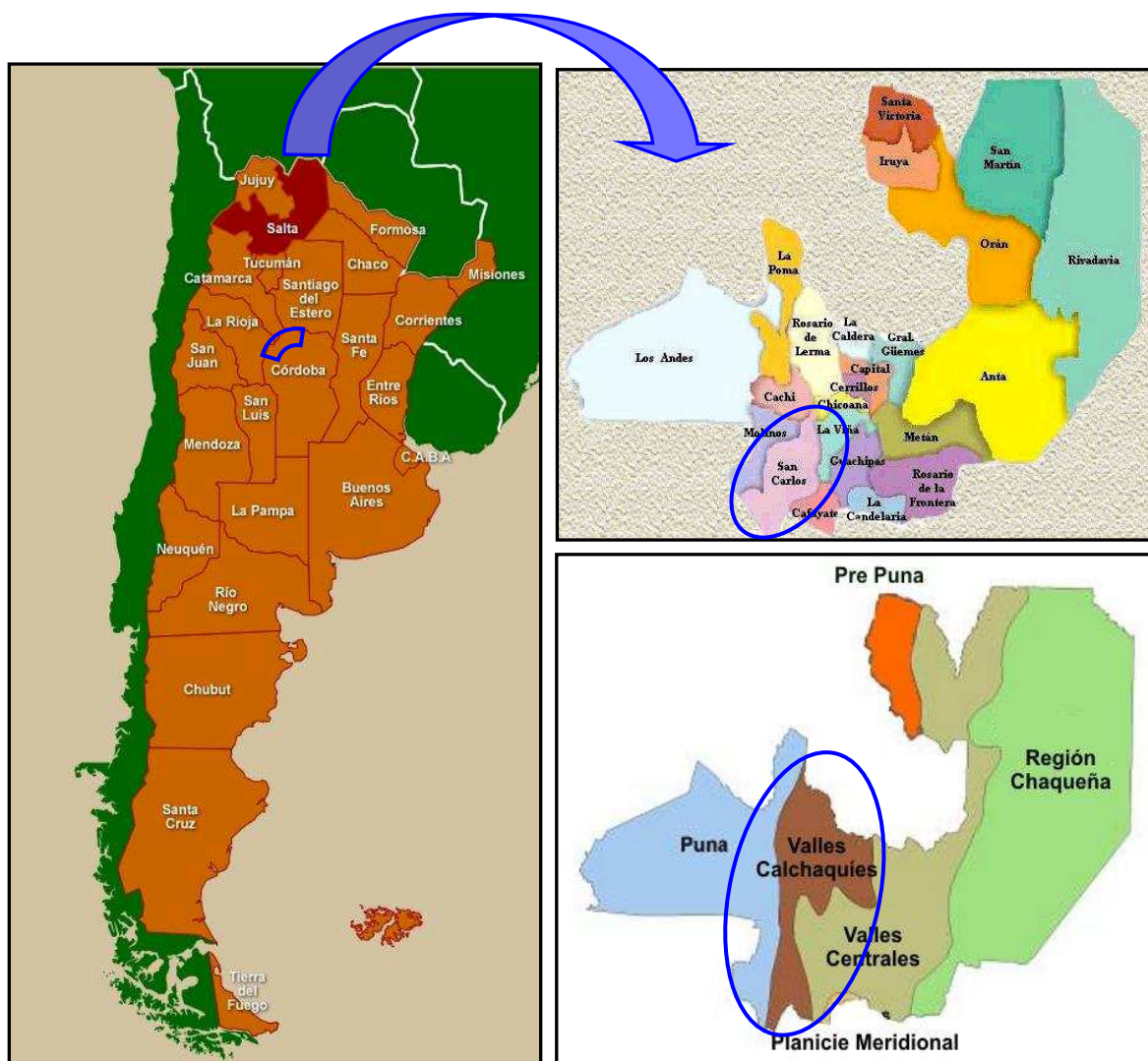


Figura 13: Regiones de Salta y Córdoba comprendidas en el presente trabajo





**Figura 14:** Georeferencia de las explotaciones caprinas emplazados en el noroeste cordobés (fuente propia).

#### **b-** Perfil ganadero de los establecimientos elaboradores de quesos artesanales de cabra

Por lo general, pertenecen a familias compuestas por hijos pequeños (o nietos), y son principalmente las mujeres quienes se encargan de actividad productiva (ordeño y elaboración del quesillo), puesto que el padre y/o sus hijos mayores se trasladan a otras provincias en las que se desempeñan como peones golondrina.

Normalmente, se trata de producciones extensivas, del tipo doble propósito, es decir aprovechamiento de carne y leche. En la Figura 15 se puede apreciar un típico corral de producción caprina.

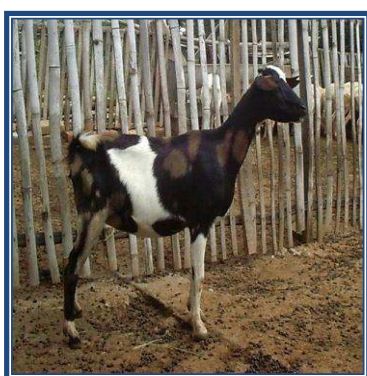
Un productor caprino promedio, característico de las zonas exploradas, cuenta con un rebaño que ronda las 80 cabezas, las que en su mayoría pertenecen raza Criollo (Figura 16). No obstante, también es posible encontrar majadas con una fuerte composición de razas Saanen ó Anglo Nubian (Figura 14), sobre todo en aquellos rebaños orientados a la producción lechera.

Cabe destacar que la raza Anglo Nubian mostró, con los años, una mejor performance en el territorio, razón por lo cual existe un predominio de la misma en los diferentes emprendimientos establecidos a lo largo del arco norte-oeste de la provincia de Córdoba



**Figura 15:** Típico corral de producción caprina

La explotación predominante, a nivel país, corresponde al cabrito mamón de 8 a 10 kg, en pié, con un rendimiento del 53% y una edad que va de 30 a 90 días (Trezeguet, 2010).



Criollo



Saanen



Nubian

**Figura 16:** Razas caprinas prevalentes en las zonas norte y noroeste de la provincia de Córdoba y en las localidades de Amblayo y Valles Calchaquíes en la provincia de Salta.

Es importante mencionar que, al ser la gran mayoría de estas explotaciones desarrollada de modo extensivo sobre terrenos fiscales y que, por ende, no existen divisiones de terrenos, está siempre latente la amenaza de ser desplazados por el advenimiento de nuevos emprendimientos tecnológicos, como por ejemplo la siembra directa de soja. Indudablemente, un acontecimiento de esa naturaleza, atentaría sustancialmente contra una antigua y tradicional forma de producción ganadera, llevada a cabo por trabajadores, tanto nativos como proveniente de otras regiones.

En lo atinente a la evaluación de la producción láctea caprina, es importante tener en cuenta que prácticamente todas las estadísticas y estudios sobre la misma, se hacen en base al volumen operado en las plantas industriales, sin considerar las cantidades que son procesadas y comercializadas de modo informal, y menos aún aquellas que producen y consumen en las mismas unidades productivas (Estrategias comerciales para el sector caprino. estudio de caso de la "cadena caprina", 2007).

### *Ciclos productivos*

Según los ciclos naturales de ovulación, la reproducción de cabritos es estacional, lo cual determina dos temporadas productivas; una hacia fines del otoño-invierno y otra en primavera. Esta última podrá ser más o menos abundante según sea el régimen de lluvia, ya que el rendimiento está directamente asociado al tipo de alimentación del rebaño. En virtud de ello, normalmente se obtiene una mayor producción de leche en los meses de primavera y verano (época de disponibilidad de pasturas), y una cierta caída en otoño e invierno, aunque esta tendencia puede atenuarse con mejoras tecnológicas y suplementación en la alimentación del animal. En efecto, se ha encontrado que en los tambos con buen nivel operativo, la diferencia estacional en la producción de leche guarda una relación de 3-4:1, mientras que en aquellos que han quedado tecnológicamente desactualizados, la misma se eleva a 10:1 (Estrategias comerciales para el sector caprino. Estudio de caso de la "cadena caprina", 2007).

En general, los cabritos son adquiridos por los acopiadores de la ciudad, denominados comúnmente "cabriteros", quienes representan una figura importante como nexo entre la zona de producción y la zona de consumo. La operación comercial se paga en efectivo o bien en forma de trueque, en base a insumos que los productores necesitan a diario, tales como ropa, alambre o comestibles (harina, azúcar, maíz, etc.), aunque muchas veces, esta alternativa, no los favorece, por cuanto se deprecian sus animales.

Indudablemente, esta irregularidad, es consecuencia de la ausencia de una organización que agrupe o asocie a los productores (como existe en muchas regiones), que defienda sus intereses, permitiéndoles ubicar sus productos en el mercado a su precio de referencia.

Si bien en estas regiones coexisten las formas tradicional y moderna de ordeño, la gran mayoría de los establecimientos responde aún a la primera, por cuanto persiste en conservar sus antiguas costumbres, a pesar de las desventajas que ello conlleva.

Vale aclarar, sin embargo, que en el ordeño manual, propio del “modelo tradicional” que se aplica actualmente, se han introducido algunas prácticas, que ciertamente contribuyen a la calidad del producto obtenido. Así, por ejemplo, hoy en día, muchas instalaciones realizan el ordeño fuera del corral y en tarimas, lo cual, además de proporcionarle mayor comodidad al operario, le brinda una visión más amplia del estado sanitario de las ubre y de la leche misma que está recolectando, Figura 17.



**Figura 17:** Instalaciones de ordeño caprino

Generalmente, esta actividad se realiza una vez al día, utilizando jarras y tambores de plástico, y lienzos para filtrado. A continuación se procede al enfriamiento de la leche, lo cual se realiza mediante agua ó freezers domésticos y finalmente se transporta en camionetas bajo refrigeración con hielo.

Con el "modelo moderno", por el contrario, el ordeño puede hacerse hasta dos veces al día, de manera mecánica (con diferentes tecnologías), e incorporando técnicas de autolimpieza y desinfección.

El refrigerado y el transporte se realizan con equipos especiales que mantienen constante la temperatura de la leche a unos 4 - 5 °C.

Por otro lado, en este modelo, el manejo del rodeo permite controlar los partos y alargar así la lactancia, a la vez que se ejercen mayores controles sanitarios y se incluye una alimentación suplementaria.

Para implementar el modelo moderno, las instalaciones (corrales, salas de ordeño y equipos de frío) se adecuan a los requerimientos de los organismos de certificación, lo cual les permite realizar el proceso de ordeño de una manera más eficiente (Estrategias comerciales para el sector caprino. Estudio de caso de la "cadena caprina" 2007).

## **Elaboración artesanal del líquido coagulante: “Un saber empírico”**

La mayor parte de la información y experiencia recogida a través de este estudio, se obtuvo a partir del contacto directo que se pudo establecer con los productores del territorio seleccionado, trabajando en base a un cuestionario formulado ad hoc como parte de los “trabajos a campo” (ver **Anexo I**).

A partir del intercambio de conceptos y de la observación de sus prácticas de elaboración de quesos de leche caprina, se pudo comprobar que la mayor parte de la metodología empleada, se ajusta a ciertas pautas que, si bien no responden a un fundamento científico, son el resultado de un conocimiento que ha sido transmitido de generación en generación.

Como en la mayor parte del país, en estas regiones, la selección y preparación del cuajo animal, para la fabricación de quesos artesanales, es una práctica muy difundida que consiste, básicamente, en la recuperación de un subproducto de la faena del cabrito. Son muchos los productores que coinciden tanto en el procedimiento de preparación como en la forma en que se emplea el líquido coagulante obtenido. En efecto, según la encuesta realizada, el 81% de los emprendimientos consultados utiliza la misma metodología de preparación, mientras que el 19% restante utiliza alguna variante de ésta.

### ***Detalle del procedimiento de preparación***

Tras la faena del animal, se le extrae el *abomaso* o cuajar (cuarto y último compartimento del estómago de los rumiantes), como parte del tracto gastrointestinal, al cual se separa del conjunto de vísceras, tal como se muestra en la Figura 18.



**Figura 18:** Proceso de separación del cuajo animal

Luego de haber sido separada la porción intestinal correspondiente al cuajo propiamente dicho, se procede al lavado de la misma. Una vez que la víscera está limpia, pasa a la etapa de salado, para lo cual se la puede cortar (para abrirla), o no. En el primer caso, es decir cuando el cuajo ha sido previamente abierto, esta operación se realiza “tipo marinado”, de lo contrario se lo rellena con sal gruesa por dentro, y también se cubre con sal toda su superficie exterior. Con esto se logra el disecado de la pieza, condición fundamental para su conservación (charqui: carne salada y deshidratada). En algunos casos, además de la deshidratación, también se incluye una etapa de ahumado, con lo que se incrementa el tiempo de preservación.

En la Figura 19 se pueden apreciar la diferencia en las características de los productos obtenidos a través de ambos procedimientos.



**Figura 19:** Apariencia de los cuajos obtenidos por deshidratado (cuajo seco) y por deshidratado más ahumado (cuajo seco + ahumado)

Es importante tener en cuenta que, durante la operación de secado a que se someten los cuajos con el fin de conservar su aptitud (el contenido de humedad condiciona la vida útil del producto), los mismos pueden sufrir una cierta disminución en su actividad enzimática, algo que no ocurre con los cuajos en pasta de cabrito, muy difundidos en determinadas regiones Europeas, especialmente de Italia.

Una vez que se ha obtenido el cuajo ya deshidratado, está listo para usarse como insumo en la preparación del líquido coagulante artesanal. Este último, es fundamental en la tecnología de elaboración quesera, ya que no sólo permite realizar la coagulación de la leche (cambio de fase líquida al estado de gel) en el tiempo y la forma adecuada, sino que también puede definir las características del producto obtenido.

Artesanalmente, la preparación del agente coagulante, consiste simplemente en hacer una rehidratación del cuajo seco y, para ello, es común que se utilice el suero de leche resultante de una elaboración anterior, Figura 20.





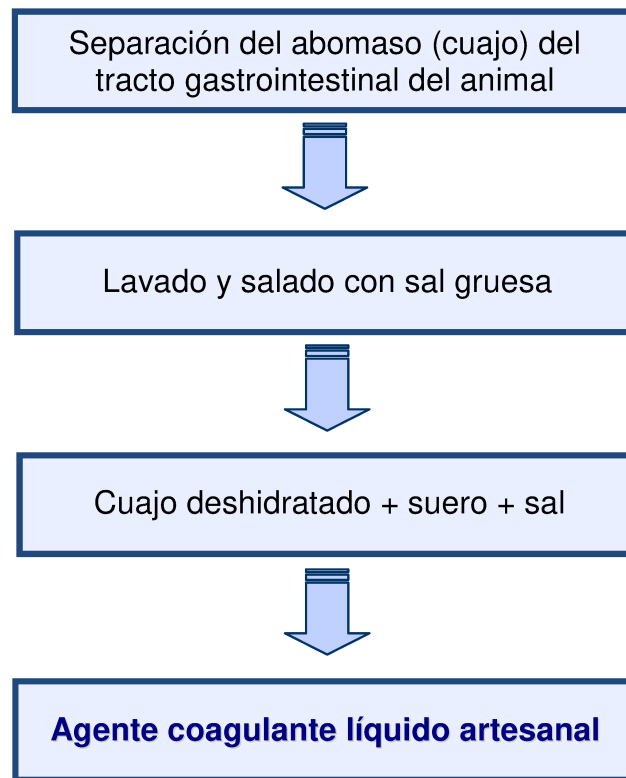
**Figura 20:** Agente líquido coagulante compuesto por cuajo suspendido en suero de quesería

Existe, asimismo, otra alternativa en la que se utiliza agua con sal como agente rehidratante y así se lo conserva en frío. Sin embargo, esta metodología es la menos difundida, puesto que no todos los establecimientos de las zonas exploradas cuentan con una heladera, y por ello se vuelcan a la primera opción.

Sin embargo, a estas prácticas tradicionales, se puede sumar una receta española, empleada por uno solo de los productores visitados, perteneciente a la localidad de Copacabana (Córdoba) que simplemente consiste coagular la leche mediante el agregado de las tiras de cuajo.

Cabe destacar que, dado que en la mayoría de los casos, los cuajares se obtienen a partir de cabritos mamonos, la enzima predominante es la quimosina, en una relación de aproximadamente 80%-20% con respecto a la pepsina, la cual, como ya se indicó, se invierte cuando el animal comienza con la ingesta de pasturas.

En la Figura 21 se resumen las diferentes etapas que conforman el proceso de obtención del coagulante líquido artesanal.



**Figura 21:** Esquema de la elaboración artesanal del coagulante líquido

En algunas oportunidades, cuando se requiere el suero de leche y no se dispone del mismo, éste se prepara especialmente a partir de la coagulación de la leche mediante un agente coagulante vegetal. Entre los más utilizados para este propósito se encuentran la resina de la higuera (*Ficus carica*), o bien, el látex de la planta que los habitantes del lugar conocen como “Tasi” (*Morrenia odorata*), cuyas frutas son comestibles (<http://es.wikipedia.org/wiki/Morrenia>).

Indudablemente, como todo proceso artesanal, la preparación del coagulante de cabrito está diferenciada por las costumbres y características de cada región. Así, por ejemplo, en la elaboración artesanal del queso feta, los cuajos de cabrito o cordero secos y salados, son cortados y macerados en agua y sal, y luego el extracto es salado nuevamente y guardado a 4-5°C (Moschopoulou et al. 2007).

A nivel comercial, actualmente la obtención del cuajo se realiza partiendo de los estómagos, que han sido congelados inmediatamente después del sacrificio del animal, a los cuales, una vez descongelados se los pica para facilitar la extracción de las enzimas. Esta se realiza en soluciones acuosas de cloruro de sodio y algún conservador, con tiempo y temperatura controlada. Este líquido de extracción contiene las enzimas como proenzimas inactivas, para su activación se desciende el pH a valores determinados y se mantiene el producto cierto tiempo en esas condiciones. Las etapas

siguientes son la purificación, concentración, para ellos se utilizan filtros, centrifugas y equipos de concentración por membrana. El acabado se realiza con adición de conservadores, colorantes y aromatizantes (Zalazar 1994).

Por otra parte, en 1991, Kim y Zayas, introdujeron un procedimiento por ultrasonido asistido, para la extracción de tejido del abomaso, mediante el cual lograron obtener una actividad de la quimosina mayor que en los extractos convencionales, y sin alteraciones en la acción proteolítica ni en la estabilidad durante el almacenamiento (Jacob et al, 2011).

### ***Coagulante líquido artesanal frente a otros cuajos***

Una de las principales diferencias entre coagulantes de origen artesanal e industrial es la presentación (comercial) de los mismos.

Muchos de los coagulantes que actualmente se encuentran en el mercado vienen en sus presentaciones comerciales bajo el formato líquido o en polvo, y con el título de fuerza de coagulación perfectamente establecido para su posterior dosificación en la tina de elaboración según la cantidad de leche a procesar, además de un completo detalle de sus características generales.

A modo de ejemplo, en el **Anexo I** se presentan algunos de los productos de mayor difusión en el mercado.

<http://test.tuteuralimentos.com.ar/archivos/productos/cuajo-liquido-20-80.pdf>

<http://test.tuteuralimentos.com.ar/archivos/productos/microclericiliquid.pdf>

[www.chr-hansen.es/productos/enzimas/nuestrosproductos/coagulantes.html](http://www.chr-hansen.es/productos/enzimas/nuestrosproductos/coagulantes.html)

Por el contrario, cuando se emplean coagulantes artesanales, elaborados in situ; líquidos o en pasta (como lo es en el caso de los cuajos caprinos), la tarea resulta más empírica, por cuanto en los establecimientos no se cuenta con la infraestructura y equipamiento necesarios para determinar fehacientemente su título.

Sin embargo, los coagulantes artesanales pueden presentar ciertas conveniencias comparativas con su homólogo industrial:

- a-** Los coagulantes artesanales se pueden elaborar en el mismo lugar, debido a la posibilidad de contar con la materia prima, lo cual conlleva la ventaja de disponer del el insumo para las elaboraciones siempre que se necesite. En este sentido, cabe mencionar que, debido a problemas de logística de envío o bien por la naturaleza geográfica de la región, no siempre los insumos existentes en el mercado pueden alcanzar a todos los sitios.

- b-** Por tratarse de subproductos propios de una empresa artesanal, no es necesario añadir un coste extra para su adquisición, lo cual obviamente representa una importante conveniencia económica.

Los agentes coagulantes artesanales empleados en la elaboración de quesos, con leche proveniente de la misma especie, constituyen una fuente productora de sabores y texturas típicas, tal como ocurre con los quesos regionales de cabra u oveja, que se elaboran en su propia zona de producción. Esto se debe a la acción de las enzimas hidrolíticas presentes, que contribuyen de forma significativa al desarrollo de las características sensoriales que diferencian a estos productos de aquellos elaborados mediante cuajos comerciales tradicionales o bien mediante enzimas de origen vegetal, microbiano o recombinante (Ferradini E, 2007).

## **DESARROLLO EXPERIMENTAL**

### ***Determinaciones analíticas llevadas a cabo sobre el agente líquido coagulante desarrollado en laboratorio***

Las determinaciones analíticas planteadas para el presente trabajo, fueron realizadas sobre réplicas de los coagulantes líquidos obtenidos en forma artesanal. A tal efecto, se reprodujeron fielmente los procedimientos puestos en práctica por los fabricantes más prominentes de la cuenca productiva caprina San Pedro Gutemberg (arco norte-oeste de la Prov. de Córdoba) y del Valle de Amblayo (Prov. de Salta). Para ello, se elaboraron coagulantes líquidos, a nivel laboratorio, empleando las muestras de cuajo de cabrito mamón disecado a la sal (deshidratado), provistas por los mismos productores.

A los efectos de no incurrir en grandes variaciones en la composición físico-química de los preparados, en todos los casos, se trabajó con suero dulce de quesería estandarizado en materia grasa (desgrasado), proveniente de un establecimiento local, el cual constituye un insumo base para diversos procesos industriales.

Con el objeto de verificar eventuales variaciones estacionales, se contemplaron dos períodos, que estuvieron comprendidos entre los meses de julio a setiembre y octubre a diciembre.

#### ***Primera experiencia (julio-setiembre)***

En la primera experiencia se trabajó con dos muestras, suministradas por diferentes establecimientos, identificadas como Cuajo 1 y Cuajo 2, ambas provenientes de San Pedro Gutemberg (arco norte-oeste de la Prov. de Córdoba). a las que se rehidrató en el suero dulce de quesería en una proporción del 5% P/V. Esta relación responde a lo observado en las distintas instalaciones donde los productores utilizan medio cuajo, cuyo peso promedio es aproximadamente 50 g y lo introducen en una botella conteniendo 1 litro de suero. La rehidratación se produjo durante 24 horas a 38-40°C. Finalmente, las muestras fueron adicionadas de sal en una relación de 0,5 % P/V.

La maduración del líquido coagulante, es decir la fermentación y consecuente acidificación, se realizó a temperatura ambiente (estándar de laboratorio) cuyo valor osciló entre los 22 y 24°C.

### ***Segunda experiencia (octubre a diciembre)***

Para la segunda experiencia se trabajó con cuatro muestras de cuajo provenientes de la región noroeste de la provincia de Córdoba identificadas como A, B, C y D y para las muestras provenientes del la región Salteña de Valles Calchaquíes, se las identifico como muestras numero 4, 8, 11 y 15, donde cuya preparación se procedió ídem que en el primer ensayo.

### **Determinaciones analíticas**

A continuación se describe muy sucintamente el fundamento de las técnicas empleadas.

#### **a- Sobre suero dulce de quesería**

- ✓ Extracto seco, por Norma FIL/IDF 21B:1987 (secado en estufa)  
Se colocan 5 g de muestra en material seco y previamente tarado, y se lleva hasta sequedad en baño maría, y posteriormente en estufa durante 2 h a  $102\pm 2^{\circ}\text{C}$ . Una vez retirado de la estufa, el conjunto se deja enfriar y se lo pesa. A continuación se lo vuelve nuevamente a la estufa y se repite el procedimiento hasta lograr una pesada constante.
- ✓ Materia Grasa, según Norma FIL/IDF 22B:1987 (Método de Roesse Gottlieb)  
Se colocan 10 g de muestra en un Tubo de Mojonnier, donde se mezclan con solución de hidróxido amonio, etanol, éter etílico y éter de petróleo. A continuación se evapora solvente del extracto, primero en platina y posteriormente en estufa. Seguidamente se pesa, se vuelve a la estufa, y se repite la operación hasta obtener una pesada constante.
- ✓ Proteínas totales, por Norma FIL/IDF 20B:1993 (Método Kjeldahl)  
Se digieren 5 g de muestra con ácido sulfúrico concentrado y un catalizador (sulfato de cobre) a  $400^{\circ}\text{C}$ . El amoníaco formado se destila por arrastre con vapor (luego de haberse liberado previamente mediante la adición de NaOH), y se recoge en solución ácido bórico. Sobre esta última se valoró el borato de amonio formado, titulando con una solución de ác. sulfúrico 0,1 N.
- ✓ Cenizas Método AOAC 945.46  
Se pesan 5 g de muestra en crisol, seco y previamente tarado. Se lleva a sequedad en baño maría y luego se calcina en mufla por 2hs (hasta que quede libre de C) a una temperatura de  $500-550^{\circ}\text{C}$ . El conjunto se enfriar en desecador, se pesa y se determina el porcentaje de cenizas de la muestra.

✓ Lactosa

Se la obtiene por la diferencia entre el contenido de sólidos totales y el del resto de los componentes determinados (proteína, grasa y cenizas).

**b- Sobre el líquido coagulante**

A fin de evaluar la evolución en el tiempo de los parámetros correspondientes al líquido coagulante, básicamente, se realizaron determinaciones analíticas en tres estadios del proceso de maduración: a las 2 hs de haber rehidratado el cuajo; a los 8 días (aproximadamente a la mitad de la experiencia) y a los 15 días (final). Para ello, se tomó una pequeña muestra de la fracción líquida, sobre la que una vez filtrada por tela gasa (para retener los diminutos restos sólidos del cuajo), se hicieron las siguientes determinaciones:

✓ pH

En todos los procesos industriales que involucran una etapa de fermentación, resulta fundamental ejercer un control del pH de la misma, a los efectos de verificar su correcto desarrollo, con lo que, además de asegurar la calidad del producto, se podrán evitar contaminaciones y garantizar así su inocuidad.

En este caso, la disminución del pH obedece, esencialmente, a la producción de ácido láctico debida a la acción de las bacterias ácido lácticas, sobre la lactosa remanente del suero dulce de quesería. Un rápido descenso del pH, puede inhibir, tanto el desarrollo de la flora patógena, como de microorganismos alterantes del producto (tales como los heterofermentantes), puesto que la mayoría de éstos no puede crecer bajo esas condiciones, todo lo cual permite disponer de un ingrediente seguro para la elaboración del queso.

En nuestra experiencia, la medición potenciométrica del pH, fue realizada con un pH-metro digital, marca HANNA, modelo HI 98185, provisto por electrodo de vidrio y calomel, previamente calibrado a pHs 7 y 4, mediante los buffer correspondientes a dichos valores.

✓ Acidez titulable

Al igual que en la leche, la acidez titulable en un suero de quesería, es la valoración de la acidez natural más la acidez desarrollada en el mismo.

En nuestro país, la acidez titulable se expresa en términos de ácido láctico, en base al concepto de Grado Dornic (°D). Según la definición, 1°D corresponde a 1 mg de ác. láctico/10 ml de muestra (0,1 g/L). Para su determinación, se emplea una solución normalizada de hidróxido de sodio N/9, de modo que el gasto (en ml) necesario para neutralizar los grupos ácidos existentes en 10 ml de muestra, representa directamente su acidez en °D.



Todas las determinaciones se llevaron a cabo titulando 10 ml del suero usado para la confección del agente líquido coagulante (previamente filtrado, como ya se indicó), procediendo según la normativa IRAM 14005-1:2006.

✓ Actividad coagulante

Dada la indisponibilidad de un equipo que permita realizar un estudio objetivo del fenómeno de la coagulación, como lo es el Formagraph (actualmente obsoleto, debido a la falta de insumos), se adoptó la técnica estándar internacional ISO-FIL 157A 2007: “Determinación de la actividad coagulante total de cuajos bovinos”. En virtud de ello, la primera experiencia estuvo orientada principalmente a lograr un adiestramiento en dicha técnica, y comprobar si, a través de la misma, podían obtenerse resultados razonables y repetitivos.

Habiéndose logrado satisfactoriamente este propósito, se decidió profundizar el estudio, a través de la segunda experiencia, incrementando el número de muestras, y procediendo de igual forma que para la primera.

Es importante resaltar que la puesta a punto de la técnica propuesta por la FIL, fue la respuesta a la necesidad de contar con una herramienta analítica que permita realizar una adecuada ponderación a de la actividad coagulante exhibida por los cuajos artesanales.

El sustrato empleado para esta metodología, consiste en leche bovina descremada en polvo, reconstituida en una proporción de 110 g/L (11%), adicionada de 0,5 g/l de CaCl<sub>2</sub>, a la que, una vez disuelta, se mantiene bajo agitación durante media hora, y luego se deja reposar por igual tiempo en oscuridad.

Por otro lado, también se debe disponer de una solución bufferizada de la enzima patrón, de poder coagulante conocido y estandarizado. Para ello, se usó quimosina recombinante al 100%, ChyMax M (Chr Hansen, Argentina) 1000 IMCU/ml (IMCU son las Unidades Internacionales de coagulación de leche), y como buffer se empleó una solución compuesta por acetato de sodio trihidratado/ácido acético 1M, a pH 5,5.

Para preparar la solución de enzima coagulante de referencia diaria (patrón), se disolvieron 2,5 g de la enzima patrón en 50 ml del buffer de pH 5,5, y de esta solución se tomaron 3 ml a los que se volvió a disolver en otros 50 ml del mismo tampón.

### Técnica operatoria

Básicamente, la técnica operatoria consiste en colocar 25 ml de la leche en polvo reconstituida, en un balón mantenido en baño termostático a 32°C, en rota-balón (a velocidad constante) durante unos 10 a 12 minutos.

Seguidamente se agrega 1 ml de la solución coagulante patrón, y se mide cuánto tarda en coagular. Esta determinación, constituye la referencia, dado que corresponde al tiempo que requiere la enzima adoptada como patrón, para producir la coagulación un cierto volumen de leche, en condiciones perfectamente estandarizadas.

Por un criterio de linealidad, la técnica establece que toda coagulación se debe producir entre 330 y 550 segundos.

Para evaluar la actividad del coagulante incógnita, se toma una muestra del mismo, y se la diluye de manera tal que, cuando se trabaje con 1 ml de esa solución, se obtenga un tiempo de coagulación próximo al de la enzima de referencia (Ver **Anexo 2**: Marcha Analítica Técnica Poder de Coagulación).

### ✓ Análisis Microbiológicos

Además de los análisis fisicoquímicos, los coagulantes líquidos preparados en el laboratorio se controlaron microbiológicamente. Al efecto, a los 0, 8 y 20 días de su preparación, se llevaron a cabo las siguientes determinaciones:

- Recuento de hongos y levaduras: se realizó en Agar Extracto de Levadura Dextrosa Cloranfenicol (agar YGC), Merck (Alemania), incubando 5 días a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ . (Norma ISO 6611- FIL 94: 2004 Leche y Productos Lácteos: Enumeración de unidades formadoras de colonias de levaduras y/o mohos. (Técnica de recuento de colonias a  $25^\circ\text{C}$ ).
- Recuento de gérmenes coliformes totales y *Escherichia coli*: Método de film seco rehidratable – placa PETRIFILM 3M. Tiempo y temperatura de incubación:  $48 \pm 2$  h. /  $35 \pm 1^\circ\text{C}$  (según AOAC 991.14:2005).
- Recuento de microorganismos aerobios mesófilos totales: se realizó en Agar Plate Count, medio comercial deshidratado (Merck, Alemania), incubando  $72 \pm 3$  h a  $30 \pm 1^\circ\text{C}$  (Norma ISO 4833-1:2013). Método horizontal (ya que aplica a varios alimentos) para la enumeración de microorganismos Part 1: Recuento de colonias a  $30^\circ\text{C}$  por la técnica de vertido en placa.
- Recuento de Bacterias Acido Lácticas (BAL) (lactobacilos y estreptococos): se realizó en agar MRS, anaerobiosis (para lactobacilos) incubando 72 h a  $37^\circ\text{C}$  y Agar M17, aerobiosis (para estreptococos), incubando 48 h a  $37^\circ\text{C}$  (Norma ISO 7889 / FIL 117: 2003).

- Recuento de enterobacterias: se realizó en agar VRBD, incubando 24 h a 37°C, contando colonias rojas púrpura (Norma ISO 21528-2: 2004). Cabe aclarar que, dado que esta Norma no incluye *B. subtilis*, las colonias no se ven negras, sino rojo púrpura
- Recuento de estafilococos coagulasa positiva: Agar Baird Parker, incubando 48 h a 37°C. Confirmación por prueba de coagulasa. Se subcultiva a caldo cerebro-corazón, incubando 24 h a 37°C. Se realiza la prueba en plasma de conejo, incubando 24 h a 37°C. Norma ISO 6888 - 1: 1999 – Método horizontal para la enumeración de estafilococos coagulasa positiva – Técnica de recuento – Amendment 1 2003.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## Primera experiencia

### *Composición de los sueros empleados en la preparación de los coagulantes.*

En la Tabla 3 se pueden observar los resultados obtenidos para las determinaciones fisicoquímicas realizadas sobre las muestras del suero desgrasado dulce de quesería, utilizado para las elaboraciones del líquido coagulante correspondientes a la primera experiencia.

**Tabla 3:** Composición química básica (g/100 ml), pH, acidez (°Dornic) y densidad (g/ml) del suero dulce de quesería empleado en la preparación de los coagulantes. Valores medio de 3 determinaciones.

Determinación	Valor medio
Sólidos Totales	5,10
Proteínas	0,66
Materia Grasa	0,21
Lactosa	3,71
Cenizas	0,52
pH	5,78
Acidez	18
Densidad	1,020

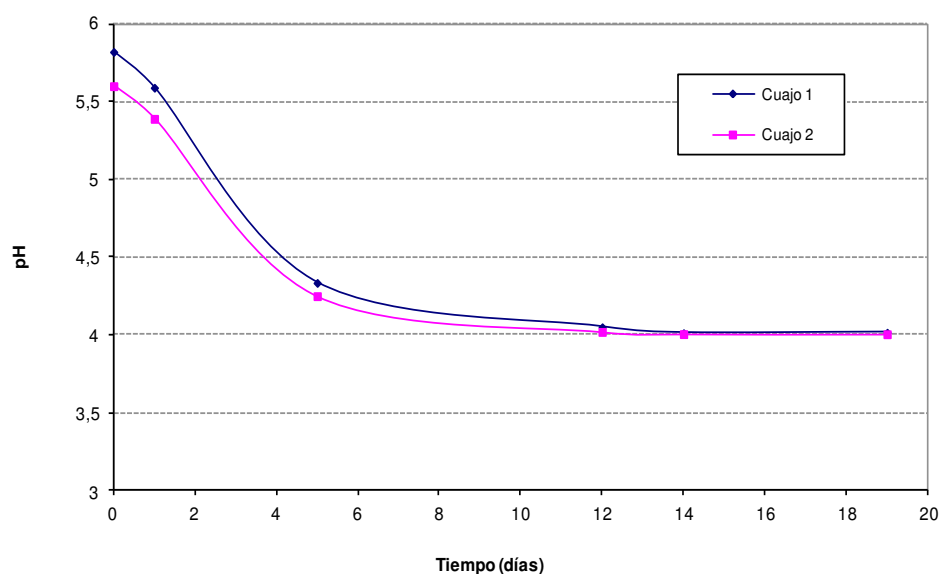
Estos valores se encuentran dentro de los rangos de concentraciones presentados en la bibliografía, tanto para sueros de leche bovina (Johansen, 2002; Outinen, 2010; Harper, 2011; Jelen, 2011), como así también de leche caprina, provenientes de queserías de diferente índole (Moreno-Indias et al, 2009; Beatriz Sanmartín et al 2012; Thum et al 2015).

En la siguiente Tabla se presentan los valores de pH y acidez obtenidos para las dos muestras de coagulantes (Cuajo 1 y Cuajo 2) a distintos tiempos (donde el día 0, corresponde a las dos horas de rehidratación de las muestras de cuajos), y cuya evolución se puede apreciar en las Figuras 21 y 22, respectivamente.

**Tabla 4:** pH y Acidez (°D) de los líquidos coagulantes obtenidos mediante las muestras de cuajo 1 y 2 provenientes de San Pedro Gutemberg (noroeste de la provincia de Córdoba). El día 0 corresponde a las dos horas de rehidratación de las muestras de cuajo.

Muestra	Tiempo (días)											
	0		1		5		12		14		19	
	pH	Acidez	pH	Acidez	pH	Acidez	pH	Acidez	pH	Acidez	pH	Acidez
Cuajo 1	5,82	18,0	5,59	35,2	4,34	80,4	4,05	112,5	4,01	120,1	4,01	135,1
Cuajo 2	5,60	18,0	5,39	29,1	4,25	74,5	4,02	106,0	4,01	115,4	4,01	130,5

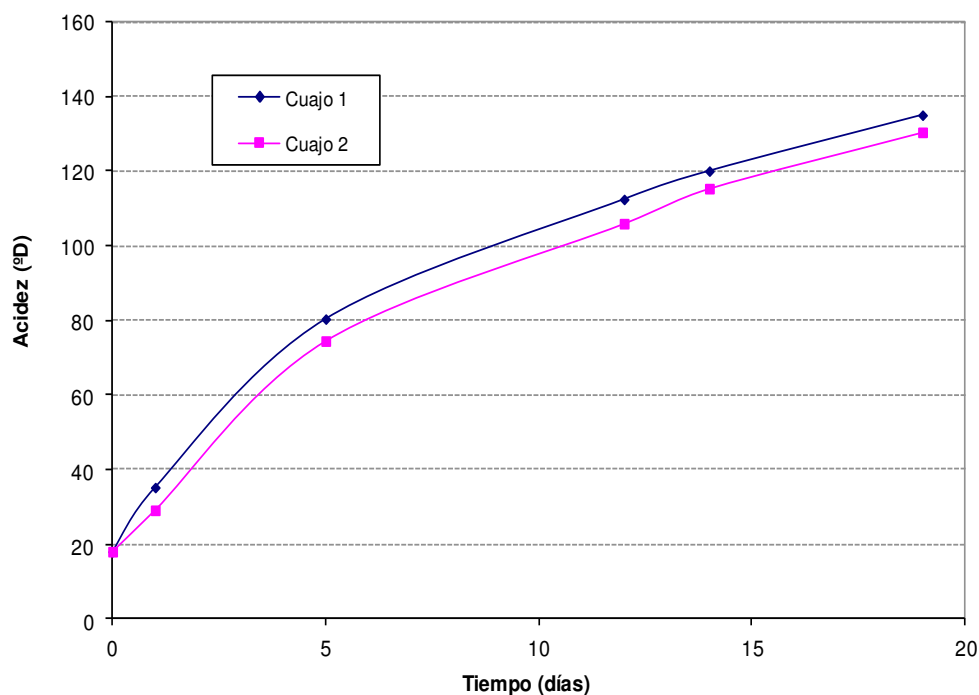
En las siguientes Figuras se desglosan los valores de pH (Figura 22) y Acidez (Figura 23), a los efectos de proporcionar una apreciación más gráfica de sus evoluciones.



**Figura 22:** Evolución del pH en función del tiempo, de las muestras Cuajo 1 y Cuajo 2, reconstituidas en el laboratorio.

Como puede verse, la evolución del pH resultó muy semejante para los dos coagulantes. En ambos casos, se produjo un fuerte descenso durante los primeros cinco días, hasta un valor próximo a 4,2, con una muy leve variación posterior, alcanzando idéntico valor (4,01) a los 14 días de incubación, tal como se indica en la Tabla 4.

Estos valores resultan algo inferiores a los reportados por Moschopoulou et al (2007), quienes determinaron las características fisicoquímicas de 20 muestras de cuajos líquidos artesanales, utilizados en la elaboración del queso feta tradicional de Grecia, divididas en dos grupos, A y B, para las que obtuvieron un valor promedio de pH 4,74 y pH 4,71, respectivamente.



**Figura 23:** Evolución de la acidez de las muestras Cuajo 1 y Cuajo 2, reconstituidas en el laboratorio.

Concomitantemente con la evolución del pH, el desarrollo de la acidez fue semejante para ambos Cuajos, con valores ligeramente superiores para ello identificado como 1, cuyo suero fue tratado térmicamente en forma menos intensa.

La determinación de la Actividad Coagulante, realizada a los días 12 y 14, arrojó, para cada muestra, valores similares en ambos días, pero con una importante diferencia entre las mismas. En efecto, el Poder Coagulante para la muestra de Cuajo 1, tanto a los 12 como a los 14 días resultó 15 IMCU/ml, mientras que para la muestra de Cuajo 2 fue 95 IMCU/ml.

Los resultados obtenidos para las muestras de Cuajo 1, fueron comparables a los presentados por Moschopoulou et al, quienes obtuvieron un valor promedio de 8,91 y 14,28 IMCU/ml, para cada uno de los dos grupos de cuajo artesanal utilizado en la elaboración de queso Feta en Ática, Grecia (Moschopoulou et al 2007).

Sin embargo, en ambos casos, fueron sensiblemente menores a los reportados por Tripaldi y colaboradores, para muestras de cuajos en pasta, empleadas en el centro de Italia, cuya actividad coagulante promedio fue 189 IMCU/g, para un rango de 114 a 316 IMCU/g (Tripaldi et. al 2012).

Con relación al análisis microbiológico, en la Tabla 5 se presentan los resultados encontrados a través de los recuentos realizados a los 0, 8 y 20 días de su preparación, para el Cuajo 1 y para el Cuajo 2.

**Tabla 5:** Resultados correspondientes a los recuentos realizados a los 0, 8 y 20 días de preparación, para el Cuajo 1 (tratado 5 min a 65°C) y para el Cuajo 2 (tratado 20 min a 65°C).

Recuentos obtenidos	Día 0		Día 8		Día 20	
	Cuajo 1	Cuajo 2	Cuajo 1	Cuajo 2	Cuajo 1	Cuajo 2
Microorganismos aerobios mesófilos totales	$3,0 \cdot 10^8$	$3,0 \cdot 10^8$	$1,9 \cdot 10^8$	$1,7 \cdot 10^8$	$2,1 \cdot 10^7$	$9,0 \cdot 10^6$
Lactobacilos	$5,7 \cdot 10^7$	$3,0 \cdot 10^7$	$6,0 \cdot 10^7$	$6,0 \cdot 10^7$	$2,5 \cdot 10^6$	$1,3 \cdot 10^6$
Estreptococos	$1,9 \cdot 10^8$	$2,4 \cdot 10^8$	$4,3 \cdot 10^6$	$3,8 \cdot 10^5$	$2,9 \cdot 10^6$	$5,1 \cdot 10^5$
Hongos y Levaduras*	$5,0 \cdot 10^5$	$5,0 \cdot 10^5$	$1,5 \cdot 10^4$	$1,5 \cdot 10^4$	$<10^3$	$<10^3$
Coliformes totales	$7,0 \cdot 10^8$	$1,5 \cdot 10^5$	$6,6 \cdot 10^4$	$1,7 \cdot 10^2$	$<10$	$<10$
<i>Escherichia coli</i>	$1,5 \cdot 10^7$	$1,5 \cdot 10^5$	$< 10$	$< 10$	$<10$	$<10$
Enterobacterias	$1,5 \cdot 10^8$	$1,5 \cdot 10^6$	$7,2 \cdot 10^4$	$2,2 \cdot 10^2$	$<10$	$<10$
Estafilococos Coagul +	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$

Como puede verse, durante los primeros 8 días, los microorganismos aerobios mesófilos totales se mantienen en el mismo nivel, mientras que a los 20 días, se verifica una disminución de un orden para el Cuajo 1 y de dos órdenes para el Cuajo 2. Un comportamiento semejante exhibieron los lactobacilos, aunque en un orden menos que los mesófilos totales.

Por el contrario, la población del otro grupo de bacterias ácido lácticas, los estreptococos, si bien estuvo un orden por encima de la de lactobacilos ( $10^8$ ), ya a los 8 días, su recuento se redujo en dos órdenes para el Cuajo 1 y en tres para el Cuajo 2, niveles en los que se mantuvieron hasta los 20 días. Es de destacar que esta apreciación se corresponde razonablemente con los perfiles de acidez detectados.

Por otra parte, dado que al tiempo 0, el número de hongos y levaduras, así como el de coliformes totales fue elevado en ambas muestras, se puede inferir que las condiciones higiénicas en que se



obtuvo el cuajo deshidratado fueron insuficientes. El cuajo 2, sin embargo, presentó un recuento de gérmenes coliformes algo menor, probablemente por el tratamiento térmico más severo (pasteurización) del suero empleado. No obstante, al final del procedimiento, al igual que para el Cuajo 1, el recuento se redujo a menos de 10.

Análogamente, cabe señalar que, pese a haberse detectado altos niveles iniciales de *Escherichia coli* (potencial patógeno intestinal) a los 8 días, éstos también disminuyeron a menos de 10. Esta observación estaría indicando que cuando la acidificación del medio es correcta, la supervivencia de microorganismos potencialmente patógenos se reduce prácticamente en forma total, lo cual coadyuva a la inocuidad del producto.

## Segunda Experiencia

En la segunda experiencia se trabajó con cuatro muestras de cuajo provenientes de San Pedro Gutemberg, región noroeste de la provincia de Córdoba, identificadas como A, B, C y D y cuatro de la región Salteña de los Valles Calchaquíes, a las que se rotuló con los números 4, 8, 11 y 15. En todos los casos, para la preparación se procedió análogamente al primer ensayo.

En la Tabla 6 se presentan los resultados obtenidos en base a las determinaciones fisicoquímicas realizadas sobre las muestras del suero dulce de quesería, descremado, utilizado para las elaboraciones del líquido coagulante correspondientes a la segunda experiencia.

**Tabla 6:** Composición química básica (g/100 mL), pH, acidez (°Dornic) y densidad (g/mL) del suero dulce de quesería empleado en la preparación de los coagulantes de la segunda experiencia. Valores medio de tres determinaciones.

Determinación	Valor medio
Sólidos Totales	6,32
Proteínas	0,83
Materia Grasa	0,22
Lactosa	4,73
Cenizas	0,54
pH	6,10
Acidez	11
Densidad	1,020

Como puede apreciarse, las características de los sueros usados en la segunda experiencia, fueron muy similares a las de la primera y, por ende, también son consistentes con los aportados por la bibliografía.

En la Tabla 7 se puede apreciar la evolución en el tiempo del pH y la Acidez (°D) de los cuajos correspondientes a la segunda experiencia.

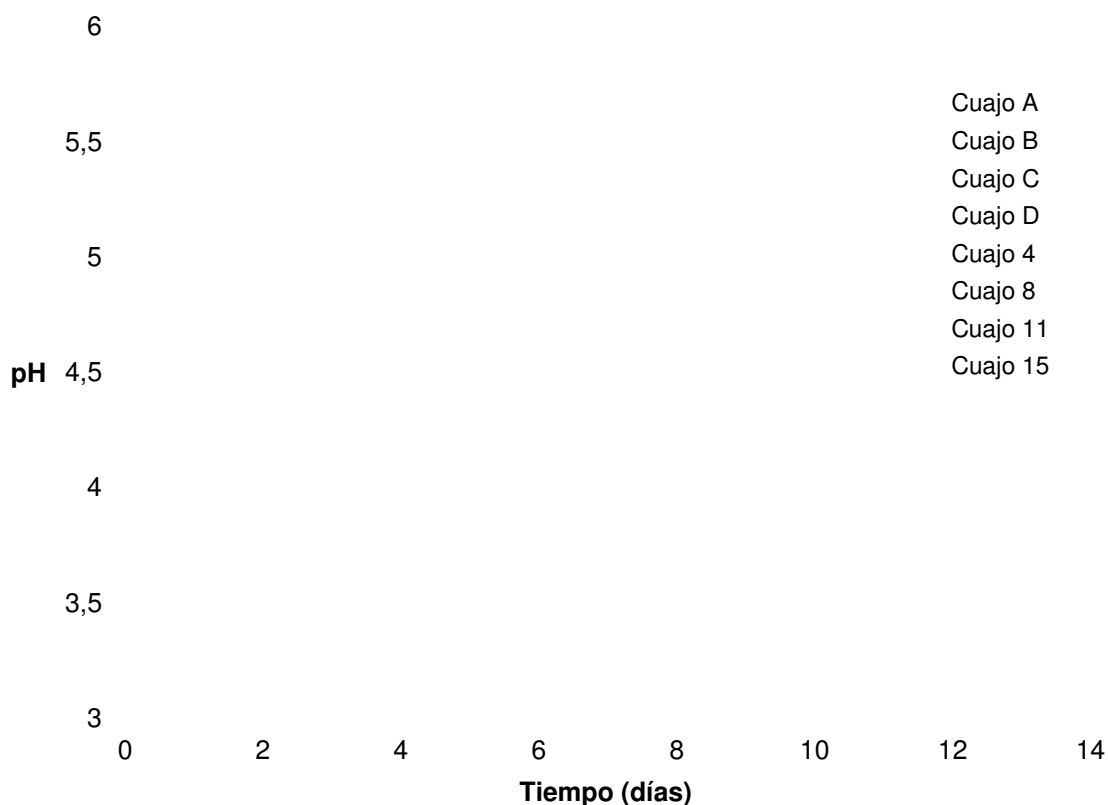
**Tabla 7.** Evolución del pH y la Acidez (°D) de los coagulantes reconstituidos en laboratorio, correspondientes a la segunda experiencia. El día 0 corresponde a las dos horas de rehidratación de las muestras de cuajo, provenientes de la región noroeste de la provincia de Córdoba (A, B, C y D) y de la región Salteña de Valles Calchaquíes (4, 8, 11 y 15).

Cuajo	Tiempo (días)									
	0		1		5		12		14	
	pH	Acidez	pH	Acidez	pH	Acidez	pH	Acidez	pH	Acidez
<b>A</b>	5,68	18	5,51	22	4,4	63	4,1	122	3,4	155
<b>B</b>	5,59	15	5,5	20	4,38	77	4	150	3,3	170
<b>C</b>	5,8	13	5,42	19	4,1	72	3,3	149	3,2	168
<b>D</b>	5,93	20	5,48	25	4,1	74	3,9	82	3,9	89
<b>4</b>	5,22	15	4,42	30	3,76	71,5	3,4	85	3,4	125
<b>8</b>	5,38	14	4,22	27	3,65	65	3,52	76	3,35	121
<b>11</b>	5,25	18	4,46	21	3,74	70	3,5	101	3,48	105
<b>15</b>	5,22	22	4,28	76	3,9	105	3,5	125	3,4	130

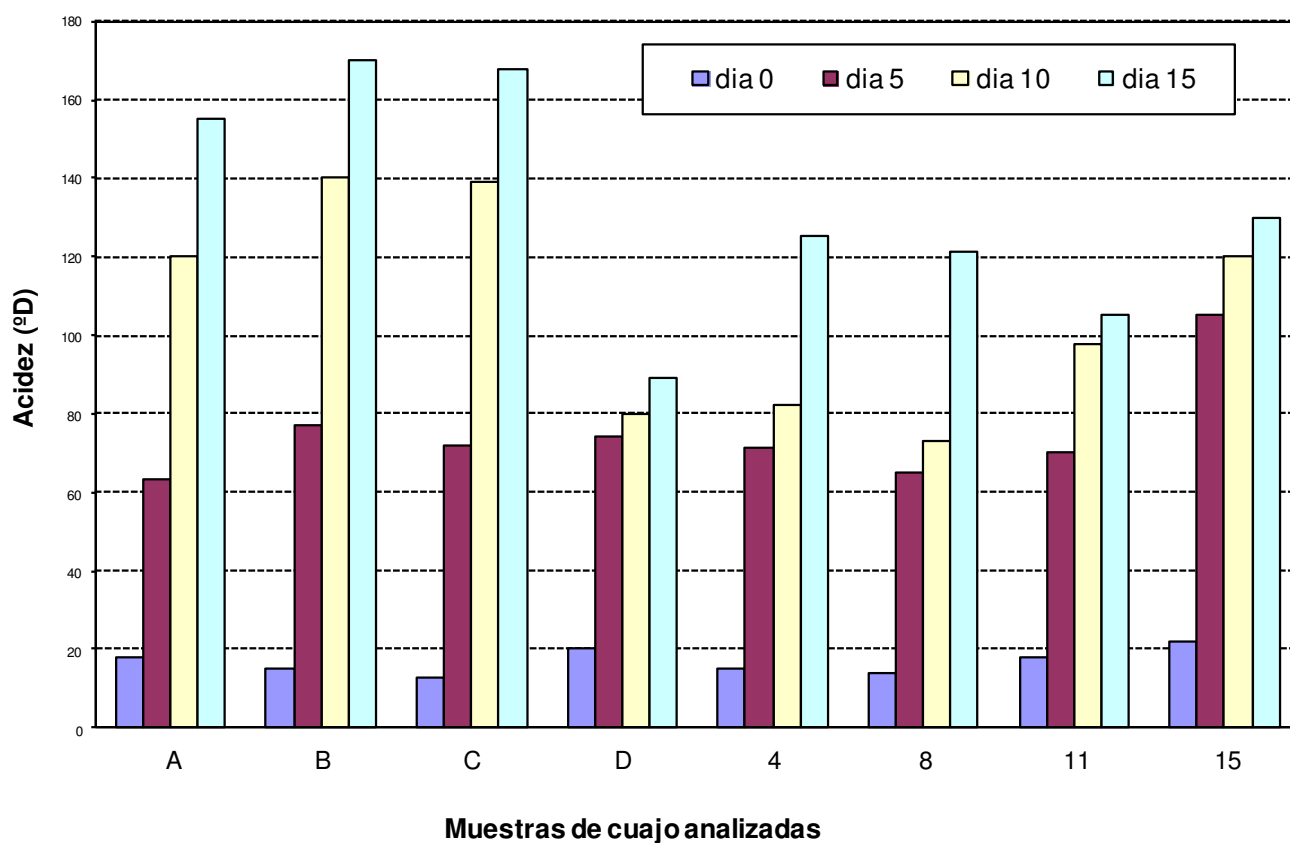
Puede verse que, en todos los casos, tanto el pH como la acidez exhibieron una tendencia muy similar a la observada en la primera experiencia. Sin embargo, haciendo una comparación entre los cuajos 1 y 2 de la primera experiencia (Tabla 4) y los cuajos A, B y C (de la segunda experiencia) todos ellos provenientes de la región noroeste de la provincia de Córdoba, se puede observar que, al final del estudio, estos últimos alcanzaron valores de mayor acidez (y, por ende, menor pH) que los primeros, a excepción de la muestra D, que si bien llegó a un pH similar a los de la primera experiencia (3,9), tuvo un menor nivel de acidez (89 °D).

De igual modo, los cuajos 4, 8 y 15, de la región Salteña de los Valles Calchaquíes, arrojaron valores semejantes y comparables a los de la primera experiencia, aunque algo menores para la muestra 11 (pH 3,48 y acidez 105 °D).

En las siguientes Figuras se puede tener una apreciación más gráfica de las evoluciones de pH (Figura 24) y de la Acidez (Figura 25), determinadas para las muestras de coagulante estudiadas en la segunda experiencia.



**Figura 24:** Evolución del pH de los coagulantes reconstituidos en el laboratorio, correspondientes a la segunda experiencia (A, B, C y D, cuajos provenientes de la región noroeste de la provincia de Córdoba y 4, 8, 11 y 15, de la región Salteña de Valles Calchaquíes). El día 0 corresponde a las dos horas de rehidratación de las muestras de cuajo.



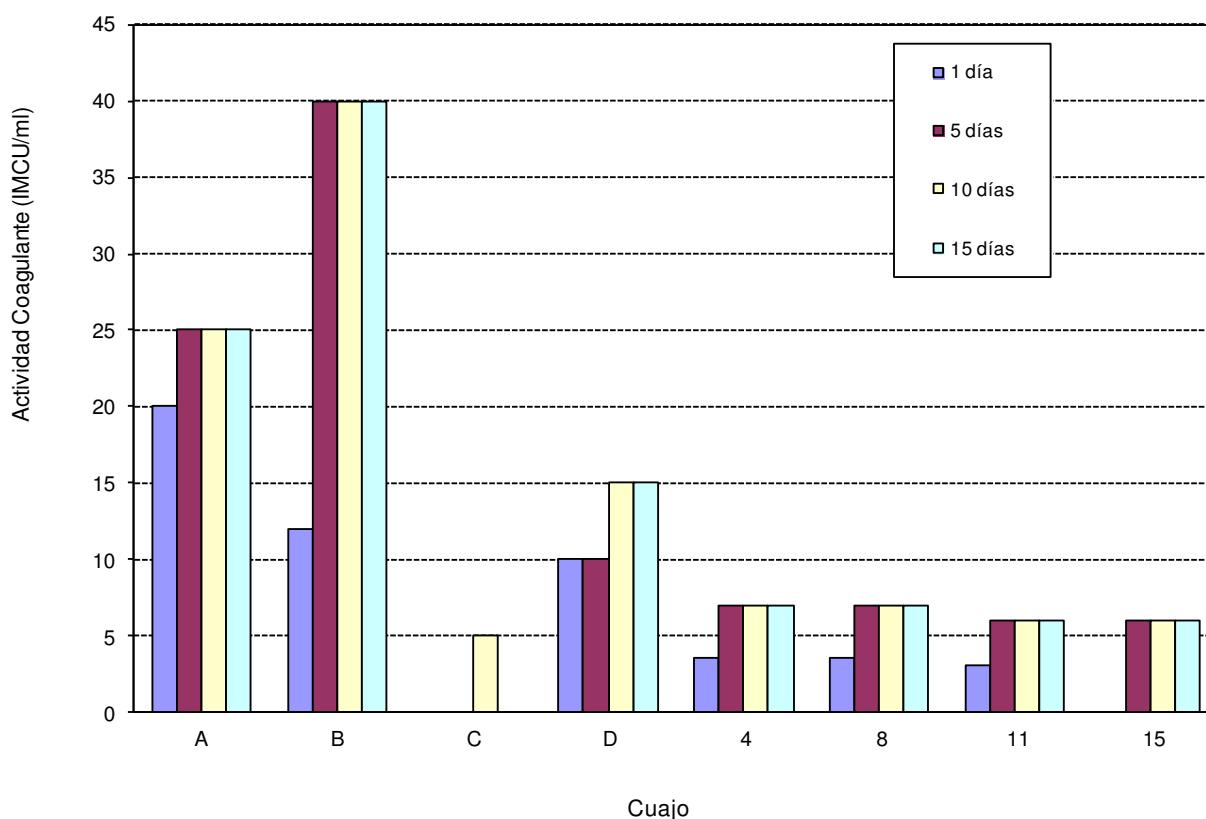
**Figura 25:** Evolución de la Acidez de los coagulantes reconstituidos en el laboratorio, correspondientes a la segunda experiencia (A, B, C y D, cuajos provenientes de la región noroeste de la provincia de Córdoba y 4, 8, 11 y 15, de la región Salteña de Valles Calchaquíes). El día 0 corresponde a las dos horas de rehidratación de las muestras de cuajo.

En la Tabla 8 se presentan los valores de la Actividad Coagulante (determinados según la técnica estándar internacional ISO-FIL 157A 2007), correspondientes a los distintos tiempos de evaluación.

**Tabla 8:** Actividad Coagulante, expresada en IMCU/ml, de las muestras de cuajo reconstituidos en el laboratorio, correspondientes a la segunda experiencia (A, B, C y D, cuajos provenientes de la región noroeste de la provincia de Córdoba y 4, 8, 11 y 15, de la región Salteña de Valles Calchaquíes).

Cuajo	Actividad coagulante (IMCU/ml)			
	Tiempo (días)			
	1	5	10	15
<b>A</b>	20	25	25	25
<b>B</b>	12	40	40	40
<b>C</b>	-	-	5	-
<b>D</b>	10	10	15	15
<b>4</b>	3,5	7	7	7
<b>8</b>	3,5	7	7	7
<b>11</b>	3	6	6	6
<b>15</b>	-	6	6	6

En la siguiente figura, se muestran gráficamente los valores de Actividad Coagulante presentados en la Tabla precedente, a los efectos de tener una apreciación más práctica de su evolución en el tiempo.



**Figura 25:** Actividad Coagulante, expresada en IMCU/ml, de las muestras de cuajo reconstituidos en el laboratorio, correspondientes a la segunda experiencia (A, B, C y D, cuajos provenientes de la región noroeste de la provincia de Córdoba y 4, 8, 11 y 15, de la región Salteña de Valles Calchaquíes).

Como se puede observar, inicialmente, los Cuajos 15 y C no mostraron actividad coagulante, la cual sólo se verificó a partir de los 5 días (con 6 IMCU/ml) para el primero, y a los 10 días (con 5 IMCU/ml), para el segundo, siendo este último el único valor detectado.

El resto de las muestras, a los 5 días, exhibió un notable incremento en su Actividad coagulante original, manteniéndose constante hasta el final de la experiencia, a excepción del coagulante D, cuya actividad aumentó recién a los 15 días. En tal sentido, cabe destacar que esta tendencia fue mucho más notoria en el caso del Cuajo B, cuya actividad se elevó en más del 300%.

Este comportamiento podría atribuirse a dos razones. En primer lugar sería razonable pensar en una cierta reactivación de las enzimas presentes en el cuajo, tras una eventual desnaturalización sufrida durante el procesamiento del mismo (salado, deshidratación, etc.). En segundo lugar, el descenso del pH del medio, producido por el desarrollo microbiano, especialmente de la flora láctica, lo acerca al valor óptimo de la quimosina ( $\sim 4$ ), lo cual indudablemente suscita una estimulación de su actividad.

Por otra parte, si bien la Actividad Coagulante de los cuajos correspondientes a la región del noroeste cordobés, se encontró dentro del rango observado en la primera experiencia (15 - 95 IMCU/ml), ninguno de ellos tuvo un valor tan elevado como el del Cuajo 2 (95 IMCU/ml), mientras que los provenientes de la región salteña exhibieron actividades más bajas, pero manteniéndose dentro de un intervalo acotado entre 6 y 7 IMCU/ml.

Finalmente, con relación al análisis microbiológico, los resultados obtenidos revelaron una tendencia muy similar a la observada en la primera experiencia, Tablas 9 y 10.



**Tabla 9:** Recuentos microbiológicos correspondientes a las muestras de cuajo A, B, C y D, pertenecientes a la segunda experiencia, realizados a los 0, 8 y 20 días de su preparación, expresados en UFC/mL.

Recuentos	Día 0				Día 8				Día 20			
	Cuajo				Cuajo				Cuajo			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
Aerobios mesófilos	$6,0 \times 10^6$	$1,2 \times 10^7$	$5,1 \times 10^7$	$4,0 \times 10^6$	$9,0 \times 10^7$	$4,0 \times 10^8$	$1,2 \times 10^8$	$3,0 \times 10^7$	$3,9 \times 10^8$	$1,3 \times 10^8$	$2,2 \times 10^8$	$1,9 \times 10^8$
Coliformes totales	$> 1,5 \times 10^5$	$> 1,5 \times 10^5$	$> 1,5 \times 10^5$	$> 1,5 \times 10^5$	$2,1 \times 10^5$	$> 1,5 \times 10^6$	$1,9 \times 10^5$	$> 1,5 \times 10^5$	$< 1,0 \times 10^1$	$< 1,0 \times 10^1$	$< 1,0 \times 10^1$	$< 1,0 \times 10^1$
Escherichia coli	$> 1,5 \times 10^5$	$> 1,5 \times 10^5$	$> 1,5 \times 10^5$	$> 1,5 \times 10^5$	$1,1 \times 10^5$	$6,4 \times 10^5$	$4,7 \times 10^4$	$> 1,5 \times 10^5$	$< 1,0 \times 10^1$	$< 1,0 \times 10^1$	$< 1,0 \times 10^1$	$< 1,0 \times 10^1$
Enterobacterias	$> 1,5 \times 10^5$	$> 1,5 \times 10^5$	$> 1,5 \times 10^5$	$> 1,5 \times 10^5$	$2,8 \times 10^5$	$1,5 \times 10^6$	$1,8 \times 10^5$	$7,1 \times 10^5$	$5,0 \times 10^1$	$< 1,0 \times 10^1$	$1,0 \times 10^1$	$< 1,0 \times 10^1$
Hongos y Levaduras	$6,8 \times 10^6$	$6,2 \times 10^5$	$5,9 \times 10^6$	$5,0 \times 10^4$	$1,5 \times 10^6$	$2,0 \times 10^6$	$1,8 \times 10^6$	$1,5 \times 10^6$	$1,7 \times 10^6$	$3,6 \times 10^5$	$4,1 \times 10^5$	$3,3 \times 10^5$
Lactobacilos	$1,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^6$	$< 1,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^6$	$1,6 \times 10^8$	$3,8 \times 10^8$	$9,3 \times 10^7$	$6,0 \times 10^7$	$2,6 \times 10^8$	$1,3 \times 10^8$	$1,9 \times 10^8$	$1,9 \times 10^8$
Streptococos	$1,4 \times 10^7$	$8,0 \times 10^6$	$3,5 \times 10^7$	$6,0 \times 10^7$	$7,5 \times 10^7$	$5,0 \times 10^8$	$6,1 \times 10^7$	$4,0 \times 10^7$	$6,0 \times 10^7$	$8,0 \times 10^6$	$7,0 \times 10^7$	$6,0 \times 10^7$
Estafilococos coagul+	$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$

**Tabla 10:** Recuentos microbiológicos correspondientes a las muestras de cuajo 4, 8, 11 y 15, pertenecientes a la segunda experiencia, realizados a los 0, 8 y 20 días de su preparación, expresados en UFC/mL.

Recuentos	Día 0					Día 8					Día 20				
	Cuajo					Cuajo					Cuajo				
	4	8	11	15		4	8	11	15		4	8	11	15	
Aerobios mesófilos	$4,0 \times 10^8$	$6,7 \times 10^9$	$3,0 \times 10^8$	$3,0 \times 10^{10}$		$4,4 \times 10^8$	$2,9 \times 10^8$	$4,0 \times 10^8$	$2,2 \times 10^8$		$6,8 \times 10^7$	$2,7 \times 10^9$	$1,8 \times 10^8$	$7,2 \times 10^8$	
Coliformes totales	$8,0 \times 10^5$	$8,0 \times 10^5$	$7,0 \times 10^5$	$1,2 \times 10^5$		$6,0 \times 10^2$	$6,0 \times 10^3$	$9,0 \times 10^3$	$< 10$		$< 1$	$< 1$	$< 1$	$< 1$	
Escherichia coli	$8,2 \times 10^4$	$9,9 \times 10^4$	$2,0 \times 10^5$	$3,2 \times 10^4$		$1,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^3$	$3,0 \times 10^3$	$< 10$		$< 1$	$< 1$	$< 1$	$< 1$	
Enterobacterias	$4,0 \times 10^8$	$3,0 \times 10^8$	$1,0 \times 10^8$	$> 3,0 \times 10^8$		$2,0 \times 10^3$	$9,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^4$	$< 10$		$< 10$	$< 10$	$< 10$	$< 10$	
Hongos y Levaduras	$1,3 \times 10^7$	$2,6 \times 10^6$	$9,0 \times 10^6$	$7,0 \times 10^5$		$1,3 \times 10^7$	$2,6 \times 10^6$	$9,0 \times 10^6$	$7,0 \times 10^5$		$2,5 \times 10^5$	$5,0 \times 10^5$	$5,1 \times 10^6$	$7,0 \times 10^5$	
Lactobacilos	$1,0 \times 10^5$	$1,1 \times 10^8$	$1,1 \times 10^6$	$5,7 \times 10^7$		$5,1 \times 10^8$	$4,0 \times 10^8$	$4,4 \times 10^8$	$4,4 \times 10^8$		$5,5 \times 10^7$	$1,3 \times 10^8$	$7,0 \times 10^7$	$4,0 \times 10^6$	
Streptococos	$4,0 \times 10^8$	$3,0 \times 10^8$	$1,0 \times 10^8$	$> 3,0 \times 10^8$		$1,9 \times 10^8$	$2,0 \times 10^8$	$3,0 \times 10^8$	$3,4 \times 10^8$		$3,8 \times 10^7$	$6,6 \times 10^7$	$2,0 \times 10^7$	$7,0 \times 10^6$	
Estafilococos coagul +	$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$		$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$		$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$	

Puede verse, que los altos recuentos iniciales de gérmenes totales y principalmente de coliformes, ponen de relieve, muestran una vez más, las precarias condiciones en que se obtienen estos cuajos, que constituyen el insumo básico para la elaboración del coagulante artesanal.

Sin embargo, la flora potencialmente patógena, como es el caso de *Escherichia coli*, disminuye sostenidamente a medida que se va acidificando el medio durante los primeros días de ensayo. En efecto, en ambas experiencias, se pudo constatar que, una vez que el nivel de acidez de los coagulantes alcanzó y superó los 60°D (aproximadamente a los 5 días), se produjo una clara inhibición de de estos microorganismos, que condujo a su desaparición al cabo de los 20 días.

Esto nos indica que una acidificación del medio en la dirección correcta, es decir, conducida por las bacterias lácticas, anula casi por completo la supervivencia de agentes potencialmente patógenos, condición fundamental para la obtención de un producto inocuo al final del proceso de elaboración y maduración del mismo.

A su vez, el hecho de que las bacterias acido-lácticas alcancen niveles de crecimiento del orden de  $10^7$  y  $10^8$  UFC/mL, proporciona una relación ideal desde el punto de vista tecnológico para la elaboración de quesos, por cuanto estas preparaciones pueden actuar no sólo como agente coagulante sino también como fermento iniciador.

Además, cabe señalar también que, un aumento en la acidez tiene una relación directa con la disminución del tiempo de coagulación enzimática de la leche, la cual, como ya se indicó, se ve favorecida con la disminución del pH de la misma. (Scott R. 1991).

Por último, en lo que respecta al recuento de hongos y levaduras, se pudo comprobar que, en ambas experiencias, siempre permaneció alto ( $>10^5$  UFC/mL al final del ensayo), probablemente debido a su capacidad acido-tolerante.

## **CONCLUSIONES**

Las principales conclusiones que pueden extraerse del presente Trabajo pueden resumirse en los siguientes puntos:

- a- En base a los distintos relevamientos realizados, se pudo observar que, una de las principales características de las producciones a escala artesanal, es la escasa implementación de tecnologías para los procesos de elaboración, que garanticen una constancia en la calidad de sus productos, como es el caso de los quesos de leche de cabra fabricados en nuestro país.
- b- Por la situación geográfica de estos emprendimientos, es poco probable que reciban, con facilidad y frecuencia, la visita de proveedores para la industria láctea, actividad muy desarrollada en la cuenca lechera central de nuestro país, y por ello se ven obligados a generar sus insumos básicos (como el caso del líquido coagulante) para la fabricación de quesos.
- c- La mayoría de los establecimientos visitados y encuestados utiliza la misma metodología para la fabricación y obtención del líquido coagulante. En efecto, en muchos casos, el procedimiento empleado para la preparación, conservación y uso del cuajo animal, es muy similar, siendo la deshidratación la forma de conservación más difundida, dado que permite disponer de este insumo en diferentes épocas del año, independientemente de la estacionalidad de la producción láctea.
- d- A diferencia de los coagulantes presentados en la bibliografía, las preparaciones artesanales exhiben recuentos microbiológicos algo más elevado, lo que revela las deficientes condiciones de higiene con que se obtiene el cuajo animal y el líquido coagulante.
- e- De los resultados obtenidos de las experiencias llevadas a cabo en nuestro laboratorio, podemos concluir que, cuidando las condiciones de preparación, se pueden mejorar ampliamente la calidad microbiológica de los preparados, dando lugar a una acidificación progresiva (con su consecuente descenso del pH) que se estabiliza alrededor del cuarto día, lo que nos sugiere un almacenamiento previo al uso del mismo.
- f- De acuerdo a las necesidades concretas que se revelan según la información recabada a través del intercambio con los distintos emprendimientos visitados, en las dos regiones de estudio, y en

base a los resultados obtenidos a través de nuestras experiencias, se elaboró un Protocolo de obtención y conservación de cuajo de cabrito, el cual se presenta en el **Anexo II**.

- g- El presente Trabajo representa un aporte a la información disponible con relación a la elaboración y uso de los coagulantes artesanales que se emplean en este tipo de industria, por cuanto, los datos bibliográficos sobre esta temática, especialmente a nivel nacional, son sumamente escasos. En virtud de ello, se considera que un Protocolo de elaboración y conservación artesanal de cuajo de cabrito, es una herramienta que ayudará a ordenar los pasos básicos y lógicos, para la obtención de un producto seguro e inocuo, que constituye un insumo esencial en la tecnología de elaboración de quesos.

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Bansal N., Drake M.A., Piraino P., Broe M.L., Harboe M., Fox P.F., McSweeney P.L.H. (2009) Suitability of recombinant camel (*Camelus dromedarius*) chymosin as a coagulant for Cheddar cheese. *International Dairy Journal* 19, 510–517.
2. Boza, J., Sanz Sampelayo, M.R. (1997). Aspectos nutricionales de la leche de cabra. *Anales de la Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental*. 10: 109-139.
3. Bozzetti V., Rampilli M., Geurts T., van den Berg J. e Repeluis K. (1993), *Coagulando*, Gist Brocades S.p.A. Casteggio (Pavia), Italia.
4. Castillo I, Calvo M.V., Alonso L., Juárez M., Fontecha J. (2007) Changes in lipolysis and volatile fraction of a goat cheese manufactured employing a hygienized rennet paste and a defined strain starter. *Food Chemistry* 100, 590–598.
5. Dalgleish D.G., Spagnuolo P.A., Douglas Goff H. (2004) A possible structure of the casein micelle based on high-resolution field-emission scanning electron microscopy. *International Dairy Journal* 14 (12), 1025-1031.
6. De Kruif C.G. and Holt C.(2003). Casein micelle structure, functions and interactions. En *Advances Dairy Chemistry – 1 Proteins. Part A*. Fox PF., McSweeney P.L.H. (Editors). Kluwer Academic/Plenum Publishers. New York. Chapter 5, p.p. 233-276).
7. Estrategias comerciales para el sector caprino. Estudio de caso de la "cadena caprina", perteneciente al Programa de Desarrollo de Cadenas Productivas en la Provincia de Córdoba". Córdoba 2007, Pág. 49, Cap III
8. Ferrandini E. López, M. Laencina, J. Castillo, M. Roca, J. López, C. Rodríguez, M. (2007) Cuajos en pasta naturales en la industria quesera. Informe Técnico Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología. Universidad de Murcia, España. (Murcia) 27-32
9. Ferrandini E., Castillo M., López M.B., Laencina J. (2006) Estructura de la micela de caseína. *Anales de Veterinaria* (Murcia) 22: 5-18.
10. Fox P.F. and McSweeney P.L.H.(1998). *Milk Proteins en Dairy Chemistry and Biochemistry*. Published by Blackie Academic & Professional, Thomson Science, London SE1 SHN, UK. pp 146-237.
11. Fox, P.F. (2011) Cheese Overview. En *Encyclopedia of Dairy Science* (2° Edition) Ed. Elsevier Academic Press London, England, Vol. 1, 534-543.
12. Galán E., Prados F., Pino A., Tejada L., Fernández-Salguero J. (2008) Influence of different amounts of vegetable coagulant from cardoon *Cynara cardunculus* and calf rennet on the proteolysis and sensory characteristics of cheeses made with sheep milk. *International Dairy Journal* 18, 93–98.



13. Gauna Adrián. (2005) Elaboración de quesos de pasta semidura con ojos., Proyecto Mejora de La eficiencia y de La competitividad de La economía Argentina. Cuadernillo tecnológico n°3, 45, 46, 47.
14. Haenlein, G.F.W. (1992). Role of goat meat and milk in human nutrition. Proceedings of V International Conference On Goats. Nueva Delhi (India). pp. 575-580.
15. Haenlein, G.F.W. (1996). Nutritional value of dairy products of ewes and goats milk. International Journal of Animal Sciences, 11: 395-411.
16. Haenlein, G.F.W. 1996. Nutritional value of dairy products of ewes and goats milk. Int. J. Anim. Sci. 11: 395-411.
17. Harper W.J. (2011). Dehydrated dairy products. Dairy Ingredients in Non-Dairy Foods. En Encyclopedia of Dairy Science (2° Edition) Ed. Elsevier Academic Press London, England, Vol. 3, p.p. 1147-1156.
18. Horne D.S. (2011) Casein, Micellar Structure. En Encyclopedia of Dairy Science (2° Edición) Ed. Elsevier Academic Press London, England, Vol 3, 772-778.
19. Horne D.S. (2011) Casein, Micellar Structure. En Encyclopedia of Dairy Science (2° Edition) Ed. Elsevier Academic Press London, England, Vol. 3, p.p. 372-379.
20. Jacob Mandy, Jaros Doris and Rohm Harald (2011). Recent advances in Milk clotting enzymes. International Journal of Dairy Technology vol 64, N°1.
21. Jelen P. (2011). Whey processing. Utilization and Products. En Encyclopedia of Dairy Science (2° Edition) Ed. Elsevier Academic Press London, England, Vol. 3, p.p. 3839-3845.
22. Jensen, R.G., Ferris, A. M., and Lammi-Keefe, C. J. (1991). The composition of milk fat. J. Dairy Sci. 74, 3228-3243.
23. Johansen A.G., Vegarud G.E., Skeie S. (2002). Seasonal and regional variation in the composition of whey from Norwegian Cheddar-type and Dutch-type cheeses. International Dairy Journal 12, 621-629.
24. Kappeler S.R., Van den Brink H.(J.) M., Rahbek-Nielsen H., Farah Z., Puhan Z., Hansen E.G., Johansen E. (2006). Characterization of recombinant camel chymosin reveals superior properties for the coagulation of bovine and camel milk. Biochemical and Biophysical Research Communications 342, 647-654.
25. Moreno-Indias I, Castro N. Morales-delaNuez A., Sánchez-Macías D., Assunção P., Capote J. and Argüello A. (2009). Farm and factory production of goat cheese whey results in distinct chemical composition. Journal of Dairy Science, 92, 4792-4796.

26. Moschopoulou E, Kandarakisa I, and Anifantakis E (2006). Characteristics of Lamb and kid artisanal liquid rennet used for traditional feta cheese manufacture. *Small Ruminant Research*, 72, 237-241.
27. Moschopoulou E, (2011). Characteristics of rennet and other enzymes from small ruminants used in cheese production. *Small Ruminant Research*, 101, 188-195.
28. Nolivos Carchi, María Rebeca (2011), “Uso de cuajo vegetal (leche de higo verde - *ficus carica linnaeus*) para la elaboración de queso fresco”, Trabajo de Investigación. (Graduación) Modalidad: Seminario de Graduación. Presentado como requisito previo a la obtención del Título de Ingeniero en Alimentos, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Ecuador.
29. Outinen Marko, Heino Antti, Uusi-Rauva Janne (2010). Pre-treatment methods of Edam cheese milk. Effect on the whey composition. *LWT - Food Science and Technology* 43, 647–654.
30. Paz, N.F. Armada, M. y Ramón A. (2014). Queso Mozzarella a partir de leche de cabra. *Tecnología Láctea Latinoamericana* , 80, 59-61.
31. Prados F., Pino A., Rincón F., Vioque M., Fernández-Salguero J. (2006) Influence of the frozen storage on some characteristics of ripened Manchego-type cheese manufactured with a powdered vegetable coagulant and rennet. *Food Chemistry* 95, 677–682
32. Quijano Velazco J.D.(2010) “Quimosinas”. Ed. ReCiTeIA. Cali, Valle, Colombia.
33. Rajinder Nath, K. (1993). Cheese en Dairy Science and Technology Handbook 1 Principles and Properties, Y. K Hui Editor, Wiley-VCH, Inc., USA. ISBN 1 -56081 -078-5, Volume 2, Chapter 3, pp 161-257.
34. Rey Elena Ordiales. (2013) Caracterización del cardo (*Cynara cardunculus*) para su uso como cuajo vegetal en el proceso de elaboración de la Torta del Casar. Trabajo de Tesis. Universidad de Extremadura – España.
35. Sanmartín B., Díaz O., Rodríguez-Turienzo L., Cobos A. (2012). Composition of caprine whey protein concentrates produced by membrane technology after clarification of cheese whey. *Small Ruminant Research*, 105, 186– 192.
36. Sanz Sampelayo M.R., Fernández J.R., de la Torre G., Ramos E., Carmona F.D. y Boza J. (2003). Calidad de la leche de los pequeños rumiantes. *Anales de la Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental* Vol. 16 (1).
37. Swaisgood H.E. (2003). Chemistry of caseins. En *Advances Dairy Chemistry – 1 Proteins*. Part A. Fox PF., McSweeney P.L.H. (Editors). Kluwer Academic/Plenum Publishers. New York. .Chapter 3, p.p.139-201.

38. Scott R. (1991). "Fabricación de queso". Ed. Acribia S.A, Zaragoza España.
39. Thum C., Cookson A., McNabb W.C., Roy N.C., Otter D. (1015). Composition and enrichment of caprine milk oligosaccharides from New Zealand Saanen goat cheese whey. *Journal of Food Composition and Analysis* <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2015.01.022>.
40. Tripaldi C., Palocci G., Bilet S., Bogdanova T., Scintu M F., Addis M. (2012) Physical, Chemical, Enzymatic and Microbiological Characteristic fo Artisanal Rennets Pastes from the Centre of Italy. *Journal Food Science*, 24, 70-75.
41. Virto M., Ch!avarri F., Bustamante M.A., Barron L.J.R., Aramburu M., Vicente M.S., Pérez-Elortondo F.J., Albisu M., de Renobales M. (2003). Lamb rennet paste in ovine cheese manufacture. Lipolysis and flavour. *International Dairy Journal* 13, 391–399.
42. Walstra, Geurts, Noomen, Jellema, van Boekel (1999) "Dairy technology". Ed. Marcel Dekker (New York -Basel). Chapter 3, p.p. 129-140.
43. Wolfgang Aehle (2007). *Enzymes in Industry. Production and Applications*. 3° Edition. Ed. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
44. Zalazar, C.A. (1994) "Coagulación de la leche y enzimas coagulantes" *En Ciencia y Tecnología de los Productos Lácteos* CERIDE, Santa Fe, Argentina.

## **ANEXOS**

## ANEXO I

### Anexo I: Ficha técnica de coagulantes ofrecidos en el mercado

**CHR HANSEN**  
*improving food & health*

**Cheese coagulants:**  
Product portfolio



Boarding PRO - nov, 2011

Chr. Hansen A/S  
10-12 Boege Allé, DK-2970 Hoersholm, Denmark  
Phone: +45 45 74 74 74  
[www.chr-hansen.com](http://www.chr-hansen.com)

**More than 135 years of experience in cheese coagulants**

Chr. Hansen is a global bioscience company that provides natural ingredients to the food, dairy, dietary supplement, infant formula, pharmaceutical, and agricultural industries.

In 1874 Christian D.A. Hansen defined the benchmark with his standardized animal rennet. In 1989 CHY-MAX<sup>®</sup> was launched as the new standard. Today, more than 50% of the world's cheese is produced with a 1st-generation FPC. In 2009, Chr. Hansen launched CHY-MAX<sup>®</sup> M, taking the FPC standard to the next level.

Other value-enhancing solutions from Chr. Hansen are:

- YieldMAX<sup>®</sup> PL enhances fat value and improves yield in pizza cheese.
- LactoYIELD<sup>®</sup> enhances whey value and increases yield in pizza cheese.
- Easy-Set<sup>®</sup> cheese culture ranges enhances consistency and efficiency in manufacturing of Continental and Pasta Filata type cheeses.
- CR- and Propionic acid cultures improves flavor and eye formation in ripened cheese.



## Coagulants portfolio

### Broad range of coagulants

Chr. Hansen supplies an extensive range of animal rennet, microbial coagulants and Fermentation-produced Chymosin (FPC).

Chr. Hansen products aim to meet the market requirements of all cheese producers - small and large, traditional and innovative, local and industrial - all over the world.

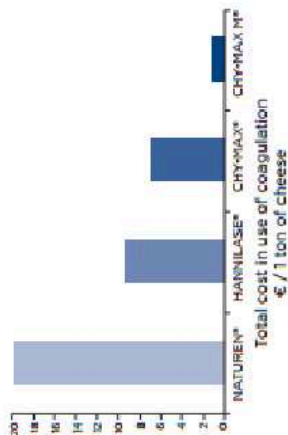


### CHY-MAX® M

This second-generation FPC is the most highly specific coagulant. CHY-MAX® M delivers numerous benefits including yield increase, dosage reduction, improved texture stability, better taste, reduced bitterness and increased whey value. CHY-MAX® M is suitable for all applications.

### CHY-MAX®

Nowadays, most cheese produced worldwide is produced with first-generation FPC. CHY-MAX® delivers several benefits such as increased yield, better flavor profile and enhanced whey value when compared with microbial coagulants.

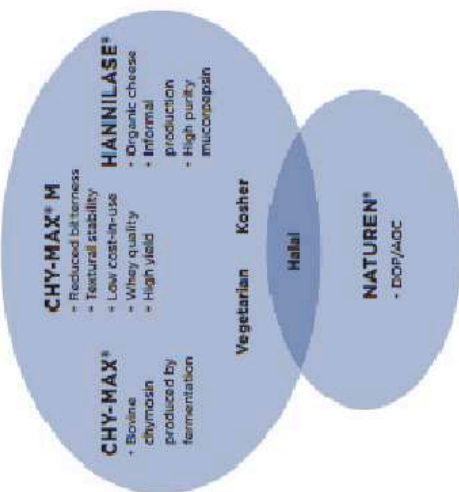


### HANNILASE®

Is a microbial coagulant produced by the fungus *Rhizomucor miehei* available in thermo-stable (L) and purified thermo-labile (XP) versions. With its low price, HANNILASE® is the right coagulant for Organic cheese, home made and informal cheese production.

### NATUREN®

A natural rennet manufactured from extracts of the fourth stomach (wells) of calves/adult bovines. NATUREN® is especially suitable for traditional and AOC/DOP cheese. NATUREN® products with different chymosin/pepsin ratios are available.



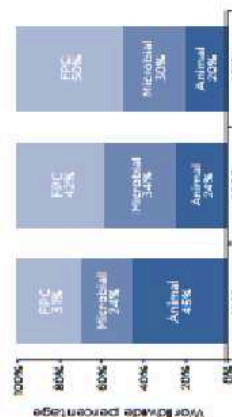
### Meeting your needs

In order to meet your needs, Chr. Hansen coagulants are available in different packaging sizes and different strengths, both in liquid and granulated forms.

### Certified products

Consumers' requirements are always important to Chr. Hansen. For this reason most fermentation-produced coagulants are certified Halal, Kosher, and Vegetarian.

### Worldwide percentage of cheese production with different coagulants



## ANEXO II

**Anexo II:** Protocolo de elaboración, uso y conservación de cuajo de cabrito

### INTRODUCCIÓN

El cuajo de cabrito es un importante elemento utilizado en la elaboración de quesos artesanales. El proceso de preparación, en muchos casos proviene de recetas transmitidas de generación en generación.

Se ha realizado una recopilación de recetas y cuajos en el noroeste de la provincia de Córdoba, que han sido analizados y registrados en el Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI).

Basándose en la investigación a campo de la preparación de solución coagulante (cuajo de cabrito + suero), podemos proponer un proceso óptimo con sugerencias para prácticas a campo.

### PROCESO A SEGUIR

1. Faenar preferentemente cabritos lactantes en condiciones de limpieza e higiene, de manera de evitar contaminación (Ver capacitaciones en conservación de pieles de animales menores INTI).
2. Evitar la ruptura de órganos cuyos contenidos actúen como contaminantes del cuajo, por ejemplo el intestino.
3. Extraer viseras, evitando que caigan al suelo, cortar y extraer la parte correspondiente al cuajo. Recomendable es obtener el cuajo, ni bien se abre el animal y no mezclar todas las viseras.
4. Se recomienda cortar el cuajo, abrirlo, para que sea más efectivo el lavado.
5. Lavar el cuajo con abundante agua limpia y de consumo familiar, en lo posible hacerlo con agua corriente, evitar de lavar en un recipiente con agua estancada. El cuajo debe quedar limpio, sin restos visibles de pelos, tierra, etc.

6. Disponer de sal gruesa (medio kilo), poner el cuajo en una de las manos y verter sal en cantidades suficientes como para cubrirlo, volcar sobre la otra mano y repetir.
7. Una vez salado se cuelga en un lugar seco y protegido del sol, evitando la presencia de moscas, etc. Dejar tres días (o más), hasta que esté seco.
8. Disponer de dos envases (frascos de 1 litro); se sugiere utilizar de vidrio y boca ancha, lavarlos con poca cantidad de detergente y enjuagarlos muy bien (como se lavan platos, vasos, etc.). No es recomendable emplear lavandina, ya que cualquier resto que quede puede deteriorar el cuajo.
9. Usar inmediatamente el suero de la última elaboración de quesos en un recipiente limpio y tapado. Es recomendable que, cuando se vaya a utilizar para el cuajo, se ponga en un recipiente y se caliente hasta antes de hervir. En caso de disponer de un termómetro, llevar a 65°C durante 20 minutos. En ambos casos, dejar enfriar tapado.
10. Cortar el cuajo seco en dos mitades, poner cada una de ellas dentro de un frasco de vidrio limpio, de boca ancha y agregar suero hasta completarlo. Se recomienda agregar una cucharada soperas de sal gruesa y tapar el frasco con una tapa limpia.
11. La cantidad de líquido o solución de suero a utilizar recomendable es de una o dos cucharadas soperas por cada 20 litros de leche. No se debe completar el frasco con suero nuevamente, se debe consumir en su totalidad.
12. El frasco se puede guardar en algún lugar oscuro (armario, dentro de la casa, etc.) dejando las primeras 24 hs a temperatura ambiente y luego conservar en heladera por un período de hasta un mes. Es recomendable comenzar a utilizarlos 3 a 4 días después de su preparación.



## Introducción

El cuajo de cabrito es un importante elemento utilizado en la elaboración de quesos artesanales. El proceso de preparación, en muchos casos, proviene de recetas transmitidas de generación en generación.

Se ha realizado una recopilación de recetas y cuajos en el noroeste de Córdoba, que han sido analizados y registrados en INTI.

Basándonos en la investigación a campo de la preparación de solución coagulante (cuajo de cabrito + suero), podemos proponer un proceso óptimo con sugerencias para mejores prácticas a campo.

## Proceso a seguir



1. Faenar preferentemente cabritos lactantes en condiciones de limpieza e higiene, de manera de evitar contaminación (Ver capacitaciones en conservación de pieles de animales menores INTI).
2. Evitar la ruptura de órganos cuyos contenidos actúen como contaminantes del cuajo, por ejemplo el intestino.
3. Extraer viseras, evitando que caigan al suelo, cortar y extraer la parte correspondiente al cuajo. Recomendable es obtener el cuajo, ni bien se abre el animal y no mezclar todas las viseras.
4. Se recomienda cortar el cuajo, abrirlo, para que sea más efectivo el lavado.
5. Lavar el cuajo con abundante agua limpia y de consumo familiar, en lo posible hacerlo con agua corriente, evitar de lavar en un recipiente con agua estancada. El cuajo debe quedar limpio, sin restos visibles de pelos, tierra, etc.
6. Disponer de sal gruesa (medio kilo), poner el cuajo en una de las manos y volcar sal en cantidad suficiente como para cubrirlo, volcar sobre la otra mano y repetir.
7. Una vez salado se cuelga en un lugar seco y protegido del sol, evitar la presencia de moscas, etc. Dejar por tres días o más hasta que este seco.

8. Disponer de dos envases (frascos de 1 litro) se sugiere utilizar de vidrio y boca ancha, lavarlo con poca cantidad de detergente y enjuagarlo muy bien (como se lavan platos, vasos, etc.). No es recomendable utilizar lavandina, ya que cualquier resto que quede puede deteriorar el cuajo.
9. Usar inmediatamente el suero de la última elaboración de quesos en un recipiente limpio y tapado. Es recomendable que, cuando se vaya a utilizar para el cuajo, se ponga en un recipiente y se caliente hasta antes de hervir. En caso de disponer de termómetro llevar a 65º durante 20 minutos. En ambos casos dejar enfriar tapado.
10. Cortar el cuajo seco en dos mitades, poner cada uno de ellos dentro de un frasco de vidrio limpio, de boca ancha y agregar suero hasta completarlo. Se recomienda agregar 1 cucharada sopera de sal gruesa. Tapar el frasco con una tapa limpia.
11. La cantidad de líquido o solución de suero a utilizar recomendable es de 1 o 2 cucharadas soperas por cada 20 litros de leche. No se debe completar el frasco con suero nuevamente, se debe consumir en su totalidad.
12. El frasco se puede guardar en algún lugar oscuro (armario, dentro de la casa, etc.), dejarlo las primeras 24 hs a temperatura ambiente y luego conservar en heladera por un período de hasta 1 mes. Es recomendable comenzar a utilizarlo 3 a 4 días después de la preparación.