PRIMEROS RESULTADOS SOBRE LA EVOLUCIÓN DE LA MICROFLORA DEL QUESO MANCHEGO A LO LARGO DE LA MADURACIÓN EN RELACIÓN CON EL TIPO DE MOLDE UTILIZADO EN SU ELABORACIÓN

Oliete, B., Jiménez, L., Pérez-Guzmán, M.D. y Arias, R.
Centro Regional de Selección y Reproducción Animal. Avda. del vino, 10. 13300. Valdepeñas. Ciudad Real. boliete@jccm.es

INTRODUCCIÓN

El queso Manchego ocupa el primer puesto en España en la producción de quesos con Denominación de Origen (MMAMRM, 2009). Es un queso semi-duro, de coagulación enzimática cuya metodología de elaboración se describe en el pliego de condiciones de la Denominación de Origen Queso Manchego (BOE, 2011). Tradicionalmente el queso se elaboraba utilizando una pleita de esparto que confería al queso su aspecto característico. Actualmente se consigue el mismo efecto mediante moldes de plástico. Industrialmente se utilizan dos tipos de molde, el tradicional y el microperforado. El molde tradicional presenta escasos agujeros de drenaje por lo que requiere de la colocación de un paño de algodón para facilitar la salida de suero. El molde microperforado permite el correcto drenaje del queso sin paño lo que supone ventajas en las etapas de moldeado y limpieza. Sin embargo, las diferencias en el procedimiento de drenaje entre los dos tipos de molde pueden modificar el desarrollo de la flora bacteriana del queso a lo largo de la maduración, modificando en consecuencia sus características de calidad.

Los estudios realizados sobre la flora microbiana del queso Manchego se han centrado fundamentalmente en la caracterización de la microflora ácido-láctica (Cabezas *et al*., 2007; Poveda *et al*., 2004; Ballesteros *et al*., 2006; Nieto-Arribas *et al*., 2010). Sin embargo, son escasos los estudios realizados sobre la evolución durante el afinado de los diferentes RTA 2011-00057-C02-01 en el que estamos trabajando actualmente. Esta experiencia tiene el objetivo de estudiar la evolución de la microflora bacteriana del queso Manchego (mesófilos, bacterias lácticas, *E. coli*) a lo largo de la maduración (0, 15, 30, 45 y 60 días), en relación con el tipo de molde utilizado durante el moldeado. Se considera además la localización de la muestra en el interior o exterior del queso.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los quesos se han elaborado en la planta piloto del Laboratorio de Lactología del Centro Regional de Selección y Preproducción Animal (Valdepeñas, C.Real), a partir de leche cruda de oveja de raza Manchega, el mismo día del ordeño siguiendo las indicaciones del Pliego de Condiciones de la Fundación Consejo Regulador Queso Manchego. El cultivo comercial Choozit™ (Danisco, Copenhague, Dinamarca) se ha utilizado como cultivo iniciador. Se han utilizado dos tipos de moldes plásticos, tradicional y microperforado, de 140mm de diámetro (Perinox, Villarobledo, Albacete). Las muestras se han tomado de la parte central del queso (parte interior) y de la parte inmediatamente por debajo de la corteza (parte exterior) a los 0 días (inmediatamente después de salir de la salmuera), 15, 30, 45 y 60 días (Condiciones de maduración: 10-12ºC y 75-80%HR). Se realizaron dos elaboraciones en cada una de las cuales se prepararon 10 quesos.

A partir de diluciones seriadas, se han realizado recuentos directos en placa de mesófilos totales (RMT), bacterias ácido-lácticas (BL) y *E.coli* (EC). Para el recuento de RMT se ha utilizado Plate Count Agar (PCA, Panreac, Barcelona) incubando las placas a 30ºC durante 72h. En el recuento de BL se ha utilizado el medio MRS (Panreac, Barcelona) y las placas se han incubado a 30ºC durante 72horas en condiciones de anaerobiosis (Anaerogen - Oxoid Limited, Hampshire, Inglaterra). El medio ChromID coli (bioMérieux, Marcy L'Etoile, Francia) se ha utilizado para determinar EC, incubando a 37ºC durante 24h.

Se ha realizado un análisis de varianza con el programa estadístico Statgraphics plus 5.1 considerando el efecto del tipo de molde, la localización y el tiempo de maduración. Los recuentos se han transformado en logaritmos decimales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El recuento de microorganismos totales (RMT) se mantiene prácticamente constante a lo largo de los 60 días de maduración estudiados (Tabla 1) exceptuando una caída notable a los 30 días. Estos resultados no coinciden con la disminución a lo largo de la maduración

encontrada por Gomez *et al.* (1999) al estudiar igualmente queso Manchego. En el queso microperforado se observan notables diferencias para este parámetro entre el interior y el exterior, con valores más elevados en la zona interna, que coinciden con mayores valores de humedad y menores de pH. Los bajos valores de pH señalarían un mayor desarrollo de bacterias lácticas. Estas diferencias en RMT son especialmente importantes a los 30 días de maduración. En el queso tradicional no aparecen contrastes claros ente el interior y el exterior, aunque las mayores divergencias también se observan a los 30 días. Las diferencias de humedad y pH entre el interior y el exterior del queso tradicional son menores que en el queso microperforado.

Tabla 1. *Recuentos de mesófilos totales (logRMT) según el tipo de molde utilizado y de la localización de la muestra.*

Dias	Microperforado		Tradicional	
	Exterior	Interior	Exterior	Interior
0	7.84 ± 0.10^{c}	8.6 ± 0.12^{ef}	8.02 ± 0.08^{c}	9.52 ± 0.01^{j}
15	8.96 ± 0.13^{h}	9.88 ± 0.08^{k}	9.17 ± 0.09^{i}	9.41 ± 0.08^{j}
30	6.45 ± 0.03^{a}	8.61 ± 0.09^{ef}	7.34 ± 0.11^{c}	6.81 ± 0.18^{b}
45	8.73 ± 0.12^{fg}	9.04 ± 0.01^{hi}	8.85 ± 0.07^{gh}	9.00 ± 0.13^{hi}
60	8.73 ± 0.01^{fg}	8.09 ± 0.05^{d}	8.50 ± 0.2^{e}	8.55 ± 0.10^{ef}
p-valor		***		

Letras diferentes indican valores significativamente diferentes ($p<0.05$). *** $p<0.001$

Las bacterias lácticas (BL) presentes en el queso provienen tanto de la leche como del cultivo iniciador añadido durante la elaboración. En los primeros 15 días de maduración, las BL muestran incrementos notables, coincidiendo con los resultados publicados por Gomez *et al.* (1999) y Poveda *et al.*, (2003) para lactobacilos, debido a las adecuadas condiciones para su desarrollo. A los 30 días, las BL disminuyen, para después estabilizarse a valores intermedios, coincidiendo con la evolución del RMT. Como en el caso de RMT, el queso microperforado presenta las mayores diferencias entre el interior y el exterior aunque desaparecen a partir de los 45 días de maduración. En general, el interior del queso microperforado muestra los mayores recuentos de BL durante el primer mes, lo que se podría relacionar con los menores valores de pH. En el caso del queso tradicional, al final de la maduración la parte externa muestra valores de recuento de bacterias lácticas más bajos que el resto de muestras, los cuales no se diferencian significativamente entre sí.

Tabla 2. *Recuentos de bacterias lácticas (logBL) según el tipo de molde utilizado y de la localización de la muestra.*

Días	Microperforado		Tradicional	
	Exterior	Interior	Exterior	Interior
0	3.85 ± 0.07^{a}	4.60 ± 0.02^{a}	4.01 ± 0.10^{a}	5.77 ± 0.02^{b}
15	7.73 ± 0.13^{efghi}	9.53 ± 0.81^{k}	8.28 ± 0.17^{ghij}	8.35 ± 0.08^{ghij}
30	6.15 ± 0.04^{bc}	8.36 ± 0.04^{hij}	7.14 ± 0.14^{def}	6.79 ± 0.01^{cd}
45	8.50 ± 0.04^{ij}	8.52 ± 0.02^{ij}	7.49 ± 1.44^{defg}	8.65 ± 0.11^{j}
60	7.62 ± 0.84^{defgh}	7.78 ± 0.01^{efghi}	6.98 ± 0.04^{cde}	7.86 ± 0.06^{fghij}
p-valor		***		

Letras diferentes indican valores significativamente diferentes ($p<0.05$). *** $p<0.001$

El recuento de *E.coli* (EC) (Tabla 3), muestra en general valores bajos indicando la adecuada higiene en la producción y el manejo de la leche. EC disminuye de forma significativa a lo largo de la maduración. De hecho no se han detectado microorganismos mediante recuento directo en placa a tiempos superiores a 30 días de maduración. Durante los 30 primeros días el queso microperforado presenta menores recuentos que el tradicional. A partir de ese momento las diferencias se minimizan en relación con el tipo de molde y la localización.

Tabla 3. *Recuentos de* Escherichia coli *(logEC) según el tipo de molde utilizado y de la localización de la muestra.*

Dias	Microperforado		Tradicional	
	Exterior	Interior	Exterior	Interior
0	4.52 ± 0.10^{e}	5.01 ± 0.17^{f}	5.53 ± 0.03^{g}	5.70 ± 0.01^{g}
15	3.86 ± 0.19^{d}	3.44 ± 0.08^{c}	5.20 ± 0.01^{e}	4.21 ± 0.08^{d}
30	3.42 ± 0.12^{c}	2.85 ± 0.01^{ab}	3.16 ± 0.17^{bc}	2.72 ± 0.34^{a}
p-valor	***			

Letras diferentes indican valores significativamente diferentes ($p<0.05$). *** $p<0.001$

Los resultados obtenidos en este estudio preliminar sobre diferentes factores que influyen en la microflora del queso Manchego, indican que el tipo de molde utilizado afecta de forma significativa durante los primeros 45 días de maduración. A partir de entonces se unifican los recuentos de la microflora estudiada. Los futuros trabajos irán encaminados a estudiar otros factores relacionados con las técnicas de elaboración que influyen en la microflora del queso Manchego, así como las diferentes características higiénico-sanitarias de las ganaderías de oveja Manchega.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

●Ballesteros, C., Poveda, J.M., González-Viñas, M.A., Cabezas, L. 2006. Food Control 17:249-255. ●BOE (2011) Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (17-02-2011). ●Cabezas, L., Sánchez, I., Poveda, J.M., Seseña, S., Palop, L. 2007. Food Control 18:11-17. ●Gómez, M.J., Rodríguez, E., Gaya, P., Nuñez, M., Medina, M. 1999. J Dairy Sci. 82:2300-2307. ●MMAMRM (2009) Datos de las Denominaciones de Origen Protegidas (POP) e Indicaciones Geográficas Protegidas (IGP) de productos alimentarios p 136. ●Nieto-Arribas, P., Seseña, S., Poveda, J.M., Palop, L. Cabezas, L. 2010. Food Microbiol. 27:85-93. ●Poveda, J.M., Cabezas, L., McSweeney, P.L.H. 2004. Food Chem. 84:213-218. ●Poveda, JM., Sousa, M.J., Cabezas, L., McSweeney, PL.H. 2003. Int. Dairy J. 13:169-178.

MICROFLORA VARIATION IN MANCHEGO CHEESE RIPENING IN RELATION TO THE KIND OF MOULD USE DURING CHEESEMAKING

ABSTRACT: In this work the evolution of cheese microorganisms during ripening is studied considering the kind of mould (traditional-microperfored) used during cheesemaking and the location in the cheese (internal-external). This is a starting point in the study of the microflora of Manchego cheese, one of the objectives of the current national project authors are working in. Total mesophilic counts are maintained constant with an important decrease at 30 days of ripening. Lactic bacteria show a noticeable increase during the first two weeks of ripening, after which the count is stabilized at intermediate values. In general, the microperfored cheese showed the highest differences between the internal and the external parts, with higher RMT and BL values in the internal than the external part. The initial values of *E.coli* indicate adequate management and hygienic quality of milk. Moreover, the diminution of these microorganisms during ripening is observed, especially during the first month. The differences observed in the microflora of cheese in relation to the mould used would influence the organoleptic characteristics of cheese. In future works it would be interesting to study the relationship between the changes in the cheese microbiota and the physical and sensory characteristics of cheese.

Keywords: Manchego cheese, ripening, microflora evolution