

Trabajo Fin de Grado

Grado en Biología

Influencia de los microorganismos en la elaboración de los quesos gallegos

Influence of microorganisms in the elaboration of
Galician cheeses

Alumno

Alexandre Sánchez Campaña

Universidad de A Coruña

Director

Enrique Torres Vaamonde

Universidad de A Coruña

Índice

Resumen	3
Palabras clave.....	3
Introducción	4
El sector quesero: contexto histórico y situación actual en Galicia.....	4
Pautas generales en la elaboración de queso.....	10
Objetivos.....	12
Desarrollo	12
Microorganismos estudiados: rutas bioquímicas e influencia sensorial.....	12
Elaboración de los quesos gallegos y papel de los microorganismos.....	15
Conclusiones	21
Referencias bibliográficas.....	23

Resumen

La industria quesera es un sector de arraigada tradición y alta importancia económica en Galicia, existiendo una producción anual de 5400 toneladas y una facturación de 34 millones de euros (0.058% del PIB de la Comunidad) (XG 2016). En el presente estudio se analiza mediante revisión bibliográfica uno de los factores más determinantes en su producción, la influencia de los microorganismos en sus características organolépticas. Se ha observado en las cuatro variantes de queso poseedoras de Denominación de Origen Protegida una predominante influencia de los géneros *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* y *Lactobacillus*, siendo la principal característica de todos ellos la aparición de aromas mantecosos y a yogurt. Con esto se deduce que la variabilidad entre los distintos quesos no está causada por el empleo de diferentes fermentos, si no por la modificación del resto de fases del proceso de elaboración, estimulando o reprimiendo la influencia de cada grupo de los microorganismos presentes y confiriendo cualidades por sí mismas.

Abstract

Cheese-making industry is a sector of deep-rooted tradition and high economic importance in Galicia, with an annual production of 5400 tones and a turnover of 34 million euros (0.058% of the Community's GDP) (XG 2016). In the present study, one of the most determinant factors in its production, the influence of microorganisms on their organoleptic characteristics, is analyzed through a literature review. A predominant influence of the following genera *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* and *Lactobacillus* has been observed in the four variants of cheese with Protected Designation of Origin, being their main characteristic the appearance of buttery and yogurt flavors. With this is deducible that variety between different cheeses is not caused by the use of different ferments, but for the modification of the rest of the steps in the elaboration process, stimulating or repressing the influence of each group of the present microorganisms and conferring characteristics by themselves.

Palabras clave

Microorganismos, quesos, características, Galicia, Denominación de Origen Protegida.

Introducción

El sector quesero: contexto histórico y situación actual en Galicia

La producción y consumo de queso es una actividad ligada desde sus inicios a la explotación láctica. Los primeros datos sobre la domesticación de ganado con fines lácteos son del área del Antiguo Egipto, alrededor del 10.000 a.C. Es intuible que conociesen la elaboración de quesos, bien por la acidificación de la leche, bien por su almacenaje en estómagos de animales, induciendo su cuajado. La producción de queso tuvo importancia en las áreas de Oriente Próximo y Europa, por ser regiones tradicionalmente adaptadas a la explotación y consumo de lácteos. La influencia del Imperio Romano generalizó su consumo y forjó un inicio de producción estandarizada. Fue tras su caída cuando comienzan a desarrollarse las variantes locales (Kindstedt 2012).

Posteriormente, la expansión colonial europea trasladaría la tradición quesera al resto del mundo (Kindstedt 2012).

A nivel industrial, la primera fábrica moderna es establecida en Suiza en 1815. No obstante, es en Estados Unidos donde se observa por primera vez una producción exitosa a gran escala (Kindstedt 2012). Actualmente, la producción mundial se estima en 22 millones de toneladas al año (IDF 2014).

En el caso de Galicia, se intuye igualmente un inicio de la producción quesera a la par de la explotación láctica. Los primeros indicios de dicha actividad se remontan al 4000 a.C., en base a los restos de bueyes, cerdos cabras y ovejas, hallados junto a las estructuras megalíticas presentes en la región (Fernández Rodríguez 2003).

Es durante la época romana cuando la cría de ganado bovino comienza a cobrar una especial relevancia en la región. Este hecho es debido a la alta organización socioeconómica existente en la época, especializándose ciertas áreas rurales en abastecer a los núcleos urbanos (Fernández Rodríguez 2003).

Debido a dichos antecedentes históricos, la ganadería vacuna se ha constituido como una actividad de alta importancia económica en la comunidad. Existen a día de hoy 32.982 explotaciones ganaderas dedicadas al sector lácteo vacuno, con un total de 549.049 vacas lecheras (XG 2014). Así mismo, el sector lácteo gallego produce un 38% del total nacional de leche y factura 1.387 millones de euros al año (2014), suponiendo un

15,3% del total del sector a nivel nacional y un 2.4% del PIB autonómico (2016) (MAPAMA 2014, 2016).

Es por esto que la práctica totalidad de los quesos producidos en Galicia, tanto históricamente como hoy en día, sean elaborados exclusivamente con leche de vaca.

Se mantienen a día de hoy cuatro variantes principales dotadas de Denominación de Origen Protegida:

Tetilla: los primeros indicios documentados de la existencia de este queso datan de siglo I d.C., en los escritos de Plinio el Viejo. Denominación de Origen Protegida obtenida en el año 1992 (CRQT 2018). A continuación sus principales características (**Tabla 1**)

Tabla 1: características DOP Tetilla (Canut and Navarro 1990).

TIPO DE QUESO	Leche de vaca (cruda o pasteurizada) Pasta blanda. Coagulación mixta (poco ácida, altamente enzimática). Suavemente prensado. Madurado mínimo de 7 días
CARACTERÍSTICAS FÍSICAS	Altura: 9-15 cm. Diámetro: 9-15 cm. Peso: 0.5-1.5 kg
CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS	Humedad: 45-50%. PT*/ES*: 40%. MG*/ES*: min 45%. pH: 5.0-5.5. NaCl: 2%
ASPECTO EXTERIOR	Forma de mama o "tetilla". Corteza apreciable, lisa, elástica, sin mohos, de unos 3 mm de espesor. Color amarillo pajizo.
ASPECTO INTERNO	Uniforme. Sin ojos o con muy pocos. Color de blanco marfil a amarillo suave.
CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS	
-TEXTURA AL TACTO	Apenas rugosa. Levemente húmeda. Elástica.
-OLOR	Olor lácteo. Baja intensidad.
-TEXTURA EN BOCA	Tierno. Poco firme y poco desmenuzable. Nada gomoso, poco adherente, nada granuloso, muy soluble y seco en boca. Poco graso. Fundente y cremoso.
-AROMA	Lácteo. Mantequilla. Vainilla en los más avanzados
-SABOR	Ligeramente ácido. Ligeramente salado.
-OTRAS SENSACIONES	Nada picante. Nada astringente. Nada ardiente.
-GUSTO RESIDUAL	No detectado
-PERSISTENCIA	Poco persistente, sobre 15 segundos.

*PT: proteína

*MG: materia grasa

*ES: extracto seco

-Producción anual: 1.458.725 kg (**Figura 1**)

-Valor económico estimado: 9.102.444 €

-Queserías: 38

-Ganaderías asociadas: 1821

(XG 2016).

Arzúa-Ulloa: dada su similitud con el queso de Tetilla, su origen está probablemente ligado al mismo. Denominación de Origen Protegida obtenida en 1995 (CRQA 2018). A continuación sus principales características (**Tabla 2**):

Tabla 2: características DOP Arzúa-Ulloa (Canut and Navarro 1990).

TIPO DE QUESO	Leche de vaca (cruda o pasteurizada) Pasta blanda. Coagulación mixta (muy enzimática) Maduración mínima de 6 días (tiernos) o 4 meses (curados)
CARACTERÍSTICAS FÍSICAS	Altura: 5-12 cm (tiernos), 3-10 cm (curados). Diámetro: 10-25 cm (tiernos), 12-20 cm (curados). Peso: 0.5 y 3.5 kg (tiernos), 0.5 y 2 kg (curados)
CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS	Humedad: 55% (tierno), 35% (curado). PT*/ES*: 35%. MG*/ES*: 45% (tiernos) 50% (curados). pH: 5.0-5.5 (tiernos), 5.1-5.4 (curados).
ASPECTO EXTERIOR	Forma lenticular o cilíndrica. Cara superior cóncava en curados. Corteza fina, elástica, limpia y lisa, de color amarillo de medio a oscuro (tiernos). No diferenciada, amarillo intenso y grasa en curados.
ASPECTO INTERNO	Brillante y sin grietas. Pocos ojos. Color uniforme, entre blanco marfil y amarillo (tiernos). Muy compacto, amarillo intenso más pálido en el centro en curados.
CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS	
-TEXTURA AL TACTO	Tiernos: lisa, débilmente húmeda y elástica Curados: algo rugosa, algo seca, nada elástica.
-OLOR	Tiernos: intensidad baja. Mantequilla con matices de nuez, nata y vainilla Curados: muy intenso, lácteo. Fuerte olor a mantequilla, ligeramente rancia. Sensación penetrante de picor.
-TEXTURA EN BOCA	Tiernos: blanda, tierna, poco desmenuzable, algo harinosa, adherente al paladar, ligeramente húmeda, algo grasa, muy cremosa, algo fundente y soluble. Curados: firme, desmenuzable, seca, altamente grasa.
-AROMA	Intensidad media. Matices de nata y yogurt en tiernos, vainilla y frutos secos en curados.
-SABOR	Tiernos: ligeramente ácido, poco salado.

	Curados: poco ácido, algo salado, levemente amargo.
-OTRAS SENSACIONES	Picor (curados)
-GUSTO RESIDUAL	Tiernos: mantequilla Curados: vainilla, ligeramente amargo.
-PERSISTENCIA	Algo persistente, sobre 15 segundos

*PT: proteína *MG: materia grasa *ES: extracto seco

-Producción anual: 3.409.385 kg (**Figura 1**)

-Valor económico estimado: 9.102.444 €

-Queserías: 21

-Ganaderías asociadas: 1303

(XG 2016).

San Simón da Costa: su origen se atribuye a los pueblos castreños de las sierras de A Carba y del Xistral. Se cree que era común en la dieta familiar durante la Edad Media. Denominación de Origen Protegida obtenida en 1999 (CRQS 2018). A continuación sus principales características (**Tabla 3**):

Tabla 3: características DOP San Simón da Costa (Canut and Navarro 1990).

TIPO DE QUESO	Leche de vaca (cruda o pasteurizada). Coagulación enzimática. Pasta prensada. Maduración mínima: 30 días (pequeños), 45 días (grandes). Ahumado con madera de abedul.
CARACTERÍSTICAS FÍSICAS	Altura: 10-13 cm (pequeños), 13-18 cm (grandes). Diámetro: 9-15 cm .Peso: 0.4-0.8 kg (pequeños), 0.8 y 1.5 kg (grandes)
CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS	Humedad: max 45% PT*/ES*: 35%. MG*/ES*: 45%-60%. pH: 5.0-5.6. NaCl: 2%
ASPECTO EXTERIOR	Forma entre peonza y bala, acabada en pico. Corteza ahumada, cerosa, brillante, lisa, algo grasienta, dura e inelástica. De 1 a 3 mm de grosor. Color amarillo-ocre. Sin mohos.
ASPECTO INTERNO	Compacto y cerrado. Ojos ausentes o mínimos. Color blanco-amarillo.

CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS	
-TEXTURA AL TACTO	Lisa, algo húmeda, de algo a bastante elástica.
-OLOR	Intensidad media. Lácteo, a mantequilla, torrefacto y a humo.
-TEXTURA EN BOCA	Firme, algo desmenuzable, masticable, levemente gomosa, algo adherente, levemente granulosa, poco húmeda, poco cremosa, algo fundente, bastante soluble.
-AROMA	Mismas que olor, mayor intensidad.
-SABOR	Poco salado, algo ácido, algo dulce.
-OTRAS SENSACIONES	En quesos muy maduros: algo picante, algo astringente, nada ardiente
-GUSTO RESIDUAL	No detectado
-PERSISTENCIA	Algo persistente, más de 15 segundos.

*PT: proteína *MG: materia grasa *ES: extracto seco

-Producción anual: 454.401 kg (**Figura 1**)

-Valor económico estimado: 3.311.6 €

-Queserías: 11

-Ganaderías asociadas: 334

(XG 2016).

Cebreiro: atribuido su origen a los primeros monjes pobladores del monasterio de O Cebreiro, entrada del Camino de Santiago Francés en Galicia. Se establecieron en el siglo IX, procedentes de Francia. Existen escritos que indican el envío de dichos quesos a la familia real portuguesa durante el reinado en España de Carlos III. Denominación de Origen Protegida obtenida en 1999 (CRQC 2018). A continuación sus principales características (**Tabla 4**):

Tabla 4: características DOP Cebreiro (Canut and Navarro 1990).

TIPO DE QUESO	Leche de vaca (pasteurizada). Pasta blanda. Coagulación mixta (altamente ácida, poco enzimática). Autoprensado por volteos. Fresco y curado (min. 45 días)
CARACTERÍSTICAS FÍSICAS	Altura: 12 cm. Diámetro: variable, siendo unos 2 cm mayor en la zona superior. Peso: 0.3-2

	kg.
CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS	Humedad: menor 50%. MG*/ES*: min. 45%. pH: 4.3-5. NaCl: 0% (fresco), 0-2% (curado)
ASPECTO EXTERIOR	Forma cilíndrica, de "gorro de cocinero". Corteza ausente en frescos, delgada blanco-amarillenta en curados.
ASPECTO INTERNO	Pasta continua, de aspecto granular-laminar. Blanca en frescos, blanco hueso en curados.
CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS	
-TEXTURA AL TACTO	Frescos: rugosidad débil, arcillosa, húmeda, nada elástica. Curados: untuosa, nada elástica.
-OLOR	Baja intensidad. Leche ácida, yogurt.
-TEXTURA EN BOCA	Blando, tierno, desmenuzable, pastoso, algo adherente, harinoso, húmedo, fundente y poco graso.
-AROMA	Frescos: cuajada ácida Curados: mantequilla ácida
-SABOR	Ácido, poco salado, algo metálico.
-OTRAS SENSACIONES	Frescos: algo refrescante. Curados: levemente picante, algo acre.
-GUSTO RESIDUAL	Leche ácida, yogurt.
-PERSISTENCIA	Poco persistente, menos de 15 segundos.

*MG: materia grasa

*ES: extracto seco

-Producción anual: 34.130kg (**Figura 1**)

-Valor económico estimado: 331.743 €

-Queserías: 5

-Ganaderías asociadas: 10

(XG 2016).

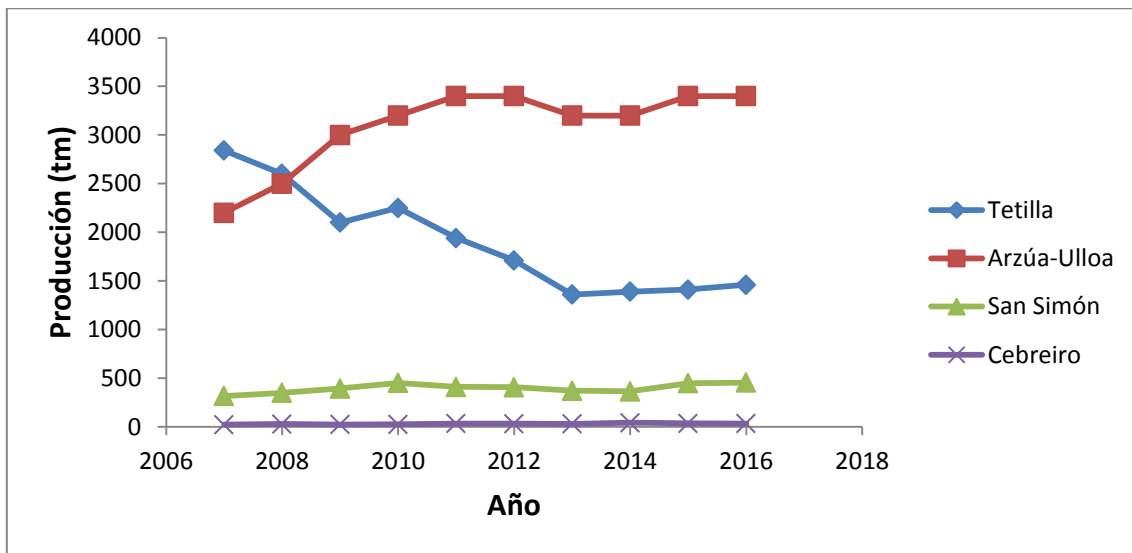


Figura 1: producción anual de queso en Galicia (XG 2016).

Todos los quesos anteriormente descritos se elaboran con leche procedente de vacas de las razas Rubia Gallega, Pardo-Alpina, Frisona y sus cruces. (XG 2016)

Pautas generales en la elaboración de queso

El proceso de elaboración de todas las variantes de queso conocidas sigue unas pautas básicas altamente similares. Será la gran cantidad de variables susceptibles de ser modificadas en cada uno de estos pasos lo que determinará las diferencias entre los productos finales (Hutkins 2006):

- 1. Selección de la leche:** la composición de los distintos tipos de leche afectará al producto final. Factores como las proporciones de proteína y grasa, u otros más específicos como la proporción de ácidos grasos libres o el tipo de aminoácidos serán determinantes. En algunos casos, se someterá a la leche a un tratamiento térmico con el fin de eliminar sus microorganismos (principalmente pasteurización). En los casos en los que se emplee leche cruda, también influirá en su selección sus enzimas y microbiota autóctonas.
- 2. Microorganismos iniciadores:** parte crucial en la producción del queso, pues serán los principales responsables de la aparición de los aromas y sabores, de la acidificación del producto y de la formación de ojos, entre otros. Actuarán durante el resto del proceso, controlándose su acción mediante la variación de ciertas condiciones físicas, como la temperatura, el pH, la salinidad y el tiempo de acción.

En los quesos de leche cruda estarán naturalmente presentes en la misma, en los pasteurizados se añadirán exógenamente. Los principales son las bacterias fermentadoras de lactosa, siendo ejemplos géneros como *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus* o *Leuconostoc*.

3. **Adición de enzimas exógenos:** destacando la quimosina, enzima responsable de la coagulación de la caseína y con un óptimo de pH próximo a 5,5. Puede añadirse inmediatamente después de los cultivos iniciadores o tras un periodo de preincubación.
4. **Cuajado:** la precipitación de la caseína, causada tanto por factores enzimáticos como por su desnaturalización a pH menores a 4.6 (acidificación causada por los microorganismos productores de ácido láctico) separará la leche en una fase líquida (suero, principalmente agua) y otra sólida (cuajada, principalmente grasas y proteínas).
5. **Corte y calentamiento de la cuajada:** la fase sólida obtenida mediante los procesos anteriores es cortada en porciones cúbicas. A menor tamaño, mayor será la pérdida de humedad y el descenso de pH (dada la mayor superficie disponible para los microorganismos fermentadores del ácido láctico). Posteriormente, puede someterse a un proceso de calentamiento. La temperatura utilizada optimizará la acción de ciertos microorganismos y enzimas concretos, al tiempo que, a mayor temperatura, mayor será el desuerado.
6. **Compactado:** la cuajada es compactada y escurrida mediante diversos métodos, como el prensado, el amasado manual o la propia fuerza de la gravedad. En ocasiones, se añade agua a la cuajada durante el escurrido, lo cual reducirá la acidez y proporción de lactosa del producto debido a procesos de difusión.
7. **Salado:** este proceso aporta sabor, favorece el desuerado, asegura la conservación y actúa como factor selectivo sobre las enzimas y microorganismos presentes, permitiendo la supervivencia u optimizando a aquellos halófilos o halotolerantes y eliminando al resto. Puede añadirse previo o posterior al compactado, de forma sólida o de salmuera.
8. **Maduración:** una sucesión de procesos enzimáticos y microbianos tendrá lugar a lo largo del tiempo. El propio proceso modificará progresivamente las condiciones, optimizándose o anulándose determinados microorganismos y enzimas según avance la maduración.

Objetivos

El propósito de este trabajo es definir la influencia de los distintos microorganismos en las características organolépticas de las cuatro variantes de queso con Denominación de Origen Protegida en Galicia, indicándose cuál es su mecanismo de acción y su principal influencia.

Desarrollo

Microorganismos estudiados: rutas bioquímicas e influencia sensorial

LACTOBACILOS

Se han documentado las especies *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* y *Lactobacillus helveticus* (Garabal et al. 2008).

Todas ellas presentan rutas de fermentación láctica (descendiendo el pH dada la acumulación de ácido láctico, el cual confiere además matices de yogurt), aunque es especialmente destacable este proceso en la especie *Lactobacillus casei*. Esta última posee además actividad alfa-glucosidasa (relacionada con la producción de diacetil, responsable del aroma mantecoso) (Garabal et al. 2008).

En todos los casos existe actividad aminopeptidasa, responsable de la degradación de los péptidos amargos procedentes de la degradación de la caseína, contribuyendo a reducir el amargor (Garabal et al. 2008).

En el caso de *Lactobacillus casei* es interesante su producción de acetaldehído, sustancia responsable de un aroma a yogurt, a partir de la proteólisis de la treonina (Garabal et al. 2008).

LACTOCOCOS

Destaca la especie *Lactococcus lactis*, fermentadora de ácido láctico y productora de diacetil (Garabal et al. 2008).

LEUCONOSTOCS

Destaca la especie *Leuconostoc mesenteroides*, también fermentadora de ácido láctico y productora de diacetil (Garabal et al. 2008).

ENTEROCOCOS

Son objeto de estudio las especies *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus durans* (Garabal et al. 2008; Giraffa 2003).

En los tres casos observamos una actividad lipolítica, mediada tanto por enzimas lipasas como estereras. Las primeras inducirán la conversión de grasas en ácidos grasos libres (causantes de un aroma butírico/ rancio), mientras que las segundas catalizaran la degradación de dichos compuestos (formando metilcetonas, responsables de un aroma a mosto y tioésteres, causantes de aromas sulfhídricos). Esta acción lipolítica causará además una licuefacción de la pasta del queso. Así mismo, estas especies poseen un metabolismo fermentador de citrato, generando diacetil (Garabal et al. 2008; Giraffa 2003).

En el caso concreto de *Enterococcus faecalis* se observa una cierta actividad proteolítica, la cual conllevará a la degradación de la caseína, resultando en un ablandamiento de la pasta (degradación caseína alfa) y una liberación de péptidos amargos (degradación caseína beta). Así mismo, destaca su metabolismo de fermentación láctica (Garabal et al. 2008; Giraffa 2003).

ESTAFILOCOCOS

Se ha documentado la influencia de las especies *Staphylococcus equorum* y *Staphylococcus epidermis* (Rodríguez-Alonso et al. 2008).

Cobra especial relevancia su actividad proteolítica, observándose en ambos casos una degradación de la caseína. Llevan a cabo además una degradación de aminoácidos de cadena ramificada, generando aldehídos responsables de la aparición de un aroma a malta. Por otra parte, ambos presentan actividad lipasa (Rodríguez-Alonso et al. 2008).

MICROCOCOS

Se ha observado una actividad proteolítica, traducida como una degradación de las caseínas alfa y beta. Así mismo, provocan una síntesis de diacetil a partir de intermediarios de la glucólisis. De las diversas especies analizadas de éste género destaca *Micrococcus varians* (Rodríguez-Alonso et al. 2008).

LEVADURAS

Las especies analizadas son *Yarrowia lipolytica*, *Kluyveromyces lactis*, *Debaryomyces hansenii* y *Saccharomyces cerevisiae* (Atanassova 2016).

En el caso de *Yarrowia lipolytica*, destaca su degradación de la L-metionina, al ser sus subproductos responsables de un aroma sulfhídrico y un aumento de pH. Presentará así mismo una cierta actividad proteolítica sobre la caseína y una cierta actividad lipasa (Atanassova 2016).

Kluyveromyces lactis es especialmente reseñable por sus rutas de producción de ácido láctico, generación de acetaldehídos y de fermentación alcohólica (productores de un aroma alcohólico/afrutado y generando ojos por la liberación de CO₂) (Atanassova et al. 2016).

En *Debaryomyces hansenii* despuntan sus rutas de degradación de la L-metionina, de fermentación alcohólica y su actividad lipasa (Atanassova et al. 2016).

Saccharomyces cerevisiae es responsable de un aroma a levadura y de la producción de alcohol y gas (Atanassova et al. 2016).

Se ha observado así mismo una actividad fermentadora del citrato por parte de ciertas levaduras indeterminadas. Dicho proceso implica una conversión del citrato en diacetil (Atanassova et al. 2016).

OTROS MICROORGANISMOS

- *Xanthomonas hortorum*: bacterias con actividad proteolítica, lisando la caseína. Responsables así mismo de un regusto fermentado y ligeramente amargo (Centeno et al. 2012).
- *Kocuria varians*: bacterias que ablandan la pasta mediante una proteólisis de la caseína. Poseen también actividad lipasa (Rodríguez-Alonso et al. 2008).
- *Brevibacterium linens*: bacterias responsables de un aroma sulfhídrico al generar ácido isovalérico y metanotiol (Hutkins 2006).
- *Propionibacterium*: bacterias responsables de la producción de CO₂ y de la proteólisis de prolina y leucina, causando un aroma dulzón a nueces (Hutkins 2006).

Elaboración de los quesos gallegos y papel de los microorganismos

En todos los casos la información sobre los microorganismos más relevantes en el proceso de fabricación ha sido obtenida de estudios sobre las variantes tradicionales elaboradas con leche cruda. Dichos fermentos son por norma general los añadidos exógenamente a las variantes pasteurizadas.

TETILLA:

Elaborado con leche de vacas Rubia gallega, Pardo alpina, Frisona y sus cruces, registradas en toda Galicia, cruda o pasteurizada. Se emplearán coagulantes químicos o animales, así como cualquier fermento que se autorice como válido. Se cortará la cuajada en cubos de unos 10 mm y se lavará con agua. Posteriormente se prensará en moldes y se salará en salmuera, un máximo de 24 h. Finalmente se madurará durante un mínimo de 8 días (XG 2016).

Tradicionalmente no era necesaria una adición exógena de microorganismos, al estar éstos presentes en la leche de forma natural. En las variantes de leche cruda se mantendrá este sistema. No obstante, en las variantes pasteurizadas deberán ser añadidos a la leche justo al finalizar el tratamiento térmico y previo a cualquier otro paso.

Destacan en la elaboración de este queso el papel de los microorganismos de los géneros *Enterococcus*, principalmente *Enterococcus faecalis* (causantes de un ablandamiento de la pasta y de la aparición de matices mantecosos y a yogurt, ligeramente sulfhídricos, amargos y rancios), *Lactococcus*, destacando *Lactococcus lactis* (responsables de la aparición de aromas mantecosos y a yogurt) y *Lactobacillus* (responsables de la aparición de aromas mantecosos y a yogurt así como de una reducción del amargor). Así mismo, los géneros *Micrococcus* (causante de un aroma mantecoso, un ablandamiento de la pasta y un incremento del amargor) y *Leuconostocs* (de nuevo causantes de aromas mantecosos y a yogurt) ejercen una cierta influencia sobre las características más generales (**Tabla 5**) (Garabal et al. 2008; Rodríguez-Alonso et al. 2008; Menéndez et al. 2004).

Los principales procesos en la elaboración de este queso que lo diferencian de los demás son una corta maduración y un lavado de la cuajada, lográndose una textura húmeda y una reducción de la acidez respectivamente. Posee una gran similitud con las variantes tiernas de Arzúa-Ulloa (XG 2016).

Tabla 5: relación entre las características sensoriales del queso Tetilla y los microorganismos responsables.

Característica	Ruta metabólica	Microorganismos implicados
Pasta blanda	Proteólisis caseína alfa	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Enterococcus faecalis</i>, • <i>Staphylococcus equorum</i> • <i>Staphylococcus epidermis</i> • <i>Yarrowia lipolytica</i> • <i>Xanthomonas hortorum</i> • <i>Kocuria varians</i> • <i>Micrococcus spp.</i>
Pasta blanda	Lipólisis de las grasas a ácidos grasos	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Enterococcus faecium</i> • <i>Enterococcus faecalis</i>, • <i>Enterococcus durans</i> • <i>Staphylococcus equorum</i> • <i>Staphylococcus epidermis</i> • <i>Yarrowia lipolytica</i> • <i>Debaryomyces hansenii</i> • <i>Kocuria varians</i>
Aroma mantecoso	Producción de diacetil	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Lactococcus lactis</i> • <i>Lactobacillus casei</i> • <i>Leuconostoc mesenteroides</i> • <i>Micrococcus spp</i> • <i>Enterococcus faecium</i> • <i>Enterococcus faecalis</i>, • <i>Enterococcus durans</i> • Levaduras fermentadoras de citrato.
Aroma lácteo/yogurt Sabor ligeramente ácido	Producción de ácido láctico	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Enterococcus faecalis</i> • <i>Lactococcus lactis</i> • <i>Lactobacillus casei</i> • <i>Leuconostoc mesenteroides</i> • <i>Lactobacillus helveticus</i> • <i>Lactobacillus paracasei</i> • <i>Kluyveromyces lactis</i>
Aroma lácteo/yogurt	Producción de acetaldehído	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Lactobacillus casei</i>

ARZÚA-ULLOA:

Elaborado con leche de vacas Rubia gallega, Pardo alpina, Frisona y sus cruces, registradas en el área de la DOP Arzúa-Ulloa. Puede emplearse cruda o pasteurizada. Se emplearán coagulantes químicos o animales. Cualquier variante de fermento será autorizado siempre y cuando contribuya a la calidad el producto, primándose aquellos

autóctonos. La coagulación será predominantemente enzimática. La cuajada será cortada en cubos de 5-10 mm y lavada hasta alcanzar la acidez deseada. Posteriormente será compactada en una prensa cilíndrica. Se salará sobre la cuajada cortada o introduciendo el producto prensado en salmuera, durante un máximo de 24 h. La maduración tendrá lugar a menos de 15°C y a una humedad relativa del 75-90%, durante un mínimo de 6 días para los tiernos y de 6 meses para los curados (XG 2016).

Sólo en las variantes pasteurizadas será necesaria la adición exógena de microorganismos, siendo el primer paso a realizar tras el tratamiento térmico.

De todos los microorganismos observados, los más influyentes en la caracterización de este queso son los géneros *Lactococcus*, *Leuconostocs* (ambos responsables de un aroma mantecoso y a yogurt) y *Lactobacillus* (causante de una reducción del amargor así como de matices mantecosos y a yogurt). Cobra también una cierta relevancia el género *Micrococcus* (responsable de un aroma mantecoso, un ablandamiento de la pasta y un incremento del amargor). Según avanza la maduración aumenta significativamente el papel de *Lactobacillus* y se observa también la influencia del género *Enterococcus* (causantes de un ablandamiento de la pasta y de la aparición de matices mantecosos y a yogurt, ligeramente sulfhídricos, amargos y rancios) (**Tabla 6**) (Garabal et al. 2008; Rodríguez-Alonso et al. 2008; Centeno et al. 1995).

Sus variantes tiernas son altamente similares a las de Tetilla. El principal proceso diferenciador en las curadas es su tiempo de maduración, conllevando a una textura más sólida (por reducción de humedad) y a la intensificación de los aromas a yogurt y rancios (por acción microbiana) (XG 2016).

Tabla 6: relación entre las características sensoriales del queso Arzúa-Ulloa y los microorganismos responsables.

Característica	Ruta metabólica	Microorganismos implicados
Pasta blanda	Proteólisis caseína alfa	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Enterococcus faecalis</i>, • <i>Staphylococcus equorum</i> • <i>Staphylococcus epidermis</i> • <i>Yarrowia lipolytica</i> • <i>Xanthomonas hortorum</i> • <i>Kocuria varians</i> • <i>Micrococcus spp.</i>
Pasta blanda Aroma rancio (curados)	Lipólisis de las grasas a ácidos grasos	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Enterococcus faecium</i> • <i>Enterococcus faecalis</i>, • <i>Enterococcus durans</i> • <i>Staphylococcus equorum</i>

		<ul style="list-style-type: none"> • <i>Staphylococcus epidermi</i> • <i>Yarrowia lipolytica</i> • <i>Debaryomyces hansenii</i> • <i>Kocuria varians</i>
Aroma mantecoso	Producción de diacetil	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Lactococcus lactis</i> • <i>Lactobacillus casei</i> • <i>Leuconostoc mesenteroides</i> • <i>Micrococcus spp</i> • <i>Enterococcus faecium</i> • <i>Enterococcus faecalis</i>, • <i>Enterococcus durans</i> • Levaduras fermentadoras de citrato.
Aroma lácteo/yogurt (curados) Sabor ligeramente ácido (tiernos)	Producción de ácido láctico	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Enterococcus faecalis</i> • <i>Lactococcus lactis</i> • <i>Lactobacillus casei</i> • <i>Leuconostoc mesenteroides</i> • <i>Lactobacillus helveticus</i> • <i>Lactobacillus paracasei</i> • <i>Kluyveromyces lactis</i>
Aroma lácteo/yogurt (curados)	Producción de acetaldehído	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Lactobacillus casei</i>
Aroma a frutos secos	Degradación de prolina y leucina	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Propionibacter</i>
Sabor ligeramente amargo (curados)	Proteólisis de la caseína beta, liberando péptidos amargos.	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Enterococcus faecalis</i>, • <i>Staphylococcus equorum</i> • <i>Staphylococcus epidermis</i> • <i>Yarrowia lipolytica</i> • <i>Xanthomonas hortorum</i> • <i>Kocuria varians</i> • <i>Micrococcus spp.</i>
Sabor ligeramente amargo (curados)	Degradación de un porcentaje de los péptidos amargos liberados (reducción parcial del amargor).	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Lactobacillus helveticus</i> • <i>Lactobacillus casei</i> • <i>Lactobacillus paracasei</i>

CEBREIRO:

Elaborado con leche de vacas Rubia gallega, Pardo alpina, Frisona y sus cruces, registradas en el área de la DOP Cebreiro. Debe pasteurizarse previamente. Se permiten tanto coagulantes químicos como animales y se potenciará el empleo de fermentos autóctonos. La coagulación será predominantemente ácida. Se cortará la cuajada en bloques de 10-20 mm y se desuerarán primero en la propia cuba y a continuación en un

saco. Se amasará y salará manualmente, y a continuación se procederá al prensado. Las variantes frescas madurarán una hora entre 2 y 6°C. Los curados un mínimo de 45 días entre 10 y 15°C y a una humedad relativa del 70-80% (XG 2016).

El Pliego de Condiciones de esta Denominación de Origen exige el empleo de leche pasteurizada. Por lo tanto la adición de fermentos será obligatoria tras el tratamiento. Será necesario un periodo de preincubación de los microorganismos antes de añadir el cuajo, con el fin de que la coagulación sea predominantemente ácida.

El género de microorganismos más relevante en la caracterización de este queso en el *Enterococcus*, destacando *Enterococcus faecalis* (causantes de un ablandamiento de la pasta y de la aparición de matices mantecosos y a yogurt, ligeramente sulfhídricos, amargos y rancios). Tienen también una gran influencia los géneros *Lactococcus*, destacando *Lactococcus lactis*, y *Leuconostoc*, destacando *Leuconostoc mesenteroides* (en ambos casos responsables de la aparición de matices mantecosos y a yogurt). En las variantes curadas, se observa un significativo aumento de la influencia de *Lactococcus* con respecto a las tiernas. **(Tabla 7)** (Garabal et al. 2008; Rodríguez-Alonso et al. 2008; Centeno et al. 1996b, 1999).

Los principales procesos que lo diferenciarán del resto de quesos serán la preincubación de los fermentos lácteos previa a la adición de cuajo, consiguiéndose un sabor marcadamente ácido, así como una baja presión de prensado, induciendo a una textura más granulosa (XG 2016).

Tabla 7: relación entre las características sensoriales del queso Cebreiro y los microorganismos responsables.

Característica	Ruta metabólica	Microorganismos implicados
Pasta blanda	Proteólisis caseína alfa	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Enterococcus faecalis</i>, • <i>Staphylococcus equorum</i> • <i>Staphylococcus epidermis</i> • <i>Yarrowia lipolytica</i> • <i>Xanthomonas hortorum</i> • <i>Kocuria varians</i> • <i>Micrococcus spp.</i>
Pasta blanda	Lipólisis de las grasas a ácidos grasos	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Enterococcus faecium</i> • <i>Enterococcus faecalis</i>, • <i>Enterococcus durans</i> • <i>Staphylococcus equorum</i> • <i>Staphylococcus epidermi</i> • <i>Yarrowia lipolytica</i>

		<ul style="list-style-type: none"> • <i>Debaryomyces hansenii</i> • <i>Kocuria varians</i>
<p>Aroma lácteo/yogurt (frescos)</p> <p>Sabor ácido</p>	Producción de ácido láctico	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Enterococcus faecalis</i> • <i>Lactococcus lactis</i> • <i>Lactobacillus casei</i> • <i>Leuconostoc mesenteroides</i> • <i>Lactobacillus helveticus</i> • <i>Lactobacillus paracasei</i> • <i>Kluyveromyces lactis</i>
Aroma mantecoso (curados)	Producción de diacetil	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Lactococcus lactis</i> • <i>Lactobacillus casei</i> • <i>Leuconostoc mesenteroides</i> • <i>Micrococcus spp</i> • <i>Enterococcus faecium</i> • <i>Enterococcus faecalis</i>, • <i>Enterococcus durans</i> • Levaduras fermentadoras de citrato.
Sensación ligeramente acre (curados)	Producción de NH ⁴⁺ por proteólisis	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Enterococcus faecalis</i> • <i>Kluyveromyces lactis</i> • <i>Staphylococcus equorum</i> • <i>Staphylococcus epidermis</i> • <i>Yarrowia lipolytica</i> • <i>Xanthomonas hortorum</i> • <i>Kocuria varians</i> • <i>Micrococcus spp.</i>

SAN SIMÓN DA COSTA:

Elaborado con leche de vacas Rubia gallega, Pardo alpina, Frisona y sus cruces, registradas en el área de la DOP San Simón da Costa, cruda o pasteurizada. Sus coagulantes serán a base de enzimas pepsina y quimosina (animales o sintéticas). Se potenciará la adición de cepas microbianas autóctonas. Se cortará la cuajada en cubos de 5-12mm y se prensará envuelta en un paño en un molde, durante un mínimo de 3 horas. Se salará posteriormente, durante un máximo de 24 h en salmuera (14-17%). Se madurarán un mínimo de 30 días los de formato pequeño y de 45 los grandes. Posteriormente serán ahumados con madera de abedul sin corteza (XG 2016).

Una vez más, las variantes de leche cruda no necesitarán aporte externo de microorganismos, pero las pasteurizadas sí (de nuevo añadidos tras el tratamiento y antes de la adición del cuajo)

El principal género de microorganismos influyentes en las cualidades de este queso es el *Lactobacillus*, destacando *Lactobacillus casei* (causantes de aromas mantecosos y a yogurt así como de una reducción del amargor). Tras él, y por orden de mayor a menor relevancia encontramos los géneros *Enterococcus*, destacando *Enterococcus faecalis* (responsables de un ablandamiento de la pasta y de la aparición de matices mantecosos, a yogurt, sulfhídricos y ligeramente amargos), *Leuconostoc* y *Lactococcus*, destacando *Lactococcus lactis* (ambos relacionados con la aparición de aromas mantecosos y a yogurt) (**Tabla 8**) (Garabal et al. 2008; Rodríguez-Alonso et al. 2008; González et al. 2015; García et al. 2001).

Los principales procesos diferenciadores serán las fases de maduración y ahumado, otorgándole una textura más consistente (por reducción de humedad) y un sabor más dulce (por degradación microbiana de péptidos amargos) que el resto de quesos gallegos, así como un aroma a humo (XG 2016).

Tabla 8: relación entre las características sensoriales del queso San Simón da Costa y los microorganismos responsables.

Característica	Ruta metabólica	Microorganismos implicados
Aroma mantecoso	Producción de diacetil	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Lactococcus lactis</i> • <i>Lactobacillus casei</i> • <i>Leuconostoc mesenteroides</i> • <i>Micrococcus spp</i> • <i>Enterococcus faecium</i> • <i>Enterococcus faecalis</i>, • <i>Enterococcus durans</i> • Levaduras fermentadoras de citrato.
Aroma lácteo/yogurt Sabor ligeramente ácido	Producción de ácido láctico	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Enterococcus faecalis</i> • <i>Lactococcus lactis</i> • <i>Lactobacillus casei</i> • <i>Leuconostoc mesenteroides</i> • <i>Lactobacillus helveticus</i> • <i>Lactobacillus paracasei</i> • <i>Kluyveromyces lactis</i>
Aroma lácteo/yogurt	Producción de acetaldehído	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Lactobacillus casei</i>
Sabor ligeramente dulce	Degradación de péptidos amargos	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Lactobacillus helveticus</i> • <i>Lactobacillus casei</i> • <i>Lactobacillus paracasei</i>

Conclusiones

Lactococcus, *Leuconostoc*, *Lactobacillus* y *Enterococcus* son los principales microorganismos implicados en la elaboración de las cuatro variantes de queso estudiadas. Sus rutas de síntesis de diacetil conferirán al producto aromas mantecosos y su metabolismo de fermentación láctea aromas ácidos y a yogurt. La acción caseinolítica y lipolítica de *Enterococcus* contribuirá a un ablandamiento de la pasta.

Observamos que los microorganismos presentes son esencialmente idénticos en todos los casos. Por lo tanto los factores determinantes a la hora de establecer las características propias de cada queso serán sus diferentes procesos de elaboración, que en cada caso estimularán o reprimirán la influencia de cada grupo de los microorganismos y conferirán cualidades directamente.

Conclusions

Lactococcus, *Leuconostoc*, *Lactobacillus* and *Enterococcus* are the main microorganisms involved in the elaboration of the four cheese variants studied. Its diacetyl synthesis routes will confer to the product buttery aromas and its metabolism of dairy fermentation, acid and yogurt flavors. The caseinolytic and lipolytic action of *Enterococcus* will contribute to a softening of the paste.

We observed that the microorganisms present are essentially identical in all cases. Therefore, the determining factors when establishing the characteristics of each cheese will be its different elaboration processes, which in each case will stimulate or repress the influence of each group of the present microorganisms and directly confer characteristics.

Referencias bibliográficas

- Atanassova MR, Fernández-Otero C, Rodríguez-Alonso P, Fernández-No IC, Garabal JI, Centeno JA. 2016. Characterization of yeasts isolated from artisanal short-ripened cows' cheeses produced in Galicia (NW Spain). *Food microbiol.* 56: 172-181.
- Canut E, Navarro F. 1990. Catálogo de quesos de España. Madrid (ESP): Ministerio de agricultura, Pesca y Alimentación. 150 p.
- Centeno JA, Varela Alonso JA. 1995. Estudio del empleo de cepas autóctonas de micrococcos en la elaboración de quesos gallegos tipo Arzúa. *CyTA J. Food.* 1(1): 8-13.
- Centeno JA, Cepeda A, Rodríguez-Otero JL. 1996a. Lactic acid bacteria isolated from Arzúa cows' milk cheese. *Int. Dairy Journal.* 6: 65-78.
- Centeno JA, Menéndez S, Rodríguez-Otero JL. 1996b. Main microbial flora present as natural starters in Cebreiro raw cows' milk cheese. (Northwestern Spain). *Int. J. Food Microbiol.* 33: 307-313.
- Centeno JA, Menéndez S, Hermida M, Rodríguez-Otero JL. 1999. Effects of the addition of *Enterococcus faecalis* in Cebreiro cheese manufacture. *Int. J. Food Microbiol.* 48: 97-111.
- Centeno JA, Rodríguez-Alonso P, Carballo FJ, Garabal JI. 2012. Los quesos gallegos: Perfiles sensoriales de los quesos artesanales tradicionales y de los quesos industriales actuales. Vigo (ESP): Universidade de Vigo, Servizo de Publicacións. 83 p.
- [CRQC] Consejo Regulador del Producto Gallego de Calidad Queixo do Cebreiro: Queso de O Cebreiro - Consejo Regulador Denominación de Origen [Internet]. Lugo (ESP) c 2007 [Cited 2018 Mar 12]. Available from: <https://cebreiro.es/>
- [CRQS] Consejo Regulador de la Denominación de Origen Queso San Simón da Costa: CRDOP San Simón da Costa [Internet]. Vilalba (ESP). c2006 [Cited 2018 Mar 12]. Available from: <http://www.sansimondacosta.com/>
- [CRQT] Consejo Regulador del Queixo Tetilla: Queixo Tetilla [Internet]. Boqueixón (ESP). c2003 [Cited 2018 Mar 12]. Available from: <http://queixotetilla.org/>
- [CRQA] Consejo Regulador de la Denominación de Origen Protegida Arzúa-Ulloa: DPO Arzúa-Ulloa [Internet]. Melide (ESP). c2001 [Cited 2018 Mar 12]. Available from: <http://www.arzua-ulloa.org/>

- Fernández Rodríguez C. 2003. Ganadería, caza y animales de compañía en la Galicia romana: Estudio arqueozoológico. A Coruña (ESP): Vía láctea. 238 p.
- Garabal JI, Rodríguez-Alonso P, Centeno JA. 2008. Characterization of lactic acid bacteria isolated from raw cows' milk cheeses currently produced in Galicia (NW Spain). *LWT*. 41: 1452-1458.
- García MC, Franco I, Prieto B, Tornadijo ME, Carballo J. 2001. Microbiological changes in "San Simón" cheese throughout ripening and its relationship with physico-chemical parameters. *Food microbiol.* 18: 25-33.
- García MC, Rodríguez MJ, Bernardo A, Tornadijo ME, Carballo J. 2002. Study of enterococci and micrococci isolated throughout manufacture and ripening of San Simón cheese. *Food microbiol.* 19: 23-33.
- Giraffa G. 2003. Functionality of enterococci in dairy products. *Int. J. Food Microbiol.* 88: 215-222.
- [MAPAMA] Gobierno de España: Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente [Internet]. Madrid (ESP). c2016 [Cited 2018 Feb 26]. Available from: <http://www.mapama.gob.es/>
- González L, Fernández A, Castro JM, Bernardo A, Tornadijo ME. 2015. Selection of lactic acid bacteria from San Simón da Costa cheese (PDO) in order to develop an autochthonous starter culture. *Adv Microbiol.* 5: 748-759.
- Hutkins RW. 2006. *Microbiology and technology of fermented foods*. Ames (USA): Blackwell Publishing. 473 p.
- [IDF] International Dairy Federation: FIL-IDF [Internet]. Bruselas (BEL). c1998 [Cited 2018 Feb 26]. Available from: <https://www.fil-idf.org/>
- Kindstedt P. 2012. *Cheese and culture: A history of cheese and its place in western civilization*. White River Junction (USA): Chelsea Green Publishing. 261 p.
- Langrero Navarro A. 2004. La industria alimentaria en las comunidades autónomas: Condiciones, tendencias y estrategias diferentes para un único mercado. *DISTRIBUCIÓN Y CONSUMO*. 5-37.
- Menéndez S, Centeno JA, Godínez R, Rodríguez-Otero JL. 2000. Effects of *Lactobacillus* strains on the ripening and organoleptic characteristics of Arzúa-Ulloa cheese. *Int. J. Food Microbiol.* 59: 37-46.
- Menéndez S, Godínez R, Centeno JA, Rodríguez-Otero JL. 2001. Microbiological, chemical and biochemical characteristics of "Tetilla" raw cows-milk cheese. *Food microbiol.* 18: 151-158.

- Menéndez S, Godínez R, Hermida M, Centeno JA, Rodríguez-Otero JL. 2004. Characteristics of “Tetilla” pasteurized milk cheese manufactured with the addition of autochthonous cultures. *Food microbiol.* 21: 97-104.
- Rodríguez-Alonso P, Garabal JI, Centeno JA. 2008. Preliminary characterization of staphylococcal, micrococcal and yeast isolates obtained from raw cow milk cheeses currently produced in Galicia (NW Spain). *Ital. J. Food Sci.* 20(2).
- Tornadijo ME, García MC, Fresno JM, Carballo J. 2001. Study of *Enterobacteriaceae* during the manufacture and ripening of “San Simón” cheese. *Food microbiol.* 18: 499-509.
- [XG] Xunta de Galicia: Consellería do Medio Rural [Internet]. Santiago de Compostela (ESP). c 2016 [Cited 2018 Mar 12]. Available from: <http://mediorural.xunta.gal/es/>