



**Influencia de los pre-tratamientos realizados  
a la leche sobre el rendimiento y la calidad  
de mozzarella pre-acidificada**

**Paula Spontón Pujol**

**Lugar de Trabajo:**



**2015**

*Este trabajo final de grado de la Carrera de Ingeniería Agronómica de La Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de La Universidad Nacional de La Plata, fue realizado en el Laboratorio de Investigación en Productos Agroindustriales (LIPA).*

## AGRADECIMIENTOS

*-A mi familia y amigos por el apoyo incondicional durante toda  
mi carrera.*

*-A mi director de tesis Dr. Ariel Vicente y a mi co-directora Ing.  
Agr. Magali Darré por haberme acompañado en la elaboración de  
este trabajo.*

*-A Carolina, Elisa, Eduardo y Jorge Lara por haberme  
ayudado constantemente.*

## INDICE GENERAL

<b>RESUMEN.</b>	<b>8</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN.</b>	<b>10</b>
1.1. Producción nacional de leche.	11
1.2. Caracterización de los tambos en Argentina.	12
1.3. Caracterización de los sistemas de producción de leche en Argentina.	13
1.3.1. Recursos forrajeros y composición de la dieta.	13
1.3.2. Genética, manejo del rodeo y sistema de ordeño.	15
1.3.3. Gerenciamiento y mano de obra.	¡Error! Marcador no definido.
1.3.4. Sustentabilidad ambiental de los sistemas.	¡Error! Marcador no definido.
1.4. Quesos: Definición y clasificación.	16
1.5. Queso mozzarella: Tipos.	18
<b>2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS.</b>	<b>21</b>
2.1. Objetivos.	22
2.2. Hipótesis.	22
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS.</b>	<b>23</b>
3.1. Elaboración de mozzarella pre-acidificada.	24
3.2. Determinaciones analíticas.	25
3.2.1. Análisis de la materia prima.	25
3.2.2. Rendimiento.	25

3.2.3. Humedad.	25
3.2.4. Materia grasa.	26
3.2.5. Proteína.	26
3.2.6. Color.	26
3.2.7. Textura.	26
3.2.8. pH y acidez.	27
3.3. Análisis estadístico.	27
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	28
4.1. Composición de la leche.	29
4.2. Rendimiento.	30
4.3. Humedad, proteína y materia grasa.	32
4.4. Acidez y pH.	35
4.5. Color y textura.	36
5. CONCLUSIONES.	39
6. REFERENCIAS.	41

## **INDICE DE TABLAS Y FIGURAS**

**Figura 1: Evolución de la producción nacional de leche en el período 2000-2012 (MAGyP 2013).** \_\_\_\_\_ 11

**Tabla 1: Evolución de la cantidad de unidades productivas (tambos), de vacas totales (VT) e indicadores de escala y de producción animal (MAGyP, 2013).** \_\_\_\_\_ 13

**Figura 2: Diferentes tipos de quesos de pasta hilada: A. Burratta, B Provolone, C Cacciocavallo, D. Scamorza affiumicatta, E. Mozzarella de búfala (boconccino), F. Mozzarella tipo pizza.** \_\_\_\_\_ 18

**Figura 3: Esquema del proceso de elaboración de mozzarella por acidificación directa.** \_\_\_\_\_ 19

**Tabla 2: Composición de la leche empleada en las tres elaboraciones de mozzarella** \_\_\_\_\_ 30

**Figura 4: Rendimiento de mozzarella pre-acidificada elaborada con leche "cruda", con pasteurización baja (PB) o pasteurización alta (PA) acidificadas a 8 o 18 °C. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .** \_\_\_\_\_ 32

**Figura 5: Humedad de mozzarella pre-acidificada elaborada con leche "cruda", con pasteurización baja (PB) o pasteurización alta (PA) acidificadas a 8 o 18 °C. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .** \_\_\_\_\_ 33

**Figura 6: Proteína de mozzarella pre-acidificada elaborada con leche "cruda", con pasteurización baja (PB) o pasteurización alta (PA) acidificadas a 8 o 18 °C. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .** \_\_\_\_\_ 34

**Figura 7: Materia grasa de mozzarella pre-acidificada elaborada con leche "cruda", con pasteurización baja (PB) o pasteurización alta (PA) acidificadas a 8 o 18 °C. Las letras distintas indican diferencias**

**significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .**  
\_\_\_\_\_ 34

**Figura 8: Acidez de mozzarella pre-acidificada elaborada con leche “cruda”, con pasteurización baja (PB) o pasteurización alta (PA) acidificadas a 8 o 18 °C. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .**  
\_\_\_\_\_ 35

**Figura 9: pH de mozzarella pre-acidificada elaborada con leche “cruda”, con pasteurización baja (PB) o pasteurización alta (PA) acidificadas a 8 o 18°C. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .** \_\_\_\_\_ 36

**Figura 10: Luminosidad ( $L^*$ ) de mozzarella pre-acidificada elaborada con leche “cruda”, con pasteurización baja (PB) o pasteurización alta (PA) acidificadas a 8 o 18 °C. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .**  
\_\_\_\_\_ 37

**Figura 11: Color ( $b^*$ ) de mozzarella pre-acidificada elaborada con leche “cruda”, con pasteurización baja (PB) o pasteurización alta (PA) acidificadas a 8 o 18 °C. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .**  
\_\_\_\_\_ 37

**Figura 12: Dureza de mozzarella pre-acidificada elaborada con leche “cruda”, con pasteurización baja (PB) o pasteurización alta (PA) acidificadas a 8 o 18 °C. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .**  
\_\_\_\_\_ 38

## **RESUMEN**

La mozzarella pre-acidificada se obtiene por acidificación de la leche en forma previa a la coagulación empleando ácidos orgánicos. Esta operación permite disminuir marcadamente el tiempo de elaboración respecto a las mozzarellas tradicionales, que dependen de la acidificación biológica. El Código Alimentario Argentino establece la obligatoriedad de pasteurización para quesos que posean una maduración menor a dos meses. Sin embargo, a nivel productivo se han planteado algunas dificultades tecnológicas, indicándose que el rendimiento de masa para mozzarella a partir de leche pasteurizada puede ser menor y que pueden existir problemas en la etapa de hilado. La temperatura de la leche al momento de realizar la acidificación, es otro factor de proceso que podría modificar el rendimiento y la calidad del producto. En el presente trabajo se analizó la influencia del tratamiento térmico realizado a la leche y de la temperatura de la misma al momento de la acidificación sobre el rendimiento, la composición y las propiedades físicas y químicas de la mozzarella pre-acidificada. Para ello se elaboraron mozzarellas a partir de leche sin pasteurizar (Cr), sometida a una pasteurización alta (PA) o a una pasteurizada baja (PB). Para cada uno de los tratamientos se analizó además el efecto de la acidificación de la leche con ácido cítrico (25%) en frío (8 °C) o a temperatura ambiente (18 °C). Finalizado el tratamiento térmico y la acidificación se elaboró la mozzarella siguiendo un proceso tradicional de tratamiento de cuajada e hilado y se determinó el rendimiento, el contenido de humedad, materia grasa y proteína, el pH, la acidez, el color y la dureza del producto. La pasteurización de la leche permitió obtener un rendimiento similar o mayor al obtenido con leche “cruda”, aunque la PA dificultó el hilado. La mozzarella de leche Cr fue más ácida (1,25% de ácido láctico respecto a 0,9% en los demás tratamientos),

mientras que la de leche sometida a PA mostró mayor dureza y color más oscuro. La temperatura de acidificación también tuvo implicancias en algunas características del producto. La mozzarella proveniente de leche acidificada en frío presentó mayor humedad menor contenido de grasa y fue menos amarilla. El contenido de proteína no mostró grandes variaciones.

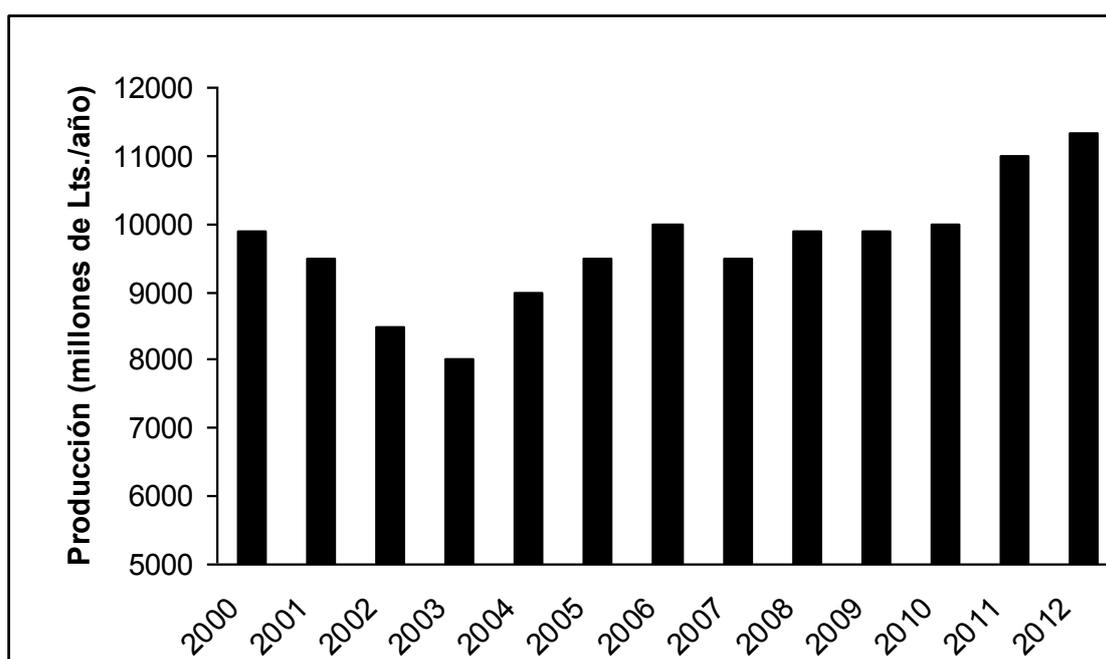
**Palabras clave:** mozzarella, calidad, pasteurización, acidificación

# 1. INTRODUCCIÓN



## 1.1. Producción nacional de leche

La producción e industrialización de leche son actividades tradicionales en Argentina y contribuyen significativamente al desarrollo económico y social de numerosas regiones del país. La producción Nacional de leche fue de 11.338 millones de litros en el año 2012, volumen que fue destinado en un 78% al consumo interno y un 22% a la exportación. La producción de leche para el año 2012 fue liderada por Córdoba (37%), seguida por Santa Fe (32%) y Buenos Aires (25%). Las restantes provincias productoras aportan en su conjunto el 6% del total nacional (MAGyP, 2013). Analizando la evolución de la producción de leche en el período 2000-2012 (**Figura 1**) pueden identificarse cuatro períodos: dos de crecimiento registrados entre los años 2004-2006 y 2008-2012, uno de estabilización de la producción entre los años 2006-2008 y uno de decrecimiento al inicio de la serie (2000-2003), observándose un solo año de caída productiva (2006-2007), explicada por las inundaciones en las principales cuencas lecheras.



*Figura 1: Evolución de la producción nacional de leche en el período 2000-2012 (MAGyP 2013).*

La producción de leche no es estable a lo largo del año, sino que varía acompañando la producción de las pasturas perennes. El manejo reproductivo implementado tiende a concentrar el secado de vacas y partos en marzo-abril-mayo, vacas que hacen su pico de lactancia en la primavera siguiente. La otra concentración de partos se produce en la primavera. A su vez, durante el verano en la mayoría de las cuencas lecheras, el estrés calórico impacta marcadamente en el estado general de los animales, situación que se ve reflejada al final del verano e inicio del otoño con la disminución marcada de la producción de leche.

## **1.2. Caracterización de los tambos en Argentina**

Con el objeto de caracterizar la escala productiva de los tambos y su representatividad a nivel Nacional, se detalla la cantidad de tambos y de leche producida según rangos de volumen que van de 1-500 hasta 11.500-12.000 litros/día. La mayor frecuencia relativa de tambos (17%) se ubica dentro del rango de 500-1000 litros diarios. Este grupo aporta el 6% de la producción nacional. El volumen de producción diario que presenta la mayor frecuencia relativa es de 2.500-3000 litros/día (10%), rango en el cual está incluido el 10% de los tambos del país.

Aproximadamente un 80% de los tambos producen menos de 3500 litros/día de leche y aportan casi el 47% de la producción nacional. Es decir que el 20% de los tambos de mayor escala de producción aportan más del 50% de la producción nacional de leche. Se pudo identificar 1.955 productores dentro de la categoría tambos pequeños dada su importancia social. Un 28% fueron caracterizados como “microtambos” (1-20 vacas) y un 72% como “tambos pequeños” (21-100 vacas) (MAGyP, 2013). El proceso de reducción en el número de tambos y el incremento de la escala, caracterizan la evolución de los tambos de la mayoría de los países del mundo (**Tabla 1**).

Tabla 1: Evolución de la cantidad de unidades productivas (tambos), de vacas totales (VT) e indicadores de escala y de producción animal (MAGyP, 2013).

	AÑO			
	1988	2002	2008	2012
<b>Tambos</b> (N°)	30.141	15.000	11.805	11.354
<b>Vacas</b> (millones)	2,010	2,005	1,784	1,748
<b>Producción</b> (l/día) VER UNIDAD??	551	1.557	2.323	2.736
<b>Escala</b> (vacas/tambo)	67	134	151	154
<b>Producción</b> (litros/VT/día)	8-9	11-12	15-16	17-18

### **1.3. Caracterización de la producción de leche en Argentina**

#### **1.3.1. Heterogeneidad de escala y ubicación geográfica**

Los sistemas de producción en la Argentina están influenciados por la notable heterogeneidad ambiental que existe entre las diferentes regiones productivas. Si bien la producción se encuentra concentrada en la región “Pampa húmeda”, existen explotaciones desde el noroeste del país (clima sub-tropical) hasta el sur de la región pampeana (clima templado húmedo). También el rango de escala de las unidades es muy amplio, desde menos de 20 vacas a más de 500 vacas por explotación, según (MAGyP, 2013).

#### **1.3.2. Alimentación con predominancia de recursos forrajeros**

Históricamente, la producción de leche en Argentina fue bajo sistema pastoril, es decir, que el principal alimento de las vacas eran las praderas perennes y anuales,

consumidas por pastoreo directo, y que las vacas permanecían al aire libre la mayor parte del día. Esta característica responde al ambiente edafo-climático preponderante en las principales zonas de producción. La aptitud de los suelos y el régimen de lluvias (más de 800 mm anuales) favorecen el crecimiento de las pasturas que proveen alimento durante todo el año (MAGyP, 2013). A su vez, no existen períodos de temperaturas extremas que obligue a la estabulación de los animales por cese del crecimiento de las pasturas o por stress animal.

Una de las características distintivas de la lechería argentina respecto a otras regiones del mundo es el tipo de pastura utilizado y su modo de aprovechamiento. La alfalfa (*Medicago sativa* L.) es la especie de pastura de uso predominante en los sistemas lecheros argentinos. Tiene la particularidad de ser aprovechada principalmente mediante pastoreo directo.

Existen también otras especies de pastura perenne utilizadas generalmente en mezclas polifíticas y que, si bien existen en todas las regiones, tienen mayor relevancia en ambientes con restricciones. Como leguminosas se puede mencionar al trébol rojo (*Trifolium pratense*) y el trébol blanco (*Trifolium repens*) y como gramíneas a la cebadilla (*Bromus unioloides*), pasto ovillo (*Dactylis glomerata*) y, en menor medida, a la festuca (*Festuca arundinacea*) y el raigrás perenne (*Lolium perenne* L.), solos o en mezclas. En cuanto a los cultivos anuales utilizados podemos citar cuatro tipos:

-*Cultivos de verano para silaje*: El cultivo más utilizado es el maíz. Otra especie de menor importancia relativa es el sorgo, que se utiliza en general en ambientes más rigurosos.

-*Cultivos de invierno para silaje*: Son en general gramíneas anuales tales como avena, raigrás, cebada y trigo.

-*Cultivos de verano para pastoreo directo* (“*verdeos de verano*”): En general se trata de maíz o sorgo de pastoreo aprovechados de diciembre a marzo. Recientemente, se ha comenzado a utilizar también soja de pastoreo.

*-Cultivos de invierno para pastoreo directo:* las especies utilizadas como verdes de invierno son mayormente avena y raigrás. Complementan el bajo crecimiento de las pasturas aportando forraje de alta calidad en los meses de otoño, invierno y primavera temprana. También pueden ser conservados como silaje, henolaje o heno en caso de generarse excedentes no planificados.

Otro aspecto característico de los sistemas en Argentina es el acceso a fuentes de suplementación con concentrados energéticos y proteicos y subproductos para las vacas a costos relativamente bajos. Debido a una serie de razones relacionadas con la dinámica del sector y las políticas agropecuarias, el precio de los granos de cereales, y el del maíz en particular, ha sido históricamente bajo en relación al precio de la leche. Esto hace que en Argentina se utilicen estos alimentos en prácticamente todos los sistemas lecheros como suplemento de pasturas o forrajes voluminosos.

### **1.3.3. Raza lechera predominante, sistema de ordeño y destino de la leche**

La raza predominante en la Argentina es el Holando Argentino con un 98% del rodeo (FAO, 2011). Dicha raza fue desarrollada sobre la base de genética proveniente de Estados Unidos y Canadá. Su predominancia responde, en gran medida, a la necesidad de los ganaderos de producir leche todo el año para proveer al mercado interno y de contar con vacas que puedan alcanzar altas respuestas en producción de leche a la suplementación con concentrados energéticos.

El sistema de servicio predominante es la inseminación artificial. En cuanto a la estacionalidad de las pariciones, en Argentina la mayoría de los tambos utilizan un sistema continuo o bi-estacionado, y sólo existen escasas explotaciones que estacionan el servicio en un sólo momento del año. Esto se debe a que el principal destino de la leche producida es el consumo como leche fluida y productos lácteos, generando la necesidad continúa de leche por parte de la industria. En cuanto a los sistemas de ordeño, en los establecimientos de mayor escala predomina el uso de

“espina de pescado”, y en los de menor escala el “brete a la par” con menor número de bajadas.

#### **1.2.4. Destino de la leche**

Del total de la leche cruda producida, tres cuartas partes se destinan a la elaboración de productos lácteos. Los principales productos son las leches fermentadas y leche en polvo con cerca de 20% de la leche cada uno. La industria láctea argentina muestra una fuerte concentración en el rubro quesos absorbiendo más del 40%, 60% de la producción nacional de leche no comercializada en forma fluida.

#### **1.4. Quesos: Definición y clasificación**

El queso es el producto fresco o madurado que se obtiene por separación parcial del suero de la leche o leche reconstituida (entera, parcial o totalmente descremada), o de sueros lácteos, coagulados por la acción física, del cuajo, de enzimas, bacterias específicas o ácidos orgánicos (CAA, 1969). Pueden clasificarse de diversas formas (INTI, 2006):

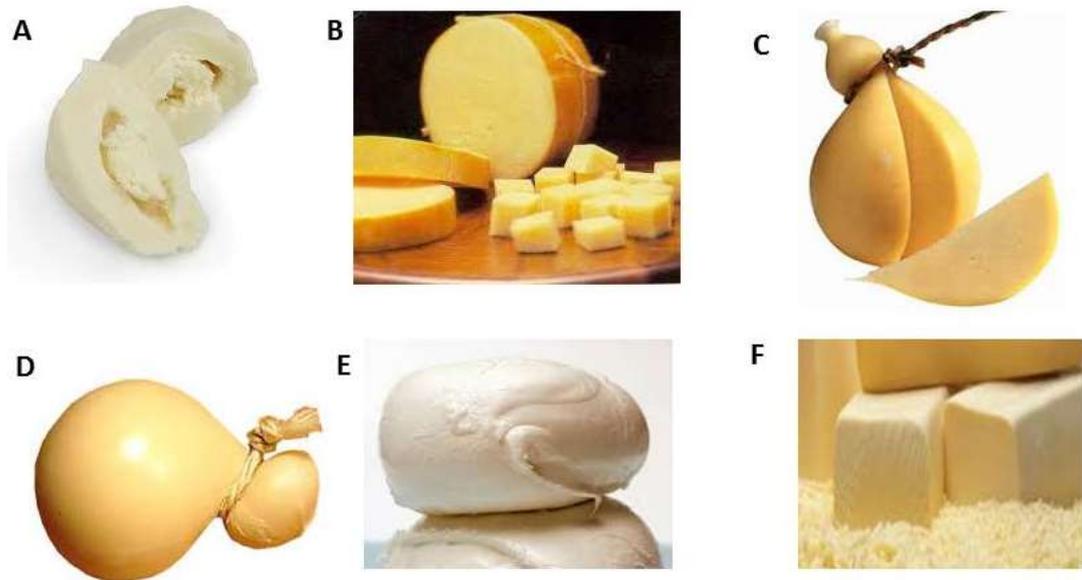
**a) Según el período entre producción y consumo:** se dividen en frescos (si se encuentran listos para el consumo poco después de su fabricación) o madurados (si requieren un período de almacenamiento para que mejoren sus propiedades físicas, químicas y sensoriales).

**b) Según el contenido de grasa:** Considerando el contenido de materia grasa del extracto seco en porcentaje, los quesos se clasifican en extra grasos cuando contienen no menos del 60%, grasos cuando poseen entre 45 y 60%,

semi-grasos cuando presentan entre 25 y 45%, magros cuando el nivel de grasa es de 10 y 25% del extracto seco y descremados con niveles inferiores a 10,0% (CAA, 1969).

**c) Según su contenido de agua:** Los quesos se clasifican en productos de baja humedad (<36%), de mediana humedad (36-46%), de alta humedad (entre 46 y 55%) y de muy alta humedad (>55%) (CAA, 1969).

**d) De acuerdo al proceso elaboración:** En este caso existen numerosas variantes. Una subdivisión que posee importancia es la de *quesos de pasta hilada y quesos no hilados*. El hilado es un tratamiento térmico aplicado a una masa previamente acidificada que permite el alineamiento de las proteínas generando un producto con una textura particular (con tendencia a formar hilos) y con alta capacidad de fusión. Los quesos de pasta hilada son populares en Italia. Algunos son la “scamorza” el “caccio-cavallo” y la “burratta” (**Figura 3**) Otros se encuentran ampliamente difundidos en todo el mundo como el provolone y la mozzarella. (Bonassi y col, 1982; Barbano y col, 1994).



*Figura 2: Diferentes tipos de quesos de pasta hilada: A. Burratta, B Provolone, C Cacciocavallo, D. Scamorza affumicatta, E. Mozzarella de búfala (boconccino), F. Mozzarella tipo pizza.*

### **1.5. Queso mozzarella: Tipos**

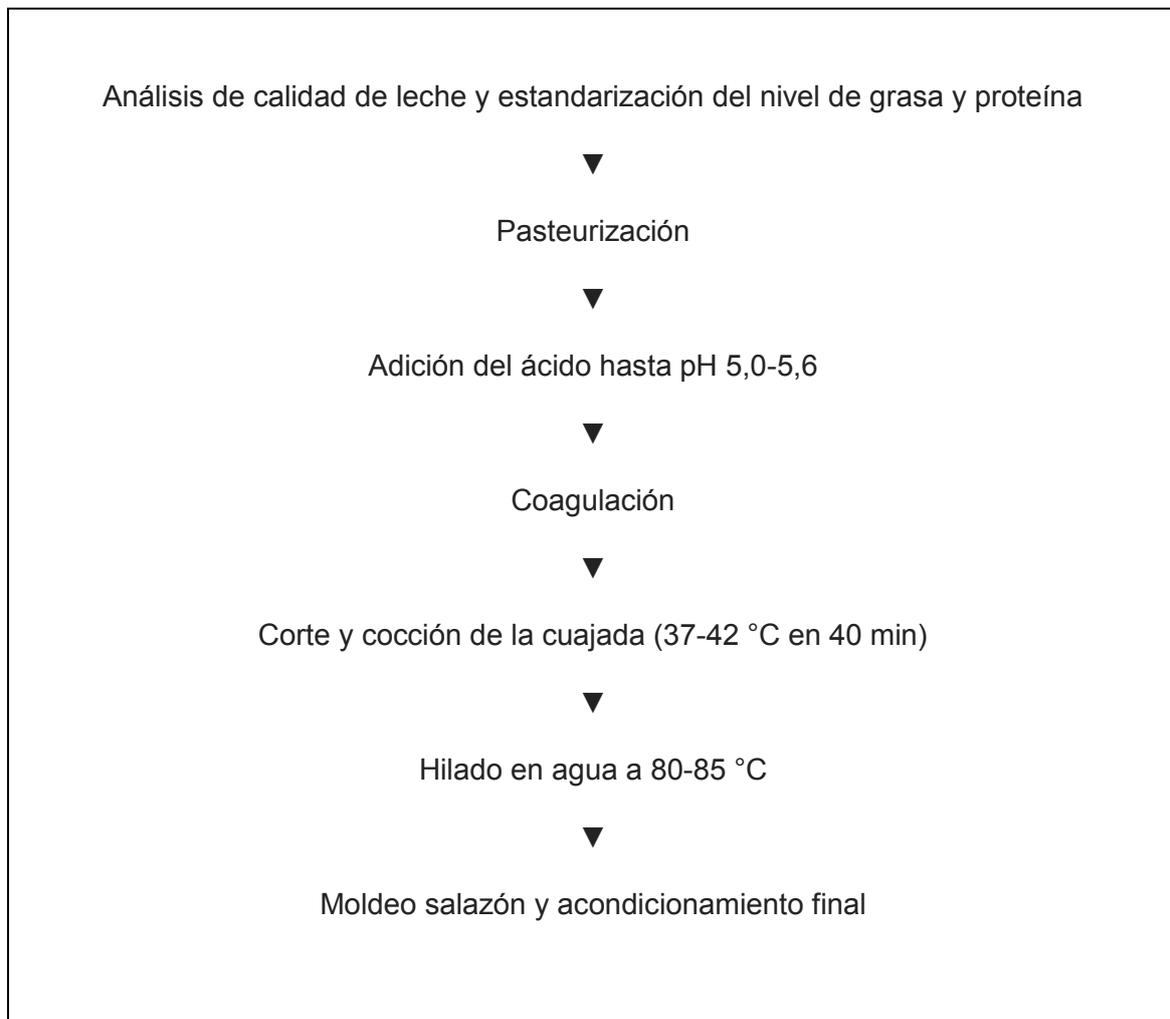
La mozzarella originaria de la región de Battipaglia Italia es el queso hilado más popular en el mundo (Patel y col, 1986). En su forma tradicional se realiza al igual que la mayor parte de los quesos de mediana humedad empleando además del cuajo para coagular la caseína, fermentos lácticos.

La diferencia principal con los quesos no hilados radica en que una vez obtenida, la masa es mantenida a una temperatura apropiada (alrededor de 20 °C) para que se produzca la acidificación hasta un nivel de pH cercano a 5,0-5,4 (Kinstedt y col, 1994).

La acidificación provoca una descalcificación parcial hasta el estado de “paracaseinato bi-cálcico” en el cual se induce una reorganización de la matriz proteica (Tunick, 1994). En este punto la masa es sometida a un trabajo mecánico a temperaturas elevadas (55-65 °C en la masa) proceso conocido como hilado.

Breene y col, (1964) desarrollaron un segundo tipo de mozzarella elaborada por acidificación directa también conocida como “pizza cheese” (**Figura 4**). Estos

autores indicaron que la leche puede ser acidificada en forma previa a la coagulación con ácido acético, ácido clorhídrico o láctico en lugar de por vía biológica (Kindstedt, 1993). La pre-acidificación reduce el tiempo de fabricación en un 50% con respecto a la obtenida en forma tradicional (Ernstrom, 1965).



*Figura 3: Esquema del proceso de elaboración de mozzarella por acidificación directa.*

Si bien este es un esquema general existen muchas variantes en el proceso de elaboración que podrían tener gran influencia sobre la calidad de la mozzarella obtenida. Una variable de gran importancia es el tratamiento térmico que recibe la leche. El CAA establece la obligatoriedad de pasteurizar la leche utilizada para la elaboración de quesos que no posean un período de maduración superior a dos meses como la mozzarella (CAA, 1969). De todos modos algunos productores pequeños evitan esta práctica por una disminución de costos y porque se considera que la leche pasteurizada puede presentar problemas para coagular e hilar. *A fin de re-evaluar esto en una primera parte de este trabajo de tesis se estudió la influencia del tratamiento térmico (leche cruda, con pasteurización alta o pasteurización baja) en la leche sobre el rendimiento, la composición y la calidad de mozzarella pre-acidificada.*

Otra variable en el proceso de elaboración de mozzarella pre-acidificada es la temperatura de la leche al momento de realizar el agregado de ácido. Si bien la acidificación puede realizarse a temperatura ambiente o bien una vez que la leche se ha refrigerado, no se conoce si esto podría afectar las características del producto. *En una segunda etapa del presente trabajo se estudiará la influencia de la temperatura de acidificación de la leche en la composición rendimiento y calidad de la mozzarella pre-acidificada.*

## 2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS



## **2.1. Objetivos**

-Determinar la influencia de los tratamientos térmicos sobre la composición, calidad y el rendimiento de mozzarella pre-acidificada.

-Determinar la influencia de la temperatura de la leche al momento de la acidificación sobre la composición, calidad y el rendimiento de mozzarella pre-acidificada.

## **2.2. Hipótesis**

-Los tratamientos térmicos recibidos por la leche afectan la composición, calidad y el rendimiento de mozzarella pre-acidificada.

-La temperatura de la leche al momento de la acidificación afecta la composición, calidad y el rendimiento de mozzarella pre-acidificada.

# 3. MATERIALES Y MÉTODOS



### **3.1. Elaboración de mozzarella pre-acidificada**

La elaboración de la mozzarella se llevó a cabo a partir de leches con distintos tratamientos térmicos y con diferentes temperaturas de acidificación según se detalla a continuación:

-T1: leche sin pasteurizar, temperatura de acidificación 8 °C (*Cr 8 °C*).

-T2: leche sin pasteurizar a temperatura de acidificación 18 °C (*Cr 18 °C*).

-T3: leche pasteurizada (73 °C, 15 s), temperatura de acidificación 8 °C (*PA18 °C*).

-T4: leche pasteurizada (73 °C, 15 s), temperatura de acidificación 18 °C (*PA18 °C*).

-T5: leche pasteurizada (63 °C, 30 min.), temperatura de acidificación 8°C (*PB18 °C*).

-T6: leche pasteurizada (63 °C, 30 min.), temperatura de acidificación 18°C (*PB18 °C*).

Una vez realizado el tratamiento térmico correspondiente (control sin tratamiento, PA o PB) la leche se enfrió a 8 ó 18 °C según el tratamiento y se adicionó ácido cítrico hasta pH 5,4 controlando con pH-metro.

Finalizada la acidificación la leche se llevó a 30 °C y se agregó cloruro de calcio en una dosis de 0,25 g por litro y 0,75 ml de cuajo de camella por litro de leche. Se dejó por un tiempo de 30 minutos hasta la formación de un gel firme. Luego se continuó con el corte de la cuajada en cubos grandes de aprox. 2 cm de lado. La cuajada se dejó reposar 10 minutos y se procedió a la cocción de la masa hasta una temperatura de 40 °C. Finalmente se separó la masa del suero y se realizó el hilado elevando la temperatura hasta 80 °C. Las muestras se envasaron en bolsas de

polietileno y se realizaron las determinaciones que se detallan en la sección 3.2. Las elaboraciones se realizaron por triplicado.

## **3.2. Determinaciones analíticas**

### **3.2.1. Análisis de la materia prima**

Se determinó en la leche empleada como materia prima en cada una de las elaboraciones el contenido de grasa, la proteína, el pH, la acidez, la densidad y el extracto seco empleando los métodos establecidos por la Federación Internacional de Lechería.

### **3.2.2. Rendimiento**

Se pesó la mozzarella obtenida y se midió el volumen de leche empleado. Se calculó el rendimiento para cada uno de los tratamientos a partir de la siguiente fórmula:  $\text{Rendimiento (\%)} = \frac{\text{Peso de la mozzarella (kg)} \times 100}{\text{Volumen de leche (L)} \times \delta}$  (kg/L). Se realizó 1 determinación por tratamiento y elaboración (n=3).

### **3.2.3. Humedad**

Se pesó aproximadamente 3 g de muestra en una cápsula conteniendo arena calcinada y una varilla taradas. La muestra se extendió con ayuda de la varilla formando una pasta con la arena a fin de impedir la formación de costras durante el secado. Se llevó la cápsula a estufa a  $103 \pm 2$  °C hasta peso constante (AOAC, 1980). Los resultados se expresaron como porcentaje de humedad. Se realizaron 3 determinaciones por tratamiento y elaboración (n=9).

#### **3.2.4. Materia grasa**

Se pesó 2,5 g de muestra en un butirómetro Gerber para quesos y se añadió ácido sulfúrico (densidad: 1,525) hasta cubrir la muestra. El butirómetro se agitó hasta disgregación de la muestra y se colocó en un baño termostático a 65 °C por 30 min. Posteriormente se agregó 1 mL de alcohol amílico. Se completó con ácido sulfúrico y las muestras se llevaron a baño de agua a 65 °C por 5 min. Las muestras se centrifugaron por 5 min, se colocaron nuevamente 5 min en un baño de agua a 65 °C y se realizó la lectura en la escala graduada. Se realizaron 2 determinaciones por tratamiento y elaboración (n=6).

#### **3.2.5. Proteína**

El contenido de proteína de las muestras se determinó por el Método de Kjeldahl. Se realizó 1 determinación por tratamiento y elaboración (n=3).

#### **3.2.6. Color**

Se determinó utilizando un Colorímetro Minolta CR-400. Se evaluaron los parámetros  $L^*$  y  $b^*$ . Se realizaron 10 determinaciones para cada tratamiento y elaboración (n=30).

#### **3.2.7. Textura**

Se utilizó un equipo Texture Analyzer (TAX2). Los cilindros de queso de altura 20 mm y diámetro 25 mm se cortaron con un calador y se dejó equilibrar a 20°C. Las muestras se comprimieron en un 80% de su altura inicial utilizando una sonda de 35 mm de diámetro y una velocidad de 50 mm min<sup>-1</sup>. El ensayo de compresión uniaxial se realizó en dos ciclos sucesivos, y se calcularon los parámetros de textura, dureza y

cohesividad. Seis muestras fueron analizadas para cada tratamiento y elaboración (n=18).

### **3.2.8. pH y acidez**

El pH de las muestras de mozzarella se determinó en forma potenciométrica con un electrodo de sólidos. Se realizaron dos determinaciones para cada una de las elaboraciones (n=6). La acidez se determinó por titulación con hidróxido de sodio 0,02 N hasta pH 8,2 (AOAC, 1980). Se pesaron aproximadamente 3 g de muestra. Se adicionaron 30 ml de agua a 40 °C. Las muestras se centrifugaron y se titularon con hidróxido de sodio de normalidad conocida hasta pH 8,2 viraje a color rosado. Los resultados se expresaron como gramos de ácido láctico cada 100 g de producto fresco. Se realizaron 2 determinaciones para cada tratamiento y en cada una de las elaboraciones (n=6).

### **3.3. Análisis estadístico**

Los resultados obtenidos se analizaron por medio de ANOVA y las medias se compararon por medio del test de Fisher con un nivel de significación de 0,05.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN



#### **4.1. Composición de la leche**

Se determinó en la leche de las tres elaboraciones la densidad, acidez, materia grasa, proteína y extracto seco (**Tabla 2**). Todos los parámetros se encontraron dentro de valores normales para leche de vaca. La acidez en las primeras dos elaboraciones se encontró cerca del límite superior permitido por el Código Alimentario, pero aún dentro de un valor aceptable (CAA, 1969). La elevada acidez en la leche puede estar relacionada con algunos problemas en el ordeño y almacenamiento. Sería de interés evaluar las condiciones de ordeño, estado de las pezoneras y máquina de ordeño, recipientes de transporte y mantenimiento de la cadena de frío.

El contenido de materia grasa fue en general elevado superando los valores medios informados para la leche producida en nuestro país (Taverna, 2002). La grasa es el componente más variable de la leche. Como se mencionó anteriormente el nivel de grasa puede verse modificado por factores genéticos, de manejo y por la composición de la dieta. En este caso es probable que una de las causas del mayor tenor graso en la leche sea que el rodeo del tambo del cual se obtuvo la materia prima posee una importante proporción de cruce de vacas Holando y Jersey. En particular la raza Jersey denominada "mantequera" suele producir leche con un mayor tenor graso (~5%), en comparación con la de raza Holando (3,5%). De todos modos no es posible descartar que otros factores hayan tenido influencia. El contenido de materia grasa muestra un aumento conforme desciende la producción total de leche de los animales en la lactancia. Por último la dieta puede modificar el contenido de grasa de la leche (Bunting, 2004). Entre los factores dietarios que afectan la cantidad y la composición de la grasa de la leche, se encuentran: la cantidad y calidad de la fibra, la proporción del forraje y concentrado, el sitio y la tasa de degradación del almidón, composición de los ácidos grasos y en el caso de grasas protegidas, el grado de protección contra el rumen y su digestibilidad. El acetato es el substrato principal para la síntesis de grasa dentro de la glándula mamaria, de tal manera que para mantener la concentración de

grasa en la leche se requiere una fuente de fibra altamente digestible. Un mínimo de 19 a 21% de FDN efectiva proveniente de forrajes picados, se considera necesario para prevenir una reducción en la concentración de la grasa en la leche. El nivel mínimo de fibra efectiva en las raciones debe ser basado en mantener el pH del rumen a un nivel aceptable (Allen, 1997). Por el contrario un exceso de fibra en la ración limitará el consumo y disminuirá la densidad energética de la ración.

*Tabla 2: Composición de la leche empleada en las tres elaboraciones de mozzarella*

<b>Elaboración</b>	<b>Densidad (g mL<sup>-1</sup>)</b>	<b>Acidez (°D)</b>	<b>Materia grasa (%)</b>	<b>Proteína (%)</b>	<b>Extracto seco (%)</b>
1°	1,0337	18	3,8	3,38	13,24
2°	1,0302	17	4,45	3,31	13,15
3°	1,0298	16	4,9	3,29	13,59

## **4.2. Rendimiento**

Breene y col, (1964) informaron por primera vez que la acidificación de la leche a pH 5,4 antes de la coagulación, permitió obtener una mozzarella de buena calidad reduciendo un 50% el tiempo necesario respecto a la mozzarella tradicional. También sugirieron que esto podía abrir la puerta a más sistemas mecanizados y continuos para la fabricación de mozzarella (Ernstrom, 1965). Los autores, reconocieron que la mozzarella pre-acidificada presentaba, ya al día de la elaboración, buenas características funcionales y de aspecto general, a diferencia de lo que ocurría con la mozzarella tradicional, que debía madurar durante al menos 2-3 semanas para desarrollar sus mejores propiedades. La **Figura 5** muestra el rendimiento de las mozzarellas pre-acidificadas elaboradas con leche cruda, pasteurizada alta y pasteurizada baja y acidificadas a 8 y 18 °C. El mismo osciló entre un 9 y 13%. La aplicación de los tratamientos térmicos de saneamiento no redujo el rendimiento. De

hecho la mozzarella elaborada con leche PB acidificada a 18 °C fue la que presentó mayor rendimiento. La mozzarella PB 8°C mostró también una tendencia a incrementar el rendimiento. Olson, (1980) demostró que las proteínas del suero desnaturalizadas pueden, al incorporarse al queso mozzarella en pequeña proporción, aumentar el rendimiento sin afectar negativamente a las propiedades del queso obtenido. En tal sentido la incorporación de proteínas del suero a quesos para incrementar el rendimiento ha sido objeto de muchos estudios (Lelièvre y col., 1995). La tendencia a incrementar el rendimiento en el caso de la leche pasteurizada podría asociarse con una insolubilización de las proteínas del suero que no ocurre en el caso de la mozzarella de leches crudas, donde estas proteínas se pierden en el suero durante la separación de la cuajada. De todos modos la excesiva deposición de proteínas séricas desnaturalizadas dentro del gel de fosfo-caseinato dificulta la coagulación y el proceso de hilado. Numerosos investigadores reportaron la influencia de la desnaturalización térmica de las proteínas solubles sobre la propiedad de coagular enzimáticamente, particularmente la unión de las proteínas del suero a la superficie de la micela, que por impedimento estérico, producen una inapropiada agregación (Vasbinder y De Kruif, 2003; Vasbinder y col, 2003; Donato y col, 2007). Después del calentamiento de la leche, las proteínas del suero, en particular,  $\beta$ -lactoglobulinas y  $\alpha$ -lactoalbúminas sufren cambios estructurales. En las  $\beta$ -lactoglobulinas se exponen los grupos SH (etapa inicial) y este puede formar puentes di-sulfuro con otras proteínas, especialmente con la k-caseína y  $\alpha$ 2-caseína, iniciando un proceso de polimerización irreversible. Este paso inicial, en principio se creyó que era solamente de naturaleza física pero es al final una interacción covalente (Hill, 1989; Jang y Swaisgood, 1990). La  $\alpha$ -lactoalbúmina no puede iniciar un proceso de polimerización debido a la ausencia de grupos SH libres (Mulvihill y Donovan, 1987). Por otra parte, la pérdida de calcio soluble en el suero debido a la precipitación sobre las micelas de caseína como fosfato de calcio insoluble, también prolonga el tiempo de coagulación (Van Hooydonk y col., 1987). En síntesis los resultados muestran que la

aplicación de un régimen térmico atento a lo requerido en el CAA no afecta al rendimiento de la mozzarella. En el caso de realizar PA debiera asegurarse que el TT no se extiende por más de 15 segundos por lo que se requerirían equipos de placas que permitan rápidamente reducir la temperatura de la leche finalizado el tratamiento.

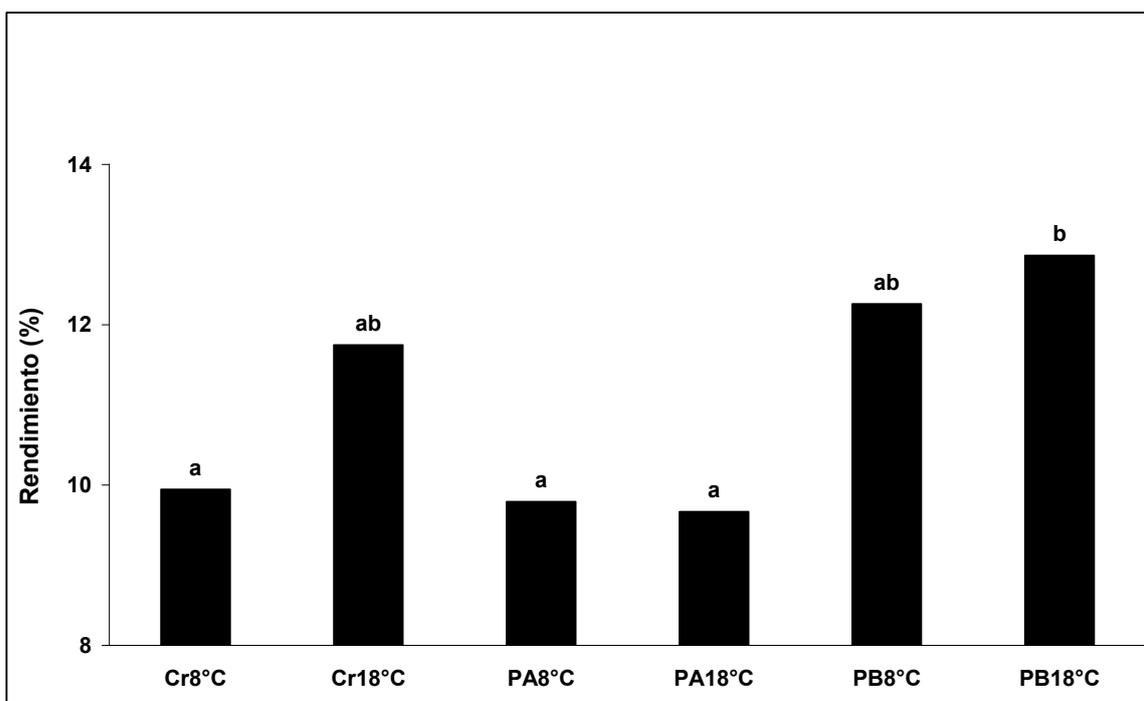


Figura 4: Rendimiento de mozzarella pre-acidificada elaborada con leche “cruda”, con pasteurización baja (PB) o pasteurización alta (PA) acidificadas a 8 o 18 °C. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

### 4.3. Humedad, proteína y materia grasa

A fin de caracterizar otros efectos de las condiciones de tratamiento térmico y acidificación de la leche en la calidad del producto, se evaluó la composición de las mozzarellas obtenidas por los diferentes tratamientos. El porcentaje de humedad varió entre un 50 y 55%. Se observó que la realización de una acidificación en frío presentó una tendencia a producir mozzarellas con mayor contenido de agua (**Figura 5**). La disociación de los ácidos es menor a medida que desciende la temperatura. En ese sentido, la cantidad de ácido cítrico necesario para acidificar la leche a baja

temperatura hasta un pH dado (5,4) podría ser mayor. Luego al incrementarse la temperatura para proceder con la elaboración del queso, el pH del suero de leches acidificadas en frío puede ser entonces algo más bajo, favoreciendo la pérdida de calcio y resultando en una humedad más alta contenida por aumento del grado de solvatación de la caseína. (Keller y col, 1974).

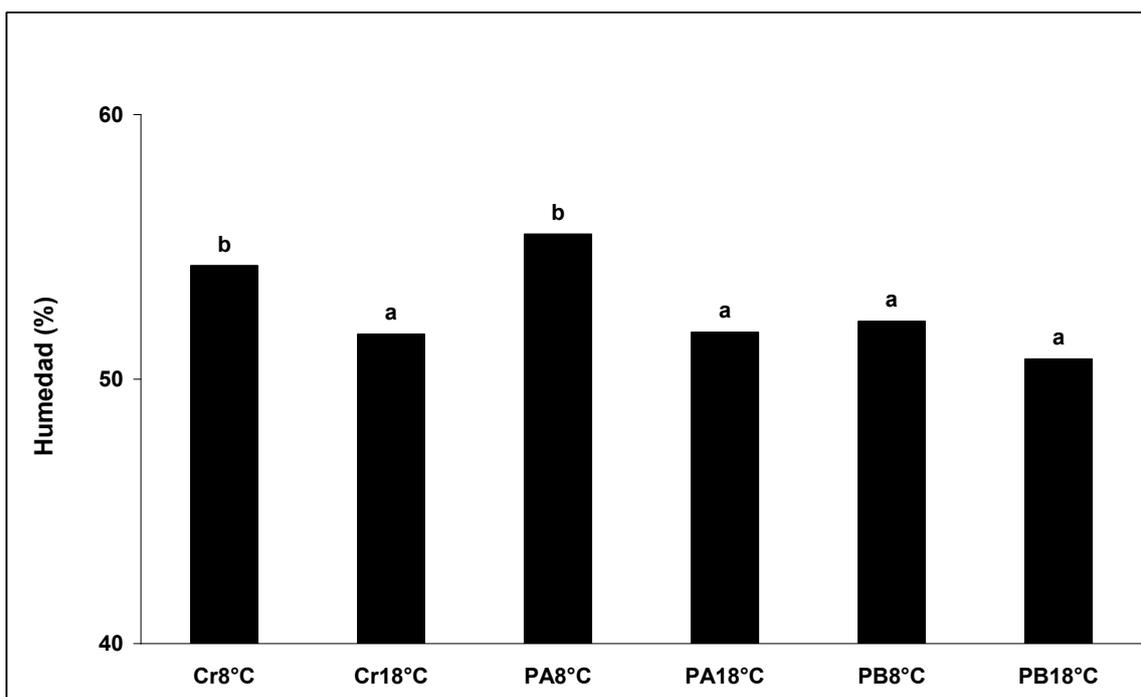


Figura 5: Humedad de mozzarella pre-acidificada elaborada con leche “cruda”, con pasteurización baja (PB) o pasteurización alta (PA) acidificadas a 8 o 18 °C. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

El contenido de proteína no mostró una tendencia clara como consecuencia del tratamiento que recibió la leche (**Figura 6**). Por su parte, el nivel de grasa se vio afectado por la temperatura de acidificación. En este caso la acidificación a baja temperatura resultó en mozzarellas menos grasas (**Figura 7**). Esto podría ser en parte un efecto compensatorio por los cambios de humedad antes descritos.

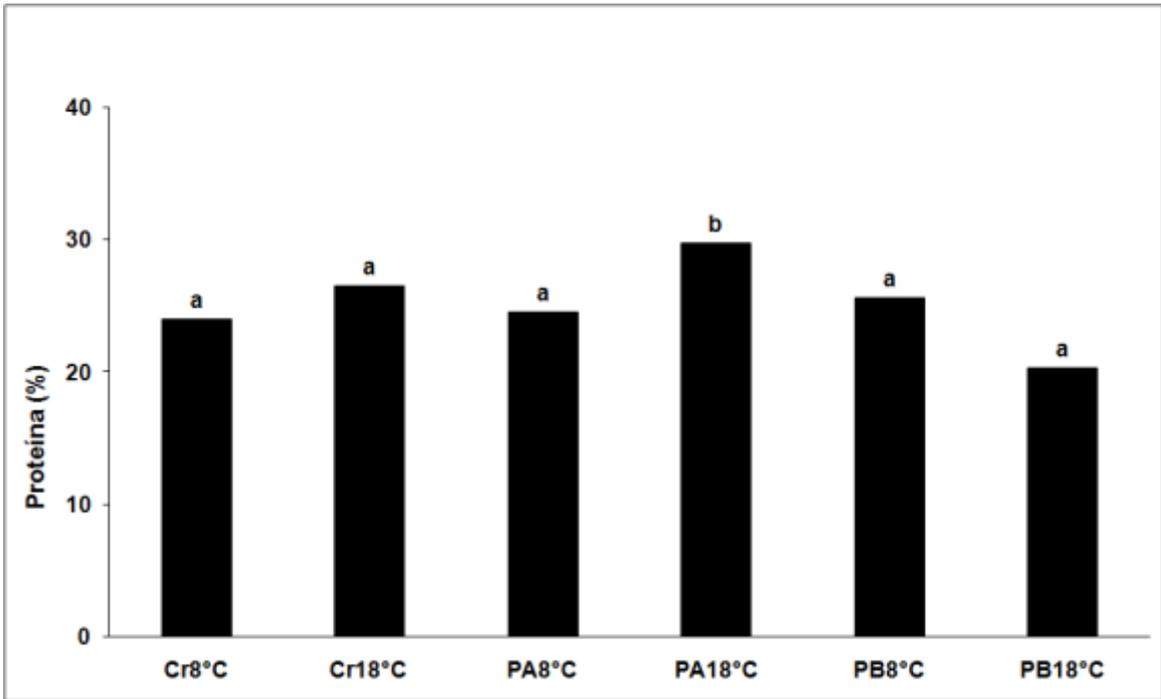


Figura 6: Proteína de mozzarella pre-acidificada elaborada con leche “cruda”, con pasteurización baja (PB) o pasteurización alta (PA) acidificadas a 8 o 18 °C. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

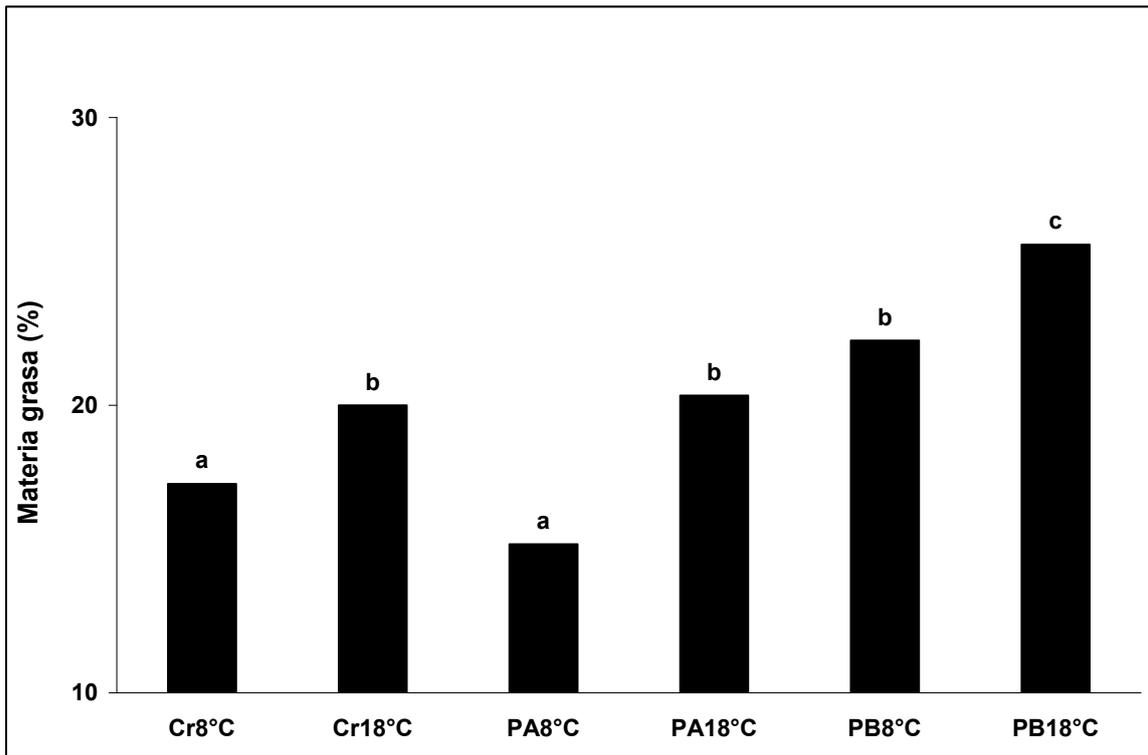
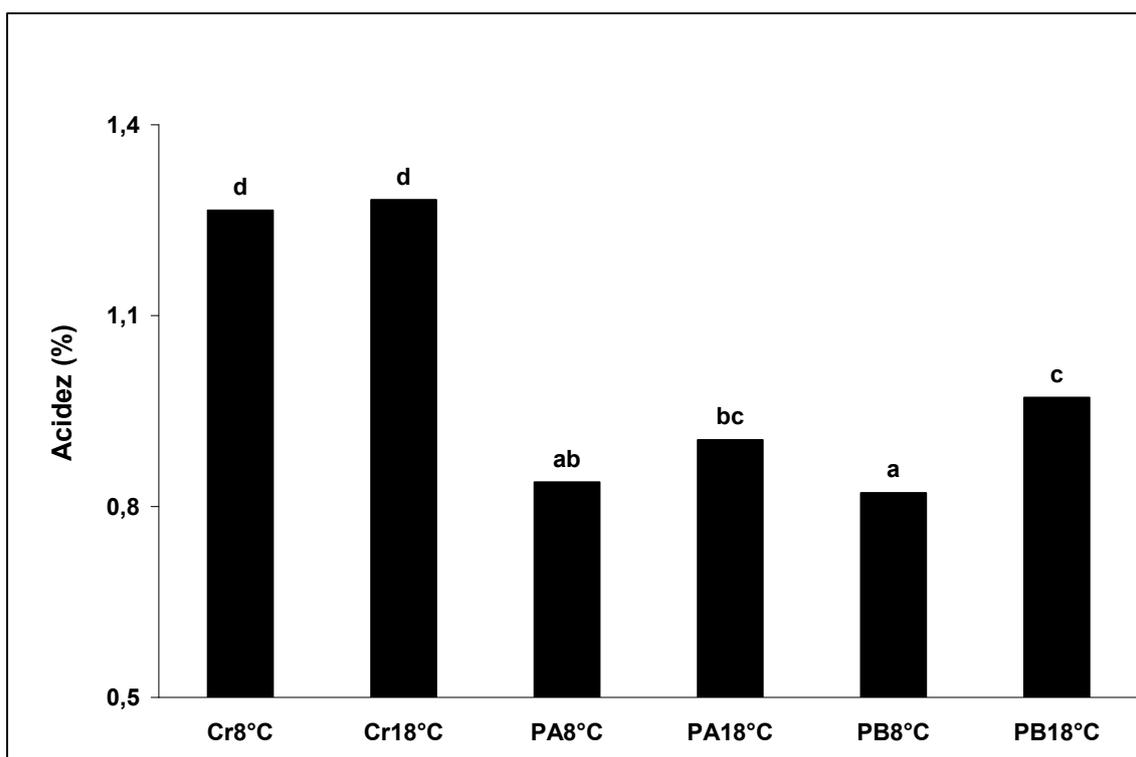


Figura 7: Materia grasa de mozzarella pre-acidificada elaborada con leche “cruda”, con pasteurización baja (PB) o pasteurización alta (PA) acidificadas a 8 o 18 °C. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

#### 4.4. Acidez y pH

La acidez de la mozzarella osciló entre 0,80 y 1,30% de ácido láctico (**Figura 8**). Como efecto más marcado se evidencia que las mozzarellas elaboradas a partir de leches crudas resultaron más ácidas. Del mismo modo el pH osciló entre 5,40 y 5,60 con menores valores en los quesos elaborados con leche cruda (**Figura 9**).



*Figura 8: Acidez de mozzarella pre-acidificada elaborada con leche “cruda”, con pasteurización baja (PB) o pasteurización alta (PA) acidificadas a 8 o 18 °C. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .*

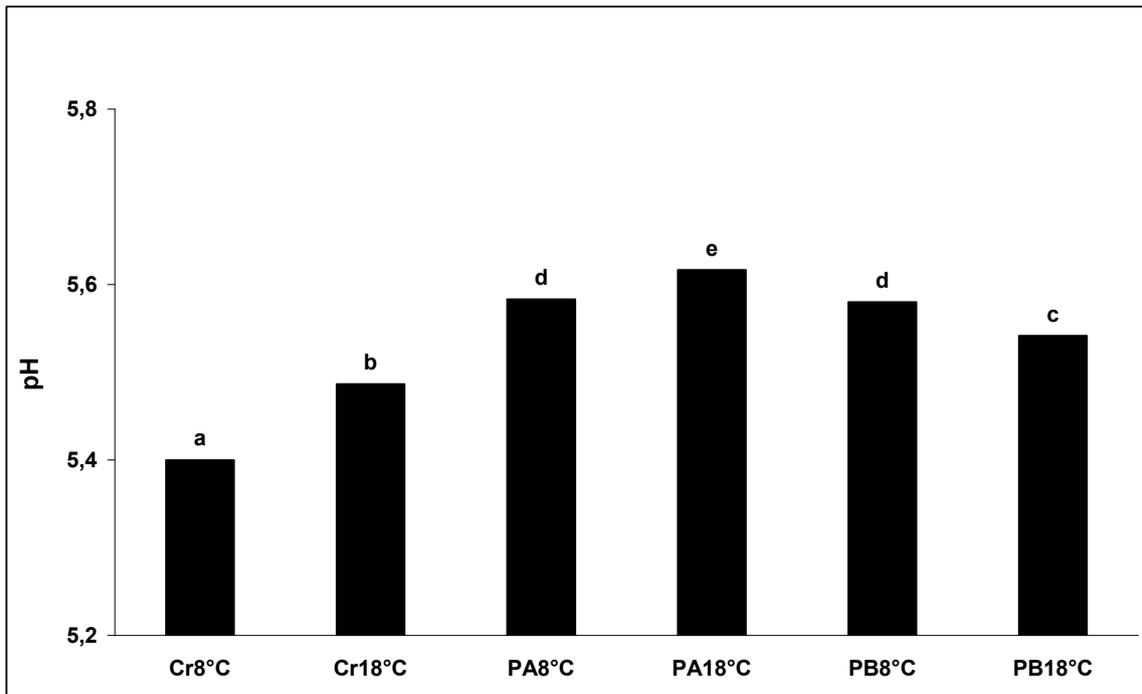


Figura 9: pH de mozzarella pre-acidificada elaborada con leche “cruda”, con pasteurización baja (PB) o pasteurización alta (PA) acidificadas a 8 o 18°C. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

#### 4.5. Color y textura

Las mozzarellas elaboradas a partir de leche sometida a PA fueron algo más oscuras (**Figura 10**). Con respecto a la temperatura de acidificación se observó que la realización en frío dio quesos menos amarillos (menor  $b^*$ ). Se conoce que a mayor contenido de agua el color superficial de los quesos es más claro (**Figura 11**). En tal sentido el color más blanco de la mozzarella acidificada en frío podría estar asociado con el mayor nivel de agua de estos quesos.

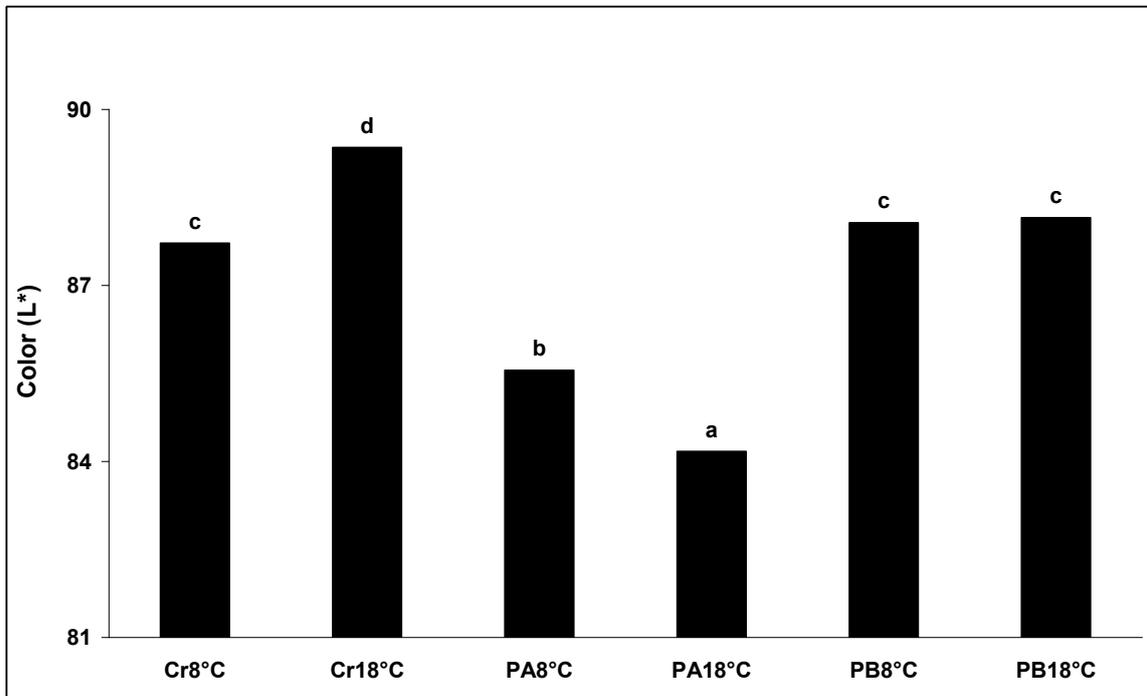


Figura 10: Luminosidad ( $L^*$ ) de mozzarella pre-acidificada elaborada con leche “cruda”, con pasteurización baja (PB) o pasteurización alta (PA) acidificadas a 8 o 18 °C. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

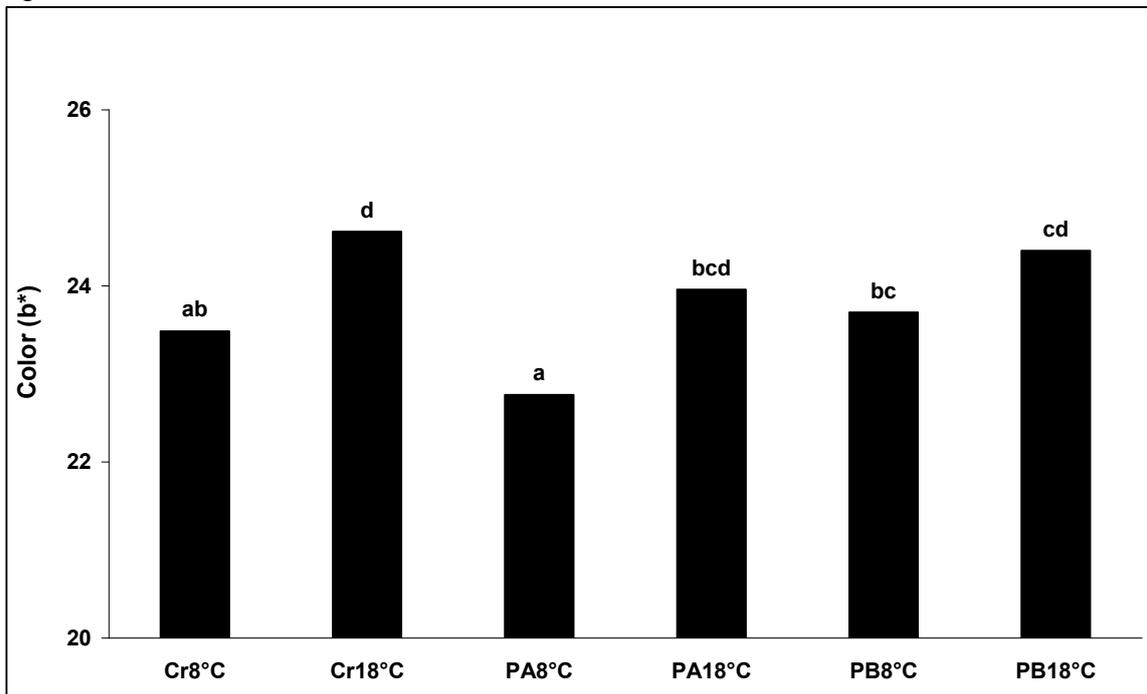
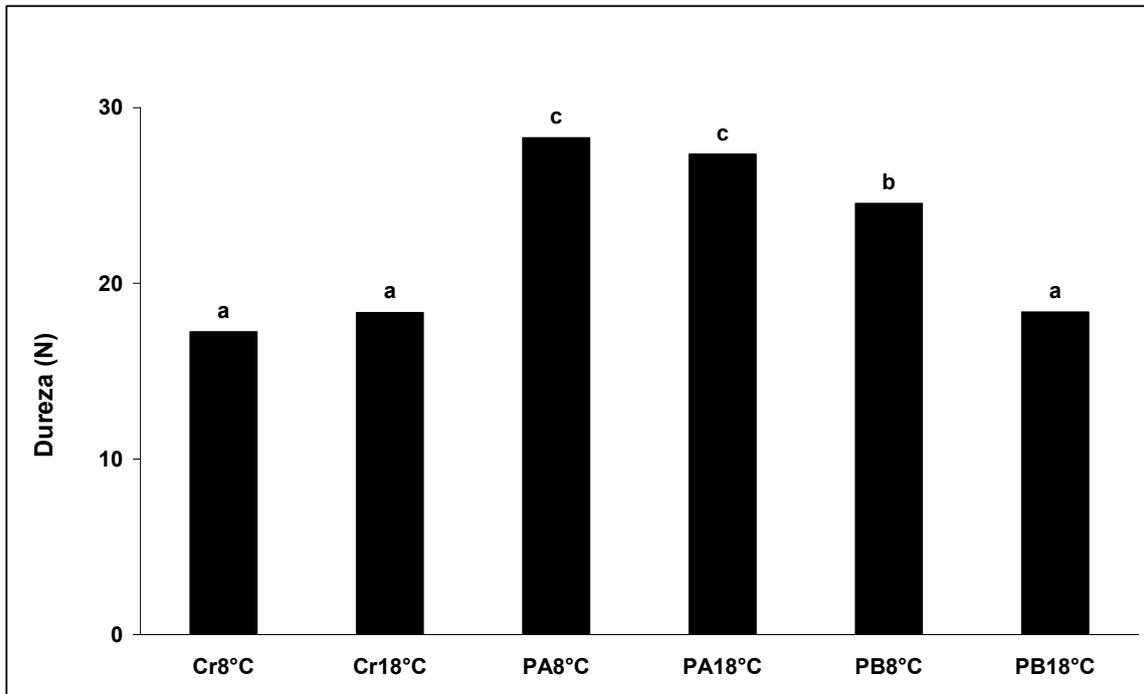


Figura 11: Color ( $b^*$ ) de mozzarella pre-acidificada elaborada con leche “cruda”, con pasteurización baja (PB) o pasteurización alta (PA) acidificadas a 8 o 18 °C. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .

Finalmente las mozzarellas obtenidas a partir de las leches PA resultaron de mayor dureza (**Figura 12**), siendo menos clara en este caso la interferencia de las condiciones de acidificación.



*Figura 12: Dureza de mozzarella pre-acidificada elaborada con leche “cruda”, con pasteurización baja (PB) o pasteurización alta (PA) acidificadas a 8 o 18 °C. Las letras distintas indican diferencias significativas en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ .*

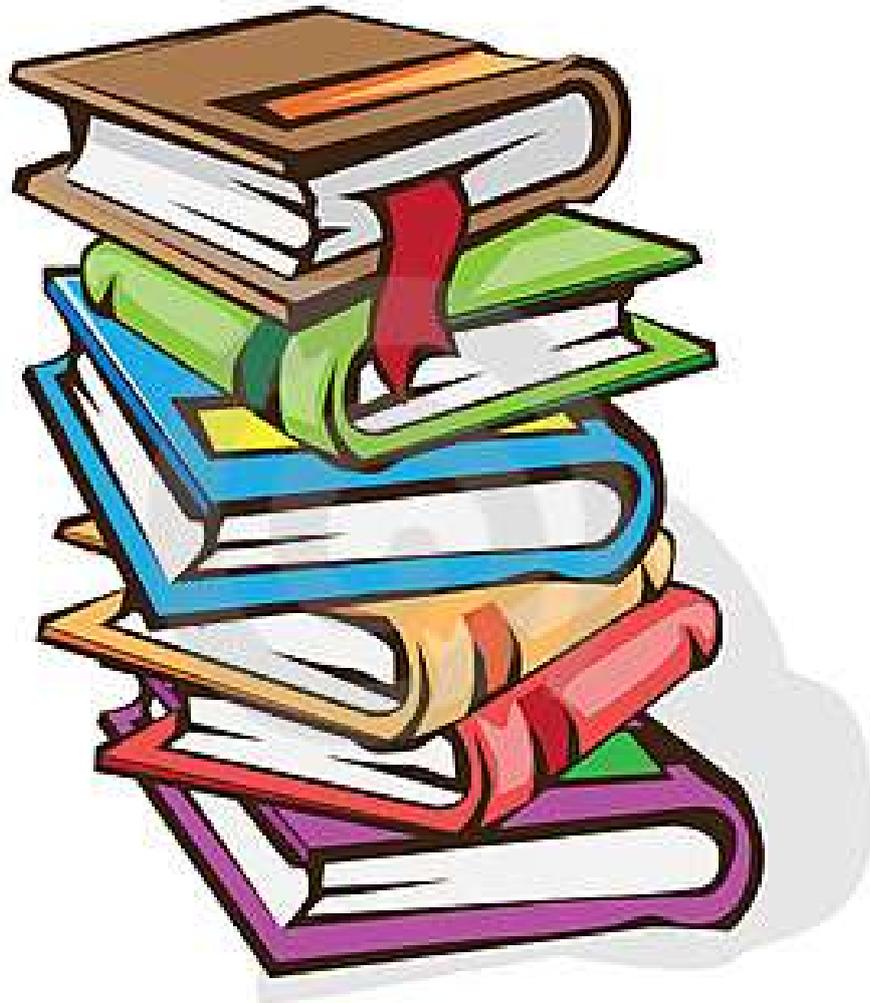
## 5. CONCLUSIONES



*Los resultados de este trabajo muestran que el tratamiento térmico de la leche y la temperatura de acidificación afectan el rendimiento y la calidad de mozzarella pre-acidificada. La pasteurización de la leche permitió obtener un rendimiento de mozzarella pre-acidificada similar o mayor al obtenido con leche “cruda”, aunque la PA dificultó el hilado. Por lo tanto si bien se puede obtener mozzarella pre-acidificada a partir de leche sometida a procesos de pasteurización, es conveniente utilizar el método de pasteurización baja, ya que presenta menores dificultades en la etapa de hilado y coagulación y asegura el saneamiento de la leche, cumplimentando los requisitos del CAA.*

*La mozzarella de leche “cruda” fue más ácida, mientras que la de leche sometida a PA mostró mayor dureza y color más oscuro. La temperatura de acidificación también tuvo implicancias en algunas características del producto. La mozzarella proveniente de leche acidificada en frío presentó mayor humedad, menor contenido de grasa, y fue menos amarilla.*

## 6. REFERENCIAS



- Allen, M.S., 1997. Relationships between fermentation acid production in the rumen and the requirement for physically effective fiber. *J. Dairy Sci.* 80:1447.
- AOAC, 1980. *Official Methods of Analysis*, 13th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington D.C.
- Barbano, D.M, Yun, J.J, Kindstedt, P.S., 1994. Mozzarella cheese making by a stirred curd, no brine procedure. *J. Dairy Sci.* 77, 2687-2694.
- Bonassi, I.A, De, C. Carvalho, J.B. Villares, J.B., 1982. Use of buffaloes' milk for Mozzarella cheese. *Arch Latinoam. Nutr.* 32, 903-912.
- Breene, W.M, Price, W.B, Ernstrom, C.A., 1964. Manufacture of pizza cheese without starter. *J. Dairy Sci.*, 47, 1173-1180.
- Bunting, L.D., 2004. Estrategias Nutricionales Para Cambiar los Componentes de la Leche. Seminario sobre alimentación y manejo de ganado lechero. En: <http://vaca.agro.uncor.edu/~pleche/material/Material%20II/A%20archivos%20intern et/Factor/Estrategias.pdf>.
- CAA, 1969. Código Alimentario Argentino. Capítulo VIII. En: [www.anmat.gov.ar](http://www.anmat.gov.ar). Visitado 2014.
- Chimicz, A., Gambuzzi, B., 2007. Cambios detectados en los sistemas de producción de leche de Argentina. *Revista Argentina de Producción Animal.* v. 27, Supl. 1.
- Donato, L., Guyomarch, H.F, Amiot, S, Dalgleish, G.D., 2007. Formation of whey protein/ $\kappa$ -casein complexes in heated milk: Preferential reaction of whey protein with  $\kappa$ -casein in the casein micelles. *Int. Dairy J.* 17, 1161-1167.
- Ernstrom, C.A., 1965. Mechanized pizza cheese making by means of a continuous, direct acidification method. *Mfd. Milk Prod. J.* 56, 7-8.
- Hill, A.R., 1989. The  $\beta$ -lactoglobulin- $\kappa$ -casein complex. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* 22, 120-123.
- INTI, 2006. La mejora de la competitividad de las pymes Argentinas. Cuaderno tecnológico N° 1. Ing. Roman M. y Lic. Castañeda R.

- Jang, H.D., Swaisgood, H.E., 1990. Disulfide bond formation between thermally denatured  $\beta$ -lactoglobulin and  $\kappa$ -casein in casein micelles. *J. Dairy Sci.* 73, 900-904.
- Keller, B., Olson, N.F., Richardson, T., 1974. Mineral retention and rheological properties of Mozzarella cheese made by direct acidification. *J. Dairy Sci.* 57, 174–180.
- Kindstedt, P.S., 1993. Effect of manufacturing factors, composition and proteolysis on the functional characteristics of mozzarella cheese. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 33, 167–187.
- Lelievre, J., Shaker, R.R., Taylor, M.W., 1990. The role of homogenization in the manufacture of Halloumi and Mozzarella cheese from recombined milk. *Int. J Dairy Technol.* 43, 21-24.
- MAGyP 2013. Anuario de lechería Argentina. Fundación para la Promoción y el Desarrollo de la Cadena Láctea Argentina-FunPEL.
- Mulvihill, D.M., Donovan, M, 1987. Whey proteins and their thermal denaturation. A review. *Irish J. Food Sci. Technol.* 11, 43-75.
- Olson, MF, 1980. Retaining whey proteins in cheese. *Dairy Field* 163, 74.
- Patel, G.C, Vyas, S.H, Upadhyay, K.G., 1986. Evaluation of mozzarella cheese made from buffalo milk using direct acidification technique. *Int. J. Dairy Sci.* 39, 394–403.
- SAyDS, 2007. Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable. En: <http://www.ambiente.gov.ar>. Visitado 2014.
- Taverna, M., 2002. Composición Química de la Leche Producida en la Argentina. IDIA XXI 112-117.
- Tunick, M.H., 1994. Effects of homogenization and proteolysis on free oil in mozzarella cheese. *J. Dairy Sci.* 77, 2487-2493.
- Van Hooydonk, A.C.M, De Koster, P.M Boerrigter, I.J, 1987. The renneting properties of heated milk. *Neth. Milk Dairy J.* 41, 3-18.
- Vasbinder, A.J, De Kruif, C.G, 2003. Casein-whey protein interactions in heated milk: the influence of pH. *Int. Dairy J.* 13, 669-677.

-Vasbinder, A.J, Rollema, H.S, De Kruif, C.G, 2003. Impaired rennetability of heated milk, study of enzymatic hydrolysis and gelation kinetics. J. Dairy Sci. 86, 1548-1555.