Basque dairy: tradition inspiring innovation

FACE NETWORK 2026

esneki zentroa Leartiker

MARKINA - XEMEIN

SESIÓN 02

# Tipos de cuajo y de cultivos iniciadores en la elaboración de quesos artesanales: tendencias actuales




**María Arroyo - Ana Arroyo**

**LABORATORIOS ARROYO**



FACE Network 2026 · 19-21 Octubre · Markina-Xemein

# 01

# Cultivos para quesos artesanos: diversidad, función y nuevas tendencias

Evolución de los fermentos: tres eras solapadas – Tipos de fermentos - Marcas comerciales vs realidad taxonómica y funcional – La rueda de la microbiota quesera – El núcleo tecnológico – Tendencias en cultivos iniciadores - El anillo de vanguardia – Tendencias en cultivos adjuntos - El anillo de afinado – Tendencias en cultivos de afinado - IA y desarrollo de fermentos.
Evolution of cheese cultures: three overlapping eras – Types of cheese cultures – Commercial brands vs. taxonomic and functional reality – The cheese microbiota wheel – The technological core – Trends in starter cultures – The innovation ring – Trends in adjunct cultures – The ripening ring – Trends in ripening cultures – AI and culture development

# Evolución de los fermentos: tres eras solapadas

## The evolution of starter cultures: three overlapping eras

Metagenómica en un queso suizo tradicional (1875–2017)

Metagenomics of a traditional Swiss cheese (1875–2017)

### 1875
### Espontánea
Spontaneous period

**Inóculo ambiental y cuajo de estómago**

Environmental inoculum and calf stomach rennet

Taxones de plantas y digestivos

Plant and gut-associated taxa

Sin genes clínicos de resistencia (ARGs)

Devoid of acquired clinical ARGs

### 1944–1975
### Artesanal
Artisanal period

**Suero fermentado**

Natural whey starters and back-slopping

Dominancia mesófila

Dominant mesophilic starter LAB

Emergencia de ARGs

Emergence of clinical ARGs

### 1985–2017
### Estandarización
Standardized period

**Cultivos comerciales seleccionados**

Defined commercial starter cultures and chymosin

Mesófilos y termófilos

Mesophilic and thermophilic LAB

Desaparición de ARGs clínicos

Free of clinical ARGs

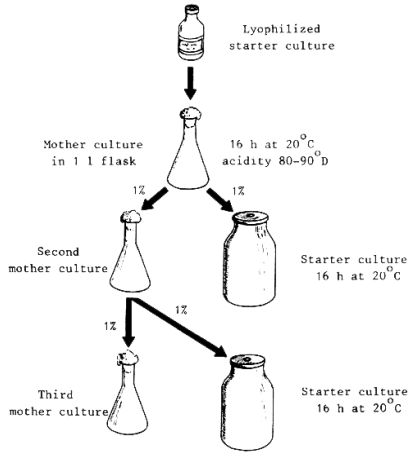
Adaptado de Somerville et al. (2026). *Microbial community dynamics in a traditional Swiss mountain cheese over 142 years of cheesemaking*. *Current Biology*. doi:10.1016/j.cub.2026.08.023

# Tipos de fermentos

## Types of starter cultures

### Resiembras

Subculturing




**Fermentos**
Starter cultures

**Tradicionales**
Traditional

**Definidos (DSS)**
Defined (DSS)

**Artesanos / naturales**
Artisanal / natural

**Comerciales (MSS)**
Commercial (MSS)

**De leche**
Natural milk starters

**De suero**
Natural whey starters

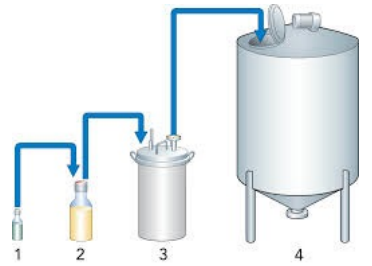
**De suero y cuajo**
Natural whey and rennet starters



**Cultivo de partida**
Starter inoculum

**Cultivo madre**
Mother culture

**Incubación**
Incubation




**Propagación a mayor escala**
Larger-scale propagation

DSS: defined-strain starters MSS: mixed-strain starters

# Marcas comerciales *versus* realidad taxonómica y funcional

Commercial brands vs. taxonomic and functional reality




Envases y códigos ficticios / Fictional packs and codes

## Lo que el código no cuenta

What the code does not tell you

El nombre comercial no identifica por sí solo las cepas, sus proporciones ni su función.

The product name alone does not identify strains, proportions or function.

## La ciencia precisa los nombres

Science refines the names

En 2020, Lactobacillus se reorganizó en 25 géneros, entre ellos Lactiplantibacillus.

In 2020, Lactobacillus was reclassified into 25 genera, including Lactiplantibacillus.

**Más allá de elegir un sobre cerrado, lo importante es conocer las bacterias que contiene y guiar la comunidad microbiana que vivirá en el queso.**

Beyond choosing a sealed sachet, what matters is understanding the bacteria it contains and guiding the microbial community that will live in the cheese

# La rueda de la microbiota quesera

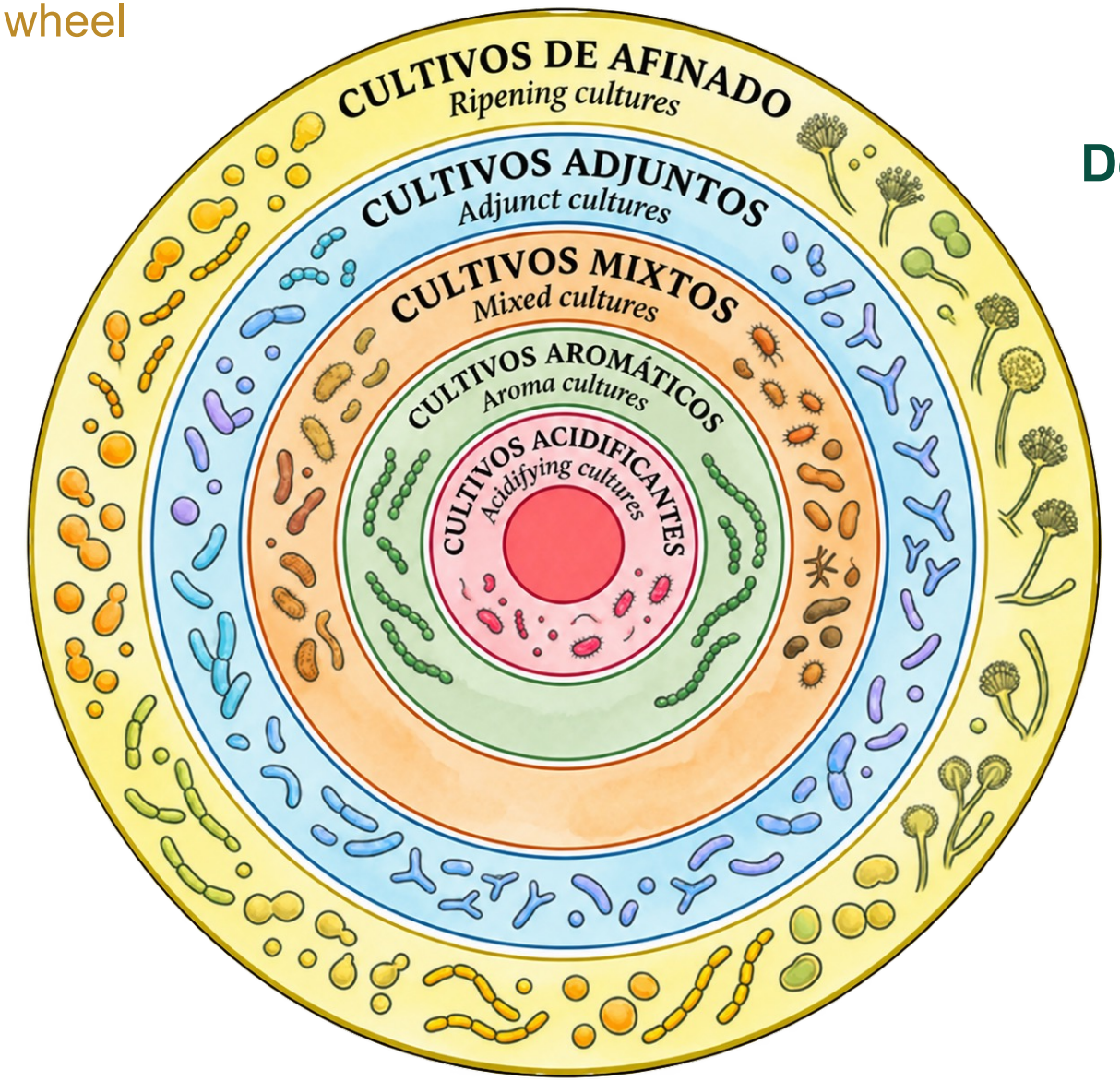
The cheese microbiota wheel

## El potencial microbiano, a golpe de vista.

Microbial potential at a glance.

## Una rueda para cada queso. Las etapas y las funciones pueden solaparse.

A wheel for each cheese. Stages and functions may overlap.




## Del núcleo a la periferia: microorganismos y funciones.

From core to periphery: microorganisms and functions.

## Para fermentos naturales, comerciales o mixtos.

For natural, commercial or mixed cultures.

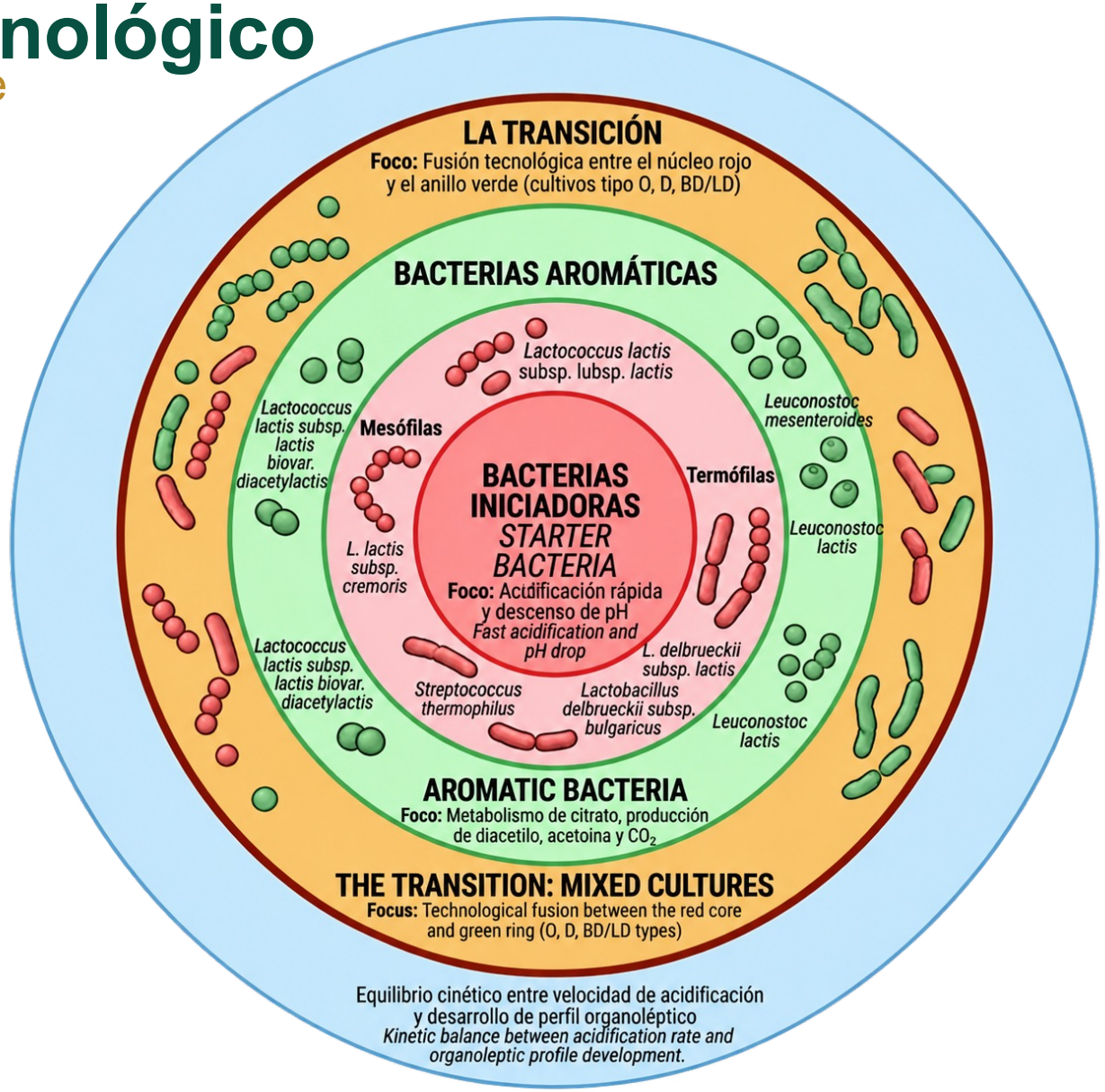
# El núcleo tecnológico
The technological core

## Por temperatura
By temperature

Mesófilos: moderadas.
Termófilos: altas.
Mesophiles: moderate.
Thermophiles: high.

## Por tipo de lactato
By lactate type

L-lactato, D-lactato
o ambos.
L-lactate, D-lactate
or both.




## Por letras
By letter code

Cultivos mesófilos
Mesophilic cultures

**O** Sin aromáticos
No citrate-positive aroma cultures

**L** Con *Leuconostoc*
With *Leuconostoc*

**D** Con *L. lactis biovar diacetylactis*
With *L. lactis biovar diacetylactis*

**LD** Con ambos grupos
With both groups

# Tendencias en cultivos iniciadores

## Trends in starter cultures

**Dos vías: buscar nuevos aislados y mejorar cepas de uso industrial mediante selección, mejora clásica y transferencia genética natural.**

Two routes: finding new isolates and improving industrial strains through selection, conventional strain improvement and natural gene transfer.

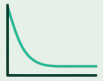


### Resistencia a fagos

Phage resistance

Selección de BIMs y estudio de defensas complementarias a CRISPR-Cas para mantener una acidificación fiable.

Selection of BIMs and research into defenses that complement CRISPR-Cas to support reliable acidification.



### Control de la postacidificación

Post-acidification control

Cepas con menor producción de ácido tras la fermentación: mayor estabilidad en frío.

Strains with lower acid production after fermentation: improved refrigerated stability.



### Diversidad y multifuncionalidad

Diversity and multifunctionality

Cepas autóctonas y cultivos que combinan acidificación con aroma, exopolisacáridos (textura) o bioprotección, según la cepa.

Indigenous strains and cultures combining acidification with aroma, exopolysaccharides (texture) or bioprotection, depending on the strain.

**Cada propiedad debe comprobarse en el cultivo y en la elaboración de destino.**

Each property must be verified in the culture and in its intended cheesemaking process.

# El anillo de vanguardia: los cultivos adjuntos

The frontier ring: adjunct cultures

## 1. Bioprotectores

Bioprotective cultures

Frenan microorganismos no deseados.

Help inhibit unwanted microorganisms.

## 3. Probióticos

Probiotic cultures

Beneficios demostrados con cepas vivas y dosis adecuadas.

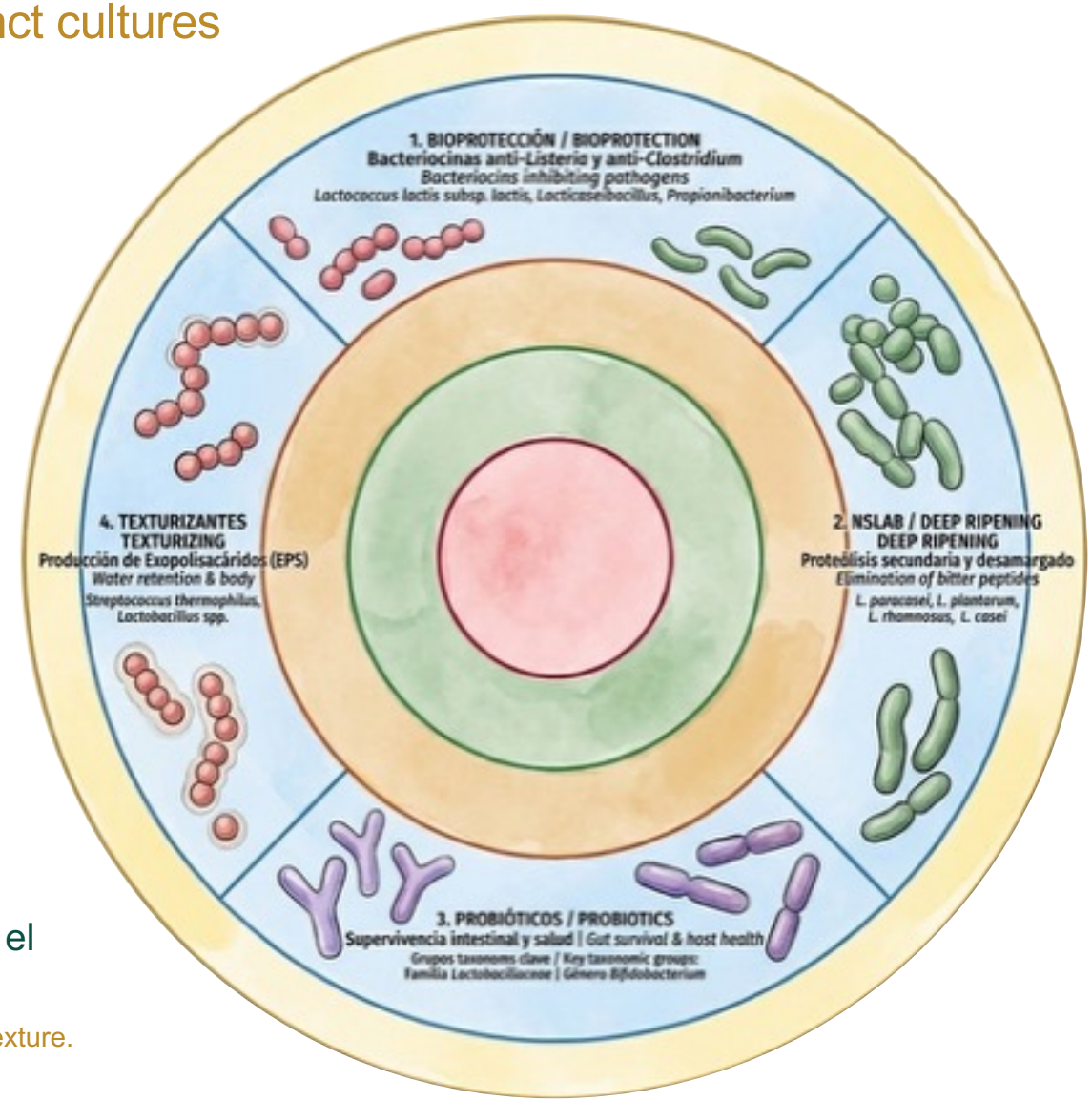
Proven benefits with appropriate live strains and doses.

## 4. Texturizantes

Texturizing cultures

Producen EPS que mejoran el cuerpo y la textura.

Produce EPS that improve body and texture.




## 2. NSLAB: bacterias lácticas no iniciadoras

Non-starter lactic acid bacteria

## El tesoro de las queserías artesanales

A microbial treasure for artisan cheesemakers

La leche cruda y los fermentos tradicionales aportan diversidad para el aroma y el sabor.

Raw milk and traditional cultures bring diversity that contributes to aroma and flavour.

## Más allá de la acidificación

Beyond acidification

Su función principal no es iniciar la acidificación.

Their primary role is not to initiate acidification.

# Tendencias en cultivos adjuntos

Trends in adjunct cultures

## Afinado y lisis

Ripening and lysis



Bacteriocinas seleccionadas para favorecer la lisis del cultivo iniciador y liberar enzimas de afinado.

Selected bacteriocins to promote starter lysis and release ripening enzymes.

## Bioprotección

Bioprotection



Cultivos frente a microorganismos concretos. Validar su eficacia y compatibilidad en el queso.

Cultures targeting specific microorganisms. Validate efficacy and compatibility in cheese.

## Textura



Exopolisacáridos (EPS) para modificar el cuerpo, la retención de agua y la sinéresis.

Exopolysaccharides (EPS) to modify body, water retention and syneresis.

## Probióticos

Probiotics



Seleccionar cepas con viabilidad y beneficios demostrados para las dosis y condiciones de uso.

Select strains with viability and demonstrated benefits at the intended doses and conditions.

# El anillo de afinado: aroma, textura y apariencia

The ripening ring: aroma, texture and appearance

## 1. Levaduras

Yeasts

Consumen lactato y desacidifican la superficie, favoreciendo a otros microorganismos de afinado.

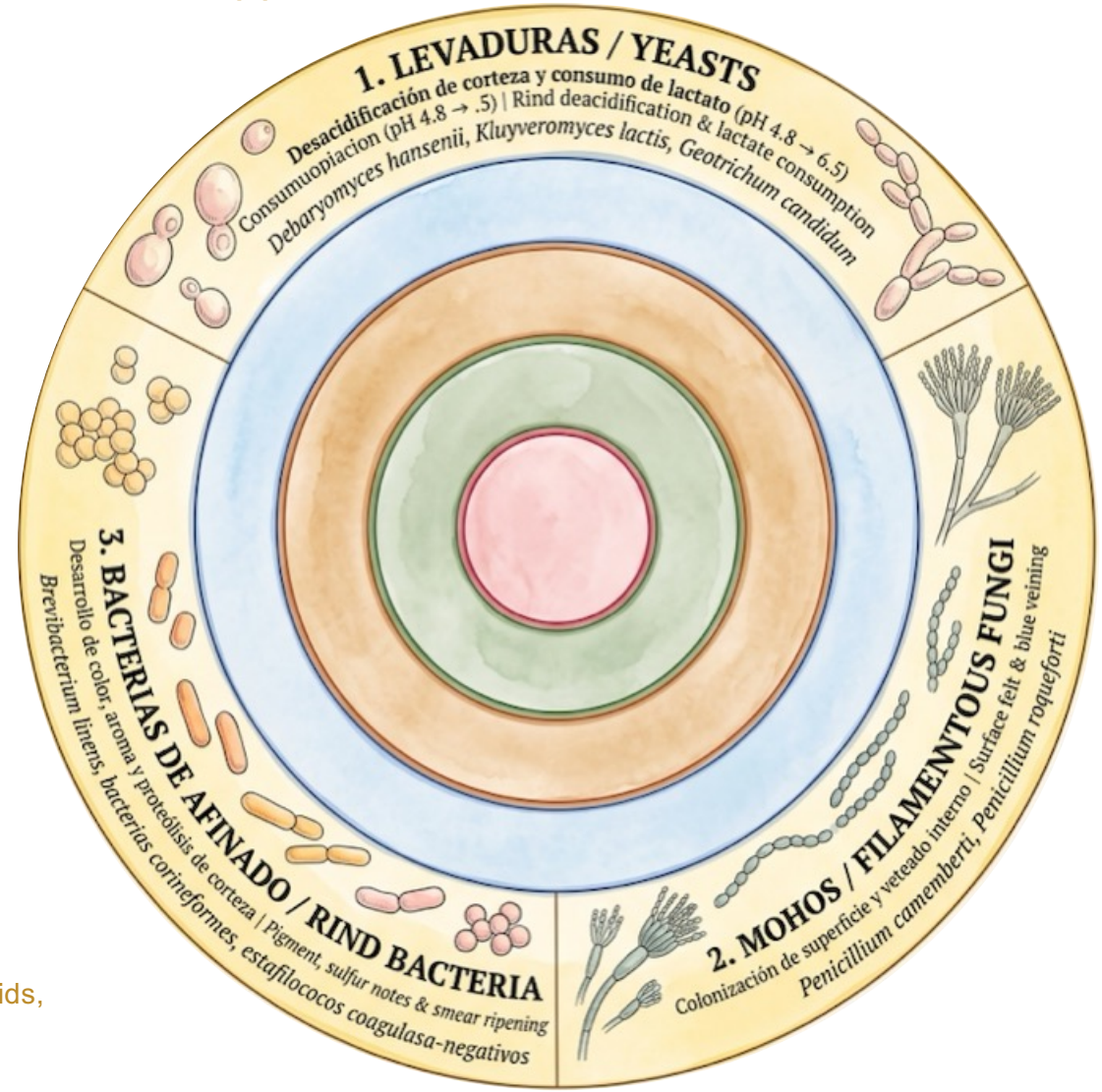
They consume lactate and deacidify the surface, supporting other ripening microorganisms.

## 3. Bacterias

Ripening bacteria

Transforman péptidos y aminoácidos: aroma, sabor y apariencia de la corteza.

They transform peptides and amino acids, contributing to rind aroma, flavour and appearance.




## 2. Mohos

Moulds

Degradan proteínas y grasas, desarrollando textura y aromas.
De cobertura: *P. camemberti*.
Interiores: *P. roqueforti*.

They break down proteins and fats, developing texture and aroma.
Surface mould: *P. camemberti*.
Internal mould: *P. roqueforti*.

# Tendencias en cultivos de afinado

New trends in ripening cultures

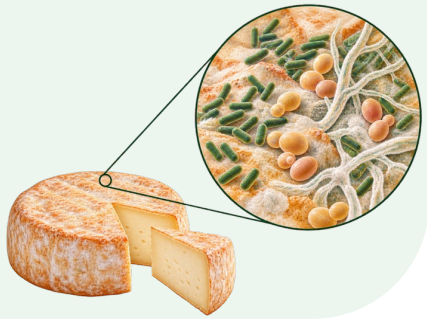
## Conservar y seleccionar diversidad

Preserving and selecting diversity

Colecciones de cepas: conservar diversidad, caracterizar y seleccionar funciones.

Strain collections: preserve diversity, characterise strains and select functions.

Francia / France: INRAE–Aurillac y LIP*
Suiza / Switzerland: Agroscope
España / Spain: IPLA-CSIC



## Combinaciones de microorganismos

Microbial combinations

Estudiar las interacciones entre bacterias, levaduras y mohos para seleccionar comunidades de afinado.

Study bacterial, yeast and mould interactions to select ripening communities.

## Cortezas con función protectora

Protective rind communities

REINFORCE (2026–2029): comunidades frente a Listeria. Investigación en curso.

Communities targeting Listeria. Research in progress.

## Asociar genoma, proteoma y metaboloma para identificar marcadores y orientar la selección de cepas, con validación en el queso.

Link genome, proteome and metabolome to identify markers and guide strain selection, validated in cheese.

* LIP: desarrollo y producción de fermentos / culture development and production. Shoukat et al. (2025); Agroscope, REINFORCE.

# IA y desarrollo de fermentos

## AI and starter culture development

### Medir

Measure

Microorganismos, genes y metabolitos, junto con datos de elaboración.

Microorganisms, genes and metabolites, alongside process data.

### Relacionar

Connect

La IA busca patrones asociados a acidificación, aroma y textura.

AI identifies patterns associated with acidification, aroma and texture.

### Priorizar y ensayar

Prioritise and test

Orienta la selección de cepas y condiciones que deben probarse.

It guides the selection of strains and conditions for experimental testing.

**Ejemplo citado: 24 cepas de S. thermophilus y 15 compuestos aromáticos. Modelos y evaluación sensorial para estudiar el aroma cremoso en leche fermentada.**

Cited example: 24 S. thermophilus strains and 15 aroma compounds; models and sensory evaluation of creamy aroma in fermented milk.

**Límite actual: datos de calidad y validación en cada producto y proceso.**

Current limitation: data quality and validation for each product and process.

**Basado en Terzioğlu y Tekgül (2026).** Fermentation, 12, 391. Revisión. doi:10.3390/fermentation12080391

# Conclusiones

Conclusions

## Conocer lo que sembramos

Know the cultures we use

Ir más allá del nombre comercial: conocer las especies y sus funciones.

Look beyond the commercial name: understand the species, strains and their functions.



## Aprovechar el potencial de los adjuntos

Make use of adjunct cultures

Explorar su capacidad para prevenir amargores, reducir el uso de conservantes y optimizar operaciones y energía, según la cepa y la elaboración.

Explore their potential to prevent bitterness, reduce preservative use and optimise processing and energy use, depending on the strain and cheesemaking process.



## Innovar conservando la singularidad

Innovate while preserving distinctiveness

Aplicar el conocimiento sin perder el *terroir* microbiano. Tener siempre presente la relación entre leche, entorno, clima y saber hacer que distingue a cada quesería.

Apply scientific knowledge while preserving microbial terroir. Always keep the relationship in mind between milk, environment, climate and know-how that makes each dairy distinctive.



02

# Tipos de cuajo

Breve historia – Clasificación legal en España – Cuajo y extracto de cuajo – Cuatro orígenes: distintas enzimas – Como se obtienen – Como se forma la cuajada – El coagulante y la identidad del queso – Confusiones habituales – Elegir con conocimiento.

A brief history - The legal classification in Spain - Rennet and rennet extract - Four sources, different enzymes – How are milk coagulants produced? - How does the curd form? - The coagulant and the identity of cheese – Common misconceptions - Making an informed choice

# Breve historia del cuajo: de la tradición a la biotecnología

A brief history of rennet: from tradition to biotechnology

## s. I / 1st century

### Cuajo animal y vegetal

**Animal rennet and plant coagulants**

Columela describe cuajo, cardo e higuera.

**Columella describes rennet, thistle and fig. tree**

## 1874

### Cuajo animal estandarizado

**Standardised rennet extract**

Comercialización de cuajo de fuerza controlada.

**markets standardised animal rennet.**

## 1972

### Coagulante microbiano

**Microbial coagulant**

Ya se documenta el uso industrial de Mucor miehei.

**Industrial use of Mucor miehei is documented.**

## 1990

### Quimosina por fermentación

**Fermentation-produced chymosin FPC**

La FDA reconoce como GRAS un preparado de E. coli K-12.

**FDA affirms an E. coli K-12 preparation as GRAS.**

# ¿A qué llamamos cuajo? La clasificación legal en España

## What do we call rennet? The legal classification in Spain

### 1 · Cuajo
Animal rennet

**Extraído exclusivamente de cuajares de rumiantes; quimosina pura o mezclada con pepsina de rumiantes.**
Extracted exclusively from ruminant abomasa; pure chymosin or mixed with ruminant pepsin.

### 2 · Quimosina
Chymosin

**Separada y purificada de cuajares, o (1996) producida por fermentación mediante un microorganismo modificado genéticamente.**
Separated and purified from abomasa, or (1996) produced by fermentation using a genetically modified microorganism.

### 3 · Coagulante animal
Animal coagulant

**Origen animal distinto; quimosina y pepsina.**
Animal origin other than rennet as defined in section 4.1.1; chymosin and pepsin.

### 4 · Coagulante vegetal
Plant coagulant

**Proteinasas de Cynara cardunculus, Cynara humilis y Ficus carica.**
Proteinases from Cynara cardunculus, Cynara humilis and Ficus carica.

### 5 · Coagulante microbiano
Microbial coagulant

**Proteinasas de Endothia parasitica, Mucor pusillus y Mucor miehei.**
Proteinases from Endothia parasitica, Mucor pusillus and Mucor miehei.

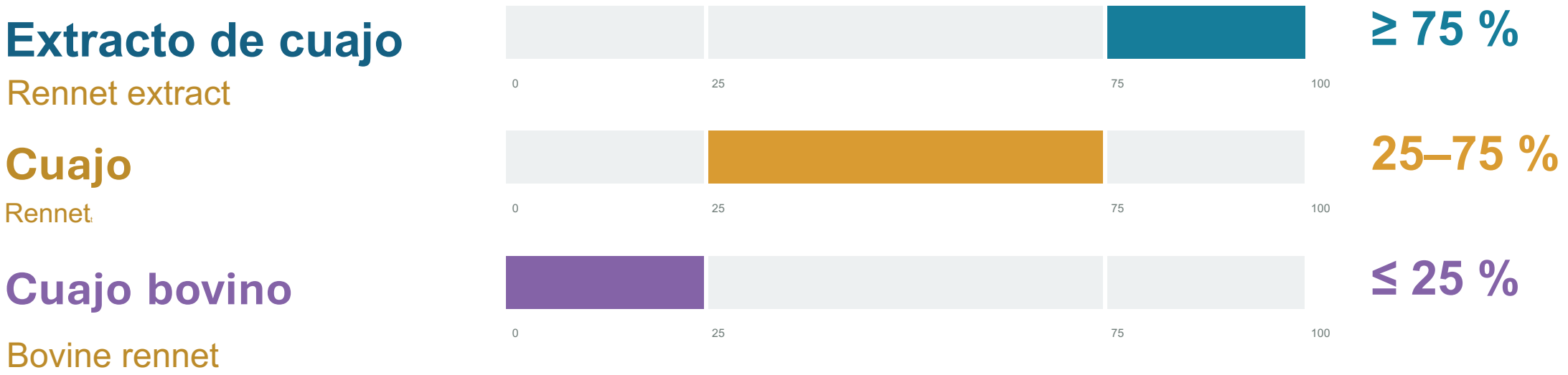
Orden de 14/01/1988 por la que se aprueba la norma general de identidad y pureza para el cuajo y otras enzimas coagulantes de leche, modificada en 1996 y 2022

# Cuajo y extracto de cuajo

Rennet and rennet extract

## La actividad coagulante debida a la quimosina marca la diferencia

The milk-clotting activity attributable to chymosin makes the difference. Coloured bands show the legal ranges of chymosin activity




Fuente / Source: Orden de 14/01/1988, modificada en 1996, apartados 5.1–5.3. Interalos según el texto legal / Ranges as stated in the legal text.

# Cuatro orígenes, distintas enzimas

## Four sources, different enzymes









| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **Tipo:**<br>Type | **Cuajo animal**<br>Animal rennet | **Coagulante vegetal**<br>Plant coagulant | **Coagulante microbiano**<br>Microbial coagulant | **Quimosina recombinante**<br>Recombinant chymosin |
| **Origen:**<br>Source | **Cuajar de rumiante**<br>Ruminant abomasum | **Flores de Cynara**<br>Cynara flowers | **Rhizomucor miehei**<br>Rhizomucor miehei | **Gen de quimosina**<br>Chymosin gene |
| **Producción:**<br>Production | **Extracción**<br>Extraction | **Extracción**<br>Extraction | **Fermentación**<br>Fermentation | **Fermentación con microorganismo modificado**<br>Fermentation using a modified microorganism |
| **Enzimas:**<br>Enzymes | **Quimosina y pepsina**<br>Chymosin and pepsin | **Proteinasas vegetales**<br>Plant proteinases | **Mucorpepsina**<br>Mucorpepsin | **Quimosina**<br>Chymosin |

· Imágenes ilustrativas generadas / AI-generated illustrations.

# ¿Cómo se obtienen los coagulantes?

How are milk coagulants produced?

## EXTRACCIÓN

EXTRACTION

### Cuajo animal o coagulante vegetal

Animal rennet or plant coagulant

**La enzima ya está presente en el cuajar o la planta.**

The enzyme is already present in the abomasum or plant.

**Se extrae de esa materia prima.**

It is extracted from that raw material.

## FERMENTACIÓN

FERMENTATION

### Coagulante microbiano

Microbial coagulant

**El microorganismo produce su propia enzima coagulante.**

The microorganism produces its own clotting enzyme.

**Se cultiva y se recupera la enzima.**

It is cultured and the enzyme is recovered.

## FERMENTACIÓN

FERMENTATION

### Quimosina recombinante

Recombinant chymosin

**Se introduce el gen de quimosina en un microorganismo.**

The chymosin gene is introduced into a microorganism.

**Se cultiva; produce quimosina, que se recupera y purifica.**

It is cultured; the resulting chymosin is recovered and purified.

# ¿Cómo se forma la cuajada? Modelo Smith. Actualmente superado

## How does the curd form?

### 1 · Micelas estables

Stable micelles



**Los pelitos representan la protección de κ-caseína.**

The hairs represent the protective κ-casein layer.

### 2 · Corte de κ-caseína

κ-casein cleavage

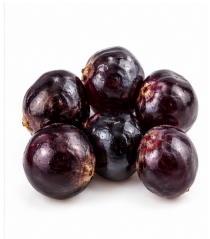


**La enzima corta la κ-caseína: se libera parte del pelito.**

The enzyme cleaves κ-casein: part of the hair is released.

### 3 · Agregación y gel

Aggregation and gel



**Al perder parte de la protección, las micelas se agrupan y forman el gel.**

With less protection, micelles join to form the gel.

## Después: la proteólisis continúa y contribuye a la textura y al sabor.

Later: proteolysis continues and contributes to texture and flavour.

# El coagulante y la identidad del queso

## The coagulant and the identity of cheese



### DOP Torta del Casar – Queso de la Serena

**VEGETAL** · PLANT-BASED

Coagulante vegetal natural flores desecadas **Cynara cardunculus** (yerbacuajo)

Cardoon: Cynara cardunculus

El pliego vincula el cardo con su elaboración tradicional. The specification links plant-based rennet to the traditional cheesemaking process



### DOP Flor / Media Flor de Guía

**VEGETAL** · PLANT-BASED

Flor: 100% vegetal. Media Flor: ≥50 % vegetal. Variedades de cardo **Cynara cardunculus var. feroccisima y Cynara scolymus**

Flor: 100% plant-base coagulant. Media Flor: ≥50% plant coagulant.

El coagulante distingue tres tipos de queso dentro de una misma DOP. The coagulant distinguishes three types of cheese within the same PDO




### DOP Idiazabal - Roncal

**ANIMAL** · ANIMAL

El pliego exige cuajo de origen animal.

The specification requires animal rennet.

La elección del coagulante forma parte de sus reglas. Uso de cuajo en pasta y/o cuajares de cordero triturados con sal (preparación - infusión). The choice of coagulant is part of its production rules. Use of rennet paste and/or lamb abomasa crushed with salt (prepared as an infusion)



### Queso Manchego

**ELECCIÓN** · CHOICE

Cuajo natural u otras enzimas autorizadas.

Natural rennet or other authorised enzymes.

Una DOP no implica siempre exclusividad de cuajo animal.
PDO status does not always require the exclusive use of animal rennet.

**Elegir el coagulante es decidir qué queso queremos hacer /** Choosing the coagulant means deciding what kind of cheese we want to make

# Confusiones habituales
## Common misconceptions

| Confusión<br>Misconception | Aclaración<br>Clarification |
|---|---|
| **Llamar «cuajo» a todo**<br>Calling every coagulant “rennet” | El nombre comercial no sustituye a la denominación legal.<br>A trade name does not replace the legal product designation. |
| **Microbiano = Quimosina recombinante**<br>Microbial = recombinant chymosin | Ambos pueden obtenerse por fermentación, pero no son la misma enzima.<br>Both can be produced by fermentation, but they are not the same enzyme. |
| **Cuajo = quimosina recombinante**<br>Rennet = recombinant chymosin | El cuajo se extrae de cuajares de rumiantes; la quimosina recombinante se produce por fermentación mediante un microorganismo modificado genéticamente.<br>Rennet is extracted from ruminant abomasa; recombinant chymosin is produced by fermentation using a genetically modified microorganism. |
| **DOP = cuajo animal**<br>PDO = animal rennet | Hay que consultar el pliego: cada DOP establece sus condiciones.<br>Check the specification: each PDO sets its own requirements. |
| **Misma coagulación = mismo queso**<br>Same clotting = same cheese | Una coagulación similar no garantiza la misma evolución durante la maduración.<br>Similar clotting does not guarantee the same development during ripening. |

**Antes de elegir: comprobar origen, enzimas y ficha técnica.**
Before choosing: check the source, enzymes and technical data sheet.

# Elegir con conocimiento

## Making an informed choice

### Conocer el origen

Know the source

La quimosina recombinante surgió, entre otros motivos, ante la disponibilidad limitada de cuajo animal.

Recombinant chymosin was developed partly in response to limited animal rennet supplies.

### Elegir por el resultado

Choose for the result

Coagular más rápido no significa obtener un mejor queso. Importan la elaboración, la maduración y el queso que queremos conseguir.

Faster coagulation does not mean better cheese. What matters is the cheesemaking process, the ripening and the cheese we want to make.

### Respetar la identidad

Respect identity

El coagulante debe responder al queso que queremos hacer y a nuestro proyecto quesero.

The coagulant should suit the cheese we want to make and our cheesemaking approach.

## Si cuidamos el origen de nuestra leche ¿por qué no prestar la misma atención al coagulante?

If we care about where our milk comes from, why not give the same attention to our coagulant?

Basque dairy: tradition inspiring innovation

FACE NETWORK 2026

esneki zentroa Leartiker

MARKINA - XEMEIN

# Eskerrik asko · Gracias

**María Arroyo Cerro** maría@laboratoriosarroyo.com
**Ana Arroyo Fernández** · arroyo@laboratoriosarroyo.com

Laboratorios Arroyo S.A. – C/ 1º de mayo 19a· Santander, Cantabria

esneki zentroa Leartiker

Farmhouse and Artisan Cheese & Dairy Producers European Network

UDALA MARKINA XEMEIN

hazi

#EUSKADIBERRIA

EUSKO JAURLARITZA GOBIERNO VASCO

kide