



Instituto Nacional de
Tecnología Agropecuaria



Ministerio de Agricultura,
Ganadería y Pesca
Presidencia de la Nación

INOCUIDAD MICROBIOLÓGICA DE CUAJOS UTILIZADOS EN LA ELABORACIÓN DE QUESOS DE CABRA ARTESANALES EN EL VALLE DE AMBLAYO, PROVINCIA DE SALTA, ARGENTINA

PM Palladino¹, HR Rodríguez², RA Molina³, G Ortigoza¹, K Moreno¹, M Chavez³, MO Masana¹

RESUMEN

El objetivo del estudio fue caracterizar, desde el punto de vista de su inocuidad microbiológica, cuajos artesanales utilizados para fabricar quesos en el Valle de Amblayo, Prov. de Salta. Se evaluaron 16 cuajos salados de rumiantes faenados entre octubre y noviembre de 2011. Los análisis realizados a partir del suero coagulante elaborado en el laboratorio fueron: pH, recuentos de mesófilos aerobios (RMA), coliformes (RC), coliformes fecales (RCF), hongos y levaduras (RHL), enterococos (RE), *Staphylococcus aureus* coagulasa+ (RSa), detección de *Salmonella* spp y de *Listeria monocytogenes*. Además se determinó la a_w del cuajo salado original. Algunos resultados, expresados como promedios, fueron: pH $5,74 \pm 0,15$, RMA 7.65 ± 0.34 log UFC/ml y RHL $0,20 \pm 0,55$ log UFC/ml. Por otro lado, los RE presentaron una alta variabilidad (máximo 7.62 log UFC/ml y mínimo no detectable). Por NMP los recuentos fueron RC <3 /ml, excepto cuatro muestras con valores de entre 23 y 150/ml. Los RCF fueron <3 /ml en todas las muestras. Asimismo RSa fue <1 log UFC/ml y no se detectaron *Salmonella* spp ni *L. monocytogenes* en todas las muestras. La a_w promedio del cuajo desecado-salado original fue $0,41 \pm 0,17$. Los resultados obtenidos son una primera contribución en el camino de la mejor caracterización del riesgo sanitario de un producto tradicional más seguro y con mayor potencial de comercialización.

ABSTRACT

The aim of this study was to characterize, from the point of view of its microbiological safety, artisanal rennets used to make cheese in Amblayo Valley, Province of Salta, Argentine. Sixteen salted rennets of ruminants slaughtered between October and November 2011, were evaluated. Analyses from coagulant serum prepared in the laboratory were: pH, counts of mesophilic aerobic bacteria (RMA), coliforms (RC), fecal coliforms (RCF), yeasts and molds (RHL), enterococci (RE), *Staphylococcus aureus* coagulase+ (RSa), detection of *Salmonella* spp and *Listeria monocytogenes*. Original salted rennets a_w was also evaluated. Some results, expressed as averages, were: pH $5,74 \pm 0,15$, RMA 7.65 ± 0.34 log CFU/ml and RHL $0,20 \pm 0,55$ log CFU/ml. RE counts were highly variable (maximum 7.62 log CFU/ml to no detectable). By MPN, RC counts were <3 /ml, except for four samples with values between 23 and 150/ml. RCF was <3 /ml for all samples, while RSa was also below the detectable limit (<1 log CFU/ml). Neither *Salmonella* spp nor *L. monocytogenes* were detected in the

¹ Instituto Tecnología de Alimentos, Centro de Investigación en Agroindustria, INTA. Prov. Buenos Aires, Argentina. mpalladino@cnia.inta.gov.ar

² Instituto de Economía y Sociología, INTA. CABA, Argentina.

³ Estación Experimental Agropecuaria Salta, CR Salta-Jujuy, INTA. Cerrillos, Prov. Salta, Argentina.

samples. The average a_w value of original salted rennets was 0.41 ± 0.17 . Results obtained are a first contribution on the road to the better characterization of the sanitary risks of traditional and safer product with greater potential for its commercialization.

INTRODUCCIÓN

La producción de queso de cabra fresco es una actividad tradicional y relevante en el NOA argentino. En el valle de Amblayo, provincia de Salta, se lleva a cabo de forma artesanal por pequeños productores familiares dispersos por la región. Cada uno de ellos cuenta con su propio rebaño y elabora el producto de acuerdo a su tradición familiar. El mismo es comercializado localmente o en las ciudades de manera informal, teniendo alta demanda debido a una percepción distintiva sobre su sabor, textura y ausencia de agregados químicos. El queso se elabora con leche recién ordeñada y suero coagulante (cuajo líquido) obtenido a partir del abomaso salado y secado al sol.

La utilización de cuajo artesanal en este tipo de productos supone algunas ventajas: rescatar un saber local, conservar características sensoriales del queso altamente valoradas por el consumidor y facilitar la implementación de instrumentos de diferenciación del producto (Denominaciones de Origen, Indicaciones Geográficas, Marcas Colectivas, etc.).

Por otro lado, la inocuidad de este tipo de producto no está asegurada siendo varios los peligros físicos, químicos y biológicos a considerar (Sandroua *et al*, 2010). Los peligros microbiológicos (organismos patógenos) que pueden afectar la inocuidad de alimentos como el mencionado deben controlarse y/o minimizarse para una producción y comercialización seguras. En este sentido, las normativas de inocuidad y calidad son dinámicas y se adecuan para asegurar la protección de los consumidores ante peligros microbiológicos clásicos, nuevos y potenciales. Por ello, evaluar el efecto del cuajo sobre la inocuidad del queso de Amblayo es un requisito necesario para avanzar en ese sentido. El objetivo del trabajo fue caracterizar, desde el punto de vista de su inocuidad microbiológica, cuajos artesanales producidos en Amblayo.

MATERIALES y MÉTODOS

Toma de muestras

Se evaluaron un total de 16 cuajos ($n=16$). Los mismos provenían de cabrito (5), cabra (6), cordero (2), oveja (1), chivito (1) y chivo (1) que habían sido faenados entre octubre y noviembre de 2011, salados y secados a la sombra.

Preparación del suero coagulante

El suero coagulante fue preparado al 5% (concentración encontrada dentro del rango óptimo según Coronel *et al*, 1999) en medio esterilizado similar a leche descremada (Skim Milk Powder, Oxoid, Basingstoke, Hampshire, Engl.) e incubado a 30°C durante 24 h.

Análisis realizados

A partir del suero coagulante original, como también de diluciones decimales sucesivas en agua de peptona 0.1% estéril (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, Engl.), se realizaron los siguientes análisis microbiológicos y bioquímicos, según correspondiera:

- Recuento de Mesófilos Aerobios (RMA) por inclusión en agar Recuento en Placa (PCA) (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, Engl.) e incubado a 30°C por 72 h.

- Recuento de Hongos y levaduras (RHL) por inclusión en agar Extracto de Levadura Dextrosa Cloranfenicol (YEDC) (Remel, Engl.) e incubado a 25°C por 5 días.
 - Recuento de Enterococos (RE) por inclusión en agar Kanamicina Esculina Azida (KAA) (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, Engl.) e incubado a 37°C 48 h.
 - Recuento de Coliformes (RC) por NMP según FIL 73A:1985.
 - Recuento de Coliformes Fecales (RCF) por NMP según APHA 1992.
 - Recuento de *Staphylococcus aureus* coagulasa+ (RSa) combinado en superficie según FIL 145:1990.
 - Determinación de *Salmonella* spp según FIL 93A: 1985.
 - Determinación de *Listeria monocytogenes* según FIL 143:1990.
 - Determinación de pH (Oakton Instruments, USA).
- Por otro lado, a partir del cuajo salado original se realizó:
- Determinación de a_w (Aqua Lab 4TE, Decagon Devices Inc, USA).

RESULTADOS y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se presentan tanto la caracterización del origen de las muestras evaluadas así como el resultado de las determinaciones microbiológicas y bioquímicas realizadas.

De la misma, se puede apreciar que el recuento promedio para RMA fue de 7.65 ± 0.34 log UFC/ml, presentando una relativa homogeneidad de los mismos entre las diferentes muestras. En cambio, para las otras determinaciones, se puede apreciar una elevada variabilidad: en RE el máximo fue de 7.62 log UFC/ml (muestra 9S) y el recuento fue menor al límite de detección de la técnica en las muestras 1S, 3S, 6S, 7S, 10S, 13S, 14s, 15s y 16S; en RHL (promedio $0,20 \pm 0,55$ log UFC/ml) ocurre algo similar ya que la muestra 9S presenta un valor de 1,60 log UFC/ml, las muestras 3S, 14S y 15S valores en el límite de detección y la muestra 13S debajo del mismo (< -3 log UFC/ml). Para RC los recuentos fueron NMP < 3 /ml, excepto para las muestras 5S, 6S, 8S y 9S con valores entre 23 y 150/ml. Para RCF, todas las muestras resultaron NMP < 3 /ml. Los valores de desviación estándar (DE) obtenidos, en general, evidencian una gran variabilidad de la población microbiana existente en el cuajo original (salado), que probablemente se origine en la diversidad de factores sanitarios, ambientales y de cuidados en la elaboración por parte de cada productor, similarmente a los resultados obtenidos en otro estudio donde se analizan agentes coagulantes utilizados para la elaboración de quesos artesanales en Corrientes, Argentina (Vasek *et al*, 2004).

Respecto a los microorganismos patógenos, en ninguna muestra se detectó presencia de *Staphylococcus aureus* coagulasa + (límite de detección 1 log UFC/ml), resultados concordantes con lo obtenido para cuajo líquido artesanal extraído de abomasos de cabrito y cordero para elaboración de queso Feta en Grecia (Moatsou *et al*, 2004; Moschopoulou *et al*, 2007) y de cuajo líquido (extracto) de cabrito para elaboración de queso Cabrales en España (Flórez *et al*, 2006). En contraposición a esto, el estudio realizado en Corrientes, Argentina (Vasek *et al*, 2004) obtuvo un promedio de $3,01 \pm 1,49$ log UFC/ml ($<2,00-6,90$). Igualmente a otros autores (Moatsou *et al*, 2004; Moschopoulou *et al*, 2007), no se aisló *Salmonella* spp, en ninguna de las muestras. Tampoco se aisló *L. monocytogenes*.

Los valores de pH obtenidos (promedio $5,74 \pm 0,15$), presentaron poca variabilidad entre los mismos, siendo elevados en relación a los encontrados en otros casos: 3,78 a 4,83 para los extractos utilizados para queso Cabrales en España (Flórez *et al*, 2006) y $4,74 \pm 0,22$ y $4,71 \pm 0,37$ para cuajo líquido

artesanal para elaboración de queso Feta en Grecia (Moschopoulou *et al*, 2007). El promedio de a_w de los cuajos salados originales fue de $0,41 \pm 0,17$, con

Tabla 1. Caracterización del origen de los cuajos evaluados y resultados de las determinaciones microbiológicas y bioquímicas realizadas.

Muestra	Animal	Edad	Mesófilos aerobios (log UFC/ml)	Coliformes (NMP/ml)	Coliformes fecales (NMP/ml)	Enterococos (log UFC/ml)	Hongos y levaduras (log UFC/ml)	Staphylococcus aureus coagulasa + (log UFC/ml)	Listeria monocitogenes (presencia en 25 ml)	Salmonella spp (presencia en 25 ml)	pH (suero coagulante)	a_w (cuajo original)
1S	cabra	11C	7,60	< 3,00	< 3,00	< -0,30	0,40	< 1	-	-	5,70	0,42
2S	oveja	11C	6,99	< 3,00	< 3,00	2,19	0,19	< 1	-	-	5,92	0,35
3S	cabra	11C	7,62	< 3,00	< 3,00	< -0,30	0,00	< 1	-	-	5,71	0,74
4S	cabrito	11C	7,45	< 3,00	< 3,00	6,39	0,30	< 1	-	-	5,74	0,34
5S	chivo	11C	8,12	23,00	< 3,00	0,70	-0,30	< 1	-	-	5,70	0,74
6S	cabra	2a	7,95	33,00	< 3,00	< -0,30	0,00	< 1	-	-	5,62	0,44
7S	cabrito	4m	7,22	< 3,00	< 3,00	< -0,30	0,00	< 1	-	-	5,74	0,98
8S	cabrito	11C	7,69	23,00	< 3,00	3,27	0,00	< 1	-	-	5,44	0,34
9S	cordero	4m	8,20	150,00	< 3,00	7,82	1,80	< 1	-	-	5,42	0,29
10S	cabra	9m	8,00	< 3,00	< 3,00	< -0,30	0,81	< 1	-	-	5,70	0,21
11S	cabrito	11C	7,47	< 3,00	< 3,00	7,22	0,00	< 1	-	-	5,76	0,31
12S	cordero	11C	7,51	< 3,00	< 3,00	7,11	1,19	< 1	-	-	5,90	0,30
13S	cabra	11C	7,99	< 3,00	< 3,00	< -0,30	< -0,30	< 1	-	-	5,81	0,23
14S	cabra	11C	7,49	< 3,00	< 3,00	< -0,30	-0,30	< 1	-	-	5,88	0,66
15S	cabrito	11C	7,32	< 3,00	< 3,00	< -0,30	-0,30	< 1	-	-	5,88	0,32
16S	chivito	11C	7,75	< 3,00	< 3,00	< -0,30	0,00	< 1	-	-	5,92	0,44
promedio			7,65			2,05	0,20				5,74	0,41
DE*			0,34			3,23	0,66				0,15	0,17

DE: desvío estándar

ND: No determinado

algunos valores alejados por encima del mismo (muestras 3S, 5S y 14S). Si bien este último parámetro, puede ser un estimador de la situación final presente en el cuajo líquido, la medición del % de NaCl en este último sería más confiable. En este sentido, los valores de pH y a_w son un factor muy importante a tener en cuenta al evaluar los niveles de las diferentes poblaciones microbianas encontradas: por ejemplo, los coliformes son sensibles a la acidez y no suelen encontrarse en cuajos con pH muy bajos.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos son alentadores ya que la preparación artesanal del suero coagulante se realiza usualmente en medios menos nutritivos (p.e., suero de queso y/o agua) y probablemente con un pH final más bajo, condiciones más seguras desde el punto de vista de la inocuidad microbiológica. Sin embargo, si bien no se detectaron microorganismos patógenos, la carga microbiana presente en estos agentes coagulantes, sumado a la preparación y conservación en condiciones poco higiénicas, presenta peligros potenciales para la inocuidad de estos productos artesanales.

Por último, a pesar de que no existe normativa para este tipo de productos, esta caracterización es una primera contribución para obtener un producto seguro con mayor potencial de su comercialización.

BIBLIOGRAFÍA

1. APHA. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 3rd edition. (1992).
2. Coronel, G.J., Fusco, A.J.V., Vasek, O.M. and López Morales, M.B. (1999). Quesos artesanales de Corrientes: Caracterización del agente coagulante. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas, Universidad Nacional del Nordeste, VIII (8), 77-80.
3. International Dairy Federation (IDF). *Milk and Milk Products. Enumeration of Coliforms, Colony Count Technique and Most Probable Number Technique (Standard 73A)*. Brussels, Belgium (1985).
4. International Dairy Federation (IDF). *Milk and Milk Products. Detection of Salmonella (Standard 93A)*. Brussels, Belgium (1985).
5. International Dairy Federation (IDF). *Milk and Milk Products. Detection of Listeria monocytogenes (Standard 143)*. Brussels, Belgium (1990).
6. International Dairy Federation (IDF). *Milk and Milk-based Products. Enumeration of Staphylococcus aureus (Standard 145)*. Brussels, Belgium (1990).
7. Moatsou, G., Moschopoulou, E., Georgala, A., Zoidou, E., Kandarakis, I., Kaminarides, S. and Anifantakis, E. (2004). Effect of artisanal rennet from kids and lambs abomasa on the characteristics of Feta cheese. *Food Chemistry*, 88, 517-525.
8. Moschopoulou, E., Kandarakis, I. and Anifantakis, E. (2007). Characteristics of lamb and kid artisanal liquid rennet used for traditional Feta cheese manufacture. *Small Ruminant Research*, 72, 237-241.
9. Sandroua, D.K. and Arvanitoyannisa, I.S. (2010). Application of Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) to the cheese-making industry: a review. *Food Reviews international*, 16(3), 327-368.
10. Vasek, O.M., Cabrera, R., Coronel, G.J., Savoy de Giori, G., and Fusco, A.J.V. (2004). Análisis de riesgos en la elaboración de queso artesanal de Corrientes (Argentina). *FACENA*, 20, 13-22.