



ANEXO C
INFORME DE RESULTADOS
PLAN DE TRANSFERENCIA TECNOLÓXICA 2010

Nº DE PROTOCOLO: 10/60

1.- TÍTULO DA ACTIVIDADE: Avaliación do emprego de microorganismos autóctonos para elaboración de queixos galegos con leite pasteurizado con vistas a recuperar algunhas características organolépticas típicas entre os queixos galegos de leite cru

2.- UNIDADE ADMINISTRATIVA ORGANIZADORA: CENTRO DE INVESTIGACIONES AGRARIAS DE MABEGONDO (CIAM)
(centro de investigación/CFEA/OAC...)

3.- LOCALIZACIÓN DA ACTIVIDADE:

Preparación dos fermentos:

Enderezo: Centro de investigacións Agrarias de Mabegondo (CIAM) 15318

Concello: Abegondo

Provincia: A Coruña

Elaboracións queixo:

Enderezo: Alimentos Ruta Xacobeá, S.L. San Miguel de Cerceda s/n

Concello: O Pino

Provincia: A Coruña

Sesións de cata:

Enderezo: Escola de Hostalería de Lamas de Abade, Santiago de Compostela

Concello: Santiago de Compostela

Provincia: A Coruña

4.- RESPONSABLE: Juan Castro Insua

Tfno.: 981647902

5.- DATOS DOS COLABORADORES:

Nome e apelidos: Carlos Cid González,

Tfno.: 981 522752

Enderezo: C.R.D.O.P Queixo Tetilla, Pazo de Quián s/n, Boqueixon

Concello: Boqueixon, 15881

Provincia: A Coruña

NIF: Q-8655602-D

Nome e apelidos: Félix Turnes,

Tfno.: 981 570818

Enderezo: Laboratorio Lácteo Gallego, S.L., Salgueiriños de Arriba, 48- 3ªA

Concello: Santiago de Compostela, 15703

Provincia: A Coruña

NIF: B15828809

Nome e apelidos: Juan A. Centeno Domínguez

Tfno.: 988 387078

Enderezo: Facultade de Ciencias Campus Universitario As Lagoas s/n, Universidade de Vigo

Concello: Ourense, 32004

Provincia: A Coruña

NIF: 32776419Q



6.- INTRODUCCIÓN:

A fabricación de queixos galegos a partir de leite pasteurizado é a tendencia máis frecuente na actualidade, tendo aumentado considerablemente o número de queixerías de carácter industrial ou “semi-industrial”. Non obstante, a elaboración de queixos nas pequenas queixerías leva implícita unha limitación fundamental: a dificultade que supón a obtención dun produto típico semellante ao tradicional elaborado con leite cru, principalmente no que se refire ás súas características de aroma e sabor.

O Laboratorio de Tecnoloxía de Produtos Lácteos do CIAM ten unha selección de cepas microbianas con funcións de iniciadores (fermentadores ou acidificantes) e/ou de adxuntos (madurativos) para a elaboración de queixos galegos (Arzúa-Ulloa o Tetilla). Estas cepas foron seleccionadas de acordo co seu posible interese tecnolóxico, tendo en consideración os resultados acadados en elaboracións experimentais no CIAM. De acordo o plan de traballo establecido nesta acción de transferencia, 8 microorganismos seleccionados (pertencentes as especies *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus paracasei*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus durans*, *Kocuria varians*, *Micrococcus luteus*), foron preparados como pre-inóculos e inóculos activos en leite pasteurizado para ter a capacidade axeitada que posibiliten o seu uso en elaboracións experimentais de queixos. Os microorganismos foron ensaiados y avaliados para determinar a súa idoneidade para recuperar algunhas características organolépticas típicas entre os queixos de leite cru galegos, pero ausentes nas produción actuais con leite pasteurizado. Como consecuencia da redución da axuda económica solicitada para a execución desta acción, as analíticas físico-químicas no produto final foron modificadas, centrando a avaliación só nas características organolépticas. Por outra banda, co gallo de minimizar a necesidade de redución do número de combinacións ou lotes experimentais cos microorganismos propostos, incorporáanse dous lévedos (pertencentes as especies *Saccharomyces cerevisiae*-*Yarrowia lipolitica*) as cales poderían fornecer ou complementar as características tecnolóxicas dos microorganismos propostos inicialmente.

A necesidade de facer os ensaios nunhas condicións o máis próximas ás condicións reais de emprego, motivou que as elaboracións fosen realizadas nas instalacións dunha queixería industrial non entorpecendo as labores de produción da mesma (Alimentos Ruta Xacobeá, S.L.), supervisadas por un mestre queixeiro de alta cualificación proposto polo CRDOP (Fernando Docampo). O produto final das elaboracións foron avaliadas polo panel de cata do Consello Regulador, sendo este o método de transferencia tecnolóxica máis convincente, para que os produtores vexan e comprobén os resultados acadados.

Na actualidade os ensaios non finalizaron polo que os datos presentados neste informe so nun adianto do posterior informe final.



7.- MATERIAL E MÉTODOS:

1).- Preparación dos inóculos iniciadores/ adxuntos para queixería (Laboratorio de Tecnoloxía de produtos lácteos CIAM)

- Desconxelación das cepas conservados no Laboratorio de Tecnoloxía de Produtos Lácteos CIAM.

- 1 cepa de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (LC1C)
- 2 cepas de *Lactococcus cremoris* e *L. lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis* (LC15A, LC4A,)
- 1 cepa de *Lactobacillus paracasei*: LB44A
- 1 cepas de *Enterococcus faecalis* (E36C); *Ent durans* (E57A)
- 2 cepas de *Micrococcus* spp. (M410A, S157).

2 cepas lévedos *Saccharomyces cerevisiae*-*Yarrowia lipolitica* (LEV49, LEV53) Revitalización das cepas mediante sementeira en medios bacteriolóxicos líquidos (MYGP, TSB, MRS) e sólidos (MRS, TSA) da semente microbiana principal.

Comprobación e verificación das actividades tecnolóxicas das cepas a ensaiar (actividade lipolítica, actividade proteolítica, actividade acidificante) mediante sementeira en medios bacteriolóxicos sólidos (agar tributirina, agar leite)

Preparación dos inóculos activos en leite pasteurizado, suplementando si fose requirido con peptona pancreática de caseína ou extracto de lévedo para fortificar os crecementos das bacterias lácticas

(2).- Traballo na queixería industrial

Lote	Cultivos iniciadores (% inoculo activos sobre leite cuba)	Cultivos adxuntos (% inoculo activos sobre leite cuba)
1	LC1C (0,5); LC15A (0,25)	LB44A (0,25)
2	LC1C (0,5); LC15A (0,25); LC4A (0,25)	
3	LC1C (0,5); LC4A (0,5)	LB44A (0,5)
4	LC1C (0,5); LC4A (0,5)	LB44A (0,5); S157 (0,5)
5	LC1C (0,5); LC4A (0,5)	LB44A (0,5); E57A (0,5)
6	LC1C (0,5); LC4A (0,5)	LB44A (0,5); E36A (0,5)
7	LC1C (0,5); LC4A (0,5)	LB44A (0,5); M410A (0,5)
8	LC1C (0,5); LC4A (0,25)	LB44A (0,5); E57A (0,25); S157 (0,5)
9	LC1C (0,5); LC4A (0,25)	LB44A (0,5); E57A (0,25); E36A (0,5)
10	LC1C (0,25); LC15A (0,25); LC4A (0,5)	LB44A (0,5)
11	LC1C (0,5); LC4A (0,25)	LB44A (0,5); E36A (0,5); S157 (0,5)
12	LC1C (0,5); LC4A (0,25)	LB44A (0,5); E57A (0,25); E36A (0,5)
13	LC15A (0,5); LC4A (0,25)	LB44A (0,5); E57A (0,25); E36A (0,5)
14	LC1C (0,5); LC4A (0,25)	LB44A (0,5); E57A (0,25); S157 (0,5)
15	LC1C (0,5)	LB44A (0,5); E57A (0,25); S157 (0,25); M410A (0,5)
16	LC1C (0,5); LC4A (0,25)	LB44A (0,25); LEV53 (1,5)
17	LC1C (0,5); LC4A (0,25)	LB44A (0,25); LEV49 (1,5)
18	LC1C (0,5); LC4A (0,25)	LB44A (0,25); S157 (0,5); LEV53 (1,5)
19	LC15A (0,5); LC4A (0,25)	LB44A (0,25); E36A (0,5); LEV49 (1,5)
20	LC1C (0,25); LC15A (0,25); LC4A (0,25)	LB44A (0,25); E36A (0,5); S157 (0,5); LEV53 (1,5)
21	LC1C (0,25); LC15A (0,25); LC4A (0,25)	LB44A (0,25); S157 (0,5); LEV49+53 (1:1 aprox.) (1,5)
22	Flora Dánica® (Ch. Hansen)	
23	Flora Dánica® (Ch. Hansen)	



- combinacións de unha cepas de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*; proporción equivalente a 0,5 % de cultivo activo en leite (c.a.)
- cepas individuais de *Lc. lactis* subsp. *lactis* var. *Diacetylactis*/ *Lc. cremoris*; proporción equivalente a 0,5 % c.a.
- cepas individuais de *Lactobacillus paracasei* ; proporción equivalente a 0,25 % c.a.
- cepas individuais de *Enterococcus spp*; proporción equivalente a 0,25 % c.a.
- cepas individuais de *Micrococcus spp.*; proporción equivalente a 0,5 % c.a.
- cepas individuais das lévedos.; proporción equivalente a 1,5 % c.a.
- Fermento comercial standard empregado na elaboración industrial de queixos (Flora Danica, de Laboratorios Hansen)

- Aprox. 100 litros leite por lote, provenientes do tanque frío da queixería

FICHA DE ELABORACIÓN DE LOTES DE QUEIXO TETILLA CON MICROORGANISMOS AUTÓCTONOS

- VOLUME DE LEITE DE PARTIDA: 100 L
- PASTEURIZACIÓN: 74±1 °C / 15 segundos
- AXUSTE DE TEMPERATURA: 33±0,5 °C
- ADICIÓN DE CLORURO CÁLCICO: 30 mL de disolución de CaCl₂ ao 36% ; 0,2 g CaCl₂ /L de leite
- INOCULACIÓN DE CULTIVOS INICIADORES (FERMENTOS) E ADXUNTOS
ACTIVOS EN LEITE PASTEURIZADA: proporción total de cultivos: 2%, salvo especificado
- ADAPTACIÓN DOS CULTIVOS: 30-45 min, ata baixada de pH do leite de aprox. 1 décima (0,1±0,02)
- ADICIÓN DE CALLO: 30 mL (0,3 mL/L de leite inicial) de quimosina recombinante; F = 1:15.000
- TEMPERATURA DE CALLADO: 32±0,5 °C
- TEMPO DE CALLADO: 35-40 min
- PRECORTE DA CALLADA: con lira horizontal
- REPOUSO (5 min)
- CORTE DA CALLADA: con lira vertical , partículas/grans de 1-2 cm de aresta/diámetro
- ARREQUECEMENTO (con vapor) + AXITACIÓN (10 min) ; Temp.: 34±0,5 °C
- DESUERADO dun 50% (40 L) do volume de soro
- LAVADO/AMORNADO con substitución do soro por auga pasterizada, a unha temperatura: 40±0,5 °C, en tres veces (1/3 + 1/3 + 1/3) + AXITACIÓN: 10 min 10 min 10 min ; Temperatura final de mestúra soro-auga: 35±0,5 °C
- DESUERADO dun 80% (64 L) do volume de soro-auga
- SALGADO EN LA CUBA QUESERA: razón de 8 g/L de leite inicial (800 g de sal fino, disoltos en 5 L de mestúraa soro-auga extraídos da cuba)
- REPOUSO (15 min)
- PRE-PRENSADO CON FERROS: 10 min ? obtención da ?torta? de callada
- MOLDEADO: en moldes de Teto de 1 kg
- PRENSADO: aumento gradual de presión desde 1 ata 2 kg/cm²; tempo: ata alcanzar un pH de 5,60-5,70 (5±2 h)
- SECADO EN CÁMARA: Temperatura: 7±1 °C; Humidade Relativa: 76±2%; tempo: 3 días
- MADURACIÓN: Temperatura: 6±1 °C; Humidade Relativa: 78±2%; tempo: mínimo de 7 días
- TRATAMENTO DA CORTIZA: Pintado dos queixos con emulsión plástica contendo sorbatos e pimaricina, aos 5 días de maduración



PARÁMETROS CONTROLADOS NAS ELABORACIÓNS

- Materia graxa do leite de partida
- pH do leite de partida
- Proportións dos cultivos iniciadores e adxuntos utilizados
- Temperatura do leite para adaptación dos cultivos
- pH do leite inoculada antes de callar
- Temperatura do leite inoculada antes de callar (temperatura de callado)
- pH e temperatura do soro despois do corte da callada (1)
- pH e temperatura do soro despois do arrefecemento e a primeira axitación (2)
- pH e temp. de mestúraa soro-auga despois do lavado/tépedo axitación
- pH e temperatura da “torta” de callada
- pH do queixo logo de 4±1 horas de prensado
- pH do queixo logo de 24 horas na cámara de secado
- pH do queixo logo de 14 días na cámara de maduración

Mostras dos queixos elaborados con 15-20 d de maduración serán conxelados a -30°C par ao seu análise bioquímico e químico.

(3).- Análises sensoriais: realizados por un panel adestrado e supervisado polos Consellos Reguladores das Denominacións de Orixe dos queixos galegos, para a avaliación sensorial dos mesmos, na Escola de Hostalería de Lamas de Abade (Santiago de Compostela). Dispuxéronse dúas fichas de cata:

Ficha 1:

Fase Visual

Forma cónica, cóncava-convexa
 Cor codia (amarelo-palla)
 Integridade da codia
 Espesor da codia
 Cor pasta (branco-amarelo)
 Presenza de ollos
 APARIENCIA

Textura

Elasticidade
 Humidade
 Rugosidade
 Sensación graxa
 Dureza
 Untabilidade
 IMPRESIÓN

Fase Olfativa

Intensidade
 Manteiga
 Leite
 Iogur
 Nata
 ARMONÍA

Textura (en boca)

Adherencia
 Granulosidade
 Cremosidade
 Friabilidade
 Solubilidade
 Sensación graxa
 IMPRESIÓN

Fase Gustativa

Doce
 Ácido
 Salgado
 Amargo

Fase Retroolfativa

Intensidade
 Persistencia
 Manteiga
 Leite



Sabor agrio (extraño)

ARMONÍA

Regusto

Intensidade

Persistencia

VALORACIÓN GLOBAL

Cada un dos catadores outorgan a cada un dos descriptores unha puntuación entre 0-10

Ficha 2:

FASE VISUAL

FORMA E ASPECTO XERAL

COR DA PASTA

OLLOS

CODIA

TOTAL

FASE OLFATO-GUSTATIVA

ULIDO

TEXTURA

SABOR

REGUSTO

TOTAL

Cada un dos catadores otorgan a cada un dos descriptores unha valoración tendo en conta as consideracións das normas ISO, 1994 e IDF, 1997b para as avaliacións sensoriais de produtos láteos.

Os resultados obtidos nas análises sensoriais serán sometidos a análises multivariable co paquete estatístico SPSS ao obxecto de verificar as posibles cambios nos atributos sensoriais das combinacións dos microorganismos.



8.- ANÁLISE DE RESULTADOS:

(1).- Preparación dos inóculos iniciadores/ adxuntos (Laboratorio de Tecnoloxía de produtos lácteos CIAM).

Os cultivos activos preparáronse en leite pasteurizada. Inicialmente empregouse para esta tarefa leite obtido na explotación do Centro de Investigacións Agrarias de Mabegondo (CIAM), que se pasteurizou en autoclave aplicando un intenso tratamento térmico (100 ± 1 °C durante 3 minutos), se ben comprobáronse deficiencias na coagulación e cheiros estraños posiblemente porque os animais atopábanse o seu inicio de lactación. Para solucionar o problema, empregouse en diante leite pasteurizada comercial, envasada en botellas plásticas de 1 litro e supostamente entregada no supermercado o mesmo día da súa compra. Unha vez inoculada e cultivada cos microorganismos seleccionados, durante 24-48 horas a 30 ± 1 °C, amosaron características idóneas para a preparación dos fermentos se ben volvemos a encontrar problemas na calidade do leite. Na primeira serie de cultivos preparados neste leite comercial, observouse que o leite control (non inoculado) non coagulou logo de 24 horas nin ata logo de 48 horas de incubación a 30 ± 1 °C, considerándose apta para a preparación dos cultivos activos e empregándose os mesmos nas elaboracións (lotes 3-5). No entanto, na segunda serie de cultivos preparados da mesma forma, utilizados nas elaboracións (lotes 7-13), si se observou coagulación do leite control ás 24 horas de incubación. En principio, supúxose que esta contaminación non afectaría aos leites inoculadas con bacterias lácticas (lactococos, lactobacilo, enterococos), pero si podería afectar aos cultivos de crecemento máis lento en leite (micrococáceas). De feito, comprobouse un crecemento anómalo da cepa M410A (*Micrococcus luteus*) neste leite, con produción importante de gas. Este cultivo empregouse para elaborar o lote 7, observándose na pasta dos queixos correspondentes a este lote un elevado número de pequenos ollos (buracos redondos de fermentación), o que denotaba o crecemento de bacterias coliformes no leite inoculada co illado M410A. Non sucedeu o mesmo coa cepa S157 (*Kocuria varians*), utilizada nas elaboracións dos lotes 8 e 11, que creceu con normalidade (peptonizando lixeiramente o leite logo de 48 horas de incubación) e sen apenas formación de gas no cultivo. Finalmente, o leite pasteurizada comercial empregada nas elaboracións dos lotes 15 a 21 non presentou aparentemente problemas de contaminación. No entanto, a cepa M410A (empregada na elaboración do lote 15) volveu mostrar un escaso crecemento neste leite, non modificando o aspecto da mesma, sendo o esperado que a coagulase e proteolizase ou peptonizase lixeiramente. Este cultivo non volveu utilizarse en sucesivas elaboracións.

(3).- Elaboracións dos queixos na queixería industrial

Tendo en consideración o indicado no punto anterior, e seguindo a correspondente ficha de elaboración, os fermentos tiveron un bo comportamento no leite (contido medio de graxa do $3,99 \pm 0,12$ %; pH medio $6,55 \pm 0,03$) das elaboracións. Como era de esperar non tódalas combinacións acadaron os mesmos resultados, si ben algunhas combinacións aportaron determinadas notas aromáticas que poden ser de interese para recuperar as características organoléxicas típicas entre os queixos de leite pasteurizado

Na táboa seguinte indícanse os pH dos lotes de queixo aos distintos tempos de maduración, e as apreciacións organoléxicas, previa a fase de avaliación polos catadores:



<u>Lotes</u>	<u>pH 4±1 h</u>	<u>pH 24 h</u>	<u>pH 14 d</u>	<u>OBSERVACIONES</u>
1	5.75	5.37	5.11	Muy malo; ácido/agrio, amargo, sabor extraño (metálico)
2	5.80	5.42	5.02	Muy malo; ácido/agrio, amargo, sabor extraño (metálico)
3	5.80	5.34	4.92	Aceptable; ácido/agrio
4	5.25	5.06	4.81	Aceptable / Bueno; algún matiz leche cruda
5	5.78	5.40	4.94	Acido/agrio
6	6.00	5.70	5.48	Aceptable; algún matiz diferenciado
7	6.00	6.42	5.43	Bueno; demasiados ojos (coliformes?)
8	6.50	5.31	5.06	Aceptable; algún matiz diferenciado
9	6.00	5.54	5.31	Aceptable / Bueno; algún matiz leche cruda
10	6.00	5.27	4.93	Bueno; algún matiz diferenciado
11	6.00	5.08	4.88	Muy bueno; matices de leche cruda
12	5.60	5.10	4.90	Aceptable; ácido, regusto algo amargo, algún matiz diferenciado
13	5.30	5.05	4.76	Aceptable; muy ácido/agrio, no amargo, sabor intenso - metálico
14	5.45	5.13	5.00	Mal desuerado, ácido/agrio
15	5.36	5.29	5.05	Aceptable; ácido/agrio, regusto amargo, matiz diferenciado
16	5.77	5.62	5.50	Aceptable / Bueno; bastante salado, matiz diferenciado
17	6.20	5.88	5.50	Aceptable; poco desuerado, regusto amargo, matiz diferenciado
18	6.05	5.83	5.54	Aceptable / Bueno; poco desuerado, matices diferenciados
19	6.00	5.71	5.43	Aceptable; poca acidez, bastante humedad, matiz diferenciado
20	5.35	5.26	5.19	Aceptable / Bueno; buena textura, matices diferenciados
21	6.02	5.74	5.35	Muy Bueno; aroma lácteo, matices de leche cruda (levaduras)
22	5.77	5.28	5.23	Control aceptable
23	5.74	5.25	5.22	Control aceptable

(3).- Análises sensoriais :

As analíticas sensoriais aínda non remataron, ni os eu posterior análise. De acordo as apreciacións feitas na fábrica algúns lotes amosaron matices diferenciadores.



9.- RESUMO E CONCLUSIÓNS:

Con os datos obtidos ata o momento non se poden extraer conclusións definitivas xa que o análise organoléptico aínda non rematou, así como o posterior análise dos mesmos.

Os resultados que se acaden neste estudo é o método de transferencia tecnolóxica ca participación do panel de cata da D.O. Tetilla é o mais convincente, para que os produtores vexan e comprobén os resultados acadados.

10.- DATA E SINATURA DO RESPONSABLE:

Abegondo 15 decembro 2010
Asdo: Juan Castro Insua