



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① Número de publicación: **2 306 564**

② Número de solicitud: 200600234

⑤ Int. Cl.:
A23C 19/032 (2006.01)

⑫

PATENTE DE INVENCION

B1

⑫ Fecha de presentación: **02.02.2006**

⑬ Fecha de publicación de la solicitud: **01.11.2008**

Fecha de la concesión: **15.08.2009**

⑮ Fecha de anuncio de la concesión: **28.09.2009**

⑯ Fecha de publicación del folleto de la patente:
28.09.2009

⑰ Titular/es: **Universidad de León**
Avda de la Facultad, nº 25
Edificio Rectorado
24071 León, ES

⑱ Inventor/es: **Tornadijo Rodríguez, María Eugenia;**
Fresno Baró, José María;
Sandoval Hernández, María Hilda;
Prieto Gutiérrez, Bernardo;
González Prieto, Josefa y
Castro González, José María

⑳ Agente: **Ungría López, Javier**

②④ Título: **Iniciadores autóctonos de la fermentación láctica y su uso en la elaboración de queso Armada con leche pasterizada.**

②⑦ Resumen:

Iniciadores autóctonos de la fermentación láctica y su uso en la elaboración de queso Armada con leche pasterizada.

La presente invención se refiere a un iniciador de la fermentación láctica que comprende al menos los microorganismos *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* TAUL 1292 (CECT 7124) y *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* biovar. *diacetyllactis* TAUL 12 (CECT 7125). Así como al uso de este iniciador en la elaboración de queso, preferentemente queso Armada.

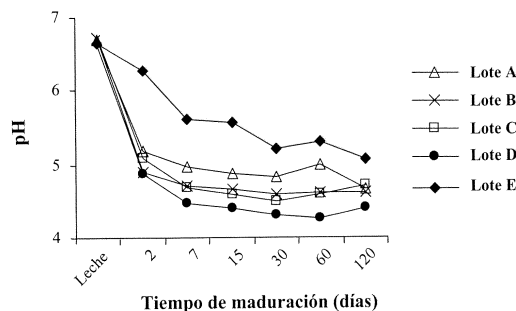


Figura 1

ES 2 306 564 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

ES 2 306 564 B1

DESCRIPCIÓN

Iniciadores autóctonos de la fermentación láctica y su uso en la elaboración de queso Armada con leche pasteurizada.

5 **Campo técnico de la invención**

La presente invención pertenece al sector agroalimentario, en concreto a los iniciadores para la elaboración de queso con leche de cabra pasteurizada.

10 **Estado de la técnica**

El queso de Armada, variedad Sobado, es un queso artesanal que se elabora en la provincia de León. El área de elaboración comprende la Montaña central de León y se localiza en pueblos de los municipios de Puebla de Lillo, Reyero y Boñar, principalmente en Primajas y Viego, si bien originariamente se elaboró en los pueblos de Armada, Vegamián, Lodares y Camposolillo, actualmente inundados por el pantano del Porma.

El queso de Armada es un queso madurado, de semicurado a curado, de pasta compactada y con la corteza y el interior enmohecidos. La elaboración tradicional se hace con leche entera y cruda de cabra o bien con mezcla de cabra y vaca. Se conocen tres variedades del queso de Armada, Sobado, Mortera y Quemón, siendo la variedad Sobado la más difundida y apreciada, la cual se elabora exclusivamente con leche de cabra.

El queso de Armada, variedad Sobado tiene forma de prisma cuadrangular y un peso de 1 a 1,5 kg. La corteza es rugosa, reblandecida, algo untuosa y enmohecida de color blanco, azulado o verdoso. La masa del queso es amarillenta, friable, granulosa, sin ojos y con pequeñas grietas colonizadas por los mismos mohos de la corteza. El sabor es fuerte, ácido, picante, ligeramente amargo y muy aromático y graso al paladar.

La elaboración del queso de Armada es peculiar y laboriosa y en la actualidad prácticamente ha dejado de elaborarse. El proceso de elaboración incluye pequeñas particularidades dependiendo del artesano elaborador. Se parte de leche cruda y entera de cabra recién ordeñada, adicionada de una pequeña cantidad de suero procedente de las fabricaciones del día anterior. La leche se mantiene a una temperatura de unos 30°C. A continuación se añaden 15 ml de cuajo (fuerza 1/10.000) por cada 100 litros de leche. La coagulación que transcurre en aproximadamente una hora es una coagulación mixta (ácido-enzimática) ya que la temperatura y el volumen de cuajo empleado permiten el crecimiento de la flora láctica. El gel formado posee unas características intermedias entre un coágulo ácido (friable, poroso y desmineralizado) y otro enzimático (elástico, firme y poco permeable). El desuerado se realiza con lienzos de tela colgados del techo que se cuelgan dejándolos desuerear durante 48 horas. A continuación se deshacen los fardeles y la cuajada se somete al primer sobado (amasado intenso a mano), se ata en lienzos limpios y se cuelga durante 78 horas más para que continúe el desuerado. Al cabo de estos tres días se vuelve a someter a la cuajada a un segundo sobado. El salazonado se realiza espolvoreando sal gruesa en la cuajada, durante el segundo sobado de la cuajada. El moldeado se realiza a mano, dándole una forma de prisma cuadrangular. Tras el moldeo los quesos se dejan orear durante unos 7 días a 20°C y humedad relativa baja para que adquieran consistencia. La maduración se realiza en fardeles de lienzo, colgados del techo en habitaciones en las que la temperatura oscila entre los 15-20°C la humedad relativa del 65-75% en verano y entre los 4-10°C y el 80-85% de humedad relativa en otoño e invierno. Los fardeles se descuelgan periódicamente y los quesos se envuelven en lienzos nuevos, volviéndolos a colgar. La duración de la maduración varía entre los dos meses y un año. Una vez ha salido de la cámara de maduración, se conserva durante 2 o 3 años a temperaturas entre los 4 y 5°C.

La composición del queso de Armada (producto final) se caracteriza por presentar un elevado contenido en extracto seco (78%), una elevada proporción grasa/extracto seco (>56%), un elevado contenido en sal, humedad y una baja actividad de agua.

Se han realizado diversos estudios sobre el queso de Armada en relación con las complejas poblaciones microbianas que son responsables del proceso fermentativo y su evolución durante dicho proceso así como los cambios bioquímicos ocurridos durante la maduración del queso. En los últimos años se han realizado igualmente algunos estudios sobre la caracterización tecnológica de diversas bacterias lácticas que intervienen en el proceso de fermentación.

Descripción de la invención

Esta invención contempla la adición de varias combinaciones de cultivos mesofílicos constituidos por bacterias autóctonas aisladas de queso artesanal de Armada elaborado con leche cruda, caracterizadas desde un punto de vista genético y seleccionadas tecnológicamente, para la elaboración de queso de Armada con las características típicas de esta variedad de queso cuando se usa leche pasteurizada.

Las bacterias lácticas son microorganismos ubicuos que están presentes como contaminantes en la leche cruda y constituyen parte de la microflora normal de los quesos. Los fermentos lácticos constituyen uno de los múltiples factores que condicionan el sabor y el aroma de los quesos. Puede haber dos tipos de fermentos, los fermentos lácticos naturales y los fermentos lácticos seleccionados. Los primeros provienen de leches que no hayan tenido ningún tratamiento térmico mientras que los fermentos lácticos seleccionados son compuestos de una cepa pura o de una mezcla

ES 2 306 564 B1

de cepas puras. Por selección de cepas, se entiende, la investigación de cepas dotadas de buenas propiedades acidificantes o aromatizantes, espesantes, etc. Dichos fermentos lácticos (iniciadores o *starters*) son de adición obligatoria en quesos elaborados a partir de leche pasteurizada. La elaboración de quesos empleando leche cruda sin la adición de cultivos iniciadores puede llevar en muchas ocasiones a la obtención de un producto final de características no uniformes o con defectos y alteraciones. Por ello, actualmente la práctica normal es añadir cultivos para la fabricación de queso, tanto a partir de leche cruda como pasteurizada, permitiendo restaurar o potenciar el desarrollo de la flora microbiana beneficiosa para proporcionar productos de calidad uniforme y aceptables desde un punto de vista higiénico-sanitario. Dichos cultivos son empleados con la finalidad de iniciar la fermentación y promover la maduración de los quesos. De hecho, el aroma típico de los quesos depende principalmente de los cultivos iniciadores, ya que las bacterias lácticas poseen endo- y exopeptidasas que participan en la producción de oligopéptidos y en la degradación de los péptidos a aminoácidos, lo que proporciona al queso parte de sus características propias.

Los fermentos que se suelen emplear en la fabricación de la mayoría de las variedades de quesos incluyen microorganismos acidificantes, generalmente bacterias lácticas como *Lactococcus lactis* y algunas otras especies de los géneros *Lactococcus* y *Leuconostoc* que produzca compuestos responsables del aroma. Las bacterias lácticas que no forman parte de los cultivos iniciadores o *starter* no contribuyen a la producción de ácido pero generalmente desempeñan un papel significativo durante la maduración de los quesos. De hecho, muchos estudios han comunicado la inclusión de varias cepas de bacterias lácticas como cultivos adicionales que mejoran el desarrollo del sabor y aroma de los quesos y para acelerar la maduración. La utilización de iniciadores comerciales en queso elaborado a partir de leche pasteurizada suele repercutir en la pérdida de las características típicas de los quesos tradicionalmente elaborados con leche cruda, al reemplazar la compleja flora microbiana presente en la leche cruda por un cultivo iniciador normalizado.

El objeto de esta invención ha sido la selección de diferentes combinaciones de cultivos iniciadores constituidos por microorganismos lácticos seleccionados de entre la compleja flora microbiana que interviene en la elaboración de queso de Armada elaborado con leche sin pasteurizar. Dichas combinaciones caracterizadas genéticamente y seleccionadas por sus propiedades tecnológicas se han utilizado para elaborar queso de Armada con leche pasteurizada con recuperación de características típicas del queso elaborado con criterios artesanales.

Las combinaciones de iniciadores utilizadas han sido:

1 - Iniciador A conteniendo

Lactococcus lactis subsp. *lactis* TAUL 1292 (CECT 7124), y

Lactococcus lactis subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* TAUL 12 (CECT 7125).

2 - Iniciador B conteniendo

Iniciador A, y

Enterococcus raffinosus TAUL 1351 (CECT 7126)

3 - Iniciador C conteniendo

Iniciador A, y

Leuconostoc mesenteroides subsp. *dextranicum* TAUL 1795 (CECT 7128)

4 - Iniciador D conteniendo

Iniciador A, y

Lactobacillus plantarum TAUL 1736 (CECT 7127).

Así, la presente invención se refiere a un iniciador de la fermentación láctica caracterizado porque comprende los siguientes microorganismos: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* TAUL 1292 (CECT 7124) y *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* TAUL 12 (CECT 7125).

ES 2 306 564 B1

En una realización preferente de la presente invención dicho iniciador de la fermentación láctica está caracterizado porque además comprende *Enterococcus raffinosus* TAUL 1351 (CECT 7126).

5 En una realización concreta de la invención, dicho iniciador de la fermentación láctica está caracterizado porque además de los componentes descritos para el iniciador A comprende *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* TAUL 1795 (CECT 7128).

10 En otra realización concreta de la presente invención, el iniciador de la fermentación láctica está caracterizado por comprender los componentes del iniciador A y además *Lactobacillus plantarum* TAUL 1736 (CECT 7127).

10 Por otro lado, la presente invención se refiere al uso de uno de los iniciadores de la fermentación láctica descritos anteriormente en el texto en la elaboración de queso. Preferentemente, dicho queso se elabora a partir de leche de cabra.

15 En una realización preferente, la presente invención se refiere al uso de un iniciador de la fermentación láctica en la elaboración de queso a partir de leche de cabra está pasterizada.

20 En una realización preferida, dicho uso de un iniciador de la fermentación láctica descrito anteriormente, se caracteriza porque dicho queso es queso de Armada.

Breve descripción de las figuras

25 Figura 1. Evolución del pH en los diferentes lotes de queso elaborado con los iniciadores descritos (A-D) y el lote elaborado con leche sin pasterizar (E).

Figura 2. Evolución de la acidez titulable en los diferentes lotes de queso elaborado con los iniciadores descritos (A-D) y el lote elaborado con leche sin pasterizar (E).

30 Figura 3. Evolución de la relación sal/humedad en los diferentes lotes de queso elaborado con los iniciadores descritos (A-D) y el lote elaborado con leche sin pasterizar (E).

Figura 4. Evolución de la actividad de agua en los diferentes lotes de queso elaborado con los iniciadores descritos (A-D) y el lote elaborado con leche sin pasterizar (E).

35 Figura 5. Evolución de la relación lactosa/sólidos totales en los diferentes lotes de queso elaborado con los iniciadores descritos (A-D) y el lote elaborado con leche sin pasterizar (E).

Modo de realización de la invención

40 A continuación se detalla una realización concreta de la invención, a modo ilustrativo y sin carácter limitativo de la presente invención.

Ejemplo

45 Caracterización tecnológica de las cepas seleccionadas

Las cepas que formaron parte de las mezclas de iniciadores se seleccionaron por sus características tecnológicas a partir de treinta y una cepas de bacterias lácticas inicialmente seleccionadas como candidatas procedentes a su vez de cientos de cepas aisladas de queso artesanal elaborado con leche cruda de cabra sin adición de iniciadores.

50 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* TAUL 1292 (CECT 7124) se seleccionó por sus capacidades acidificantes y proteolíticas, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis* TAUL 12 (CECT 7125) se incluyó también por su elevada actividad dipeptidasa y su capacidad para producir compuestos que contribuyen al aroma. *Enterococcus raffinosus* TAUL 1351 (CECT 7126) fue incluido por su alta capacidad carboxipeptidasa y esterolítica. Finalmente, las cepas de 55 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* TAUL 1795 (CECT 7128) y especialmente *Lactobacillus plantarum* TAUL 1736 (CECT 7127) se incluyeron por su capacidad aminopeptidasa y β -galactosidasa.

Caracterización genética de las cepas

60 La identificación genética de las especies seleccionadas se realizó mediante el uso de la técnica de amplificación de ADN conocida como reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para amplificar y secuenciar un fragmento informativo de la secuencia correspondiente al ADN que codifica para ARN ribosómico 16S. Los oligonucleótidos usados se obtuvieron de Pharmacia y están descritos por Relman, D.A., 1993 ("Universal bacterial 16S rDNA amplification and sequencing". En Persing, D.H., Smith, T.F., Tenover, F.C., White, T.J. Editores, Diagnostic molecular microbiology: principles and applications. American Society for Microbiology, Washington, D.C.). Las secuencias obtenidas en cada caso fueron enviadas al Centro de Información biotecnológica (Center for Biotechnology Information, NCBI) para ser analizadas frente a la base de datos BLAST en formato FASTA (<http://www.ebi.ac.uk/fasta33/>) y frente a la base de datos correspondiente al ARN ribosómico 16S (<http://rdd.cme.msu.edu/>).

ES 2 306 564 B1

Análisis microbiológico

Para seguir microbiológicamente el transcurso de la elaboración de queso de Armada con los iniciadores descritos a partir de leche pasteurizada se tomaron muestras de cincuenta gramos de leche o queso durante el transcurso de la elaboración/maduración del queso que se homogeneizaron con 200 ml de solución estéril al 2% (v/v) de citrato sódico (Panreac, Barcelona, Spain) a 40-45°C durante tres minutos en un Stomacher 400 Lab Blender (Seward Medical, London, U.K.), para obtener una dilución 1:5. Se prepararon diluciones decimales con 1% (w/v) agua de peptona estéril (Oxoid, Unipath, Ltd. Basingstoke, U.K.) de acuerdo al estándar del International Dairy Federation (IDF) standard 122 B (IDF, 1992). Muestras de leche pasteurizada inoculada con los iniciadores seleccionados, y de sus quesos derivados se analizaron microbiológicamente para ver la presencia de bacterias mesófilas, enterobacterias y bacterias lácticas. La flora mesófila se enumeró en placas de recuento de agar (standard plate count agar, PCA) de Oxoid tras incubación a 30°C durante 48 h (APHA, 1978), la población de bacterias lácticas en medio MRS (Oxoid) tras incubación a 30°C durante 72 h, la población de lactococos en agar M17 (Biokar) (Terzaghi & Sandine, 1975), tras incubación a 30°C durante 18 a 24 h, la población de lactobacilos en agar ROGOSA (Rogosa, Mitchell & Wiseman, 1951) (Oxoid), incubados a 30°C durante 5 días, el recuento de enterobacterias se realizó en medio agar violet red bile glucose (VRBGA) (Mossel, Mengerink & Scholts, 1962) (Oxoid), tras incubación a 37°C durante 18 a 24 h.

En los medios de PCA, ROGOSA, MRS, y VRBGA se inocularon muestras de 1 ml de cada dilución, por duplicado, y se mezclaron con el correspondiente medio fundido antes de la solidificación. Las placas de medio ROGOSA y VRBGA se cubrieron con una sobrecapa del mismo medio antes de la incubación. En agar M17 se plaquearon por duplicado alícuotas de 0.1 ml de cada dilución. Tras la incubación, se realizó el recuento de las placas que contenían entre 30 y 300 colonias (15-150 para los recuentos de enterobacterias). Los resultados se expresaron como unidades formadoras de colonias por gramo (cfu g⁻¹). En todos los casos se realizaron además análisis en lotes control correspondientes a queso elaborado con leche cruda. Los resultados de recuentos obtenidos en los diferentes lotes se recogen en la Tabla 1.

TABLA 1

Cambios en el recuento (logaritmo del número) de microorganismos en medios PCA, M17, MRS, Rogosa y VRBGA en el transcurso de la maduración del queso de Armada elaborado con cuatro tipos de iniciadores (A-D) y en el queso elaborado con leche cruda (control, E)

35

Parámetro	Lote	Tiempo de maduración (días)						
		Leche	2	7	15	30	60	120
PCA	A	7.167	9.811	9.878	8.911	8.283	6.514	5.660
	B	7.316	9.716	9.501	8.582	8.301	7.607	7.182
	C	7.415	9.797	9.730	8.848	8.450	7.806	7.123
	D	7.365	9.904	8.945	8.630	8.635	8.821	8.599
	E	5.079	7.979	9.633	9.365	8.889	8.752	7.734
M17	A	7.045	9.111	9.351	8.830	8.210	6.794	3.806
	B	7.107	9.380	9.591	8.559	8.321	6.534	5.110
	C	6.439	9.817	9.753	8.097	8.426	5.568	3.796
	D	6.941	9.771	9.013	9.613	8.767	5.434	3.625
	E	4.176	8.025	9.190	9.065	8.322	8.371	5.342

65

ES 2 306 564 B1

	MRS	A	7.236	9.857	9.886	8.845	8.418	6.455	5.097
		B	7.393	9.681	9.207	8.574	8.167	7.585	7.352
5		C	7.362	9.893	9.593	8.752	8.562	8.057	7.511
		D	7.406	9.942	8.878	8.519	8.658	8.562	8.512
10		E	4.021	7.860	9.658	9.301	8.362	8.728	7.336
	Rogosa	A	n.d.	2.477	2.301	2.544	3.765	5.049	5.000
15		B	n.d.	n.d.	1.398	1.602	3.021	5.455	5.536
		C	n.d.	n.d.	2.000	2.398	2.322	3.574	6.925
20		D	6.201	7.676	8.305	8.487	8.556	8.750	8.528
		E	2.816	4.967	6.684	8.342	8.718	8.722	7.423
	VRBGA	A	1.176	2.120	2.875	2.519	2.114	n.d.	n.d.
25		B	0.505	3.346	3.061	2.658	2.151	n.d.	n.d.
		C	1.000	2.531	2.439	2.041	n.d.	n.d.	n.d.
30		D	2.688	3.079	1.916	1.602	n.d.	n.d.	n.d.
		E	3.745	6.574	7.699	6.568	5.695	2.305	n.d.

Análisis físico-químico

35 Los parámetros químicos de la leche se determinaron siguiendo los siguientes métodos: El extracto seco por el estándar IDF 21 B (International Dairy Federation, 1987), lactosa por el estándar IDF 28 A (International Dairy Federation, 1974), y el cloruro sódico por el estándar AFNOR (Association Francaise de Normalisation, 1969). El pH se midió con un micropehachímetro CRINSON 2001 (Barcelona, Spain) y la acidez titulable se determinó mediante el estándar de la AOAC (Association of Official Analytical Chemists, 1990a).

45 Los sólidos totales del queso se determinaron mediante el estándar IDF 4 A (International Dairy Federation, 1982), lactosa por el IDF standard 43 (International Dairy Federation, 1967), y sal por el IDF 17A (International Dairy Federation, 1972). El pH y la acidez titulable se midieron a partir de muestras homogeneizadas con agua destilada caliente (45-50°C), como se describe por la Association of Official Analytical Chemists (AOAC) 14.022 (1980a) y por el método AOAC 16.247 (1980b), respectivamente. La actividad de agua (a_w) se determinó instrumentalmente usando un sistema Aqua Lab CX-2 (Decagon Devices, Pullman, U.S.A.).

Evaluación sensorial

50 Los quesos fabricados fueron sensorialmente analizados por un panel de catadores adiestrados en las características del queso de Armada tradicional fabricado con leche cruda. Se evaluaron el olor, sabor, textura y defectos de los quesos tras 30, 60 y 120 días de maduración.

Cambios en los parámetros químicos y físico-químicos durante la maduración

60 El descenso del pH durante la elaboración y primeras etapas de la maduración del queso de Armada fue relativamente acusado en los lotes elaborados con leche pasteurizada inoculada con los cultivos iniciadores. Dichos lotes mostraron valores de pH inferiores a 5,0 entre los 2 y 7 días de la maduración. El lote D experimentó un fuerte descenso de pH, alcanzando valores de 4.26 a los 60 días de la maduración. La leche de partida mostró unos valores de acidez titulable entre el 0.16 y 0.19%, que se incrementó durante la coagulación y maduración.

65 El incremento en la acidez titulable experimentado durante la coagulación de la leche es relativamente pronunciado en los lotes elaborados con leche pasteurizada, ya que en los quesos control elaborados sin adición de iniciadores y con leche cruda la acidez apenas se desarrolla durante la primera semana de maduración. Sin embargo, a partir de dicho momento, la acidificación transcurre de forma más lenta y menos intensa en los quesos elaborados con leche pasteurizada, siendo los lotes fabricados con iniciadores A y D los que muestran los valores más elevados en acidez titulable.

ES 2 306 564 B1

Las mayores variaciones entre los lotes se obtuvieron, como cabría esperar, en los parámetros del pH y la acidez titulable, condicionados por las diferencias observadas en la evolución de los recuentos de la flora láctica.

5 Los valores obtenidos en la relación sal/humedad en los quesos fueron similares en todos los lotes hasta los 15 días de la maduración. Sin embargo a los 60 días de la maduración, los lotes A y B presentaron valores de sal/humedad entre un 7 y 8%, mientras que el resto de los lotes presentaron valores entre un 8 y un 10%. La proporción sal/humedad se incrementó hasta los 120 días, alcanzando valores en torno a un 15%.

10 El valor de actividad de agua experimentó el descenso más acusado entre los 15 y los 30 días de la maduración y sobre todo en el lote A, siendo este el que presentó los valores de sal/humedad más altos a los 15 y 30 días de la maduración.

15 El contenido inicial de lactosa en las cuajadas fue de 3,75. La lactosa sufrió una rápida degradación durante los primeros 7 días de la maduración, que se correspondió con un incremento de la acidez titulable. Sin embargo, el contenido de lactosa descendió de manera progresiva hasta el término de la maduración sin llegar a desaparecer por completo. Únicamente en el lote C la lactosa fue prácticamente indetectable a partir de los 30 días de maduración.

20 En las figuras 1 a 5 se recogen los resultados obtenidos en las variables comentadas anteriormente mediante las cuatro combinaciones de iniciadores así como en un sistema control de queso elaborado con leche sin pasteurizar.

Evaluación sensorial

25 Cuando se analizaron las características organolépticas de los diferentes quesos se comprobó que por lo general las mejores puntuaciones fueron obtenidas por los quesos de 120 días de maduración. El sabor y aroma típico de los quesos es consecuencia en buena parte de la degradación de aminoácidos por las bacterias iniciadoras. Por tanto, el aroma de los quesos madurados depende principalmente de los iniciadores usados.

30 Los quesos del lote A obtuvieron puntuaciones similares o superiores a las recibidas por el queso elaborado con leche cruda que se utilizó como control que además presentó grietas en la pasta, con crecimiento fúngico y una textura arenosa. Aunque si bien mostró una variedad amplia de aromas también se detectó un fuerte sabor rancio. Si también tenemos en cuenta que los quesos, al término de la maduración, presentaron una textura seca y granulosa que dificulta la solubilización en la boca, sería conveniente emplear fermentos que en un corto período de tiempo permitieran obtener las características de sabor y textura deseadas. En este sentido cabe señalar que la adición a la
35 leche pasteurizada de alguna especie de *Lactobacillus* junto con cepas acidificantes puede acelerar el transcurso de la maduración de estos quesos ya que los lactobacilos incrementan la concentración de pequeños péptidos, aminoácidos libres y ácidos grasos libres, desempeñando un importante papel durante la maduración del queso. Por otro lado, las lipasas y estererasas de los lactobacilos pueden contribuir a la formación de aromas y sabores durante la maduración de los quesos. El cultivo del lote D incluye una especie de *Lactobacillus*. No obstante, los quesos de este lote presentaron algunos defectos de sabor y olor relacionados con un exceso de acidez, con un retrogusto también muy ácido.

40 La Tabla 2 recoge los resultados de evaluación sensorial realizada por un panel de catadores de los quesos elaborados con las diferentes combinaciones de iniciadores así como con el queso de Armada elaborado mediante el uso de leche sin pasteurizar.

45

(Tabla pasa a página siguiente)

50

55

60

65

ES 2 306 564 B1

TABLA 2

Características sensoriales (escalas 1-7) de queso de Armada durante el transcurso de la maduración

5	Características	Lotes	Queso (tiempo de maduración (días))		
			30	60	120
10	Apariencia	A	4.2	4.0	4.0
		B	4.7	4.0	4.0
		C	4.0	4.0	4.0
15		D	4.0	4.0	4.0
		E	4.9	4.4	4.0
20	Olor	A	4.0	3.8	4.0
		B	4.2	4.8	4.5
25		C	4.5	4.5	4.3
		D	4.1	3.7	4.0
		E	4.0	3.8	4.0
30	Textura	A	3.7	4.0	4.4
		B	4.0	4.8	4.5
35		C	4.0	4.7	4.3
		D	4.0	4.0	3.5
		E	4.9	4.0	4.0
40	Aroma	A	3.7	3.5	4.8
		B	4.2	5.0	4.4
45		C	4.0	3.5	4.0
		D	4.8	4.0	3.5
50		E	4.9	5.2	4.9
	Intensidad residual	A	3.7	4.3	4.4
55		B	4.5	4.4	4.9
		C	3.9	3.0	4.0
		D	4.8	4.0	3.5
60		E	5.2	4.7	4.5
	Impresión global	A	5.4	5.0	6.7
65		(1-10) B	6.3	6.8	7.1

ES 2 306 564 B1

	C	6.3	5.5	6.9
	D	6.4	5.85	6.0
5	E	6.5	6.8	6.4

10 A: leche pasteurizada con cultivo iniciador CD, constituido por TAUL 1292 (CECT 7124) y TAUL 12 (CECT 7125); B: leche pasteurizada con cultivo iniciador CD y TAUL 1351 (CECT 7126); C: leche pasteurizada con cultivo iniciador CD y TAUL 1795 (CECT 7128); D: leche pasteurizada con cultivo iniciador CD y TAUL 1736 (CECT 7127). E: control, queso elaborado con leche sin pasteurizar.

15 *Conclusiones*

El empleo de cultivos iniciadores autóctonos en la elaboración del queso de Armada repercutió en la evolución de la microflora y en la de los parámetros químicos y físico-químicos, sobre todo la lactosa, el pH y la acidez titulable.

20 La pasteurización de la leche y el empleo del cultivo iniciador autóctono influyeron positivamente en la reducción de la población de enterobacteriáceas, con respecto al lote elaborado con leche cruda. Por otro lado, los iniciadores constituidos por cepas autóctonas presentaron aroma y textura similares a las de los quesos elaborados con leche cruda (quesos control). La selección del iniciador más adecuado queda supeditada al tiempo de maduración con que se vaya a comercializar el queso ya que se ha comprobado que los diferentes lotes elaborados con las cepas autóctonas presentan
25 unas características óptimas en diferentes momentos de la maduración. También podría ser ajustada la proporción de las diferentes cepas empleadas para conseguir minimizar algunos de los defectos observados como la excesiva acidez del lote D. En general, a los 30 días de maduración los lotes B, C y D fueron los mejor valorados. Sin embargo, a los 60 y 120 días de maduración el lote mejor valorado fue el B.

30 Por tanto, el empleo de cultivos iniciadores autóctonos constituye una ventaja en la elaboración de este queso, al controlar la población de enterobacteriáceas y asegurar el desarrollo de las características organolépticas típicas de este queso, sin perder las propiedades distintivas de los quesos artesanales elaborados con leche cruda.

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un iniciador de la fermentación láctica **caracterizado** porque comprende al menos los siguientes microorganismos: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* TAUL 1292 (CECT 7124) y *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* TAUL 12 (CECT 7125).
- 10 2. Iniciador de la fermentación láctica según la reivindicación 1, **caracterizado** porque además comprende *Enterococcus raffinosus* TAUL 1351 (CECT 7126).
- 15 3. Un iniciador de la fermentación láctica según la reivindicación 1, **caracterizado** porque además comprende *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* TAUL 1795 (CECT 7128).
- 20 4. Un iniciador de la fermentación láctica según la reivindicación 1, **caracterizado** porque además comprende *Lactobacillus plantarum* TAUL 1736 (CECT 7127).
- 25 5. Uso de un iniciador de la fermentación láctica descrito en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en la elaboración de queso.
- 30 6. Uso de un iniciador de la fermentación láctica según la reivindicación 5, **caracterizado** porque dicho queso se elabora a partir de leche de cabra.
- 35 7. Uso de un iniciador de la fermentación láctica según una de las reivindicaciones 5 o 6, **caracterizado** porque dicha leche de cabra está pasterizada.
- 40 8. Uso de un iniciador de la fermentación láctica según una de las reivindicaciones 5 a 7, **caracterizado** porque dicho queso es queso de Armada.
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65

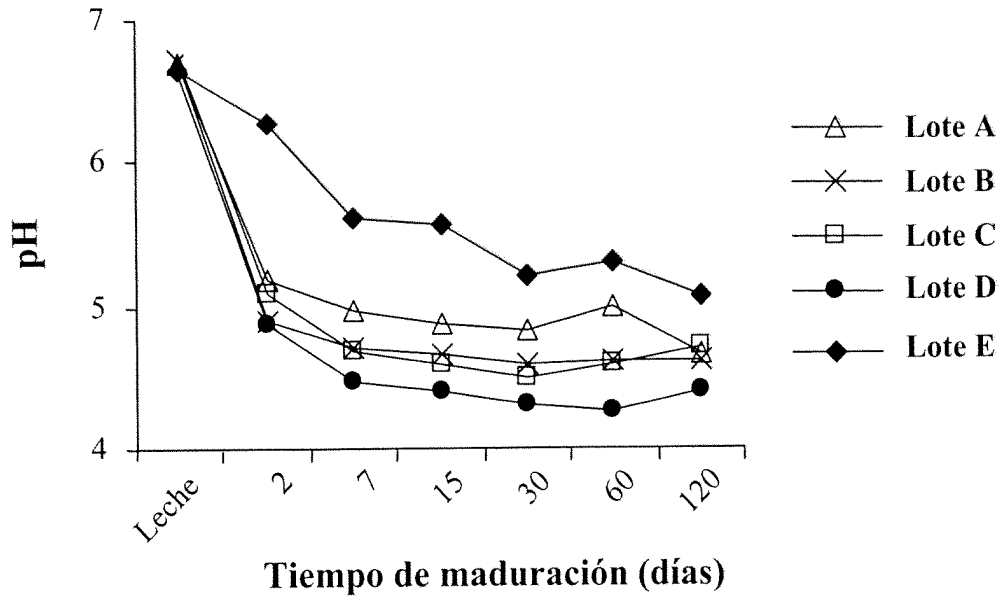


Figura 1

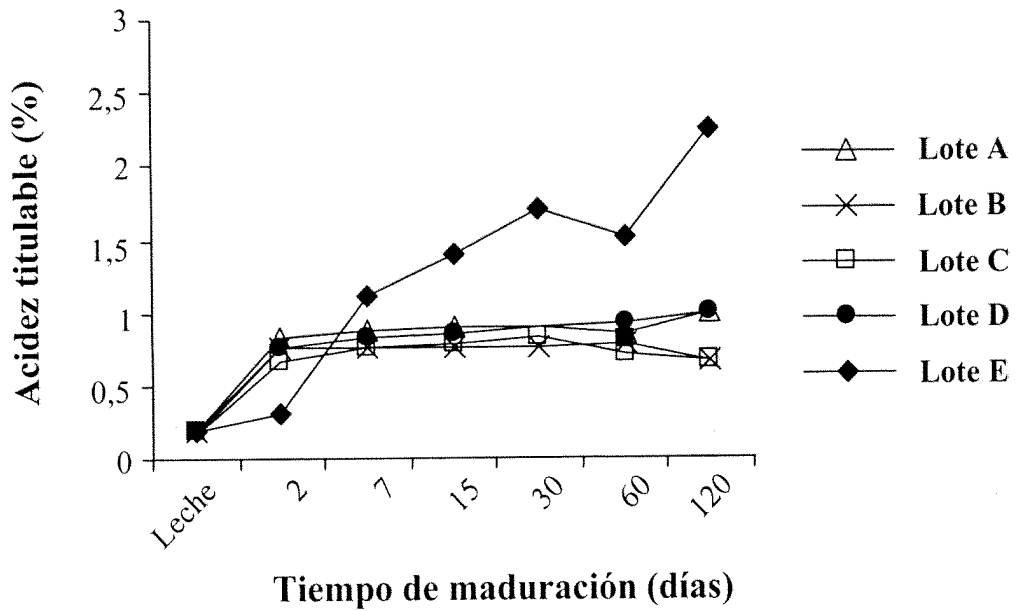


Figura 2

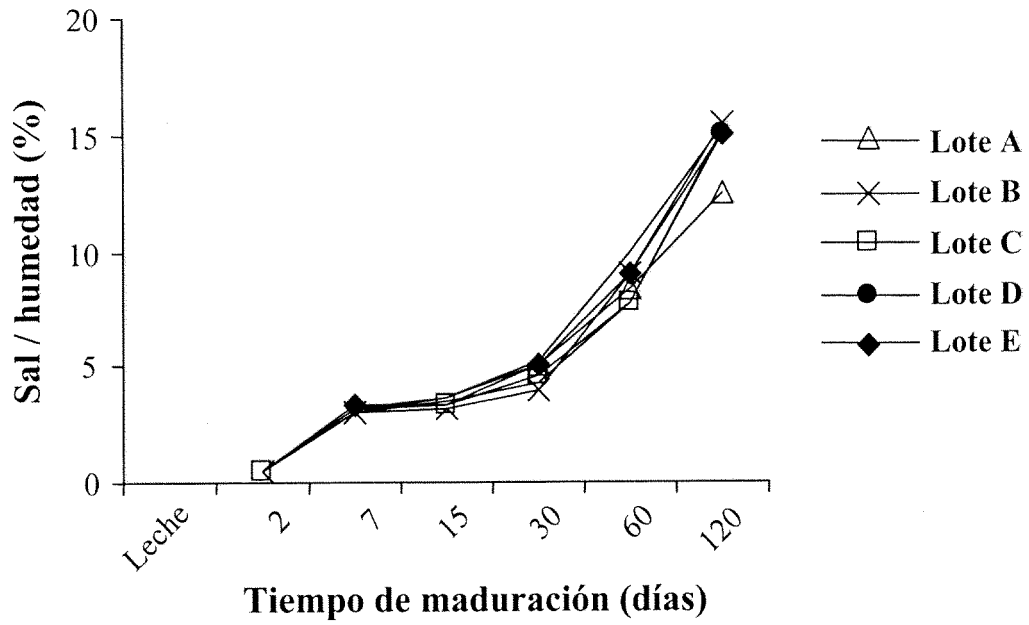


Figura 3

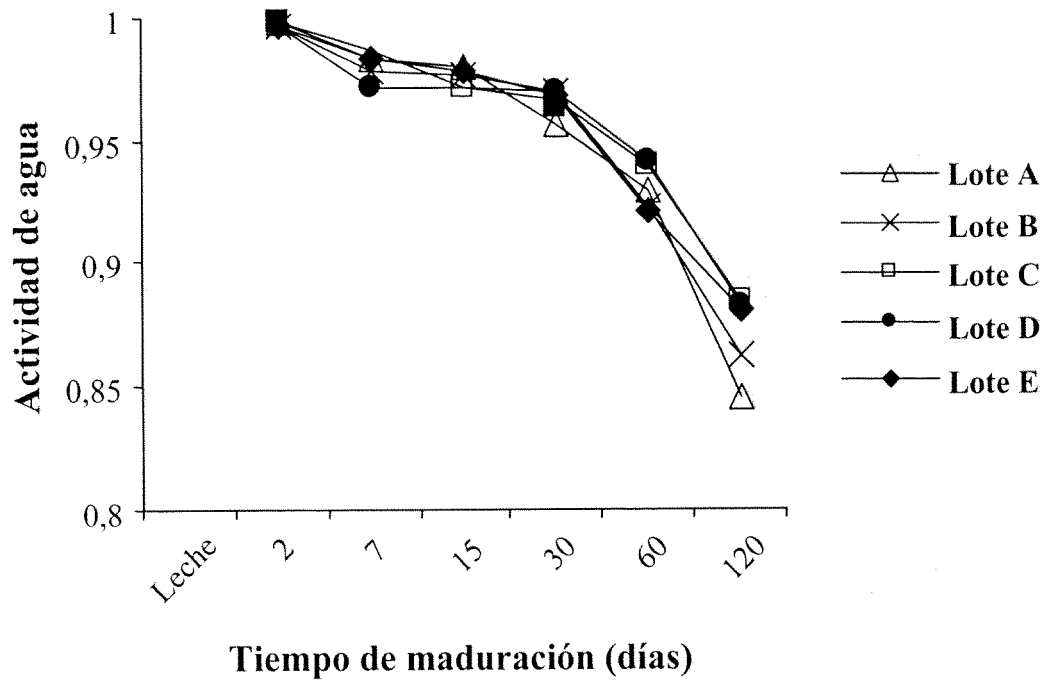


Figura 4

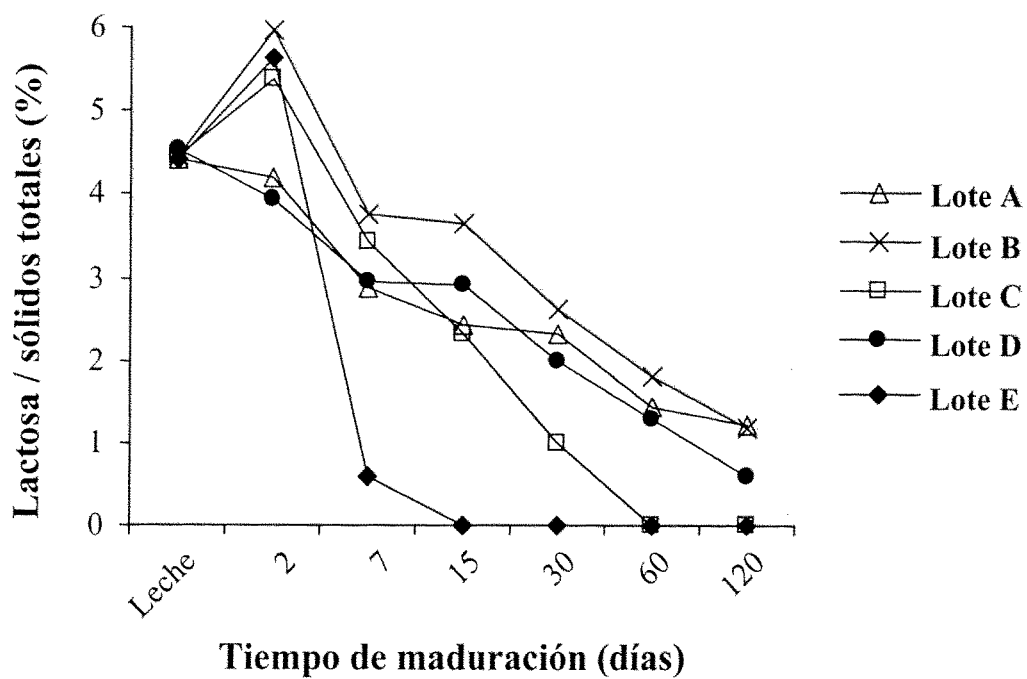


Figura 5



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 306 564

② Nº de solicitud: 200600234

③ Fecha de presentación de la solicitud: **02.02.2006**

④ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ Int. Cl.: **A23C 19/032** (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	HERREROS, M.A. et al. Esterolytic activity of lactic acid bacteria isolated from Armada cheese (a Spanish goat milk cheese). <i>Milchwissenschaft</i> , 2004, vol. 59 (9/10), páginas 526-529.	1-8
X	HERREROS M.A. et al. Technological characterization of lactic bacteria isolated from Armada cheese (a Spanish goats'milk cheese). <i>International Dairy Journal</i> , 2003, vol. 13, páginas 469-479.	1-8
X	OLARTE, C. et al. The effect of a commercial starter culture addition on the ripening of an artisanal goat's cheese (Cameros cheese). <i>Journal of Applied Microbiology</i> , 2000, vol. 88, páginas 421-429.	1,5-7
X	US 6689402 B1 (NAUTH et al.) 10.02.2004, ejemplos.	1,5
X	US 5472718 A (JUSSELDIJK et al.) 05.12.1995, columna 3, líneas 29-63.	1,5

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

<p>Fecha de realización del informe 08.10.2008</p>	<p>Examinador A. Polo Díez</p>	<p>Página 1/1</p>
---	---	-----------------------