



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE HIDALGO**
INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

**CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE DIVERSOS TIPOS
DE QUESOS ELABORADOS EN EL VALLE DE TULANCINGO
HIDALGO.**

T E S I S

Que para obtener el título de:
INGENIERO AGROINDUSTRIAL

P R E S E N T A:
SOCORRO PALACIOS VARGAS

Dirección: Dra. Irma Caro Canales. ICAP-UAEH

Tulancingo Hgo. Mayo de 2006

Esta tesis de Licenciatura ha sido financiada a través del proyecto PROMEP/103.5/04/2759 "Caracterización de diversos Quesos Mexicanos con especial atención a los elaborados en el Valle de Tulancingo Hidalgo.

Se agradece al Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos de la UNIVERSIDAD DE LEÓN (España) por su colaboración y apoyo para la realización de este trabajo.

El ser humano ha sido capaz de impulsar los mas grandes avances médicos, científicos, y tecnológicos, pero incapaz de lograr entendimiento consigo mismo y con los demás, esto se debe principalmente a que su conducta no se ajusta al desarrollo de dichos adelantos, ya que recibe mayor información de la que puede retener; por otro lado las tensiones a las cuales se ve sometido en su diaria contienda por vivir, lo mantienen en un estado de eterna angustia que no libera adecuadamente.

Sin embargo siempre hay oportunidad de lograr el equilibrio emocional requerido para superarnos; la naturaleza nos ha dotado de los mecanismos necesarios que permiten controlar nuestras emociones.

Así modificando conductas podemos transitar por la vida con optimismo y decisión para lograr los objetivos deseados; la forma mas sencilla de afrontar un desafío y vencerlo es con una **SONRISA.**

¿Por qué no aprendemos a sonreír?

AGRADECIMIENTOS

Principálmemente a **DIOS** por haberme permitido llegar hasta aquí y por enseñarme que las únicas personas que Jamás cometen errores son aquellas que no hacen nada.

A mí directora de tesis **Dr. Irma Caro Canales**, por la paciencia, el tiempo y los conocimientos compartidos conmigo para llevar a cabo la culminación satisfactoria de esta Tesis.

Al **Dr. Javier Mateo Oyagüe**, por todos aquellos grandes consejos, y por el tiempo que invirtió en la realización de esta Tesis.

A la comisión revisora:

M. en C. Sergio Soto Símental por todo el apoyo y consejos compartidos durante la elaboración de esta Tesis

Dr. Rafael Campos Montiel y **Dr. Juan Francisco Hernández Chávez**, gracias por los comentarios aportados para la mejora de este trabajo.

Y finalmente como pasar por alto a todos mis amigos y compañeros de carrera, **GRACIAS**, por los buenos y malos momentos, se que cada uno nos dejó algo inolvidable y por ellos es que estamos donde estamos, los extrañare.

A TODOS MUCHAS GRACIAS

DEDICATORIAS

A lo mejor que la vida me ha dado mi Familia:

Sr. Andrés Palacios, Sra. Socorro Vargas; Papá y Mamá Gracias por haber confiado en mí y por haberme alentado en seguir adelante, por haberse preocupado por mí, y por todos aquellos sacrificios que pasamos al estar lejos, pero finalmente lo logramos, los **QUIERO MUCHO**.

Susy, Espe y Paty; Se que tal vez a ustedes les hubiera gustado ayudarme de muchas maneras más, pero de la manera en que lo hicieron siempre se los voy a agradecer, el escucharme y el aconsejarme, el hacer de su casa mi casa y el ser mis amigas nunca se los podré pagar. **GRACIAS LAS QUIERO MUCHO**

Rodrí; A ti también tengo tanto que agradecerte que en unas cuantas palabras no lo podría hacer, solo quiero decirte que le agradezco a dios el tenerte como hermano y que si me hubieran dado la oportunidad de escogerlo te hubiera escogido a ti tal y como eres **TE QUIERO MUCHO** y quiero decirte que gran parte de lo que soy es por tí. **GRACIAS POR TODO**

Y definitivamente ustedes son miembros indispensables de esta familia, Rubén gracias por todo, Juan gracias y claro a cada uno de mis niños por las alegrías compartidas conmigo "Lupita, Juanito, Baruch, Cris y Monse"

LOS QUIERO MUCHO

ÍNDICE

ÍNDICE DE CUADROS	Pág.
ÍNDICE DE FIGURAS	i
RESUMEN	iii
INTRODUCCIÓN	iv
JUSTIFICACIÓN	1
OBJETIVOS	2
1. REVISIÓN DE LITERATURA	
1.1 Definición y antecedentes históricos del queso	4
1.2 Producción mundial de la leche y quesos	5
1.3 Producción de queso en México	6
1.4 Producción de queso en el Valle de Tulancingo Hgo	8
1.5 Quesos Mexicanos	9
1.5.1 Quesos típicos Mexicanos	9
1.5.2 Clasificación de los quesos Mexicanos	10
1.5.3 Clasificación de quesos por la Norma Oficial Mexicana NOM-121-SSA1-1994	12
1.5.4 Características de los quesos analizados	14
1.6 Bibliografía científica y tecnológica sobre los quesos Mexicanos	23
1.7 Microbiología de los quesos	23
1.7.1 Generalidades	23
1.7.2 Factores que influyen en el crecimiento microbiano en el queso	25
1.8 Principales grupos microbianos de los quesos	26
2. MATERIALES Y MÉTODOS	
2.1. Toma de muestras	30
2.2. Análisis microbiológicos	30
2.2.1. Preparación de la muestra y realización de las diluciones	30
2.2.2. Flora aerobia mesófila viable	31
2.2.3. Flora aerobia psicrotrofa viable	31
2.2.4. Mohos y levaduras	31
2.2.5. Bacterias ácido lácticas	31
2.2.6. Recuento de coliformes y <i>Escherichia coli</i>	32
2.2.7. Expresión de resultados	32
2.3. Análisis fisicoquímicos	33
2.3.1. Prueba de la fosfatasa	33
2.3.2. pH	33

2.3.3.	Actividad de agua (a_w)	33
2.3.4.	Acidez de la grasa (% de Ac. Oleico)	34
2.3.4.1	Extracción de la grasa	34
2.3.4.2	Determinación del Índice de acidez (IA)	34
2.3.5.	Nitrógeno alfa amínico o aminoacídico	35
2.4.	Análisis estadístico	36
3.	RESULTADOS	
3.1.	Queso Tipo Panela	37
3.2.	Queso Tipo Oaxaca	39
3.3.	Queso Manchego Botanero	42
3.4.	Queso Manchego Mexicano	44
3.5.	Queso Tenate	47
3.6.	Queso Morral	49
3.7.	Principales indicadores microbiológicos.	52
4.	DISCUSIÓN	55
5.	CONCLUSIONES	62
6.	BIBLIOGRAFIA	63
7.	ANEXO	71

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Pág.
3.1	Valores de fosfatasa, pH, a_w , índice acidez de la grasa y nitrógeno alfa aminico en el queso Tipo Panela elaborado en el estado de Hidalgo	38
3.2	Recuentos microbianos (Log ufc/g) en el Queso Tipo Panela elaborado en el Estado de Hidalgo	38
3.3	Coeficientes de Correlación (R) de los valores de las distintas variables estudiadas en el queso tipo Panela elaborado en el Estado de Hidalgo	39
3.4	Valores de fosfatasa, pH, a_w , Índice acidez de la grasa y nitrógeno alfa aminico en el queso Tipo Oaxaca elaborado en el Estado de Hidalgo	40
3.5	Recuentos microbianos (Log ufc/g) en el queso Tipo Oaxaca elaborado en el Estado de Hidalgo	41
3.6	Coeficientes de Correlación (R) de los valores de las distintas variables estudiadas en el queso Tipo Oaxaca elaborado en el Estado de Hidalgo	41
3.7	Valores de fosfatasa, pH, a_w , Índice acidez de la grasa y nitrógeno alfa aminico en el queso Manchego Botanero elaborado en el Estado de Hidalgo	43
3.8	Recuentos microbianos (Log ufc/g) en el queso Manchego Botanero elaborado en el Estado de Hidalgo	43
3.9	Coeficientes de Correlación (R) de los valores de las distintas variables estudiadas en el queso Manchego Botanero elaborado en el Estado de Hidalgo	44
3.10	Valores de fosfatasa, pH, a_w , Índice acidez de la grasa y nitrógeno alfa aminico en el queso Manchego Mexicano elaborado en el Estado de Hidalgo	45
3.11	Recuentos microbianos (Log ufc/g) en el queso Manchego Mexicano elaborado en el Estado de Hidalgo	46
3.12	Coeficientes de Correlación (R) de los valores de las distintas variables estudiadas en el queso Manchego Mexicano	46

	elaborado en el Estado de Hidalgo	
3.13	Valores de fosfatasa, pH, a_w , Índice acidez de la grasa y nitrógeno alfa aminico en el queso Tenate elaborado en el Estado de Hidalgo	48
3.14	Recuentos microbianos (Log ufc/g) en el queso Tenate elaborado en el Estado de Hidalgo	48
3.15	Coeficientes de Correlación (R) de los valores de las distintas variables estudiadas en el queso Tenate elaborado en el Estado de Hidalgo	49
3.16	Valores de fosfatasa, pH, a_w , Índice acidez de la grasa y nitrógeno alfa aminico en el queso Morral elaborado en el Estado de Hidalgo	50
3.17	Recuentos microbianos (Log ufc/g) en el queso Morral elaborado en el Estado de Hidalgo	51
3.18	Coeficientes de Correlación (R) de los valores de las distintas variables estudiadas en el queso Morral elaborado en el Estado de Hidalgo	51
3.19	Recuentos microbianos (Log ufc/g) en seis diferentes quesos	53
3.20	Coeficientes de Correlación (R) para el conjunto de los quesos elaborado en el Estado de Hidalgo	54

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Pág.
1.	Proceso de elaboración del queso tipo Panela	15
2.	Proceso de elaboración del queso tipo Oaxaca	16
3.	Proceso de elaboración del queso Manchego Botanero	18
4.	Proceso de elaboración del queso Manchego Mexicano	19
5.	Proceso de elaboración del Queso Tenate	21
6.	Proceso de elaboración del Queso Morral	22
7.	Placa de Petrifilm™	32

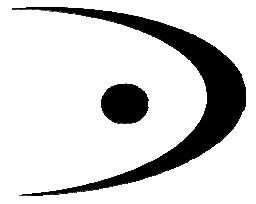
RESUMEN

La región del Valle de Tulancingo es una de las más importantes en el estado de Hidalgo en cuanto a producción de leche y queso. Por otra parte, la producción de quesos en esta región tiene un carácter marcadamente artesanal, con procedimientos empíricos y tecnologías muchas veces no apropiadas, con carencias técnicas y de control de calidad, etc. La microbiología de los quesos es una parte importante de su caracterización y puede servir como indicador de su calidad higiénico-sanitaria. Hasta el momento hay pocos estudios sobre la microbiología de los quesos elaborados en esta región. En el presente trabajo se caracterizó la microbiota de los principales tipos de quesos elaborados en el Valle Tulancingo mediante el estudio de los recuentos de algunos de los grupos microbianos más relevantes. Los resultados mostraron los siguientes recuentos: Microbiota aerobia total, 6.3-7.6 log ufc/g; Microbiota psicrotrofa, 5.5-7.0; Lactobacilos, 5.6-6.5; Mohos y levaduras, 3.6-5.5; Coliformes, 3.7-6.2 y *E. coli*, 2.7-4.6. Pese a estos rangos relativamente anchos, se detectaron pocas diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre los distintos tipos de quesos. No obstante, el queso tipo Panela, con mayor pH y a_w mostró mayores recuentos de coliformes y *E. coli* que los otros tipos de quesos. Todos los grupos microbianos indicadores de calidad higiénica presentaron recuentos elevados, superiores a los deseables.

ABSTRACT

Tulancingo Valley is one of the most important economic regions in Hidalgo State due to the milk and cheese production. By the other side, cheese production is traditional, empirical and its used deficient technology and quality control. Cheese microbiology is a part of characterization and could be used as indicator as hygienic quality. At the present time there are few studies on cheese microbiology in this region. In this work, its determine microflora from the main cheeses made in Tulancingo Valley through counts several microbial groups. The results showed total plate counts were 6.3-7.6 log UFC/g, psicrhotrops microflora were 5.5-7.1, lactobacilli 5.6-6.5. moulds and yeast 3.6-5.5, coliformes 3.7-6.2 and *E. coli* 2.7-4.6. However, there was a few differences ($P < 0.05$) between kinds of cheeses. Panela cheese was observed with the highest pH, aw, coliformes and *E. coli*. All microbial groups showed high counts.

INTRODUCCIÓN



INTRODUCCIÓN

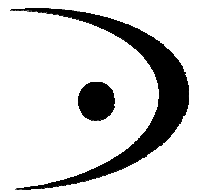
Las características nutricionales que hacen de la leche un alimento completo para la dieta de los seres humanos, también la hacen un medio de cultivo ideal para el crecimiento de una gran variedad de microorganismos.

En México la transferencia de tecnología a los pequeños industriales es prácticamente nula, existiendo así grandes diferencias de ciencia y tecnología entre empresas grandes, medianas y de pequeño tamaño.

La fabricación de queso a nivel nacional se puede dividir en dos grandes grupos. Por un lado, se encuentran la fabricación de quesos con leche pasteurizada que cumple con normas oficiales, que corresponde a las empresas lácteas con mayor volumen de producción, y por otro lado, la fabricación de quesos que se realizan a partir de leche cruda, la no cumple con las mismas normas sanitarias establecidas, lo que implica un riesgo para la salud. A este grupo pertenece la mayoría de las medianas y pequeñas empresas (Franco 1998).

Una de las ramas de la industria láctea que depende en gran manera de la actividad de los microorganismos, es la industria quesera. Una gran variedad de quesos han sido elaborados bajo la actividad enzimática de diversas especies bacterianas en su mayoría del grupo coliformes y fúngicas. Proporcionándole al productor una mayor rapidez en la elaboración de los quesos y logrando así un importante crecimiento económico en la región, sin embargo debido a su descontrolada elaboración (prácticas de manufactura) no se tiene un control adecuado que permita homogenizar su calidad y afectando esto la vida útil de los quesos.

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS



JUSTIFICACIÓN

No existe información científico-técnica suficiente como para definir o tipificar la mayoría de los quesos mexicanos en cuanto a composición, microbiología y proceso de elaboración. Por lo tanto, la caracterización de los quesos mexicanos regionales permitirá por un lado, conocer su calidad actual y proponer estándares para cada tipo de queso.

Además, el estudio de los indicadores de calidad microbiológica de los quesos posibilitará conocer o estimar tanto la vida de anaquel como los posibles riesgos sanitarios que existen al consumir dichos productos, y proponer acciones para la mejora de la calidad de los productos lácteos en la región.

OBJETIVOS

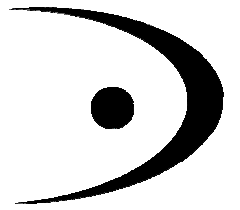
Objetivo General

- Contribuir a la mejora del sector quesero regional mediante el conocimiento de las características microbiológicas de los quesos elaborados en la región, que permitirá el establecimiento de estándares de calidad.

Objetivos Específicos

- Conocer la microbiología (grupos microbianos más importantes) de los quesos elaborados en la región.
- Conocer los riesgos microbiológicos asociados al consumo de los quesos de la región del Valle de Tulancingo mediante el estudio de diversos indicadores microbiológicos de la calidad higiénica de los quesos.

REVISIÓN DE LITERATURA



1. REVISIÓN DE LITERATURA

La leche se define como el producto íntegro, no alterado, ni adulterado y sin calostros, obtenido del ordeño higiénico, regular, completo y no interrumpido de las hembras mamíferas domésticas, sanas y bien alimentadas. Las características nutricionales que hacen de la leche un alimento completo para la dieta de los seres humanos, también hacen de esta un medio de cultivo ideal para el crecimiento de una gran variedad de microorganismos.

Ya en la antigüedad se aprovechaba la actividad de las bacterias para la elaboración de productos lácteos y para la conservación de la leche, fue así como se inicio la elaboración del yogurt y otras bebidas lácteas fermentadas, donde, como resultado del metabolismo fermentativo de la lactosa y la consecuente producción de ácido láctico, se conseguía la variación de las características físico-químicas de la leche y se prolongaba su vida útil (Bernardo, 1997).

1.1 Definición y antecedentes históricos del queso

El termino latino de la palabra queso es “caseus”, La FAO lo ha definido de la siguiente manera: **“Queso, es un producto fresco o madurado obtenido por drenaje (del liquido) tras la coagulación de la leche, nata, leche desnatada total o parcialmente, grasa láctea o una combinación de estos componentes”** (Scott, 1991).

La elaboración de la mayoría de los quesos (más de 1000 variedades en el mundo) implica el uso de leche, cuajo, microorganismos y sal. El proceso de elaboración suele incluir los pasos de formación del gel o cuajada, desuerado, acidificación microbiana, salado, seguido de un proceso de maduración (Beresford *et al.*, 2001).

Dado que uno de los principales productos lácteos son los quesos, la calidad de la leche está relacionada con su aptitud quesera. Para la elaboración de un buen queso es necesario una leche de buena calidad, los principales aspectos que permiten conocer la calidad quesera de la leche son: su composición físico-química,

su contenido de células somáticas, su contenido de gérmenes patógenos y alterantes, sus características sensoriales y sus características nutritivas (Aumaître, 1999; Boyazoglu *et al.*, 2001).

El queso es uno de los alimentos más antiguos consumidos por el ser humano, además de ser uno de los mejores alimentos de los que dispone el hombre. Se cree que se desarrolló hace 8000 años en los países cálidos del Mediterráneo Oriental. Las tribus nómadas de estos países transportaban la leche en recipientes fabricados con piel de animales, estómagos, vejigas, etc. A temperatura ambiente la leche se acidifica rápidamente, separándose en cuajada y suero.

El suero probablemente proporcionaba una bebida refrescante, mientras que la cuajada constituía una masa firme que podía consumirse directamente o conservarse durante períodos más largos. Posiblemente esta fermentación natural de la leche evolucionó en dos sentidos: de un lado hacia la producción de las leches fermentadas líquidas como el yogur y por otro lado, mediante el desuerado a través de paños o de recipientes perforados, hacia cuajadas sólidas que podían salarse y mantenerse períodos más prolongados. De esta forma se conservaba gran parte del valor nutritivo de la leche, permitiendo su utilización en épocas de escasez de leche líquida.

Con el tiempo se comprobó que la secreción del estómago de rumiantes jóvenes tenía la capacidad de coagular la leche, conduciendo este hecho a la posterior utilización del cuajo para elaborar el queso.

1.2 Producción mundial de la leche y quesos

Del total de la producción mundial de leche de distintas especies de animales domésticos (toneladas producidas), la leche de vaca representa aproximadamente el 86.35%, esto se debe a la gran adaptabilidad de las distintas razas del ganado vacuno a las distintas condiciones productivas. La producción mundial de leche de las distintas especies ha tenido un ligero incremento en los países de mayor producción. En México la producción de leche de vaca va en aumento.

La producción total de quesos en el mundo es de 18, 482,985 toneladas (FAOSTAT, 2006)

1.3 Producción de queso en México

En cifras, la producción de quesos en México es de 132,654 toneladas, lo que representa, teniendo en cuenta un rendimiento medio del 10%, el uso de 1,326,540 toneladas de leche, un 13.44% de la producción total nacional (FAOSTAT, 2006)

Actualmente el sector de leche en México parece estar caracterizado por una creciente intervención del gobierno en la mejora de las razas y los sistemas de producción, en la distribución y procesado de la leche. Sin embargo, México no se autoabastece de leche y productos lácteos producidos en el país y se recurre a la importación de leche en polvo, que con el libre comerciό puede llegar a ser más rentable su uso para elaborar quesos, que la propia leche.

Desde una perspectiva histórica de hace unas décadas, la actitud permisiva de la importación de leche en polvo a bajo precio parece que tuvo una justificación en regulación del precio del mercado interno y la ayuda a los sectores con menor poder económico (Losada *et al.*, 2000). Hoy en día, además de la leche en polvo y concentrados proteicos derivados de la leche, se importan quesos o sustitutos de quesos, por parte de empresas con capital extranjero (Comunicación personal, 2005).

En cualquier caso, el queso es un ingrediente habitual de la cocina mexicana, elaborándose una gran variedad de quesos, que gozan de cierta tradición, a veces localizada regionalmente. Algunos de los quesos típicos mexicanos son el queso Fresco o Frescal, Amarillo, Doble Crema, Oaxaca, Manchego, Manchego Botanero, Chihuahua, Panela, Tenate, Morral, etc. La mayoría de los quesos que se elaboran en México son frescos o de corta maduración con buena aptitud para el fundido (con un pH de 5.1-5.3) y algunos con propiedades de desmoronarse o fragmentarse.

La importación de quesos, al igual que la de la leche ha mostrado un crecimiento significativo y permanente desde 1995. El monto total de las compras del queso en el exterior en el 2003 ascendió a 77,570 toneladas lo que implica un

crecimiento anual del 9.1% de 1994 a 2003, sin embargo al cambiar, el año de inicio del cálculo de 1995, la tasa anual se incrementó al 21.6% (Villamar, 2004).

La traducción de este tonelaje al equivalente de leche fluida requerida para su elaboración un volumen de 930.8 millones de litros de leche, lo que a su vez significa cerca del 10% de la producción nacional de leche. La composición de estas importaciones muestra una clara tendencia de ingresos de quesos por fracciones de aranceles bajos, entre los que cabe destacar los quesos Gouda, Edam, Parmesano, quesos rayados o en polvo. También, aunque en menor importancia, es curioso mencionar que hasta la importación de quesos frescos ha experimentado una escalada en los últimos años para significar el 7.1% del total de quesos importados en el año 2003. El monto de las importaciones de suero en polvo, aunque en el 2001 mostró un crecimiento importante para llegar a más de 80,000 toneladas, en términos generales han fluctuado entre las 60,000 toneladas y las 70,000 toneladas (Villamar, 2004).

La fabricación de queso a nivel nacional se puede dividir en dos grandes grupos. Por un lado, se encuentra la fabricación de quesos con leche pasteurizada que cumple con normas oficiales y está relacionada con las empresas lácteas con mayor volumen de producción o empresas que, sin ser tan grandes, elaboran queso de mayor calidad. Por otro lado, la fabricación de quesos a partir de leche cruda, que sólo por este motivo, salvo que hayan tenido periodos de maduración de dos meses o superiores, no cumplen con las normas sanitarias, lo que implica un riesgo para la salud. A este grupo pertenecen demasiadas de las medianas y pequeñas empresas.

Otra característica que define la producción de los pequeños fabricantes es la dificultad y la poca agilidad en los mecanismos de transferencia de tecnología a los pequeños industriales, así como la falta de recursos y/o beneficios para renovar, ampliar o adecuar sus instalaciones o equipos.

Además, cabe resaltar que las condiciones del mercado han hecho surgir espontáneamente la práctica, muy extendida, de utilizar materias primas diferentes a la leche, como la grasa vegetal y emulsionantes, y otros derivados de la misma como

caseinatos, concentrados proteicos, leche en polvo, etc., para la elaboración de quesos.

Finalmente, hay que mencionar el problema que supone el vertido del suero como desecho contaminante de las industrias lácteas, especialmente marcado en ciertas zonas como el Valle de Tulancingo y sobre el que se está tratando de buscar soluciones.

1.4 Producción de queso en el Valle de Tulancingo Hgo.

La región del Valle de Tulancingo es una de las más importantes en el estado de Hidalgo en cuanto a la producción de leche y quesos. La tradición quesera en esta región comenzó hace más de 50 años con el establecimiento de una empresa que elaboraba queso tipo Manchego. A partir de entonces se crearon progresivamente numerosas empresas familiares, lo que ha originado que actualmente existan una amplia gama de productos lácteos principalmente quesos, entre los que cabe destacar los quesos Oaxaca, Tenate, Botanero, Panela, Manchego, Morral y otros (Comunicación personal, 2005).

En la región de Tulancingo-Acatlán se procesan anualmente unos 65 millones de litros de leche en más de 56 queserías, en donde el producto fabricado en mayor cantidad es el queso tipo Oaxaca (Franco, 1998). En concordancia con los datos anteriores las cifras de las estadísticas elaboradas por La Comisión Estatal de la Leche del Estado de Hidalgo en el año 2003, indican que el volumen diario de leche que se transforma en queso en las diversas industrias procesadoras en la mencionada región supera el medio millón de litros, con una producción estimada de aproximada de 60 toneladas de queso por día.

Desde un punto de vista tecnológico, el sector lechero en el Valle de Tulancingo presenta una problemática marcada por diversos hechos, esta problemática seguramente presenta puntos en común con la de otras regiones del país. Uno de estos hechos es la atomización del sector productivo, que dificulta que el acopio de la leche sea realizado con un control adecuado para su pago por calidad y dentro de la cadena de frío, lo que ocasiona una disminución de la calidad higiénica y tecnológica

de la leche. Por otra parte, la producción de quesos en esta región tiene un carácter marcadamente artesanal, muchas veces trabajando con procedimientos empíricos y tecnologías no apropiadas, con carencias tecnológicas, de controles de calidad, etc., caracterizada por heterogeneidad de la calidad de la leche industrializada así como la de los quesos.

En algunos casos, para abaratar costos, se emplea leche en polvo, caseínatos y/o grasa vegetal como materias primas. Además, en algunas ocasiones, para la elaboración de quesos, especialmente el Oaxaca y el Tenate, se realiza con leche cruda, a pesar de que la legislación vigente indica la obligatoriedad de la pasteurización de la leche para los quesos frescos o de corta maduración (Franco, 1998). Otro problema adicional radica en la producción de suero derivado de la elaboración de quesos, suero que actualmente no es aprovechado y se vierte al medio ambiente de la zona ocasionando el deterioro de la región (Torres, 1999).

A iniciativa del gobierno estatal y de los propios productores, y con el ánimo de mejorar el estado del sector lácteo regional, se creó en Hidalgo, hace menos de una década, la Comisión Estatal de la Leche. Esta comisión está llevando a cabo activamente acciones encaminadas a regular y desarrollar el sector lácteo de la región. Además, a través de esta Comisión se han establecido sistemas de pago por calidad de la leche que se comercializa en los mencionados centros, para lo que se ha creado un laboratorio estatal de control de la leche.

1.5 Quesos mexicanos

1.5.1 Quesos típicos mexicanos

El queso empezó a elaborarse en la época pos-colombina. Pronto se desarrollaron zonas de fuerte actividad ganadera como los Altos de Jalisco, que desde antaño ha estado vinculada a la actividad productora de queso (Villegas, 2004). Actualmente el queso es muy utilizado en la gastronomía nacional, procedente de una fusión de culturas, que goza de gran variabilidad de acuerdo a la

región del país y prestigio internacional. Una gran variedad de platillos típicos, como es el caso de los “antojitos mexicanos”, utilizan el queso como ingrediente principal.

Actualmente en México se elaboran más de treinta tipos diferentes de quesos, muchos de ellos de difusión regional que varían entre otros aspectos en forma, tamaño, peso, tipo de pasta y maduración. Por su tipo de pasta los quesos mexicanos pueden ser blandos (panela), semiduros (Chihuahua) y duros (cotija), de pasta lavada (manchego) o de pasta hilada (Oaxaca y Asadero) (Villegas, 2004).

1.5.2 Clasificación de los quesos mexicanos

A continuación se recoge una clasificación con definiciones de distintos quesos mexicanos obtenida de Villegas, 2004:

QUESOS FRESCOS

- Queso Blanco.

Este queso cremoso y blanco es elaborado con leche descremada de vaca es como una mezcla entre queso cotija y queso Mozzarella, tradicionalmente se coagula con jugo de limón lo cual le da un sabor y aroma distintivo a limón. En la actualidad por lo general en forma comercial se elabora con cultivos y cuajo, en vez de limón. Se suaviza con calor, sin embargo no se derrite.

- Queso Panela

También conocido como queso de canasta debido a las marcas que se le forman ya que es moldeado en canastas. Es un queso ligero de pasta blanda y fresca, no tiene ninguna maduración.

- Requesón

Este queso es muy similar al queso Ricota, de procedencia italiana y se elabora con suero, al que se ha podido añadir algo de leche; Su sabor es muy ligero y no es salado. En los mercados en México se vende envuelto en hojas de maíz.

QUESOS SUAVES

- Queso Añejo

Es una versión añejada del queso fresco, y aunque se clasifica como un queso suave, su consistencia puede ser firme y su sabor salado

- Queso Oaxaca

También conocido como quesillo; Este queso es elaborado con leche de vaca es ampliamente popular en toda la republica mexicana, su presentación es en bola, las cuales se forman a partir del enredo de filamentos de queso.

QUESOS SEMI-SUAVES

- Queso Asadero

Este queso se utiliza ampliamente para la elaboración del queso fundido debido a su característico sabor y a sus propiedades de derretirse fácilmente.

- Queso Chihuahua

También conocido como queso Menonita, debido a las comunidades de Menonitas que lo producen, tradicionalmente en el estado de Chihuahua, aunque actualmente también se produce en otros estados en donde existen estas comunidades como el estado de Campeche; este queso es de los únicos en toda la republica que su color es amarillo y no blanco.

- Queso Jalapeño

Queso elaborado con leche de vaca el cual contiene chile jalapeño picado, por lo general no es muy picante aunque si puede ser distinguido el sabor a jalapeño.

- Queso Edam

Aunque su origen no es mexicano, pero se incluye ya que es ampliamente utilizado en la cocina de la región de la península de Yucatán.

- Queso Manchego

El origen etimológico es español, de la región de La Mancha. En México este queso es distinto al tradicional queso manchego español, su color es amarillo.

QUESOS FIRMES

- Queso Añejo Enchilado

Este queso de color blanco está rodeado de una capa roja la cual esta elaborada con chile y especias en polvo, este queso no se derrite.

- Queso Cotija

Este queso tiene su nombre debido al pueblo de Cotija en el estado de Michoacán de donde proviene. Es un queso fuerte el cual se despedaza fácilmente y que es elaborado con leche de cabra. Se le ha comparado como el queso Parmesano mexicano.

- Queso Manchego Viejo

Este manchego ha sido añejado hasta el punto de convertirse en un queso de consistencia firme. Su sabor se intensifica dependiendo del tiempo de añejamiento.

1.5.3 Clasificación de quesos por la Norma Oficial Mexicana NOM-121-SSA1-1994

Existen en el mundo varios tipos de quesos reconocidos en catálogos de quesos del mundo, sin embargo en esta clasificación no se encuentran recogidos la mayoría de los quesos mexicanos. A nivel nacional, hay escasas referencias a los tipos de quesos mexicanos y en ocasiones confusa.

La Norma Oficial Mexicana (NOM 121-SSA1-1994) establece varios tipos de quesos mexicanos, esta clasifica los quesos de acuerdo a su proceso, y la clasificación es la siguiente:

- Frescos
 - a) Frescales: Panela, Canasto, Sierra, Ranchero, Fresco, Blanco, Enchilado, Adobado.

- b) De pasta cocida: Oaxaca, Asadero, Mozzarella, Del Morral, Adobera.
- c) Acidificados: Cottage, Crema, Doble crema, Petit Suisse, Nuefchatel.

- Madurados
 - a) Madurados prensados de pasta dura: Añejo, Parmesano, Cotija, Reggianito
 - b) Madurados prensados: Cheddar, Chester, Chihuahua, Manchego, Brick, Edam, Gouda, Gruyere, Emmental, Cheshire, Holandés, Amsterdam, Butterkase, Coulomiers, Dambo, Erom, Friese, Fynbo, Havarti, Harzer-Kase, Herrgardsost, Huskallsost, Leidse, Maribo, Norvergja, Provolone, Port Salut, Romadur, Saint Paulin, Samsøe, Svecia, Tilsiter, Bola, Jack.
 - c) De maduración con mohos: Azul, Cabrales, Camembert, Roquefort, Danablu, Limburgo, Brie.

- Procesados.
 - a) Fundidos
 - d) Fundidos para untar

- Otros quesos: frescos, madurados y procesados no considerados, deberán observar lo dispuesto en este ordenamiento.

Sin embargo, existen otros tipos de quesos que no se encuentran mencionados en dicha norma, como es el caso del queso tenate que es elaborado en el Valle de Tulancingo Hgo (Contreras, 1999).

La escasez de datos y contradicciones de las variedades de quesos mexicanos posiblemente se pueden deber a una falta de la caracterización de los mismos. Prueba de ello son los pocos trabajos realizados sobre la caracterización de los quesos mexicanos (como se discutirá más adelante).

No existe ningún dato sobre la concesión de denominación de origen o alguna otra marca de calidad a alguno de los quesos mexicanos, esto posiblemente puede

deberse una vez más a la falta de la tipificación de los mismos. De acuerdo con Contreras (1999), dentro de un mismo tipo de quesos existe una amplia heterogeneidad tanto en sus propiedades físico-químicas, como la calidad microbiológica.

1.5.4 Características de los quesos analizados

- **Queso tipo Panela:**

Es un queso fresco de coagulación enzimática de pasta blanda, prensado por su propio peso de, elaborado con leche pasteurizada, también conocido como queso de canasta debido a las marcas que se le forman ya que es moldeado en canastas. En la figura 1 se puede observar el proceso de elaboración de este queso (Silva, 1991).

- **Queso tipo Oaxaca**

Este queso, con este nombre, solo se conoce en México donde se fabrica en todo el país, se conoce también con el nombre de **quesillo, queso de hebra y queso asadero**. Pertenece a la familia de quesos de “pasta hilada”, en cuya tecnología la pasta se acidifica hasta alcanzar un pH de 5.3 a 5.2 y con este procedimiento se moldea y se le da forma. El moldeado puede ser hacer las correas y trenzarlas, o bien, ponerlas un molde y formara rectángulos, en este último caso, se llama **asadero**.

En México, el queso Oaxaca es ampliamente conocido, existiendo en todas las calidades y todos los precios. Aquí en Tulancingo, es difícil contarlas y más difícil evaluarse volumen de producción, su mercado y su rentabilidad.

La gran mayoría de las elaboraciones de queso Oaxaca, se hacen a partir de leche cruda. La secretaria de salud acepta al Oaxaca de leche cruda como “queso pasteurizado” tomando en cuenta que se emplea agua caliente para el fundido de este queso (malaxado). En la figura 2 se puede observar el proceso de elaboración de este queso (Silva, 1991).

Figura. 1. Proceso de elaboración de queso tipo Panela

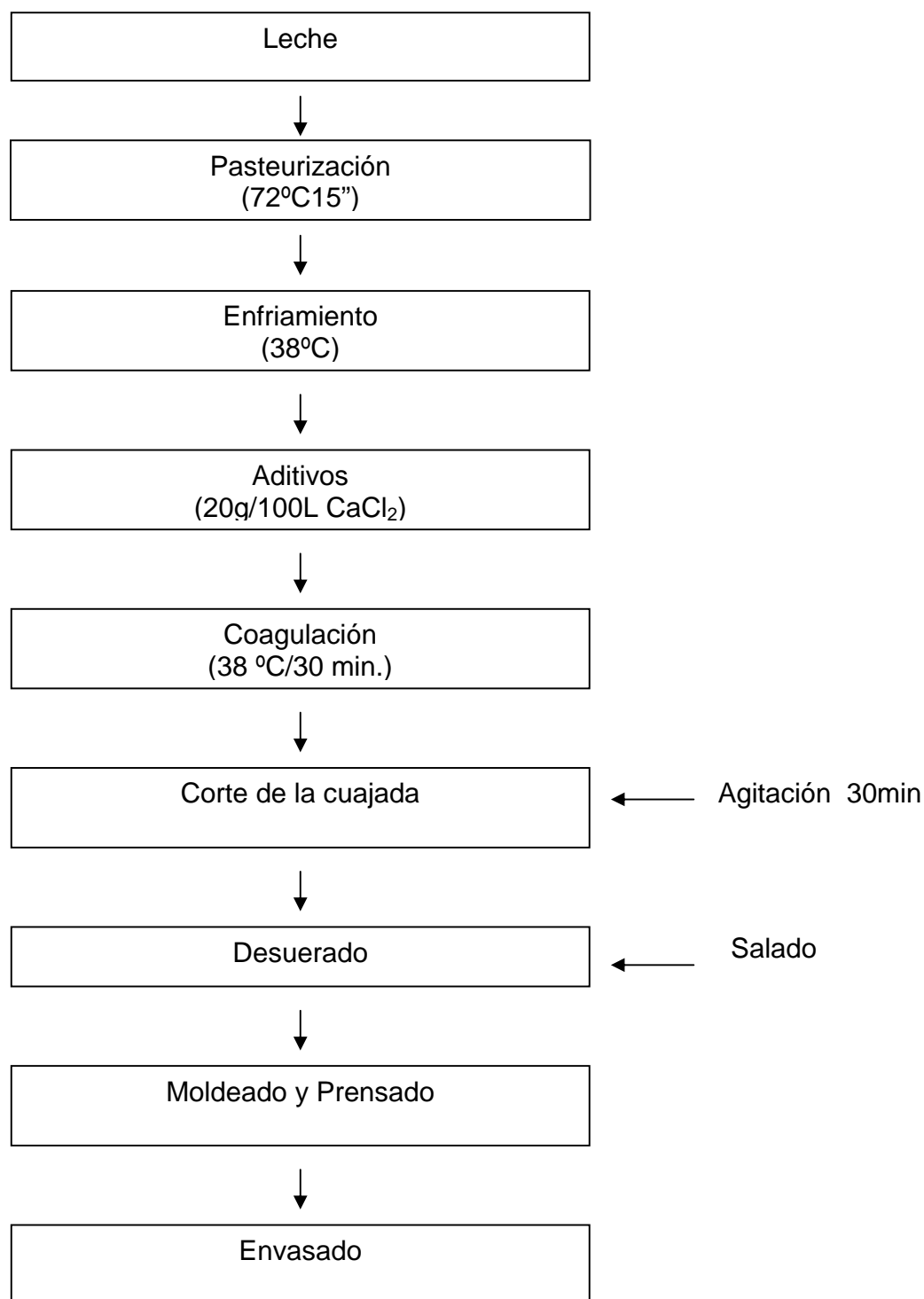
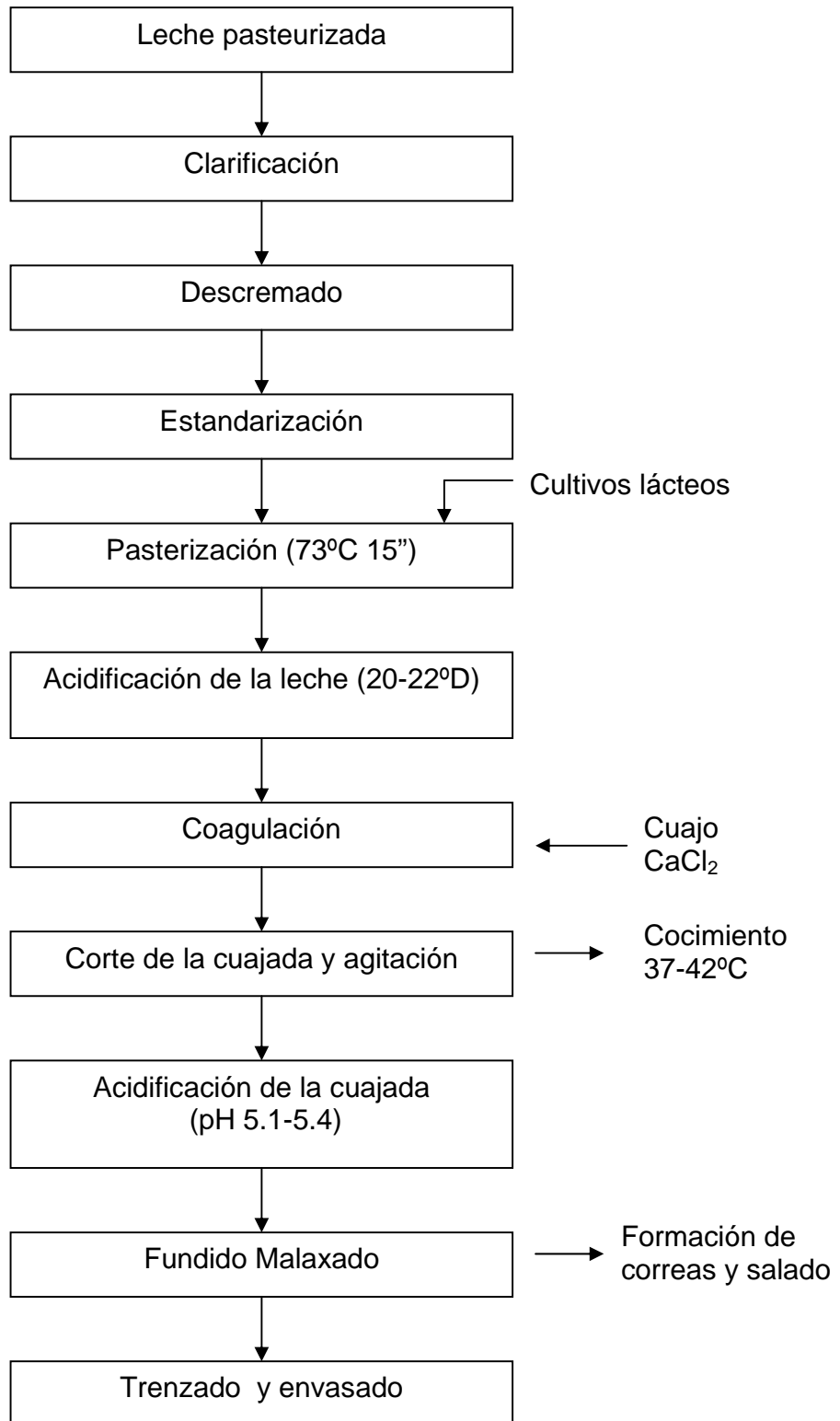


Figura. 2. Proceso de elaboración del queso tipo Oaxaca



- **Queso Manchego Botanero**

Este queso es de pasta prensada, semicocida, de consistencia semidura-cremosa, rebanable, se caracteriza por contener epazote y chiles cuaresmeños proporcionándole un sabor característico y debe gratinar, siendo esta última, la característica de mayor exigencia que determina la compra de este queso a nivel restaurante y también en el consumo familiar como parte de una botana. En la figura 3 se puede observar el proceso de elaboración de este queso (Silva, 1991).

- **Queso Manchego Mexicano**

Este queso es uno de los más importantes que se fabrican en México, de difusión nacional. Aunque el manchego es un importante queso español, existen enormes diferencias entre nuestro queso **manchego mexicano** y aquel queso español. Podemos asegurar, que el primer **queso manchego mexicano** se cuaja aquí, en la ciudad de Tulancingo, en el estado de Hidalgo.

El queso **manchego mexicano** es un queso de pasta prensada, semicocida, de consistencia semidura-cremosa, rebanable y debe gratinar. Es de color amarillo claro, es decir, el color de la crema; tiene un color definido y la masa no debe pegarse al cuchillo; tiene escasos “ojos” de distribución y forma irregular que proceden del aire que entra la cuajada en las diferentes partes de su proceso, como también de la fermentación láctica heterofermentativa que lo caracteriza; también puede haber pastas completamente cerradas, siendo el más aceptado aquel cuya pasta presenta algunos “ojos” bien distribuidos y por supuesto que no sean de contaminación microbiana.

El queso manchego mexicano es de maduración corta, pudiendo salir al mercado al sexto día de su elaboración. En la figura 4 se puede observar el proceso de elaboración de este queso (Silva, 1991)

Figura. 3. Proceso de elaboración de queso Manchego Botanero

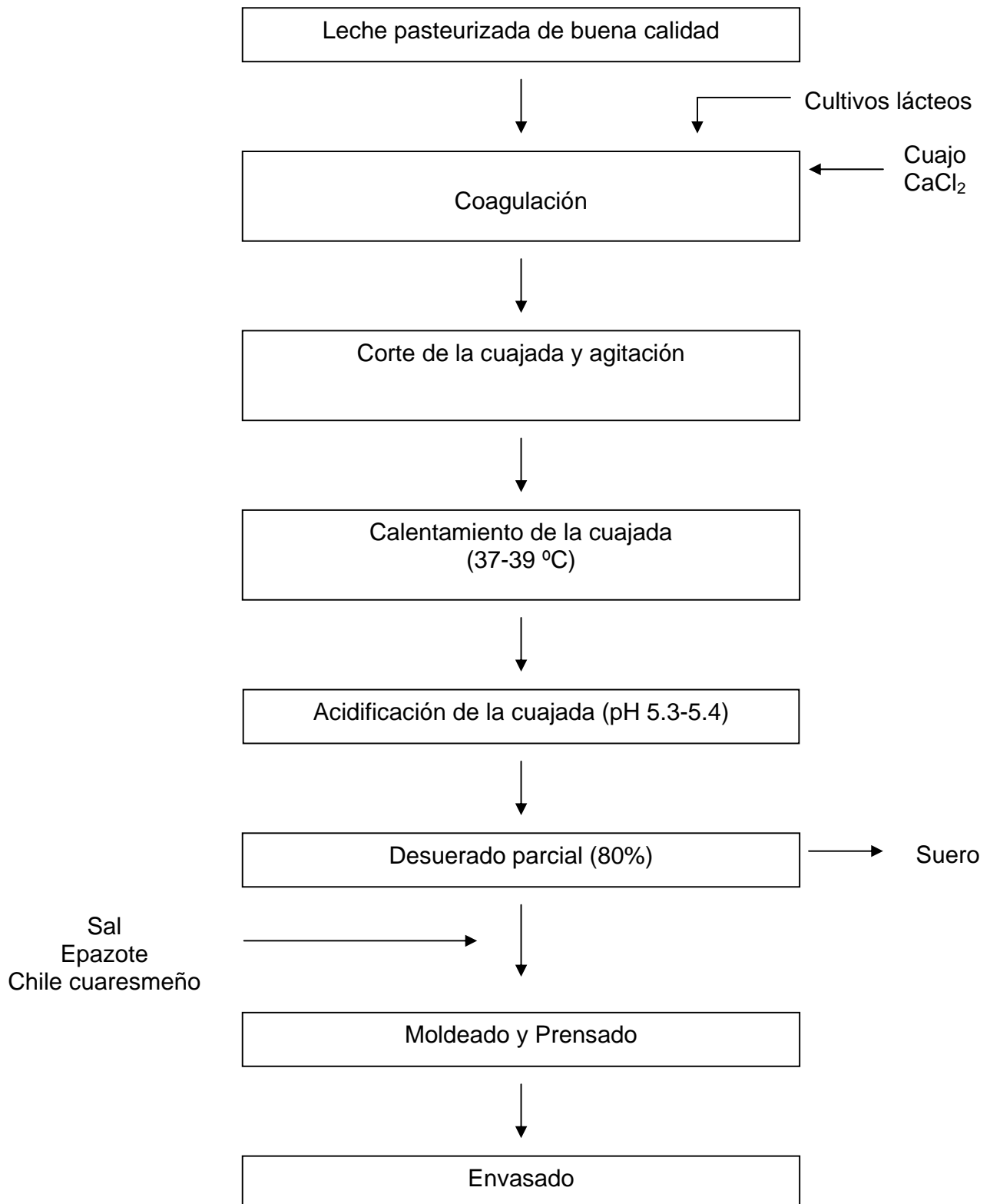
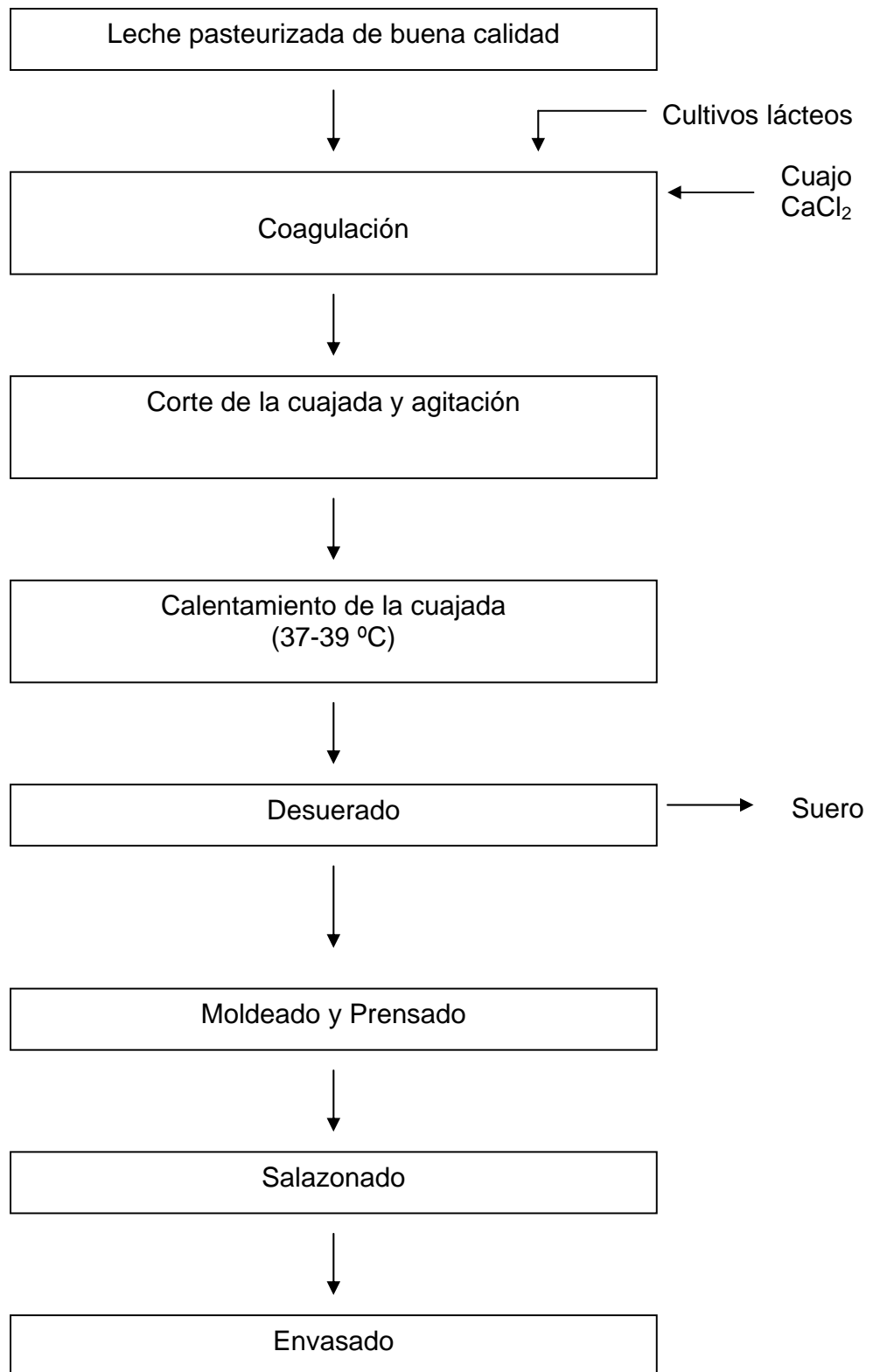


Figura. 4. Proceso de elaboración del queso Manchego Mexicano



- **Queso Tenate**

El queso tenate es un queso típico del estado de Hidalgo concretamente de la comunidad de la peñuela, perteneciente al municipio de Acatlán colindante con el de Tulancingo de bravo.

El queso tenate, a la fecha, mantiene sus características iniciales. Se elabora con leche cruda, mediante un proceso artesanal.

Las características sensoriales encontradas en el queso tenate se puede definir como flavor rico y complejo, persistente en la boca, distinguiéndose discretamente, entre otras percepciones, una sensación picante y aroma a alcohol. Como principal característica de textura, el queso presenta una cohesión que permite su corte pero con tendencia a ser quebradizo y friable. Debido a que la leche es cuajada con toda la materia grasa, el color del queso es blanco crema. En la figura 5 se puede observar el proceso de elaboración de esta queso (Silva, 1991).

- **Queso Morral**

Es originario de Tulancingo. Existen en otras partes de la republica, sobre todo Jalisco, Michoacán; fabricaciones parecidas, llamándole “adobera “. El molde de esta última es de madera, una camisa de gruesa tela, para soportar el drástico prensado de una cuajada seca, generalmente de leche cruda y con mucha sal. Nuestro morral, de autentica inspiración campesina tulanciguense, es de la respuesta de una tecnología moderna, que incluye la pasteurización de la leche y el uso de fermentos lácticos. En la figura 6 se puede observar el proceso de elaboración de esta queso (Silva, 1991).

Figura. 5. Proceso de elaboración del queso Tenate

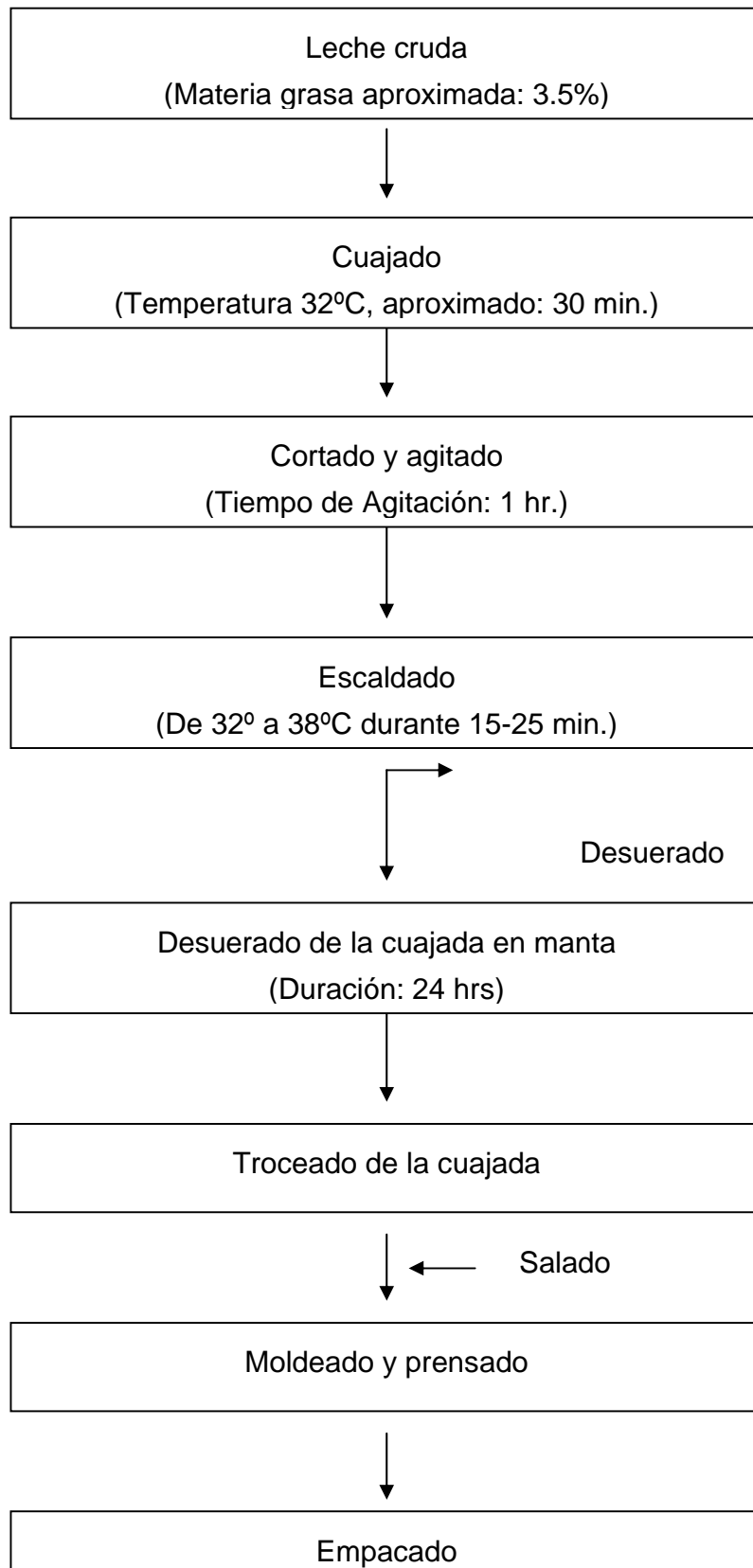
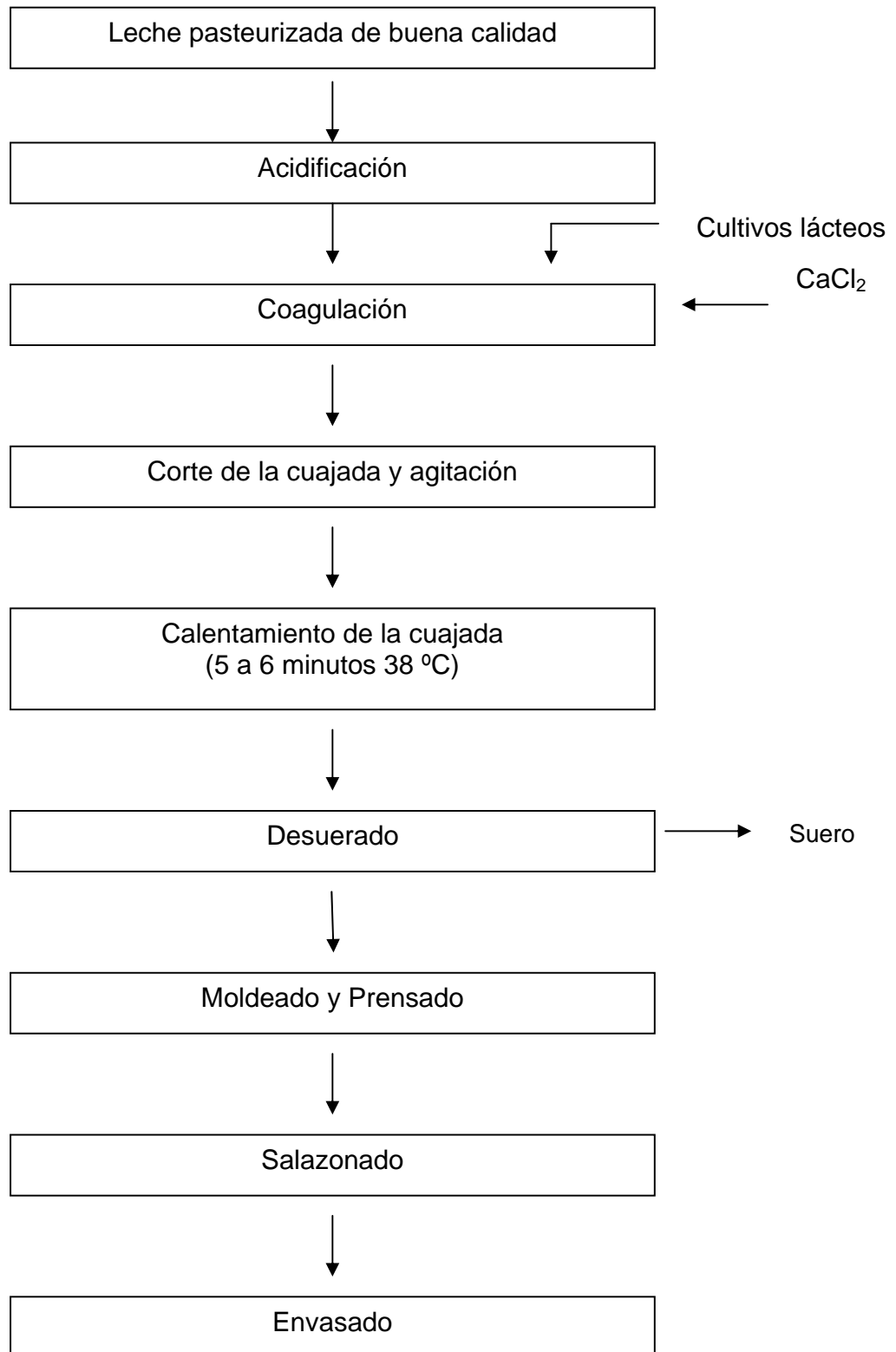


Figura. 6. Proceso de elaboración de queso Morral



1.6 Bibliografía científica y tecnológica sobre los quesos mexicanos

La bibliografía técnica/científica sobre quesos mexicanos es escasa y se ha enfocado principalmente en aspectos relativos a la seguridad alimentaria, por haberse asociado su consumo con brotes de enfermedad de alimentarios o intoxicaciones (Albert *et al.*, 1990; Saltijeral *et al.*, 1999; Solano-López y Hernández-Sánchez 2000; Alvarado *et al.*, 2005).

La caracterización química o microbiológica de algunos quesos mexicanos (en concreto de los quesos Fresco, Chihuahua, Asadero, Manchego, ha sido abordada en alguno de sus aspectos en los estudios de Díaz-cinco *et al.*, (1992), Alba *et al.* (1995), Pena *et al.*, (1997), Bricker *et al.* (2005) y Torres-Lláñez *et al.* (2005).

Finalmente, en el ICAP, se ha venido trabajando en el tema descriptivo de las propiedades de algunos quesos mexicanos y la influencia de diversos factores de su elaboración sobre la calidad de los mismos, habiéndose elaborado tesis por Franco (1998), Contreras y Vargas (1999) y publicado resúmenes y trabajos de investigación en congresos y revistas por Caro *et al.* (1997), Caro *et al.* (1998), Caro *et al.* (1999 a y b), Caro *et al.* (2000 a y b); Fonseca *et al.* (2005).

1.7 Microbiología de los quesos

1.7.1 Generalidades

El principal objetivo de la elaboración de quesos es prolongar la vida útil y conservar los componentes nutritivos de la leche. Este objetivo se logra en mayor o menor medida mediante la producción de ácido y la deshidratación. La producción de ácido láctico por la flora láctica de la leche presente de forma espontánea o agregada como estárter ocasiona un decremento de pH, lo que unido a los procesos de calentamiento en tina y agitación promueve la sinéresis del suero de los granos de cuajada (Walstra *et al.*, 2001).

Un proceso posterior al salado es la maduración de los quesos, que es una etapa que puede durar entre semanas a años (Beresford *et al.*, 2001). Sin embargo, hay quesos que no se maduran como es el caso de los quesos frescos, de

coagulación enzimática (como el Panela) o de coagulación ácida (como el Cottage). Finalmente, otros quesos están en el límite entre frescos y madurados, por su corto periodo de maduración, siendo difícil su ubicación en uno u otro de los grupos anteriores.

La maduración de los quesos es un proceso complejo que implica reacciones bioquímicas y pérdidas de humedad por evaporación. Estas reacciones incluyen procesos fermentativos, proteolíticos y lipolíticos principalmente que desembocan a la formación de pequeñas moléculas a partir de las proteínas y grasas precursoras. Mediante estas reacciones se modifica la textura de los quesos, se intensifica el aroma y se desciende la a_w (Walstra *et al.*, 2001).

El queso contiene normalmente elevados contenidos microbianos que juegan un papel significativo en el proceso de maduración (Cogan, 2000). Esta microflora del queso puede ser dividida en dos grupos: flora ácido láctica utilizada como estárter y flora secundaria (Beresford *et al.*, 2001). Las bacterias ácido lácticas que son las más empleadas como estárter, están involucradas en los procesos de acidificación y contribuyen en mayor o menor medida a las otras reacciones de la maduración. La microflora secundaria, comprendida por bacterias ácido lácticas distintas a las utilizadas como estárter, y otras bacterias, mohos y levaduras que crecen internamente o externamente en el queso son responsables de impartir características únicas y/o específicas a las distintas variedades de queso.

A la hora de estudiar los microorganismos del queso el empleo de la microbiología tradicional es una primera aproximación (Beresford *et al.*, 2001). La presencia de los microorganismos en el queso va a depender de la contaminación microbiana de la leche, el uso de estárter, las condiciones extrínsecas del proceso y conservación (tiempos, temperaturas, etc) y las intrínsecas del queso, así como de las contaminaciones de la leche y queso durante el procesado.

1.7.2 Factores que influyen en el crecimiento microbiano en el queso

El control del crecimiento de los microorganismos en el queso depende de un número de parámetros físicos como la concentración de humedad, la cantidad de sal, la a_w , el pH, la presencia de ácidos orgánicos, la temperatura de conservación, el potencial redox y la adición de nitratos (Beresford *et al.*, 2001). Además, en el crecimiento microbiano influyen otros factores biológicos como la disponibilidad de nutrientes para el metabolismo microbiano y la interacción entre los microorganismos presentes en el queso.

Los valores de a_w en los quesos después del salado dependen de la cantidad de sal y el grado de desuerado y suele ser inferiores a 0.988. Estos valores son significativamente inferiores a los óptimos para la mayoría de las bacterias, incluidas la bacterias ácido lácticas y por lo tanto contribuyen al control de su multiplicación (Beresford *et al.*, 2001). La actividad de agua mínima para las bacterias lácticas está en el rango de 0.93 a 0.98 dependiendo de las cepas (Eck, 1990). La sal, por medio del descenso de la a_w inhibe tanto a los microorganismos estárter como a los alterantes. La concentración de sal en el queso es variable.

El pH óptimo para el crecimiento de la mayoría de las bacterias está en torno a la neutralidad y el crecimiento es escaso a pHs menores a 5. Los quesos en los que ha habido un crecimiento elevado de las BAL tienen pH en torno a 4.5 a 5.3 y estos valores de pH no permitirán el crecimiento de las bacterias sensibles al pH bajo. A esos pHs los agentes inhibidores principales son las formas no disociadas de los ácidos orgánicos (Beuchat y Golden, 1989), siendo el ácido láctico, acético y propiónico los principales.

Los microorganismos implicados en la elaboración de queso son normalmente mesófilos y termofilos, con crecimiento óptimo a 30 y 42 °C, respectivamente (Beresford *et al.*, 2001). Estas temperaturas se puede alcanzar en la tina pero durante la maduración del queso la temperatura es inferior (12 °C), de forma que no se favorezca el crecimiento de microorganismos no deseados, pero se puedan dar, aunque de forma lenta, las reacciones de maduración.

El potencial redox de los quesos suele ser negativo (Beresford *et al.*, 2001), el interior del queso es anaerobio por lo que el crecimiento microbiano viene dado por flora anaerobia o las anaerobias facultativas, por lo que microorganismos aerobios no crecen en el centro del queso, como *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus* y mohos.

1.8 Principales grupos microbianos de los quesos

Bacterias ácido lácticas

Las bacterias lácticas (BAL) tienen la función primaria de producir ácido láctico en el proceso de elaboración del queso. Sin embargo, también pueden generar otros compuestos sápidos y aromáticos, gas y participan activamente en las reacciones de lipólisis y proteólisis durante la maduración (Beresford *et al.*, 2001). En quesos de leche pasteurizada se agregan como estárter, pero en quesos de leche cruda la acidificación ocurre a partir de las BAL presentes en la leche. En quesos de leche pasteurizada, además de las BAL utilizadas como estárter crecen otras BAL, generalmente de la especie *Lactobacillus* y *Pediococcus*, pudiendo llegar a valores de 6 ufc g^{-1} . Su presencia parece contribuir al aroma de los quesos.

Algunas cepas de BAL producen defectos en el flavor y la apariencia de los quesos. Por ejemplo, el crecimiento de lactobacilos heterofermentativos puede llegar a causar defectos por excesiva producción de gas (textura abierta) o olores atípicos, lo que ocurre generalmente cuando la maduración se realiza a elevadas temperaturas, por ejemplo a $15 \text{ }^{\circ}\text{C}$ (Frank, 1997). Según indica este autor, también hay determinadas cepas de BAL asociadas con defectos concretos como la formación de puntos rosados en toda la masa del queso o bandas rosadas bajo la superficie de los quesos (decoloración rosada), relacionados con el potencial redox. Otras muy proteolíticas pueden generar ablandamiento excesivo de la masa. Algunas cepas que producen exceso de ácido láctico generan cristales de lactato cálcico. Finalmente, hay cepas responsables de olores atípicos fenólicos o afrutados.

Bacterias esporuladas

Las bacterias esporuladas están asociadas a la formación de gas, usualmente producido por *Clostridium tyrobutyricum* u otros clostridios (Frank, 1997). Este defecto se conoce como hinchazón tardía porque ocurre después de varias semanas como consecuencia de la fermentación de lactato a acetato, butirato, hidrógeno y dióxido de carbono. La aparición del defecto depende de la concentración de las bacterias responsables, el pH del queso y la actividad de agua y está asociado al consumo de ensilado. El control de este defecto se realiza por medio de un adecuado manejo en la alimentación y el uso de sustancias en la leche para hacer queso como la lisozima o los nitratos (prohibidos en algunos países).

Mohos y levaduras

El crecimiento de levaduras y mohos en quesos es común ya que pueden crecer a bajos valores de pH. El papel de las levaduras en la maduración de los quesos no es claro, se les ha atribuido propiedades beneficiosas sobre el flavor, la textura, así como estimulación de las bacterias lácticas (Beresford *et al.*, 2001). Sin embargo, algunas levaduras pueden producir alteración en los quesos mediante la generación olores afrutados, a levadura, a rancio y formación de gas, colonias visibles y formación de limosidad no deseados. El crecimiento de levaduras en queso se ve positivamente influenciado por la presencia de lactosa residual no fermentada por las BAL (Frank, 1997). En quesos como el Cheddar y otros similares se han encontrado recuentos entre 2 y 7 levaduras por gramo, los recuentos de levaduras parecen aumentar durante las primeras fases de la maduración (Beresford *et al.*, 2001).

Por su parte, el crecimiento de mohos ocurre en la superficie de los quesos y salvo los quesos en los que se utilizan mohos en superficie y en la masa, se consideran alterantes, produciendo defectos en la apariencia como manchas pigmentadas y colonias visibles, además pueden generar olores atípicos,

amoniacaes, afrutados o a moho (IDF, 1993). El crecimiento no deseado se previene utilizando envasado al vacío.

Psicrotrofos bacilos Gram negativos

Estos microorganismos (Pseudomonas, Acinetobacter, Aeromonas, etc.) presentes en la leche cruda, que no suelen resistir la pasteurización y son aerobios estrictos, son responsables de la alteración de quesos frescos como el cottage y otros quesos frescos en superficie (Shah, 1994).

La leche normalmente se refrigera para su conservación, aunque esta sea corta. Durante su conservación a refrigeración y dado su alto contenido en nutrientes para los microorganismos, su Eh positivo y su elevado pH los psicrotrofos tipo pseudomonas crecen en la leche, siendo la flora predominante y ocasionando en pocos días defectos en la leche por aparición de malos olores y pérdida de rendimiento en el queso, principalmente por fenómenos proteolíticos y lipolíticos asociados a su crecimiento (Frank, 1997). Las enzimas proteolíticas y lipolíticas producidas por estos microorganismos resisten la pasteurización, aunque las pseudomonas no. Así pues, la elevada presencia de pseudomonas en la leche podría causar defectos en aroma del queso y en la textura, además de una pérdida de rendimiento de la leche para hacer queso (Ellis y Marth, 1984; Shah, 1994).

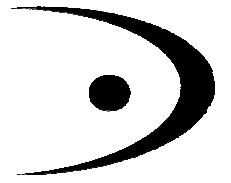
Coliformes

Los coliformes son bacterias gram negativas, con forma de bacilo, que contaminan la leche. No sobreviven a la pasteurización por lo que se utilizan como indicadores de contaminación pos-pasteurización (IDF, 1993). Este grupo fermenta la lactosa y muchas cepas son psicrotrofas. La producción de gas a partir de la fermentación de la lactosa puede producir hinchazón del queso, hinchazón temprana, y también pueden generar aromas atípicos.

Otros

Otros grupos microbianos con importancia en la elaboración de determinados quesos son las bacterias propiónicas, bacterias productoras de color en la corteza como *Brevibacterium linens* y otras bacterias con crecimiento superficial (Beresford *et al.*, 2001).

MATERIALES Y MÉTODOS



2.MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Toma de muestras

Se analizaron 6 tipos diferentes de quesos (Panela, Manchego, Tenate, Morral, Manchego Botanero y Oaxaca) elaborados por industriales de la región del Valle de Tulancingo Hidalgo. Las muestras analizadas se obtuvieron directamente de diferentes expendios de Tulancingo en donde estos son comercializados. Se tomaron hasta 10 muestras por cada tipo de queso siempre que fue posible encontrar marcas diferentes y nunca menos de 6, haciendo un total de 50 muestras considerando todos los tipos. La cantidad de queso muestreada estuvo entre 0.5 a 1 kg de cada uno de los quesos, que se transportaron al laboratorio en el envase proporcionado en el expendio en un tiempo máximo de una hora y se conservaron a refrigeración (5 °C aproximadamente) por un máximo de 24 horas antes de proceder a su análisis.

Los análisis realizados fueron recuentos microbiológicos y análisis físico-químicos relacionados con el crecimiento microbiano.

2.2. Análisis microbiológicos

2.2.1.1. Preparación de la muestra y realización de las diluciones

Se disolvió 1 g de peptona y 8.5 g de cloruro de sodio por cada L de agua destilada, distribuyendo cantidades de 90 y 9 mL en frascos y tubos, respectivamente, de acuerdo a su utilización, sometiendo la solución a un proceso de esterilización de 121° C durante 15 min.

Posteriormente y de forma aséptica, 10 g de muestra de queso y 90 mL del agua peptonada estéril se homogeneizaron en Stomacher (Seward Stomacher 80, London, UK) durante 2 min. a una velocidad media y a partir de la mezcla se realizaron las diluciones decimales pertinentes utilizando como diluyente el agua peptonada estéril de los tubos (NOM-110-SSA1-1994).

2.2.2. Flora aerobia mesófila viable

El recuento de FAMV se llevó a cabo a partir de 1 mL, por duplicado, de cada tubo de la serie de diluciones decimales apropiadas en cajas de Petri a las que se agregó posteriormente aproximadamente 15 mL del medio de Agar para Método Estándares a unos 40 °C agitando y dejando solidificar el medio con la muestra. Las placas se incubaron a 32°C durante 48 horas siguiendo las recomendaciones de la Asociación Americana de Salud Pública (APHA, por sus siglas en Inglés; Houghtby *et al.*, 1993).

2.2.3. Flora aerobia psicrotrofa viable

Este recuento al igual que el recuento de flora aerobia mesófila viable se llevó a cabo mediante un recuento en placas utilizando como medio de cultivo Agar para Método Estándares y se incubaron a 9°C durante 7 días de acuerdo con la APHA (Houghtby *et al.*, 1993).

2.2.4. Mohos y Levaduras

Estos recuentos se llevaron a cabo en placas utilizando como medio de cultivo el Agar Extracto de Malta (Malt Extract Agar) ajustando previamente el pH del medio a 3.5. A diferencia de los anteriores, se trata de un método de siembra en superficie, ya que se depositó 1 mL de dilución a las placas a las que previamente se les había colocado el medio de cultivo elegido y dejado solidificar. Las placas con la muestra se incubaron a 25°C durante 48 horas de acuerdo con NOM-111-SSA-1-1994

2.2.5. Bacterias Ácido Lácticas

Este análisis se llevó a cabo mediante un recuento en caja utilizando como medio de cultivo el Agar LBS. Las placas se prepararon por duplicado a partir de 1 mL de la dilución apropiada de la muestra de queso y 15 mL de agar semifundido y una vez solidificada la mezcla se incubaron a 35°C durante 48 horas (Reuter, 1985)

2.2.6. Recuento de Coliformes y *Escherichia coli*

Se llevo a cabo en placas deshidratadas comercializadas por Petrifilm™ (Laboratories 3M Santé, Cergy Pontoise Cedex, Francia) para la detección de Coliformes/*E. Coli*. Las placas fueron inoculadas de acuerdo con las instrucciones del fabricante e incubadas a 35°C durante 24 – 48 h (AOAC, 1999). Se consideraron coliformes aquellas colonias de color rojo y de color azul-violeta que estaban acompañadas de presencia de burbujas de gas, contando como *E. coli* las de color azul-violeta como se muestra en la figura 1.



Figura. 7.- Placa Petrifilm™

2.2.7. Expresión de resultados

Las colonias se contaron dentro de las 4 horas siguientes a la finalización del periodo de incubación. Se seleccionaron las placas en las cuales se desarrollaron entre 30/300 colonias para los medios no selectivos y entre 15/150 para los medios selectivos. Los recuentos obtenidos se expresaron como Log_{10} de unidades formadoras de colonias (ufc) por g de masa o superficie, respectivamente.

2.3. Análisis fisicoquímicos

2.3.1. Prueba de la fosfatasa

La determinación de fosfatasa se realizó siguiendo la metodología del proveedor (HYCEL) (AOAC, 1999). Se usaron dos tubos, uno se marca con la palabra problema y otro con control; se les añade a cada uno 10 ml de agua destilada con una temperatura de 37°-39°C y se les añade a cada uno 250 mg de polvo de LACTO-ZYMA I (no. 610-A) y se mezclan hasta que se disuelva. A ambos tubos se les añade 1 g de muestra homogeneizada de queso por analizar, el tubo control se calienta a 85°C, con el fin de destruir previamente la fosfatasa. Se incuban ambos tubos en un baño de agua a una temperatura de 45°C, durante 10 min. Posteriormente se agrega a cada tubo 250 mg de polvo de LACTO-ZYMAII (N.- 610-B), se dejan en reposo durante 10 min y se agitan. Por último pasando de 3 a 5 min se compararon los colores de los 2 tubos con la tabla de colores proporcionada por el proveedor del ensayo

2.3.2. pH

En un vaso de precipitado se mezclaron 10 g de queso molido y 50 ml de agua destilada. El pH de la mezcla se determinó con un potenciómetro (MOD.OAKTON-SERIE-45431) previamente calibrado con dos puntos de referencia (pH 4 y 7). Las mediciones se hicieron por triplicado.

2.3.3. Actividad de agua (a_w)

La medida del a_w se determinó en un apartado Aqualab CX-2 (Decagon Devices, Inc.), utilizando como solución de calibración NaCl 6.0 M en H₂O con una A_w de 0.760 ± 0.003 . En una cubeta de plástico se depositaron aproximadamente 5 g de la muestra y se procedió a realizar dos mediciones calculando posteriormente el valor medio entre ambas medidas. Las medidas se efectuaron a temperatura ambiente.

2.3.4. Acidez de la grasa (% de Ac. Oleico)

El índice de acidez de la grasa (IA) se determinó por volumetría siguiendo el método descrito por Pearson (1976), previa extracción de la grasa por el método de Bligh y Dyer (1959) y se expresó como porcentaje de ácido oleico.

2.3.4.1. Extracción de la grasa

. Se pesaron con exactitud de ± 0.01 g una cantidad de 5 g de muestra que se homogeneizó con 18 mL de una solución de cloroformo-metanol (1:2) (v/v) con un homogeneizador de tejidos (Tissue Tearor, Bospec Products Inc.) durante 1 min. El contenido se transfirió a un tubo de centrifuga y se centrifugó a 3000 rpm durante 5 min. La parte líquida así obtenida se filtró a través de un papel filtro (Whatman No 1001 125) hacia un erlenmeyer de 250 mL, lo que constituyó el primer filtrado. Al residuo sólido resultante se le añadieron 6 mL de cloroformo y se homogeneizó la mezcla mediante agitación con varilla de vidrio. Después se centrifugó durante 3 min a 3000 rpm y se filtró la parte líquida resultante utilizando el mismo filtro y hacia el mismo erlenmeyer que en la primera extracción. Al conjunto de los filtrados resultantes se les agregó 5 mL de agua Milli-Q y 5 mL de una solución de KCl al 0.88% (p/v), se agitó y se centrifugó a 3000 rpm durante 5 min y la fase orgánica inferior se utilizó para la determinación del IA.

2.3.4.2. Determinación del índice de acidez (IA)

Se tomaron 3 mL por duplicado de la mezcla anterior y agregándose 20 mL de una mezcla etanol-éter etílico (1/1; v/v). La titulación se llevó a cabo con Hidróxido de Potasio (KOH) 0.0154 M en solución etanólica utilizando fenolftaleína como indicador.

Posteriormente se tomaron otros 3 mL para la determinación de la cantidad de grasa en la fase orgánica por gravimetría después de haberse evaporado el disolvente.

La cantidad de ácidos grasos libres se calculo mediante la siguiente fórmula y se expresó como porcentaje de ácido oleico.

$$\% \text{ ácido oleico} = \frac{V \times PM \times M}{10 \times P}$$

V = mL de KOH gastados el la valoración de la muestra.

PM = Peso molecular del ácido oleico.

M = Molaridad exacta del KOH.

P = Peso en g de la grasa presente el los mL del filtrado valorado.

2.3.5. Nitrógeno alfa amínico o aminoacídico

La extracción del nitrógeno alfa amínico se realizó a partir de 10 g de muestra adicionando 50 mL de una solución 4.5 mL de ácido sulfúrico y homogeneizando enérgicamente. El homogeneizado se mantuvo en reposo durante 1 h a temperatura de refrigeración y se filtró a través de papel de filtro.

A partir de ese extracto y siguiendo el método descrito por Rosen (1957) se tomó una alícuota de 0.05 ml y se mezclaron con 0.45 ml de agua en un tubo de ensayo a los que se añadieron 1.5 ml del reactivo de la ninhidrina (20 g de ninhidrina y 3 g de hidridantina en una solución de 750 ml de etilenglicol-monometileter y 250 ml de tampón acetato 4 N de pH 5.5). Los tubos se colocaron en agua hirviendo durante 20 min. Transcurrido ese tiempo se enfriaron y se añadieron 8 ml de n-propanol al 50%. Se agitaron los tubos y se midió la absorbancia del contenido a 570 nm contra un blanco. Para cuantificar se realizó una curva patrón obtenida de hacer la reacción anteriormente descrita con alícuotas de una disolución de leucina de concentración conocida.

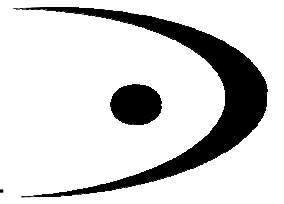
2.4. Análisis estadístico

Para la determinación de los parámetros físico-químicos y microbiológicos de los quesos se empleó una estadística descriptiva determinando el valor medio y la desviación estándar y el intervalo de confianza del 95% de cada parámetro evaluado.

Para la comparación de los parámetros físico-químicos y microbiológicos entre tipos de queso se utilizó el análisis de varianza de una vía, empleando la prueba de Tukey para la obtención de diferencias significativas. Para estos análisis se empleó el programa '*STATISTICA for Windows*', versión 6.0 (StatSoft, Tulsa, EE. UU)

Finalmente se realizaron correlaciones lineales de Pearson entre los valores de parámetros utilizados obteniendo los valores de R.

RESULTADOS



3.RESULTADOS

3.1. Queso Tipo Panela

En el cuadro 3.1 se muestran los resultados obtenidos de los diferentes parámetros físico-químicos analizados en el **queso tipo Panela**, proveniente de nueve industrias del Valle de Tulancingo. Como podemos observar en la prueba de la fosfatasa, la mayoría de las industrias de la región pasteurizan la leche para la elaboración de este tipo de queso, aunque una de ellas al parecer no realiza esta práctica. Con respecto al pH y la a_w se obtuvieron valores promedio 6.13 ± 0.41 y 0.986 ± 0.004 respectivamente. Los valores de índice de acidez de la grasa y de nitrógeno alfa-amínico fueron 1.19 ± 0.2 (expresado en % de ácido oleico) y 0.91 ± 0.21 (expresado en % de nitrógeno total), respectivamente.

En el cuadro 3.2 se muestran los recuentos de los principales indicadores microbiológicos de las diferentes muestras de **queso tipo Panela** estudiados elaborado en el Valle de Tulancingo Hgo. La media de los distintos grupos de microorganismos fueron expresados en Log ufc/g; flora aerobia mesófila viable (FAMV) 6.89 ± 1.06 , flora aerobia psicrotrofa viable (FAPV) 6.41 ± 1.25 , bacterias ácido lácticas (BAL) 5.65 ± 1.26 , Mohos y levaduras (M y L) 5.39 ± 0.58 , coliformes 6.25 ± 0.87 y *E.coli* 4.62 ± 1.13 . Como podemos observar los recuentos de los grupos microbianos estudiados en general son altos. Las muestras de la industria I mostraron un menor número de FAMV, BAL, coliformes y *E. coli*, mientras que la industria VI presentó mayor cantidad de coliformes y *E.coli*.

El cuadro 3.3 muestra los coeficientes de correlación de las diferentes variables analizadas en el **queso tipo Panela**. Como podemos apreciar existe una correlación negativa significativa ($p < 0.05$) entre el í.A. y las BAL. Además existe una correlación positiva entre la FAMV y FAPV ($p < 0.05$).

Cuadro 3.1. Valores de fosfatasa, pH, a_w , índice de acidez de la grasa y nitrógeno alfa amínico en el queso tipo Panela elaborado en el Estado de Hidalgo.

INDUSTRIA	Fosfatasa	pH	a_w	Í. A.	α -N-HH ₂
I	-	6.69	-	2.47	-
II	-	5.50	0.984	1.05	0.94
III	-	6.40	0.987	1.04	0.95
IV	-	6.28	0.981	1.23	0.83
V	+	5.96	0.986	0.96	1.25
VI	-	5.93	0.991	0.90	0.58
VII	-	6.59	0.979	1.80	0.61
VIII	-	6.19	0.989	1.29	1.05
IX	-	5.59	0.991	1.45	0.97
Media		6.13	0.986	1.19	0.91
D. E.		0.41	0.004	0.20	0.21
I. C. (95%)		5.80-6.44	0.982-0.990	1.00-1.34	0.71-1.08

α -N-HH₂: Nitrógeno alfa amínico (Expresado como % de Nitrógeno Total)

Í. A.: Índice de acidez de la grasa (Expresada en % de ácido oleico)

a_w : Actividad de Agua

Los números en negritas muestran los valores máximo y mínimo.

Cuadro 3.2. Recuentos microbianos (Log ufc/g) en el queso tipo Panela elaborado en el Estado de Hidalgo.

INDUSTRIA	FAMV	FAPV	BAL	M y L	Coliformes	<i>E. coli</i>
I	5.59	6.71	3.74	5.75	4.48	3.00
II	6.13	4.19	7.59	4.11	6.00	5.20
III	7.35	6.63	5.62	5.63	7.19	5.60
IV	8.15	7.87	6.23	5.30	7.43	5.60
V	6.81	6.16	6.64	5.00	4.08	4.07
VI	5.85	5.31	6.55	5.98	6.36	6.33
VII	5.96	5.50	4.00	5.40	5.90	3.60
VIII	8.20	7.49	5.00	5.98	7.38	3.60
IX	7.99	7.80	5.46	5.4	7.43	4.60
Media	6.89	6.41	5.65	5.39	6.25	4.62
D. E.	1.06	1.25	1.26	0.58	0.87	1.13
I. C. (95%)	6.08-7.70	5.45-7.37	4.68-6.62	4.95-5.84	5.27-7.23	3.76-5.49

FAMV: flora aerobia mesófila viable

FAPV: flora aerobia psicrotrofa viable

BAL: bacterias ácido lácticas

M y L : Mohos y Levaduras

Los números en negritas muestran el valor máximo y mínimo.

Cuadro 3.3. Coeficientes de correlación (R) de los valores de las distintas variables estudiadas en el queso tipo Panela elaborado en el Estado de Hidalgo.

pH	1.00									
Í.A.	0.42	1.00								
FAMV	0.06	0.19	1.00							
FAPV	0.23	0.28	0.93	1.00						
BAL	-0.69	-0.82	-0.21	-0.40	1.00					
M Y L	0.51	0.11	0.29	0.51	-0.58	1.00				
Coliformes	0.10	0.28	0.61	0.57	-0.30	0.43	1.00			
<i>E. coli</i>	-0.22	-0.64	-0.17	-0.16	0.59	0.02	0.26	1.00		
a_w	-0.50	-0.48	0.20	0.21	0.19	0.42	0.22	0.24	1.00	
α -N-HH ₂	-0.30	-0.28	0.48	0.29	0.27	-0.29	-0.27	-0.37	0.22	1.00

Í. A.: Índice de acidez de la grasa (Expresada en % de ácido oleico)

FAMV: flora aerobia mesófila viable

FAPV: flora aerobia psicrotrofa viable

BAL: bacterias ácido lácticas

M y L: Mohos y Levaduras

a_w : Actividad de Agua

α -N-HH₂: Nitrógeno alfa amínico (Expresado como % de Nitrógeno Total)

Los valores en negrita muestran correlaciones significativas entre las variables medidas ($P < 0.05$)

3.2. Queso tipo Oaxaca

En el cuadro 3.4 se muestran los resultados obtenidos de los distintos parámetros físico-químicos analizados en el **queso tipo Oaxaca**, proveniente de diez industrias del Valle de Tulancingo. Como podemos observar en el análisis de la fosfatasa el 70% de las industrias de la región no pasteurizan la leche para la elaboración de este tipo de queso. Con respecto a la medida del pH y la a_w se obtuvieron valores promedio de 5.02 ± 0.21 y 0.973 ± 0.006 , respectivamente. Los valores promedio del índice de acidez de la grasa fueron 0.97 ± 0.19 (% de ácido oleico) y del nitrógeno alfa-amínico fueron 1.86 ± 0.74 (% de nitrógeno total).

En el cuadro 3.5 se muestran los resultados obtenidos de los principales indicadores microbiológicos de las muestras de **queso tipo Oaxaca** elaborado en el Valle de Tulancingo Hgo. La media de los distintos grupos fueron expresado en Log ufc/g; FAMV 7.63 ± 0.76 , FAPV 6.78 ± 0.91 , BAL 6.52 ± 0.58 , M y L 4.82 ± 2.52 , coliformes 4.08 ± 1.41 y *E.coli* 3.61 ± 1.21 , como podemos observar el contenido del número de microorganismos son elevados. La industria VI fue la que presento mayores recuentos de FAMV, FAPV y coliformes.

El cuadro 3.6 muestra los coeficientes de correlación de las diferentes variables analizadas en el **queso tipo Oaxaca**. También podemos apreciar el % de nitrógeno alfa-amínico presenta una correlación negativa ($p < 0.05$), con el pH. La FAMV presenta esta correlacionado positivamente con FAPV, M y L y a_w ($p < 0.05$). Por otra parte, la FAPV esta correlacionada positivamente con los M y L ($p < 0.05$). Por último, como era de esperar los coliformes están correlacionado con *E. coli* ($p < 0.05$).

Cuadro 3.4. Valores de pH, a_w , índice de acidez de la grasa y nitrógeno alfa amínico en el queso tipo Oaxaca elaborado en el Estado de Hidalgo.

INDUSTRIA	Fosfatasa	pH	a_w	Í. A.	α -N-HH ₂
I	-	4.88	0.971	1.06	1.74
II	-	5.08	0.974	1.17	1.02
III	+	4.71	0.967	0.85	3.42
IV	+	4.87	0.979	0.78	1.94
VI	+	5.11	0.983	0.74	1.91
VII	-	5.42	0.977	0.97	0.64
IX	+	4.96	0.981	1.19	1.77
X	+	5.24	0.965	0.71	2.05
XII	+	4.85	0.969	1.38	2.28
XVII	+	5.08	0.968	1.07	1.81
Media		5.02	0.973	0.97	1.86
D. E.		0.21	0.006	0.19	0.74
I. C. (95%)		4.87-5.17	0.969-0.978	0.83-1.11	1.33-2.39

α -N-HH₂: Nitrógeno alfa amínico (Expresado como % de Nitrógeno Total)

Í. A.: Índice de acidez de la grasa (Expresada en % de ácido oleico)

a_w : Actividad de Agua

Los números en negritas muestran los valores máximo y mínimo.

Cuadro 3.5. Recuentos microbianos (Log ufc/g) en el queso tipo Oaxaca elaborado en el Estado de Hidalgo.

INDUSTRIA	FAMV	FAPV	BAL	M y L	Coliformes	<i>E. coli</i>
I	7.67	6.87	5.54	6.63	4.67	2.60
II	7.71	6.04	7.12	3.50	4.39	4.30
III	7.20	6.39	5.47	0.15	3.04	2.00
IV	8.54	7.80	7.00	7.17	3.77	3.59
VI	8.61	8.19	7.44	6.59	6.25	4.66
VII	6.95	6.00	7.74	2.13	3.04	2.00
IX	8.31	7.44	6.13	6.52	3.79	3.24
X	7.00	6.44	6.30	6.39	5.59	5.59
XII	8.00	7.31	7.00	6.70	4.92	4.78
XVII	6.30	5.30	5.50	2.48	3.86	3.38
Media	7.63	6.78	6.52	4.82	4.08	3.61
D. E.	0.76	0.91	0.85	2.52	1.41	1.21
I. C. (95%)	7.09-8.17	6.13-7.42	5.92-7.13	3.02-6.63	3.58-5.08	2.74-4.48

FAMV: flora aerobia mesófila viable

FAPV: flora aerobia psicrotrofa viable

BAL: bacterias ácido lácticas

M y L: Mohos y Levaduras

Los números en negritas muestran el valor máximo y mínimo.

Cuadro 3.6. Coeficientes de correlación (R) de los valores de las distintas variables estudiadas en el queso tipo Oaxaca elaborado en el Estado de Hidalgo.

pH	1.00									
Í.A.	-0.20	1.00								
FAMV	-0.35	-0.30	1.00							
FAPV	-0.32	-0.37	0.93	1.00						
BAL	0.53	-0.15	0.41	0.33	1.00					
M Y L	-0.07	-0.42	0.68	0.73	0.21	1.00				
Coliformes	0.15	-0.51	0.35	0.45	0.21	0.65	1.00			
<i>E. coli</i>	0.17	-0.33	0.25	0.28	0.28	0.59	0.82	1.00		
a_w	0.16	-0.20	0.71	0.61	0.58	0.35	0.05	-0.08	1.00	
α -N-HH ₂	-0.75	0.06	0.05	0.21	-0.57	-0.11	0.01	-0.01	-0.42	1.00
	pH	Í.A.	FAMV	FAPV	BAL	M Y L	Coliformes	<i>E.coli</i>	a_w	α -N-HH ₂

Í. A.: Índice de acidez de la grasa (Expresada en % de ácido oleico)

FAMV: flora aerobia mesófila viable

FAPV: flora aerobia psicrotrofa viable

BAL: bacterias ácido lácticas

M y L : Mohos y Levaduras

 a_w : Actividad de Agua α -N-HH₂: Nitrógeno alfa amínico (Expresado como % de Nitrógeno Total)

Los valores en negrita muestran correlaciones significativas entre las variables medidas (P<0.05)

3.3. Queso Manchego Botanero

En el cuadro 3.7 se muestran los resultados obtenidos de los diferentes parámetros físico-químicos analizados en el **queso Manchego Botanero**, proveniente de nueve industrias del Valle de Tulancingo. Como podemos observar, la mayoría de las industrias pasteurizan la leche para la elaboración de este tipo de queso, ya que sólo el 11% de las muestras analizadas dieron un resultado positivo a la fosfatasa. Los valores promedio de pH y de a_w fueron 5.40 ± 0.43 , 0.968 ± 0.009 , respectivamente. El valor promedio del índice de acidez de la grasa fue de 1.35 ± 0.40 (% de ácido oleico), mientras que el valor promedio de nitrógeno alfa-amínico fue 1.50 ± 0.46 (% de nitrógeno total).

En el cuadro 3.8 se muestran los resultados obtenidos de los diferentes indicadores microbianos estudiados en el **queso Manchego Botanero** elaborado en el Valle de Tulancingo Hgo. La media de los distintos grupos fueron expresados en Log ufc/g para FAMV 7.17 ± 0.52 , FAPV 6.58 ± 0.59 , BAL 6.49 ± 0.71 , M y L 5.14 ± 1.30 , coliformes 3.91 ± 1.76 y *E.coli* 3.37 ± 1.41 . Como se observa los recuentos de los grupos microbianos al igual que en los quesos antes mencionados son altos, siendo la industria XVI la que mostró mayor cantidad de FAMV, FAPV, BAL y M y L, mientras que la industria XII presentó el mayor número de *E. coli*. Por último, la industria II y IX presentaron menor cantidad de FAMV 6.15 (Log ufc/g), FAPV 6.04 (Log ufc/g), y coliformes 0.83 (Log ufc/g), y *E.coli* 0.24 (Log ufc/g), respectivamente.

El cuadro 3.9 se recogen los coeficientes de correlación de las diferentes variables analizadas en el **queso Manchego Botanero**. Como podemos apreciar existe una correlación negativa entre el % de nitrógeno alfa-amínico y el pH ($p < 0.05$). Además, la FAMV está correlacionado positivamente con la FAVP ($p < 0.05$). Las BAL se encuentran correlacionados positivamente con coliformes y *E. coli* ($p < 0.05$). Finalmente, los coliformes están correlacionados positivamente con *E. coli*.

Tabla 3.7. Valores de pH, a_w , índice de acidez de la grasa y nitrógeno alfa amínico en el queso Manchego Botanero elaborado en el Estado de Hidalgo.

INDUSTRIA	Fosfatasa	pH	a_w	Í. A.	α -N-HH ₂
II	-	5.34	0.979	0.99	1.56
III	-	5.39	0.973	1.09	1.25
VI	-	5.95	0.958	1.21	1.55
IX	-	5.26	0.960	0.97	2.12
X	-	5.47	0.960	0.96	1.55
XII	+	6.20	0.964	1.36	0.77
XIV	-	4.98	0.958	2.05	1.55
XV	-	5.11	0.960	1.79	2.12
XVI	-	4.90	0.960	1.82	1.55
Media		5.40	0.968	1.35	1.50
D. E.		0.43	0.009	0.40	0.46
I. C. (95%)		5.07-5.73	0.961-0.975	1.04-1.65	1.15-1.85

α -N-HH₂: Nitrógeno alfa amínico (Expresado como % de Nitrógeno Total)

Í. A.: Índice de acidez de la grasa (Expresada en % de ácido oleico)

a_w : Actividad de Agua

Los números en negritas muestran los valores máximo y mínimo.

Cuadro 3.8. Recuentos microbianos (Log ufc/g) en el queso Manchego Botanero elaborado en el Estado de Hidalgo.

INDUSTRIA	FAMV	FAPV	BAL	M y L	Coliformes	<i>E. coli</i>	
II	6.15	6.04	5.60	4.43	3.42	3.15	
III	7.17	6.28	7.07	3.50	5.04	3.65	
VI	6.69	6.30	6.52	6.78	3.25	2.87	
IX	7.61	7.47	5.13	6.80	0.83	0.24	
X	7.23	7.08	6.77	4.42	4.10	4.00	
XII	7.28	6.16	6.23	4.38	6.10	4.39	
XIV	7.16	6.08	7.07	4.23	3.96	2.77	
XV	7.28	6.33	6.84	4.87	4.42	4.09	
XVI	7.97	7.46	7.20	6.84	5.27	5.21	
Media	7.17	6.58	6.49	5.14	3.91	3.37	
D. E.	0.52	0.59	0.71	1.30	1.76	1.41	
I. C. (95%)		6.77-7.57	6.12-7.03	5.94-7.04	4.14-6.14	2.88-5.20	2.29-4.46

FAMV: flora aerobia mesófila viable

FAPV: flora aerobia psicrotrofa viable

BAL: bacterias ácido lácticas

M y L : Mohos y Levaduras

Los números en negritas muestran el valor máximo y mínimo.

Cuadro 3.9. Coeficientes de correlación (R) de los valores de las distintas variables estudiadas en el queso Manchego Botanero elaborado en el Estado de Hidalgo.

pH	1.00										
Í.A.	-0.53	1.00									
FAMV	-0.34	0.28	1.00								
FAPV	-0.35	-0.20	0.72	1.00							
BAL	-0.26	0.58	0.30	-0.12	1.00						
M Y L	-0.07	0.00	0.35	0.63	-0.26	1.00					
Coliformes	0.19	0.32	0.14	-0.34	0.69	-0.47	1.00				
<i>E. coli</i>	0.03	0.32	0.14	-0.15	0.71	-0.28	0.92	1.00			
a_w	0.30	-0.62	-0.47	-0.01	-0.63	0.38	-0.55	-0.53	1.00		
α -N-HH ₂	-0.90	0.43	0.39	0.48	0.14	0.23	-0.20	0.06	-0.31	1.00	
	pH	Í.A.	FAMV	FAPV	BAL	M Y L	Coliformes	<i>E. coli</i>	a_w	α -N-HH ₂	

Í. A.: Índice de acidez de la grasa (Expresada en % de ácido oleico)

FAMV: flora aerobia mesófila viable

FAPV: flora aerobia psicrotrofa viable

BAL: bacterias ácido lácticas

M y L : Mohos y Levaduras

a_w : Actividad de Agua

α -N-HH₂: Nitrógeno alfa amínico (Expresado como % de Nitrógeno Total)

3.4. Queso Manchego Mexicano

En el cuadro 3.10 se muestran los resultados obtenidos de los diferentes parámetros físico-químicos analizados en el **queso Manchego Mexicano** proveniente de nueve industrias del Valle de Tulancingo Hgo. Como podemos observar el 89% de las industrias de la región, pasteurizan la leche para la elaboración de este tipo de queso. Los valores promedio de pH y a_w fueron 5.30 ± 0.21 y 0.968 ± 0.007 , respectivamente. Los valores de índice de acidez de la grasa oscilaron entre 1.07-2.14 (% de ácido oleico) y los de valores de nitrógeno alfa-amínico encontrados fueron entre 0.95-2.41 (% de nitrógeno total).

En el cuadro 3.11 se muestran los resultados obtenidos de los principales indicadores microbianos estudiados en el **queso Manchego Mexicano** elaborado en el Valle de Tulancingo Hgo. La media de los distintos grupos fueron expresados en Log ufc/g para la FAMV 6.31 ± 1.20 , FAPV 5.57 ± 1.06 , BAL 6.41 ± 1.18 , M y L 3.36 ± 1.01 ,

coliformes 4.21 ± 1.33 y *E.coli* 3.66 ± 0.83 . Como se observa en esta tabla el contenido de grupos estudiados es alto. La industria XII fue la que presento mayor cantidad de todos los grupos microbianos estudiados, mientras que la industria XI fue la que presento menor cantidad.

El cuadro 3.12 muestra los coeficientes de correlación de las diferentes variables analizadas en el **queso Manchego Mexicano**. Como podemos apreciar, la FAMV esta fuertemente correlacionada con todos los indicadores microbianos estudiados FAPV, BAL, M y L, Coliformes y *E.coli* ($p < 0.05$). Así mismo, la FAPV se encuentra correlacionado con las BAL y los M y L ($p < 0.05$). También se pueden apreciar una correlación positiva entre las BAL y los M y L, coliformes y *E.coli* ($p < 0.05$). Por último, encontramos una fuerte correlación positiva entre coliformes y *E. coli* ($0.98 p < 0.05$).

Cuadro 3.10. Valores de pH, a_w , índice de acidez de la grasa y nitrógeno alfa amínico en el queso Manchego Mexicano elaborado en el Estado de Hidalgo.

INDUSTRIA	Fosfatasa	pH	a_w	Í. A.	α -N-HH ₂
I	-	5.09	0.970	1.19	2.41
II	-	5.17	0.958	1.70	2.29
III	-	5.13	0.966	-	1.08
VI	-	5.62	0.965	1.21	1.06
VII	-	5.45	0.972	2.14	0.95
IX	-	5.13	0.970	1.47	1.08
X	-	5.56	0.965	1.72	1.31
XI	-	5.43	0.984	1.13	1.50
XII	+	5.10	0.962	1.07	1.34
Media		5.30	0.968	1.44	1.45
D. E.		0.21	0.007	0.35	0.54
I. C. (95%)		5.13-6.44	0.962-0.974	1.19-1.90	1.03-1.86

α -N-HH₂: Nitrógeno alfa amínico (Expresado como % de Nitrógeno Total)

Í. A.: Índice de acidez de la grasa (Expresada en % de ácido oleico)

a_w : Actividad de Agua

Los números en negritas muestran los valores máximo y mínimo.

Cuadro 3.11. Recuentos microbianos (Log ufc/g) en el queso Manchego Mexicano elaborado en el Estado de Hidalgo.

INDUSTRIA	FAMV	FAPV	BAL	M y L	Coliformes	<i>E. coli</i>
I	6.63	5.72	6.43	4.00	5.44	4.59
II	5.67	5.29	5.57	3.00	3.28	2.87
III	5.59	5.66	6.78	4.00	4.54	3.63
VI	6.77	5.30	6.54	3.42	5.02	4.59
VII	6.96	6.42	6.90	4.00	4.15	3.60
IX	7.42	6.00	6.48	3.60	4.15	3.60
X	5.50	6.30	6.35	3.00	3.28	3.08
XI	4.15	3.00	4.10	2.00	2.60	2.30
XII	8.10	6.49	8.59	5.69	5.73	4.65
Media	6.31	5.57	6.41	3.63	4.21	3.66
D. E.	1.20	1.06	1.18	1.01	1.33	0.83
I. C. (95%)	5.39-7.23	4.76-6.39	5.50-7.32	2.86-4.41	3.43-5.50	3.02-4.29

FAMV: flora aerobia mesófila viable

FAPV: flora aerobia psicrotrofa viable

BAL: bacterias ácido lácticas

M y L : Mohos y Levaduras

Los números en negritas muestran el valor máximo y mínimo.

Cuadro 3.12. Coeficientes de correlación (R) de los valores de las distintas variables estudiadas en el queso Manchego Mexicano elaborado en el Estado de Hidalgo.

pH	1.00									
Í.A.	-0.04	1.00								
FAMV	-0.32	-0.20	1.00							
FAPV	-0.20	0.31	0.75	1.00						
BAL	-0.30	0.07	0.86	0.85	1.00					
M Y L	-0.49	-0.02	0.84	0.73	0.95	1.00				
Coliformes	-0.38	-0.21	0.79	0.56	0.81	0.86	1.00			
<i>E. coli</i>	-0.22	-0.27	0.80	0.57	0.78	0.78	0.98	1.00		
a_w	0.22	-0.19	-0.43	-0.64	-0.57	-0.47	-0.38	-0.39	1.00	
α -N-HH ₂	-0.42	-0.31	-0.21	-0.20	-0.29	-0.14	-0.02	-0.05	-0.18	1.00
	pH	Í.A.	FAMV	FAPV	BAL	M Y L	Coliformes	<i>E. coli</i>	a_w	α -N-HH ₂

Í.A. : Índice de acidez de la grasa (Expresada en % de ácido oleico)

FAMV: flora aerobia mesófila viable

FAPV: flora aerobia psicrotrofa viable

BAL: bacterias ácido lácticas

M y L : Mohos y Levaduras

 a_w : Actividad de Agua α -N-HH₂: Nitrógeno alfa amínico (Expresado como % de Nitrógeno Total)

Los valores en negrita muestran correlaciones significativas entre las variables medidas (P<0.05)

3.5. Queso Tenate

En el cuadro 3.13 se muestran los resultados obtenidos de los diferentes parámetros físico-químicos analizados en el **queso Tenate** proveniente de seis industrias del Valle de Tulancingo. Como podemos observar el 100% de las industrias de la región no pasteurizan la leche para la elaboración de este tipo de queso. Los valores promedio de pH y a_w fueron 5.35 ± 0.16 y 0.963 ± 0.007 respectivamente. Los valores de índice de acidez de la grasa y nitrógeno alfa-amínico oscilaron entre 1.15-1.58 (% de ácido oleico) y 1.20-1.68 (% de nitrógeno total) respectivamente.

En el cuadro 3.14 se muestran los resultados obtenidos de los principales indicadores microbianos estudiados en el **queso Tenate** elaborado en el Valle de Tulancingo Hgo. La media de las muestras estudiadas para los distintos grupos fueron expresados en Log ufc/g para FAMV 7.24 ± 0.53 , FAPV 6.97 ± 0.63 , BAL 6.52 ± 0.63 , M y L 5.50 ± 0.50 , coliformes 4.63 ± 0.98 y *E.coli* 4.85 ± 0.85 . Como era de esperar en los quesos elaborados con leche cruda los recuentos de los distintos grupos microbianos fueron altos. Como se observa en la tabla, la industria V presento menor crecimiento de FAPV y BAL, aunque ésta presento mayor número de coliformes y *E.coli*. Así mismo, las industrias II y III presentaron mayor número de FAMV, M y L y FAPV, respectivamente.

El cuadro 3.15, se muestran los coeficientes de correlación de las diferentes variables analizadas en el **queso Tenate**. Como podemos observar, el pH esta fuertemente correlacionado con coliformes y *E.coli* (0.92 y 0.90, $p < 0.05$), así mismo estos grupos microbianos están correlacionados negativamente con el Í.A. (-0.82, -0.82 $p < 0.05$). La a_w esta correlacionada positivamente con la FAMV (0.83 $p < 0.05$). Finalmente, como sucedió en casi todos los tipos de quesos se aprecia una correlación positiva significativa entre los coliformes y *E. coli* ($p < 0.05$).

Cuadro 3.13. Valores de pH, a_w , índice de acidez de la grasa y nitrógeno alfa amínico en el queso Tenate elaborado en el Estado de Hidalgo.

INDUSTRIA	Fosfatasa	pH	a_w	Í. A.	α -N-HH ₂
II	+	5.13	0.968	1.43	1.25
III	+	5.43	0.972	1.58	1.64
V	+	5.53	0.955	1.24	1.41
VII	+	5.50	0.964	1.32	1.20
IX	+	5.30	0.953	1.17	1.68
XII	+	5.20	0.968	1.15	1.36
Media		5.35	0.963	1.28	1.43
D. E.		0.16	0.007	0.17	0.20
I. C. (95%)		5.18-5.52	0.955-0.971	1.11-1.46	1.22-1.63

α -N-HH₂: Nitrógeno alfa amínico (Expresado como % de Nitrógeno Total)

Í. A.: Índice de acidez de la grasa (Expresada en % de ácido oleico)

a_w : Actividad de Agua

Los números en negritas muestran los valores máximo y mínimo.

Cuadro 3.14. Recuentos microbianos (Log ufc/g) en el queso Tenate elaborado en el Estado de Hidalgo.

INDUSTRIA	FAMV	FAPV	BAL	M y L	Coliformes	<i>E. coli</i>
II	7.91	7.02	6.98	6.15	4.15	4.03
III	7.58	7.94	6.62	5.30	4.96	4.95
V	6.65	6.24	5.63	5.66	5.54	5.54
VIII	7.57	7.40	7.00	5.74	5.54	5.50
IX	6.63	6.78	5.84	5.50	4.00	3.70
XII	7.10	6.45	7.06	4.65	3.95	3.78
Media	7.24	6.97	6.52	5.50	4.63	4.85
D. E.	0.53	0.63	0.63	0.50	0.98	0.85
I. C. (95%)	6.68-7.99	6.31-7.63	5.86-7.19	4.97-6.03	3.90-5.48	3.69-5.48

FAMV: flora aerobia mesófila viable

FAPV: flora aerobia psicrotrofa viable

BAL: bacterias ácido lácticas

M y L : Mohos y Levaduras

Los números en negritas muestran el valor máximo y mínimo.

Cuadro 3.15. Coeficientes de correlación (R) de los valores de las distintas variables estudiadas en el Queso Tenate elaborado en el Estado de Hidalgo.

pH	1.00									
Í.A.	-0.78	1.00								
FAMV	-0.28	-0.12	1.00							
FAPV	0.17	-0.45	0.67	1.00						
BAL	-0.43	0.37	0.81	0.41	1.00					
M Y L	0.09	-0.60	0.36	0.17	-0.13	1.00				
Coliformes	0.92	-0.82	0.02	0.21	-0.21	0.30	1.00			
<i>E. coli</i>	0.90	-0.82	0.07	0.23	-0.17	0.29	1.00	1.00		
a_w	-0.29	0.14	0.83	0.61	0.84	-0.19	-0.09	-0.03	1.00	
α -N-HH ₂	0.08	-0.07	-0.49	0.16	-0.58	-0.32	-0.25	-0.26	-0.27	1.00
	pH	Í.A.	FAMV	FAPV	BAL	M Y L	Coliformes	<i>E. coli</i>	a_w	α -N-HH ₂

Í.A: Índice de acidez de la grasa (Expresada en % de ácido oleico)

FAMV: flora aerobia mesófila viable

FAPV: flora aerobia psicrotrofa viable

BAL: bacterias ácido lácticas

M y L : Mohos y Levaduras

a_w : Actividad de Agua

α -N-HH₂: Nitrógeno alfa amínico (Expresado como % de Nitrógeno Total)

Los valores en negrita muestran correlaciones significativas entre las variables medidas ($P < 0.05$)

3.6. Queso Morral

En el cuadro 3.16 se muestran los resultados obtenidos de los diferentes parámetros físico-químicos analizados en el **queso Morral**, proveniente de siete industrias del Valle de Tulancingo Hgo. Como podemos observar el 100% de las industrias de la región pasteurizan la leche para la elaboración de este queso. Los valores promedio de pH y a_w fueron 5.32 ± 0.11 y 0.971 ± 0.009 , respectivamente. El índice de acidez de la grasa oscilaron entre 0.96-2.30 (% de ácido oleico) y de nitrógeno alfa-amínico 0.85-2.20 (% de nitrógeno total).

En el cuadro 3.17 se muestran los resultados obtenidos de los principales indicadores microbianos estudiados en el **Queso Morral** elaborados en el Valle de Tulancingo Hgo. La media de los distintos grupos fueron expresados en Log ufc/g para

FAMV 7.02 ± 0.69 , FAPV 6.78 ± 0.71 , BAL 6.10 ± 0.90 , M y L 4.38 ± 1.07 , coliformes 3.53 ± 1.82 y *E.coli* 2.86 ± 1.56 . La industria XIII fue la que presentó mayor número de los distintos grupos microbianos estudiados, mientras que las industrias VI y IX presentaron menor número de BAL, M y L, *E.coli* y Coliformes.

El cuadro 3.18 se recogen los coeficientes de correlación de las diferentes variables analizadas en el **queso Morral**. Como se puede observar, la FAPV está correlacionada positivamente significativa con las BAL (0.87 $p < 0.05$) con BAL y negativamente con el nitrógeno alfa-amínico (-0.86 $p < 0.05$). Además, las BAL están correlacionadas positivamente con los M y L (0.82 $p < 0.05$). Por último, los coliformes presentan una correlación positiva con *E.coli* (0.83 $p < 0.05$) y una negativa con el % de nitrógeno alfa-amínico (-0.91 $p < 0.05$). Por último, *E.coli*, también presentan una correlación negativa con el í.A. (-0.82 $p < 0.05$).

Tabla 3.16. Valores de pH, a_w , índice de acidez de la grasa y nitrógeno alfa amínico en el queso Morral elaborado en el Estado de Hidalgo.

INDUSTRIA	Fosfatasa	pH	a_w	Í. A.	α -N-HH ₂
I	-	5.23	0.963	1.93	-
II	-	5.23	0.962	1.67	1.64
III	-	5.54	0.970	2.30	0.95
VI	-	5.27	0.963	1.03	1.31
IX	-	5.23	0.981	1.35	1.64
X	-	5.31	0.961	1.26	2.20
XIII	-	5.39	0.981	0.96	0.85
Media		5.32	0.971	1.46	1.43
D. E.		0.11	0.009	0.51	0.50
I. C. (95%)		5.21-5.42	0.962-0.980	0.99-1.93	0.90-1.96

α -N-HH₂: Nitrógeno alfa amínico (Expresado como % de Nitrógeno Total)

Í. A.: Índice de acidez de la grasa (Expresada en % de ácido oleico)

a_w : Actividad de Agua

Los números en negritas muestran los valores máximo y mínimo.

Cuadro 3.17. Recuentos microbianos (Log ufc/g) en el queso Morral elaborado en el Estado de Hidalgo.

INDUSTRIA	FAMV	FAPV	BAL	M y L	Coliformes	<i>E. coli</i>
I	5.65	6.28	6.77	3.98	3.40	1.00
II	7.33	6.30	5.69	4.48	3.40	1.00
III	7.13	7.47	6.83	4.74	4.82	4.30
VI	7.00	6.54	4.66	3.50	4.34	3.89
IX	7.02	7.02	6.04	5.69	2.05	1.96
X	7.06	6.04	5.50	4.70	2.21	1.97
XIII	7.94	7.94	7.22	6.70	5.52	4.65
Media	7.02	6.78	6.10	4.83	3.53	2.86
D. E.	0.69	0.71	0.90	1.07	1.82	1.56
I. C. (95%)	6.38-7.65	6.13-7.44	5.27-6.93	3.84-5.82	2.48-4.88	1.24-4.12

FAMV: flora aerobia mesófila viable

FAPV: flora aerobia psicrotrofa viable

BAL: bacterias ácido lácticas

M y L: Mohos y Levaduras

Los números en negritas muestran el valor máximo y mínimo.

Cuadro 3.18. Coeficientes de correlación (R) de los valores de las distintas variables estudiadas en el Queso Morral elaborado en el Estado de Hidalgo.

pH	1.00									
Í.A.	0.51	1.00								
FAMV	0.24	-0.20	1.00							
FAPV	0.63	0.11	0.64	1.00						
BAL	0.66	0.32	0.68	0.87	1.00					
M Y L	0.20	-0.18	0.73	0.73	0.82	1.00				
Coliformes	0.64	0.10	0.63	0.67	0.47	0.17	1.00			
<i>E. coli</i>	0.72	-0.10	0.38	0.72	0.43	0.21	0.83	1.00		
a_w	-0.03	-0.50	0.19	0.55	0.10	0.29	0.35	0.57	1.00	
α -N-HH ₂	-0.63	-0.19	-0.54	-0.86	-0.59	-0.31	-0.91	-0.82	-0.56	1.00
	pH	Í.A.	FAMV	FAPV	BAL	M Y L	Coliformes	<i>E. coli</i>	a_w	α -N-HH ₂

Í.A: Índice de acidez de la grasa (Expresada en % de ácido oleico)

FAMV: flora aerobia mesófila viable

FAPV: flora aerobia psicrotrofa viable

BAL: bacterias ácido lácticas

M y L: Mohos y Levaduras

 a_w : Actividad de Agua α -N-HH₂: Nitrógeno alfa amínico (Expresado como % de Nitrógeno Total)

Los valores en negrita muestran correlaciones significativas entre las variables medidas (P<0.05)

3.7. Principales indicadores microbiológicos.

En el cuadro 3.19, se muestran los resultados de los recuentos de los principales indicadores microbiológicos de calidad higiénica –FAMV, FAPV, BAL, M y L, Coliformes, *E. coli*– obtenidos a partir de 47 muestras de quesos artesanales elaborados en el Valle de Tulancingo Hgo. El número de microorganismos de FAMV fue superior en el queso tipo Oaxaca (7.63 ± 0.76 Log ufc/g) que en el resto de los quesos, observándose únicamente diferencias significativas entre el queso tipo Oaxaca y el queso Manchego Mexicano. Con respecto a la FAPV y a las BAL no se observaron diferencias significativas entre los distintos tipos de quesos analizados, siendo los quesos Manchego Mexicano y el tipo Panela los que presentaron menor número de microorganismos, 5.57 ± 1.06 y 5.65 ± 1.26 , respectivamente. Las muestras de los quesos Morral (3.53 ± 1.82 Log ufc/g), Manchego Botanero (3.91 ± 1.76 Log ufc/g) y tipo Oaxaca (4.08 ± 1.41 Log ufc/g) mostraron los valores mas bajos de coliformes entre los quesos analizados, observándose diferencias significativas entre los quesos anteriormente mencionados y el queso tipo Panela (6.25 ± 0.87 Log ufc/g). Por último, el recuento de *E. coli* fue superior en el queso Panela (4.62 ± 1.13 Log ufc/g) que en el resto de los quesos analizados, aunque sólo se observó diferencias significativas, entre ese queso y el queso Morral.

El cuadro 3.20 presenta los coeficientes de correlación generales de todas las variables analizadas de los quesos, como se puede observar, la relación del pH con a_w (0.41 $P < 0.05$), BAL (-0.29 $P < 0.05$), coliformes (0.47 $P < 0.05$) y *E.coli* (0.29 $P < 0.05$), en el caso del í.A. únicamente se encontró correlación con la actividad de agua en forma negativa (-0.37 $P < 0.05$). En cuanto, a la FAMV se relaciona con FAPV (0.84 $P < 0.05$), BAL (0.38 $P < 0.05$), MYL (0.54 $P < 0.05$) y coliformes (0.29 $P < 0.05$). FAPV esta correlacionada positivamente con M Y L (0.61 $p < 0.05$), con BAL y negativamente con el nitrógeno alfa-amínico (-0.86 $p < 0.05$). Además, las BAL están correlacionadas positivamente con los M y L (0.82 $p < 0.05$). Por último, los coliformes presentan una correlación positiva con *E.coli* (0.83 $p < 0.05$) y una negativa con el % de nitrógeno alfa-amínico (-0.91 $p < 0.05$). Por último, *E.coli*, también presentan una correlación negativa con el í.A. (-0.82 $p < 0.05$).

Cuadro 3.19. Recuentos Microbianos (Log_{10} ufc/g) en seis diferentes quesos elaborados en el estado de Hidalgo.

	Panela (n=9)	Oaxaca (n=10)	Manchego Botanero (n=9)	Manchego Mexicano (n=7)	Tenate (n=6)	Morral (n=6)
FAMV	6.89 (1.06) ^{a,b}	7.63 (0.76) ^a	7.17 (0.52) ^{a,b}	6.31 (1.20) ^b	7.24 (0.53) ^{a,b}	7.02 (0.69) ^{a,b}
FAPV	6.41 (1.25) ^a	6.78 (0.91) ^a	6.58 (0.59) ^a	5.57 (1.06) ^a	6.97 (0.63) ^a	6.78 (0.71) ^a
BAL	5.65 (1.26) ^a	6.52 (0.85) ^a	6.49 (0.71) ^a	6.41 (1.18) ^a	6.52 (0.63) ^a	6.10 (0.90) ^a
M y L	5.39 (0.58) ^a	4.82 (2.52) ^a	5.14 (1.30) ^a	3.63 (1.01) ^a	5.50 (0.50) ^a	4.83 (1.07) ^a
Coliformes	6.25 (0.87) ^a	4.08 (1.41) ^b	3.91 (1.76) ^b	4.21 (1.33) ^b	4.63 (0.98) ^{a,b}	3.53 (1.82) ^b
<i>E. coli</i>	4.62 (1.13) ^a	3.61 (1.21) ^{a,b}	3.37 (1.41) ^{a,b}	3.66 (0.83) ^{a,b}	4.58 (0.85) ^{a,b}	2.68 (1.56) ^b

FAMV: flora aerobia mesófila viable

FAPV: flora aerobia psicrotrofa viable

BAL: bacterias ácido lácticas

M y L : Mohos y Levaduras

^{a,b,c}: medias de cada renglón con letras diferentes presentan diferencia significativa. Comparación de medias Tukey ($p < 0.05$)

Cuadro 3.20. Coeficientes de correlación (R) para el conjunto de los quesos elaborados en el Estado de Hidalgo.

pH	1.00										
Í.A.	-0.02	1.00									
FAMV	-0.19	-0.25	1.00								
FAPV	-0.08	-0.10	0.84	1.00							
BAL	-0.29	0.04	0.38	0.24	1.00						
M Y L	0.10	-0.20	0.54	0.61	0.16	1.00					
Coliformes	0.47	-0.09	0.29	0.22	0.15	0.29	1.00				
<i>E.coli</i>	0.29	-0.16	0.16	0.14	0.36	0.30	0.81	1.00			
a_w	0.41	-0.37	0.07	0.06	-0.19	0.18	0.26	0.09	1.00		
α -N-HH ₂	-0.68	-0.10	0.10	0.08	-0.11	-0.12	-0.38	-0.28	-0.40	1.00	
	pH	Í.A.	FAMV	FAPV	BAL	M Y L	Coliformes	<i>E.coli</i>	a_w	α -N-HH ₂	

Í.A: Índice de acidez de la grasa (Expresada en % de ácido oleico)

FAMV: flora aerobia mesófila viable

FAPV: flora aerobia psicrotrofa viable

BAL: bacterias ácido lácticas

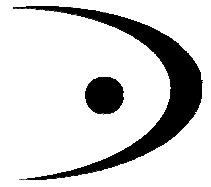
M y L: Mohos y Levaduras

a_w : Actividad de Agua

α -N-HH₂: Nitrógeno alfa amínico (Expresado como % de Nitrógeno Total)

Los valores en negrita muestran correlaciones significativas entre las variables medidas ($P < 0.05$)

DISCUSIÓN



4.DISCUSIÓN

Los valores medios de pH (6.13 ± 0.41) encontrados en el **queso tipo Panela** (elaborados con leche pasteurizada, como lo establece la Norma Oficial Mexicana (NOM/121-1994) son ligeramente superiores a los encontrados por Torres-Llanez *et al.* (2005) en muestras artesanales de queso Fresco elaborados con leche cruda; estas diferencias pueden deberse a que los quesos frescos elaborados con leche cruda tienen mayor facilidad para acidificarse que los elaborados con leche pasteurizada. Sin embargo, ambos quesos presentaron valores de a_w similares. De acuerdo con Beresford *et al.* (2001) los valores de a_w observados para las muestras de quesos tipo Panela analizados en este trabajo son característicos de los quesos frescos. Los altos valores de pH y a_w del queso tipo Panela lo hacen susceptible al crecimiento microbiano.

Los recuentos de los principales indicadores de calidad microbiológica de la mayoría de los quesos tipo Panela analizados fueron elevados (cuadro 3.2). Sin embargo, los recuentos de la FAMV (6.89 ± 1.06 Log ufc/g) fueron inferiores a los encontrados por Cristóbal-Delgado y Maurtúa-Torres (2003) y Torres-Llañez *et al.* (2005) en muestras de queso Fresco elaborados con leche cruda peruanos y mexicanos, respectivamente.

Respecto a las concentraciones de psicrotrofos, los valores encontrados en 6 de las 9 muestras de queso tipo Panela analizados alcanzan o superan los límites encontrados en la leche por Muir y Phillips (1984) y Frank (1997) (6-6.7 Log ufc/mL) para producir defectos de sabores amargos o pútridos y rancidez.

Con respecto a la presencia de BAL en el queso tipo Panela su presencia puede ser debida a que algunas especies de este grupo resisten la pasteurización; esta observación también fue realizada por Salmerón *et al.* (2002) (aunque también podrían proceder de contaminación post-pasteurización). Los mencionados autores encontraron recuentos de 2.85 y 3.71 Log ufc/mL para *Lactobacillus* y *Lactococcus*,

respectivamente en leche de oveja pasteurizada. Asimismo, Bachmann *et al.* (1996) mencionan que la pasteurización elimina flora patógena, aunque existen otros microorganismos que resisten ese tratamiento.

Por último, sorprendentemente los recuentos de coliformes (6.25 ± 0.87 Log ufc/g) y *E. coli* (4.62 ± 1.13 Log ufc/g) en queso tipo Panela, a pesar de la pasteurización de la leche fueron superiores a los reportados por Cristóbal-Delgado y Maurtua Torres (2003) y Torres-Llañez *et al.* (2005) para quesos Frescos de leche cruda, y también a los límites establecidos por la Secretaría de Salud (NOM121/1994) para quesos frescos mexicanos. Estas cifras tan elevadas tienen su causa en las deficientes prácticas higiénicas manipulación, limpieza y desinfección, conservación, etc., que hacen que estos microorganismos se incorporen a la leche pasteurizada, la cuajada o el queso y se multipliquen.

Estos recuentos son suficientes como para provocar defectos de hinchazón temprana en los puntos de venta de este queso (Gaya *et al.*, 1987; Medina y Gaya, 1989; Bachmann y Spahr, 1994). Según estos autores, concentraciones cercanas a 7 Log ufc/g de coliformes y *E. coli* provocaron este defecto en quesos no madurados. Consecuentemente, algunos de los quesos tipo Panela estudiados presentaron también este defecto.

Los valores de pH (5.02 ± 0.21) del **queso tipo Oaxaca** implican que en este queso el crecimiento microbiano durante su maduración y conservación es escaso, mientras que la a_w (0.973 ± 0.006) es relativamente elevada (Boresford *et al.*, 2001).

Como podemos observar en el cuadro 3.4., la mayoría de las industrias de la región no pasteurizan la leche para la elaboración del queso tipo Oaxaca, práctica que de acuerdo con la NOM 121/1994 debería ser llevada a cabo.

La microbiología del queso tipo Oaxaca ya ha sido estudiada previamente por nuestro grupo de investigación (Caro *et al.* 2000a), aunque en los dos estudios no se han llevado a cabo los mismos análisis. Cabe destacar que ninguno de los grupos microbianos estudiados –BAL, psicrotrofos, mohos y levaduras, etc.- se acerca a los

recuentos de la FAMV, es decir que hay otros grupos microbianos predominantes diferentes a los estudiados. También es destacable el alto contenido en FAPV, mayor que el de BAL.

La fuente de FAPV podría estar en la leche de partida o bien llegar a la leche o a la cuajada durante la elaboración del queso pero se ha de señalar que la FAPV es sensible al calor y tendrían que sobrevivir al calentamiento de la cuajada en el malaxado (aproximadamente 50 °C durante 10-15 min). También la fuente de psicrotrofos podría estar en la contaminación de la cuajada posterior al malaxado, en las hebras del queso durante el salado y formado de las bolas y en el queso durante su conservación.

En cualquier casos la elevada correlación observada entre la FAMV y FAPV (y los altos contenidos en FAPV) indican que probablemente las fuentes de la microbiología de este queso podrían ser principalmente el agua usada en la limpieza de los equipos de ordeño, los equipos y material usado para la elaboración de fabricación de quesos y la ubre de la vaca (Frank, 1997; Suhren, 1989). Por último, la correlación significativa (0.65, $p < 0.05$) entre coliformes y MyL posiblemente se deba a una inadecuada limpieza de la industria, tanto del equipo como del aire de la misma como lo indican Bramley *et al.*, (1990). Estos autores observaron que los coliformes se encuentran asociados a residuos de leche en el equipo de ordeña derivado de una limpieza inadecuada.

Por otra parte, los recuentos en todos lo grupos, a excepción de las BAL, obtenidos de quesos de leche cruda fueron en general mayores a los obtenidos con leche pasteurizada tanto en el presente trabajo como en el anteriormente publicados por nuestro grupo de investigación (Caro *et al.*, 2000a).

En el presente trabajo, los valores de FAMV del queso tipo Oaxaca (cuadro 3.5) fueron inferiores a los encontrados hace seis años para quesos tipo Oaxaca elaborados con leche pasteurizada y con leche cruda (7.70 y 8.65 Log ufc/mL, respectivamente) (Caro *et al.*, 2000a). Con respecto a los recuentos de coliformes

(cuadro 3.5) éstos también fueron inferiores (aproximadamente 2 Log ufc.g^{-1}) a los encontrados hace seis años (aunque superiores a los establecidos por la Secretaría de Salud, 1994). Estas diferencias indican que se han mejorado ligeramente las prácticas higiénicas en la elaboración de este queso, aunque sigue habiendo recuentos elevados de coliformes, este hecho podría ser explicado por la falta de pasteurización de la leche.

Respecto al **queso Manchego Mexicano**, los valores encontrados para recuento de totales, coliformes y mohos y levaduras fueron similares a los detectados para estos grupos microbianos por Díaz-Cinco *et al.* (1992) en queso Chihuahua recién elaborado. Los resultados obtenidos en queso manchego mostraron que a mayor concentración de FAMV mayor la concentración de BAL, existiendo una correlación positiva ($0.86, p < 0.05$) entre ambos grupos microbianos. Este hecho indicaría que la mayor parte de FAMV son bacterias ácido lácticas. De acuerdo con Beresford *et al.*, (2001), la mayoría de los *estárter* utilizados para la elaboración de los quesos son microorganismos mesófilos y la concentración de estos microorganismos en el queso es cercana a 8 Log ufc/g , aunque las muestras analizadas en este estudio tuvieron concentraciones menores (6.4 Log ufc/g).

En el queso Manchego Mexicano fueron observadas concentraciones altas de coliformes y *E. coli*. Las concentraciones de esos microorganismos superan de forma importante los límites establecidos por algunas normas internacionales, como las normas estándares de Nueva Zelanda y Australia para quesos semi-blandos, que establecen un máximo de 100 ufc/g en una muestra de un total de 5 de muestras. Por otro lado, es difícil comparar con los límites establecidos por la NOM121/94 debido que estos vienen dados para coliformes fecales (50 NMP/g). No obstante, teniendo en cuenta que los *E.coli* son considerados como coliformes fecales, todas las muestras de queso Manchego Mexicano superaron esos niveles.

Con respecto a los principales indicadores microbianos en **queso Manchego Botanero** fueron similares a los del queso Manchego Mexicano, aunque los valores

de mohos y levaduras y FAVP fueron superiores. Los recuentos de FAMV y FAPV fueron semejantes para ambos grupos microbianos (cuadro 3.7 y 3.9), así mismo se observó una correlación positiva entre los mencionados grupos, que podría indicar que la mayoría de la FAMV son microorganismos psicrotrofos.

Con respecto al **Queso Tenate** los recuentos de la FAMV, M y L y coliformes encontrados en este trabajo fueron inferiores entre 1 y 4 Log ufc/g a los reportados por Caro *et al.* (2000b) para la muestras de este mismo queso. La disminución observada puede estar relacionada con la mejora en las prácticas de obtención y almacenamiento de la leche (como por ejemplo el mantenimiento de la leche a refrigeración en los centros de acopio, práctica que se viene llevando a cabo desde hace algunos años favorecida por el trabajo de la Comisión Estatal de la leche del Estado de Hidalgo. Sin embargo, aunque se observaron recuentos inferiores que los encontrados hace unos años, se considera necesario hacer mejoras en las buenas prácticas de manufactura debido a que la cantidad de *E. coli* presente en el queso sigue siendo elevada.

Los recuentos microbianos encontrados en el **Queso Morral** fueron similares a los encontrados en otros quesos, excepto para coliformes y *E. coli* que fueron inferiores. Este hecho podría explicarse por la forma de fabricación del mismo, ya que se agrega sal a la cuajada después de haberse acidificado.

Los bajos valores de pH encontrados en los quesos mexicanos no evitaron la presencia de indicadores de calidad microbiológica como *E. coli* y coliformes. Esta observación ha sido realizada también por García-Fontán *et al.* (2001) para el queso San Simón, con pHs similares. Además, Beresford *et al.* (2001) indican que rangos de a_w entre 0.95-0.99 no son suficientemente bajos como para inhibir los principales grupos microbianos de los quesos y los quesos mexicanos presentaron valores de a_w dentro de ese rango (0.963-0.988).

Se han observado pocas diferencias para el nitrógeno alfa amínico ($\alpha\text{-NH}_2\text{-N}$) y los ácidos grasos libres para los distintos quesos mexicanos estudiados. Una causa

principal para explicar este hecho podría radicar en que los quesos estudiados o bien son frescos o bien de corta maduración.

Uno de los principales cambios que ocurren durante la maduración de los quesos es la proteólisis, que juega un papel relevante en el desarrollo del flavor y la textura de los quesos (Sousa *et al.*, 2001); generalmente intensifica el flavor y ablanda la textura.

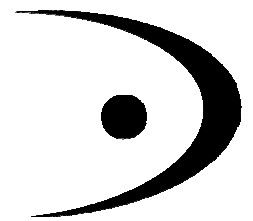
En relación con los ácidos grasos libres, su contenido en la leche cruda y pasteurizada es variable (0.5-5 mmol KOH 100 g⁻¹ grasa) (Sapru *et al.*, 1997; Evers, 2003; Zygoura *et al.*, 2004) y una gran parte de esa variabilidad es debida al incremento durante la conservación. En los quesos tiene lugar un incremento en los ácidos grasos libres durante el almacenamiento y la maduración, que varía entre variedades de queso, ejerciendo un fuerte impacto (beneficioso o no) sobre su sabor (ver revisión de Collins *et al.*, 2003). De acuerdo con los datos de la revisión los quesos Mexicanos mostraron valores moderados de ácidos grasos libres, estando dentro de los rangos presentados por otros quesos como el Cheddar, Cheshire o Mozzarella, para los cuales un exceso de lipólisis es indeseable.

La presencia elevada de coliformes y *E. coli* (3.53-6.58 y 2.86-4.62 Log ufc/g) en los quesos mexicanos tanto crudos como pasteurizados puede deberse; I) a malas prácticas higiénicas, especialmente las condiciones de limpieza y desinfección del equipo (Gaya *et al.*, 1987; Podstatzky-Lichtenstein *et al.*, 2001 y Nikolaou y col., 2002) durante la elaboración del queso, II) a una contaminación post-pasteurización y III) a la calidad de la leche empleada para la elaboración del queso y/o las condiciones de manufactura (Alonso-Calleja *et al.*, 2002). Por otra parte, en este estudio se observaron correlaciones positivas entre el pH, coliformes y *E. coli* (Tabla 3.20), este hecho podría indicar que este grupo microbiano es sensible al pH. Posiblemente otros factores relacionados con la elaboración de los quesos influyan directamente sobre estos grupos microbianos, por ejemplo el fundido del queso tipo Oaxaca, aspecto que convendría ser estudiado.

También, se observó una correlación negativa entre el pH y las BAL, indicado que el decremento del pH en los quesos mexicanos se debe principalmente a las BAL adicionadas o no a la leche para la elaboración de estos.

La concentración de M y L en los quesos mexicanos (3.63-5.50 Log ufc/g) pasteurizados está dentro de los rangos encontrados para otros quesos como el Cheddar (2-7 Log ufc/g). El papel de las levaduras, la explicación de su presencia y crecimiento en los quesos no están del todo establecido. Altos recuentos de levaduras en los quesos se han relacionado con contaminaciones secundarias originadas por el aire y por la pobre higiene de la planta (Temelli *et al.*, 2006) y en algunas circunstancias las levaduras son alterantes del queso (Mogens *et al.*, 1996). En relación a los mohos, los defectos que pueden causar a los quesos mexicanos es posiblemente presencia de colores blancos o negros, pero no se han observado estos defectos en las muestras analizadas.

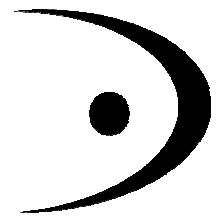
CONCLUSIONES



5.- CONCLUSIONES

1. Los recuentos microbianos encontrados en los quesos mexicanos han estado comprendidos dentro de los siguientes rangos expresados de aproximada como unidades logarítmicas: flora aerobia mesófila viable, 6.5-7.5; psicrotrofos, 6-7; lactobacilos, 5.5-6.5; mohos y levaduras, 3.5-5.5; coniformes, 4-6; E. coli: 2.5-4.5.
2. En los quesos mexicanos estudiados se ha constatado la supervivencia de los principales indicadores microbianos de calidad higiénica estudiados en este trabajo.
3. Los recuentos de los distintos indicadores microbianos de calidad higiénica fueron elevados tanto en los quesos elaborados con leche cruda como en quesos elaborados con leche pasteurizada, superando estos últimos en gran medida los límites establecidos por las normas sanitarias mexicanas. Sin embargo estos recuentos fueron inferiores a los encontrados por nuestro grupo de investigación en el año de 1998.
4. El queso Panela fue el queso que presento mayor contenido en coliformes.
5. De acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo, es necesario establecer o mejorar las buenas prácticas de manufactura en las industrias queseras del Valle de Tulancingo para mejorar la calidad de los quesos.

BIBLIOGRAFIA



6. BIBLIOGRAFIA

- Alba, L.A. de, Staff, C., Richter, R.L., Dill, C.V. (1991). Mexican Asadero Cheese: a survey of its composition. *Cultured dairy products Journal*, 26(2), 11-12.
- Albert, L.A., Alpuche, L., Barcenas, C. and Rendon, J. (1990). A survey of organochloride pesticide residues in cheese samples from three Mexican regions. *Environmental Pollution, A.*, 65, 119-126.
- Alonso-Calleja, C., Capita, R., Carballo, J., Bernarndo, A and García-López M, L. (2002). Changes in the *Enterobacteriaceae* populations throughout manufacturing and reopening of Valdeteja cheese. *Milchwissenschaft*, 57, 9-10
- Alvarado,-C; Garcia-Almendarez,-B-E; Martin,-S-E; Regalado,-C 2005. Anti-Listeria monocytogenes bacteriocin-like inhibitory substances from *Enterococcus faecium* UQ31 isolated from artisan Mexican-style cheese. *Current-Microbiology*. 51(2): 110-115.
- AOAC (1999). Official methods of analysis of the AOAC INTERNATIONAL. Cunniff P. (Ed.), 16th Edition, 5th Revision, Gaithersburg, Maryland.
- Aumaitre, A. (1999). Quality and safety of animal products. *Livest. Prod. Sci.*, 59, 113-124.
- Bachmann, H, P and Spahr, U. (1994). The fate of potentially pathogenic bacteria in swi2s hard and semihard cheese made from raw milk. *J. Dairy Sci.* 78, 476-483
- Bachmann, H,P., McNulty, D, A., McSweeney, P, L, H and Rûegg, M. (1996). Experimental designs for studying the influence of the raw milk flora on cheese characteristics: a review. *Journal of the Society if Dairy Technology*, 49 (2), 53-56.

- Beresford, T.P., Fitzsimons, N.A., Brennan, N.L., Cogan, T.M, (2001) Recent advances in cheese microbiology. *International Dairy journal* 11, 259-247.
- Bernardo A. (1997). Fundamentos en la elaboración de quesos. En "Productos Cárnicos y Lácteos" , Ed, I. Gonzalez, A, Otero, R, Rodríguez y J.J, Sanz, Gráficas Celarayn, León, España. Pp 333-341
- Beuchat, L.R. y Golden, D.A. (1989). Antimicrobials occurring naturally in foods. *Food Technology*, 43, 134-142.
- Bligh, E.G., Dyer, W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and physiology*, 37, 911-917.
- Boyazoglu, J., Morand-Fehr, P. (2001). Mediterranean dairy sheep and goat products and their quality (A critical review). *Small Ruminant Res.*, 40, 1-11.
- Bramley, A.J., y Mckinnon, C.H. (1990). The microbiology of raw milk. R.K.Robison (ed)., *In Dairy Microbiology*. 1, 163-208. Elsevier Applied Science, New York
- Bricker,-A-L; Hekken,-D-L-van; Guerrero,-V-M; Gardea,-A-A (2005). Microflora isolated from Mexican Mennonite-style cheeses. *Food-Protection-Trends*. 2005; 25(8): 637-640.
- Caro, I., Franco, M.J., Mateo, J. y Alonso, C. (1998). Influencia en la acidificación del queso tipo Oaxaca de la adición de distintas cantidades de fermentos mesófilos y termófilos y a distintos tiempos de inoculación. XI Congreso Nacional de Microbiología de la SEM. Comunicación. Libro de ponencias, comunicaciones y posters. Pamplona.
- Caro, I., Mateo, J. y Franco, M.J. (1997)El queso tipo Oaxaca, composición y alternativa para la micro-industria láctea Mexicana. Congreso Panamericano de Lechería. Federación Panamericana de Lechería (FEPALE). Comunicación. Libro de resúmenes. Buenos Aires

- Caro, I., Mateo, J. y Silva, G. (1999b). Microorganismos de interés sanitario en el queso tipo Oaxaca elaborado en el Estado de Hidalgo. XXVII Reunión de la Asociación Mexicana de Producción Animal y 9ª Reunión internacional sobre producción de carne y leche en climas cálidos. Comunicación oral. Libro de actas. Mexicali.
- Caro, I., Mateo, J., Vargas, J. y Contreras, A. . (1999a). Tenate cheese from México. 4º Encuentro de Química de Alimentos. Universidad de Coimbra. Comunicación. Libro de Actas. Coimbra
- Caro, I., Vargas, J., Contreras, A., Silva, G., López-Díaz, T.M. y Mateo, J. (2000a). El queso Tenate, un queso mexicano típico del Estado de Hidalgo; elaboración del queso con leche pasteurizada. *Tecnología Láctea Latinoamericana*, 19, 51-58.
- Caro, I, Franco, M.J. y Mateo, J. (2000b). Composición química y microorganismos de interés sanitario en el queso tipo Oaxaca elaborado en el Estado de Hidalgo. *Lácteos y Cárnicos Mexicanos*, 15 (3), 7-12.
- Cogan, T.M. (2000). Cheese microbiology. En: *Fundamentals of Cheese Science*, Eds. P.F. Fox, T. Ginee, T.M. Cogan y P.L.H. McSweeney. Gaithersburg: Aspen Publishers.
- Collins, Y.F., McSweeney, P.L.H., Wilkinson, M.G. (2003). Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge review. *International Dairy Journal* 13, 841–866
- Comunicación personal (2006). Ing. Guillermo Silva Silva, director del Centro de Estudios de la leche. Tulancingo. Hgo.
- Contreras, C. A., Vargas, C.J., (1999). Tipificación del Queso Tenate y elaboración de Queso Tenate con leche pasteurizada.
- Cousin, M, A (1982). Presence and activity of psychrotrophic microorganisms in milk an dairy products a review. *Journal of food Protection*. 45, 172-207

- Cristóbal Delgado, R, L. y Mautua-Torres, D, J. (2003). Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima, Perú, y la supuesta acción bactericida de *Lactobacillus* spp. *Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health*. 14 (3), 158-164
- Díaz-Cinco, M.E., Fraijo, O., Grajeda, P., Lozano-Taylor, J., González de Mejía, E. (1992). Microbial and chemical análisis of Chihuahua Cheese and relationship to histamine and tyramine. *J. Food Sci.*, 57, 355-365.
- Eck, A. (1990). El queso. Editorial Omega. Barcelona.
- Ellis, B.R. y Marth, E.H. (1984). Growth of *Pseudomonas* or *Flavobacterium* in milk reduced yield of Cheddar Cheese. *Journal of Food Protection*, 47, 713-716.
- Evers, J.M. (2003). Determination of free fatty acids in milk using the BDI method – some practical and theoretical aspects. *International Dairy Journal*, 13, 111–121
- [FAOSTAT] Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (2006). Base de datos estadísticos de la FAO. <http://www.faostat.fao.org>. Ultimo acceso 24 Febrero 2006.
- Fonseca, B., Caro, I., García, B., Soto, S., Campos, R.G., Mateo, J. “Características del Queso Panela Elaborado en una Región de México”. II Congreso Nacional de Calidad Alimentaria. Jeréz de la Frontera, España (2005).
- Franco, F, M.J. (1998). Estandarización del proceso de fabricación del queso tipo Oaxaca. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo
- Frank, J.F. (1997). Milk and dairy products. En: *Food Microbiology. Fundamentals and Properties*. ASM Press. Washington.

-
- Garcia-Fontan, M.C., Franco I, Prieto, B., Tornadijo, M. E. and Carbajo, J. (2001). Microbiological changes in 'San Simon' cheese through ripening and its relationship with physico-chemical parameters. *Food Microbiology*, 18, 25-33.
- Gaya, P., M. Medina, & M. Nunez. (1987). Enterobacteriaceae, coliforms, faecal coliforms and salmonellas in raw ewe's milk. *J. Appl. Bacteriol.*, 62, 321-662
- Gran , H, M., Mutukumira, A.N., Wetlesen, A and Narvhus, J,A. (2002). Smallholder dairy processing in Zimbabwe: the production of fermented milk products with particular emphasis on sanitation and microbiological quality. *Food Control*, 13 161-168
- Houghtby, G. A., L. J. Maturin, and E. K. Koenig. (1992). Microbiological count methods. In *Standard methods for the examination of dairy products.* (Ed. Marshall, R. T.), American Public Health Association, Washington, DC., p. 213-246.
- IDF (1993). Spoilage and pathogenic bacteria in milk based products. In *Recommendations for the hygienic manufacture of milk and milk-based products.* Appendix 1. *Bulletin 292*, 28-29
- Jakobsen, M. and Narvhus, J. (1996). Yeast and their possible beneficial and negative effects on the quality of dairy products. *International Dairy Journal*. 6 755-768
- Lobato-Calleros, C., Robles-Martinez, J. C., Caballero-Perez, J. F., Aguirre-Mandujano, E., & Vernon-Carter, E. J. (2001). Fat replacers in Low-Fat Mexican Manchego Cheese. *Journal of Texture Studies*, 32(1), 1–14.

- Losada H., Bennett, R., Cortes, J. Vieyra, J., Soriano, J.R. (2000). The historical development of the Mexico City milk supply system: local and global contradictions. *Habitat International*, 24, 485-500.
- Medina, M.y P. Gaya (1989)Flora Microbiana de la leche de oveja. *Ovis*.,21-27
- Muir , D, D.,y Phillips, J, D. 1984. Prediction of the shelf life of raw milk during refrigerated storage. *Milchwissenschaft* , 39. 7-11
- Nikolaou, E. Tzanetakis, N. Litopoulou, T. E. and Robinson, R. K. (2002). Changes in the microbiological and chemical characteristics of an artisanal, low-fat cheese made from raw ovine milk during ripening. *Internacional Journal Dairy Thecnology*. 55: 12-17.
- NOM-110-SSA1-1994. Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.
- NOM-111-SSA1-1994. Norma oficial mexicana, bienes y servicios, Método para la cuenta de mohos y levaduras.
- NOM-121-SSA1-1994. Bienes y servicios. Quesos; frescos madurados y procesados. Especificaciones sanitarias.
- Pearson, D. (1976). Oils and Fats. En: *The chemical Analysis of Foods, senenth edition* (p. 493). Churchill Livingstone, Edinburgh, Londres y New York.
- Pena, A., Nevarez, L., Labastida, C. and Capella, S. (1997). Triglyceride characterization of different Mexican cheeses by high temperatura capillary gas chromatography (HT-CGC). *HTC*, 20, 572-574.
- Podstatzky-Lichtenstein L. Winter, P. and Baumgarther, W. (2001) Baterial contamination of raw bulk milk of sheep and goats. Proceeding of the sixth international symposium on the milk of small ruminants. IAMZ/CIHEAM,FAO, EAAP, and ICAR. Athens Greece
- Rosen, H. (1957). A modified ninhydrin colorimetric analysis for amino acids. *Archives*

of Biochemistry and Biophysics, 67, 10-15.

- Saltijeral, J. A., Alvarez, V. B., and Garcia, B. (1999). Presence of *Listeria monocytogenes* in Mexican cheeses. *Journal of Food Safety*, 19(4), 241–247.
- Salmerón, J., De Vega, C., Pérez-Elortondo, F, J., Albisu, M. y Barrón , R, L.J.(2002). Effect of pasteurization and seasonal variations in the microflora of ewe's milk for cheesemaking. *Food Microbiology*, 19, 167-174
- Sapru, A., Barbano, D.M., Yun, J.J., Klei, L.R., Oltenacu, P.A. and Bandler, D.K. (1997). Cheddar Cheese: Influence of Milking Frequency and Stage of Lactation on Composition and Yield. *J. Dairy Sci*, 80:437–446
- Schröder, M, J, A, (1984). Origins and levels of post pasteurization contamination of milk in the dairy and their effects on keeping quality. *J. Dairy Res*, 51 59-67.
- Scott, R. (1991). Fabricación de quesos. Acribia. Zaragoza.
- Shah, N.P. (1994). Psychrotrophs in milk: a review. *Milchwissenschaft*, 49, 432-437.
- Silva,G; (1991), Manual de Fabricación de Quesos PROUNILAC, Universidad Autonoma del Estado de Hidalgo.
- Solano-López, C. and Hernández-Sánchez, H. (2000) Behaviour of *Listeria monocytogenes* during the manufacture and ripening of Manchego and Chihuahua Mexican cheeses. *International Journal of Food Microbiology*, Volume 62, Issues 1-2, 5 December 2000, Pages 149-153
- Sousa, M.J., Ard, Y., McSweeney, P.L.H. (2001) Advances in the study of proteolysis duringcheese ripening. *International Dairy Journal* 11, 327–345

- Temelli , S., Dokuzlu, C., Kurtulus Cem Sem, M. 2006. Determination of microbiological contamination sources during frozen snail meat processing stage. *Food control*. 17, 22-29
- Torres, B. A, (1999). Definición del suero de queso tipo Oaxaca en la región de Tulancingo y establecimiento del proceso optimo para obtención de proteínas. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
- Torres-Llanez, M.J., Vallejo-Cordoba, B., Díaz-Cinco, M.E., Mazorra-Manzano, M.A. y González-Córdoba, A.F. (2005). Characterization of the natural microflora of artisanal Mexican fresco cheese. *Food Control*, en prensa
- Villamar, A.L, (2004). Situación Actual de la Producción de Leche de Bovino en México. Sagarpa. Gob.
- Villegas, A., (2004). Tecnología Quesera. Editorial Trillas S.A de C.V.
- Walstra, P., Geurts, T.J., Noomen, A., Jellema, A., y Van Boekel, M., (2001). Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos, Marcel Dekker.
- Zygoura. P., Moyssiadi, T., Badeka, A., Kondyli, E., Savvaidis, I. and Kontominas, M.G. (2004). Shelf life of whole pasteurized milk in Greece: effect of packaging material. *Food Chemistry*, 87, 1–9