



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

---

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

**“ESTANDARIZACIÓN Y MEJORAMIENTO DEL PROCESO DE  
ELABORACIÓN DE QUESO A PARTIR DE LECHE DE CABRA  
EN UNA ZONA DEL ALTIPLANO POTOSINO”**

TESIS QUE PARA RECIBIR EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN ALIMENTOS

PRESENTA:

GLORIA SOSA MENDOZA

ASESORA:

M.C. MARÍA DEL REFUGIO PÉREZ BARBA

COASESOR:

DR. WALTER JORGE GÓMEZ RUIZ



SAN LUIS POTOSÍ, S.L.P, MÉXICO 2007

## AGRADECIMIENTOS

A la M.C. Ma. Del Refugio Pérez Barba por darme la oportunidad de realizar éste trabajo, por el apoyo, la paciencia y por brindarme sus conocimientos.

Al Dr. Walter Jorge Gómez Ruiz por su apoyo y colaboración durante el desarrollo de las diversas actividades presentadas en la realización de ésta tesis.

Al Instituto de Investigaciones de Zonas Desérticas (IIZD) de la UASLP, por su apoyo y colaboración en el desarrollo de éste trabajo.

Al proyecto “Mejoramiento Orientado al Mercado de la Productividad de Rumiantes Menores en Latinoamérica” realizado con el apoyo económico del Fondo Internacional para el Desarrollo de la Agricultura (FIDA) y administrado por el Internacional Center of Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA).

Al Laboratorio Estatal de Salud del estado de San Luis Potosí, S.L.P.

A los productores de la Comunidad San José de la Peña, por su cooperación en ésta investigación y por las ganas de mejorar su producto.

A mis sinodales por sus sugerencias y aportaciones en éste trabajo.

Al Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (INDRE).

*DEDICATORIA*

*A Dios*

*A mis padres*

*Fidel Sosa Velázquez y Eustolia Mendoza García  
Por haberme dado la vida, guiarme y apoyarme en todo momento.*

*A mis hermanos*

*Arnulfo, Rodolfo, Maricela y Alma  
Por ser mis hermanos, por estar siempre con migo y apoyarme.*

*A Christian*

*Por disfrutar con migo lo maravilloso del amor, por su compañía, su  
apoyo y su comprensión.*

*A mis amigos...*

*Por su amistad, colaboración y por su preocupación en el desarrollo de éste trabajo*

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE.....	I
ÍNDICE DE TABLAS.....	III
ÍNDICE DE FIGURAS.....	IV
RESUMEN.....	V

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	3
2.1 Definición de leche.....	3
2.1.1 Composición de la leche.....	3
2.1.2 Propiedades físicas de la leche.....	5
2.1.2.1 Aspecto .....	5
2.1.2.2 Propiedades físicas .....	5
2.2 La cabra .....	7
2.2.1 Leche de cabra .....	8
2.3 La leche para elaboración de queso.....	10
2.3.1 Microbiología de la leche .....	12
2.3.2 Bacterias presentes en la leche.....	12
2.3.2.1 Bacterias acidolácticas.....	13
2.3.2.2 Bacterias coliformes .....	14
2.3.2.3 Bacterias formadoras de ácido butírico .....	14
2.3.2.4 Bacterias formadoras de ácido propiónico.....	15
2.3.2.5 Bacterias de la putrefacción .....	15
2.4 Quesos .....	16
2.4.1 Definición .....	16
2.4.2 Antecedentes .....	16
2.4.3 Composición .....	17
2.4.3.1 Contenido en agua y materia grasa.....	17
2.4.3.2 Humedad .....	18
2.4.3.3 La fracción no grasa .....	18
2.4.4 Clasificación de las variedades de queso.....	18
2.4.5 Proceso de elaboración de quesos .....	20
2.4.6 Quesos artesanales e industriales .....	26
2.4.7 Buenas Prácticas de Manufactura en quesos .....	28
2.5 Microbiología de quesos.....	28
2.6 <i>Brucella spp</i> .....	29
2.6.1 Descripción del microorganismo .....	29
2.6.2 Hábitat .....	30
2.6.3 Morfología colonial y microscópica.....	30
2.7 Brucelosis.....	33
2.7.1 Antecedentes .....	33
2.7.2 Descripción de la enfermedad.....	34

3. JUSTIFICACION.....	36
4. OBJETIVOS .....	37
4.1 Objetivo general .....	37
4.2 Objetivos específicos.....	37
5. METODOLOGÍA .....	38
5.1 Diagnóstico de las condiciones de higiene y sanidad.....	38
5.2 Capacitación del personal .....	38
5.3 Determinación de las características fisicoquímicas .....	38
5.3.1 Recolección de las muestras de leche y queso .....	38
5.3.2 Caracterización fisicoquímica.....	39
5.3.2.1 Análisis fisicoquímicos.....	40
5.4 Evaluación microbiológica .....	40
5.4.1 Determinación de indicadores de sanidad .....	40
5.4.2 Análisis microbiológicos .....	41
5.4.3. Investigación de <i>Brucella spp</i> .....	41
5.4.3.1 Técnica y pruebas bioquímicas .....	41
5.5 Diseño experimental.....	41
5.5.3 Análisis estadístico .....	42
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	43
6.1 Diagnóstico de las condiciones de higiene y sanidad.....	43
6.2 Capacitación del personal involucrado.....	44
6.3 Caracterización fisicoquímica.....	45
6.3.1 Leche .....	45
6.3.2 Queso.....	47
6.4 Evaluación microbiológica .....	48
6.4.1 Leche .....	48
6.4.2 Queso.....	52
6.4.3 Investigación de <i>Brucella spp</i> .....	55
6.4.3.1 Leche.....	55
6.4.3.2 Queso .....	57
7. CONCLUSIONES.....	59
8. BIBLIOGRAFÍA.....	61

## ÍNDICE DE TABLAS

2.1	Constantes físicas usuales en la leche.....	6
2.2	Comparación de los componentes de leche de vaca y de cabra.....	9
2.3	Clasificación de los quesos.....	19
6.1	Resultados experimentales de los Análisis Físicoquímicos de leche para cada productor.....	46
6.2	Resultados promedios de las muestras analizadas comparadas con los datos reportados en la bibliografía.....	47
6.3	Resultados de los análisis físicoquímicos de los productores de San José de la Peña y del mercado.....	48
6.4	Resultados microbiológicos de leche sin tratamiento de pasteurización y con pasteurización.....	50
6.5	Resultados del análisis estadístico realizado a las muestras de leche.....	51
6.6	Resultados microbiológicos de queso de cabra con el proceso tradicional y con Buenas Practicas de Manufactura .....	53
6.7	Resultados del análisis estadístico realizado a las muestras de queso.....	55
6.8	Investigación de <i>Brucella spp</i> en leche sin pasteurizar.....	56
6.9	Evaluación realizada en el INDRE.....	57
6.10	Investigación de <i>Brucella spp</i> en queso elaborado sin Buenas Practicas de Manufactura.....	58
6.11	Evaluación realizada en el INDRE.....	59

## ÍNDICE DE FIGURAS

2.1 Diagrama del proceso de elaboración de queso .....	20
2.2 Morfología colonial de <i>Brucella</i> en agar TSA.....	31
2.3 Colonias en fase lisa y en fase rugosa.....	32
2.4 Morfología microscópica de <i>Brucella</i> (tinción gram).....	32
2.5 Vías de infección de brucelosis.....	34
6.1 Cuenta de BMA sin pasteurización.....	52
6.2 Cuenta de BMA con pasteurización.....	52
6.3 Cuenta de OCT sin pasteurización.....	52
6.4 Cuenta de OCT con pasteurización.....	52

## RESUMEN

La mayor parte de los quesos típicos mexicanos son elaborados con leche sin pasteurizar por la industria pequeña y artesanal, enfrentándose a problemas de comercialización, almacenamiento y sanidad. Éste tipo de quesos se puede llegar a convertir en un grave problema de salud, no solo por elaborarse con leche sin tratamiento térmico, sino también por una mala manipulación durante su proceso de elaboración.

El objetivo de éste trabajo fue mejorar las condiciones de la producción de queso de cabra de la comunidad San José de la Peña, en el municipio de Villa de Guadalupe, S.L.P., mediante la realización de talleres interactivos con los productores de la comunidad, caracterización fisicoquímica y evaluación microbiológica tanto de leche (como materia prima) como de queso.

La parte técnica de este trabajo se realizó en la Planta Piloto de Ingeniería en Alimentos de la Facultad de Ciencias Químicas. El proyecto estuvo realizado en colaboración con el Instituto de Investigaciones de Zonas Desérticas (IIZD) de la UASLP.

En la impartición de los talleres en los que se capacitó y concientizó a los productores se mostraron resultados satisfactorios, sin embargo, hubo una resistencia por 2 de los 10 productores participantes, ya que las cuentas para los microorganismos indicadores evaluados fueron muy elevadas aun después de haber implementado Buenas Prácticas de Manufactura (BPM).

Se realizó la caracterización fisicoquímica y microbiológica (antes y después de la implementación de buenas prácticas de manufactura) de 10 muestras tanto de leche como de queso, que fueron proporcionadas por los 10 productores de la comunidad. Por otro lado, se analizaron 9 muestras provenientes de los mercados (República e Hidalgo) de la ciudad de San Luis Potosí (tomadas al azar), para realizar una confrontación entre éstos y los provenientes de San José de la Peña, y evaluar la calidad sanitaria de ambos.

Se realizó una prueba t de student para evaluar el efecto de la pasteurización en la leche, sobre tres variables de respuesta (bacterias mesófilas aerobias BMA, coliformes totales OCT y coliformes fecales OCF).

En el caso del queso se evaluó el efecto de la implementación de BPM sobre tres variables de respuesta (BMA, OCT y OCF); las pruebas se realizaron con un nivel de significancia de  $P < 0.05$ . Dichos análisis se realizaron el paquete estadístico SPSS 14.

Los resultados muestran un efecto significativo ( $P < 0.02$ ), entre las muestras analizadas leche (con y sin pasteurización) y queso (elaborado de manera tradicional e implementando BPM).

Los resultados permiten concluir que mediante la implementación de BPM, es posible obtener productos como el queso mas seguros para el consumidor, cuidando los procesos de elaboración.

## 1. INTRODUCCIÓN

En México, la mayor parte de las cabras (alrededor de 9,000,000) son manejadas de manera familiar. Así, se calculó en 1991 que alrededor de 320,000 familias o unidades rurales dependen de la caprinocultura como su principal actividad económica, en especial la comercialización de sus productos lácteos como el queso (Gómez, 2007).

En la zona del Altiplano Potosino existen alrededor de 700,000 cabras, con un 60 % de hembras productoras de leche. De la producción regional de leche de cabra se destina el 75% para la producción de queso, que en la mayoría de los casos se elabora a partir de leche sin pasteurizar lo que constituye un riesgo importante para la población.

La leche es un excelente medio para el desarrollo de microorganismos, lo que podría reducir la calidad y en algunos casos el procesamiento o el consumo puede ser riesgoso. En pequeña escala, generalmente se emplea leche cruda para la elaboración de quesos y con frecuencia la comercialización de éstos se lleva a cabo sin empaque, lo que representa un alto riesgo de salud a los consumidores (Fernández, 2000). En nuestro país se producen algunas variedades de queso que no son comunes en los países industrializados, pero existen escasas referencias sobre su calidad microbiológica y participación como vehículos de agentes patógenos como *Salmonella*, *Staphilococcus aureus*, *E. coli* y *Brucella spp.*

La brucelosis en México es un problema creciente de salud pública, además de ser una barrera no arancelaria para la libre comercialización de animales y sus productos derivados. En el país se estiman 3000 casos/año y en lo que corresponde al estado de San Luis Potosí de 200 a 250 personas infectadas, pero se cree que el problema es mayor ya que existen dificultades para realizar un diagnóstico y a menudo se confunde con otras infecciones de origen alimentario.

Esta tesis forma parte del trabajo titulado “La caprinocultura como elemento articulador del desarrollo rural en el Altiplano Potosino” y que ésta a su vez es una parte del

“Proyecto de mejoramiento orientado al mercado de la productividad de rumiantes menores en Latinoamérica”, coordinado por ICARDA (Centro Internacional de Investigación en Agricultura para el desarrollo de las Zona Áridas, Alepo-Siria) y financiado por FIDA (Fondo Internacional para el Desarrollo de la Agricultura). En este estudio se realizó un análisis retrospectivo de la actividad caprina lechera en el Altiplano Potosino. Lo anterior para fundamentar propuestas de mejora para la cadena de valor de los lácteos caprinos. Como una mejor propuesta para elevar el nivel de vida de los caprinocultores. En este análisis, al igual que otros, se detectó la necesidad de que los productores mejoren y estandaricen el proceso de elaboración de queso, el cual es el objetivo del presente trabajo.

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Definición de leche

La leche es un líquido segregado por las glándulas mamarias de las hembras de los mamíferos, tras el nacimiento de la cría. Es un líquido de composición compleja, blanco y opaco, de sabor dulce y reacción iónica (pH) cercana a la neutralidad (Alais, 1998). Debe tratarse térmicamente o ser sometidos a procesos que garanticen su inocuidad. Además, puede clarificarse (eliminar de la leche las impurezas macroscópicas, los grumos y de manera parcial los microorganismos, leucocitos y otras células, principalmente mediante centrifugación continua), homogenizarse (estabilizar la emulsión, al provocar la ruptura de los glóbulos grandes de grasa, para formar un mayor número de ellos de menor tamaño), estandarizarse (ajustar el contenido de grasa y/o proteína y/o sólidos propios de la leche, al nivel correspondiente de acuerdo con su denominación) u otras, siempre y cuando no lo contaminen y cumpla con las especificaciones de su denominación (NOM-155-SCFI-2003).

#### 2.1.1 Composición de la leche

La leche es un alimento completo esencial para la nutrición de los niños y adolescentes, debido a su aporte de proteína, grasa, carbohidratos, vitaminas y minerales. Además sus componentes son de alto valor biológico y de fácil digestión y absorción para el organismo. Los principales componentes de la leche se describen a continuación (Early, 1998; Bastida, 2004).

**Agua.** Aproximadamente el 84-90% es agua, el 10-16% restante son sólidos disueltos que son una parte muy importante de la fracción nutritiva. Estos son constituidos por grasas (2-6%), carbohidratos (4-5%), proteínas (3-4%), minerales y vitaminas (1%) (Badui, 1993; Alais, 1998; Bastida, 2004).

**Sólidos totales.** Se componen por la fracción grasa, proteína, lactosa y minerales; por lo tanto, el valor nutricional y económico se asocia con la concentración de sólidos, la cual es un indicador de la riqueza de los componentes nutricionales, necesarios para la comercialización de la leche cruda, destinada a la elaboración de productos lácteos. La cantidad de sólidos depende de varios factores, entre los que destacan la raza de la vacas por ejemplo: la Holstein produce leche con 11.93% de sólidos, la Jersey 14.5% y la Suiza 13.4% (Bastida, 2004).

**Sólidos no grasos.** Este es un término que se utiliza para describir el total del contenido de sólidos, menos la fracción grasa. La cantidad de sólidos no grasos también depende de entre otros factores la raza. Por ejemplo, las vacas Holstein producen leche con 84.8 g L<sup>-1</sup> de sólidos no grasos, las Jersey 94.3 g L<sup>-1</sup> y las Suizas 94.0 g L<sup>-1</sup> (Baduí, 1993; Bastida, 2004).

**Grasa.** La grasa de la leche es insoluble en agua y representa del 2 al 6% del peso de la misma. El porcentaje varía entre razas, y depende de la dieta que se suministre a los animales. Los glóbulos de grasa se encuentran dispersos en forma de triacilglicéridos mixtos, rodeados por una membrana de fosfolípidos y proteínas que forman una emulsión, lo que le brinda la característica de insolubilidad (Roca, 2003; Bastida, 2004).

**Proteínas.** Las principales proteínas de la leche son la  $\alpha$ -caseína,  $\beta$ -caseína,  $\kappa$ -caseína,  $\gamma$ -caseína;  $\alpha$ -lactoalbúmina y la  $\beta$ -lactoglobulina, que constituyen entre el 80 y 90% del total de las proteínas. Otras proteínas presentes en la leche son las inmunoglobulinas y albúmina del suero de leche. De éstas, la caseína es la que presenta un valor biológico importante, que se debe a su alto contenido de aminoácidos esenciales (Roca, 2003; Bastida, 2004).

**Vitaminas.** La leche y sus derivados, contienen cantidades variables de vitaminas hidrosolubles como la tiamina (B1), riboflavina (B2), piridoxina (B6), cobalamina (B12), niacina, ácido fólico, ácido pantoténico, biotina y ácido ascórbico. También se encuentran presentes vitaminas liposolubles en la fracción grasa de la leche, como carotenoides y

retinoides (Vitamina A), colecalciferol (1,25-OH-D<sub>3</sub>, Vitamina D), tocoferoles (Vitamina E) y filoquinonas (K). Aunque la cantidad de éstas vitaminas es mínima, su ingestión en la dieta de los seres humanos es muy importante, sobre todo para los infantes y adolescentes (Roca, 2003; Bastida, 2004).

**Minerales.** La leche contiene cantidades importantes de calcio y fósforo y cantidades menores de potasio, sodio, azufre, cobre, yodo, manganeso, hierro y zinc. El calcio en forma de sales, tiene una gran influencia en la coagulación de la leche para la elaboración de quesos (Roca, 2003; Bastida, 2004).

## 2.1.2 Propiedades físicas de la leche

### 2.1.2.1 Aspecto

Es un líquido opaco blanco mate, más o menos amarillento según el contenido de  $\beta$ -carotenos de la materia grasa. Tiene un olor poco marcado, pero característico. Su gusto, variable según las especies animales, es agradable y dulce (Luquet y col., 1991; Baduí, 1993).

### 2.1.2.2 Propiedades físicas

**pH.** La medida de éste da una información precisa del estado de frescura de la leche. Una leche fresca normal es neutra o ligeramente ácida, más o menos como el agua pura (pH 7 a 20°C). Si han actuado las bacterias lácticas, una parte de la lactosa de la leche se degrada a ácido láctico, lo que hace que aumente su concentración de iones hidronio ( $H_3O^+$ ), y por tanto, el pH disminuye. Si el pH es menor a 6.5, la leche se considera ácida (Judkins, 1981; Luquet y col., 1991; Alais, 1998).

**Acidez valorable.** Viene expresada convencionalmente en grados dornic (°D). 1°D corresponde a 0.1 g de ácido láctico por litro de leche. De hecho la valoración de los compuestos ácidos de la leche se lleva a cabo en la práctica mediante NaOH N/9 en presencia de fenolftaleína (Judkins, 1981; Luquet y col., 1991).

En la leche fresca, el pH tiende a ser neutro (Ej. 6.7), y no hay ácido láctico. La medida de la acidez en grados Dornic (Ej. 18°D) no significa que la leche contenga 1.8 g de ácido láctico por litro, sino que contiene constituyentes con características ácidas que pueden reaccionar con la sosa, este valor indica la acidez natural de la leche fresca, que está relacionada con su riqueza en materia seca (Judkins, 1981; Luquet y col., 1991).

**Densidad.** Está igualmente relacionada con su riqueza en materia seca. Una leche pobre tendrá una densidad baja; sin embargo, es preciso matizar esta aseveración, ya que la leche contiene materia grasa cuya densidad es inferior a 1 (0.93 a 20°C). Una leche enriquecida con materia grasa tiene una densidad más baja, y por el contrario, una leche descremada tiene una densidad superior (Alais, 1981; Luquet y col., 1991).

**Temperatura de congelación.** Es variable, dentro de unos límites, en función de las condiciones zootécnicas. Su medida permite apreciar la cantidad de agua añadida eventualmente a la leche (Alais, 1981; Luquet y col., 1991).

En la tabla 2.1 se muestran los rangos de algunas propiedades físicas de la leche

Tabla 2.1 Propiedades físicas usuales de la leche

Propiedad	Rango
pH (20 °C)	6.5 a 6.7
Acidez valorable (°D)	15 a 19
Densidad (g/mL)	1.028 a 1.036
Temperatura de congelación (° C)	-0.51 a -0.55

Fuente: Luquet y col, 1991.

## 2.2 La cabra

Es un animal que posee su propio sitio ecológico dentro de la producción pecuaria. El número de estos animales en el mundo y su importancia económica son considerables (Koeslag y col., 1990; Figueroa y col., 2006).

Los productores que poseen caprinos son generalmente de pocos recursos. Su vida depende de la explotación de éstos, por eso es importante que conozcan su correcto manejo y aprovechamiento (Koeslag y col., 1990, Figueroa y col., 2006).

La cabra siempre ha sido un animal de controversia por su hábito de pastoreo. Como frecuentemente se le encuentra en terrenos sobrepastoreados, se dice que ella ha acabado con la vegetación y, que por lo tanto, es culpable de la erosión. Sin embargo, con frecuencia es el hombre quien causa el deterioro de la flora natural, por un manejo inadecuado y el sobrepastoreo de los terrenos (Koeslag y col., 1990, Figueroa y col., 2006).

La cabra es buena proveedora de proteínas, gracias a las siguientes características:

- Es un animal precoz de talla pequeña. Necesita poco capital de inversión y el riesgo financiero es reducido.
- Su manejo es a base de sistemas extensivos. Estos no son complicados y pueden ser realizados por niños y personas sin mucha capacitación.
- Es un animal rústico, capaz de alimentarse casi únicamente de forrajes. Puede sobrevivir en regiones donde no se encuentran bovinos ni ovinos.
- Es relativamente fértil. Su intervalo de generación es corto. Se puede multiplicar rápidamente después de una sequía o una epidemia (Koeslag y col., 1990).

Los 40 millones de cabras en América Latina se encuentran en regiones aisladas, con suelos poco fértiles. La gente que las explota no está bien capacitada y tiene pocos recursos. Así, los animales están mal alimentados y mal manejados. De aquí resulta una producción deficiente de leche (Koeslag y col., 1990).

Las cabras pastorean bajo vigilancia de pastores en terrenos montañosos y desérticos, con escasa vegetación. En otras regiones el pastoreo también es extensivo, pero además se les suministra otro tipo de alimento tal como subproductos agrícolas. En la época de lluvia se les lleva a lugares con más vegetación. Con buena alimentación, las cabras producen más y esto resulta en mayores ingresos para el productor.

Según Koeslag y colaboradores (1990), la estabulación es el mejor sistema para cabras de alta producción lechera y calidad. Los factores críticos en el manejo de las cabras estabuladas son la alimentación adecuada y la prevención de parasitosis. Sin embargo, pocas empresas practican la estabulación permanente. Los productores que tienen pocas cabras las mantienen amarradas al lado de los caminos o del campo de cultivo durante el día y estabulados durante la noche.

### **2.2.1 Leche de cabra**

La leche de cabra posee características fisicoquímicas comparables a la de vaca según se observa en la Tabla 2.2, contiene grasas, proteínas, azúcares, minerales y vitaminas, sin embargo es más digerible, porque sus glóbulos grasos son más pequeños. De ahí que sea más adecuada para niños y personas enfermas. Es útil para el tratamiento de padecimientos gastrointestinales, úlceras, colitis y constipación, por su efecto laxante. Las personas que presentan alergias por ciertas proteínas en la leche de vaca, pueden consumir la leche de cabra sin problemas (Koeslag y col., 1990; Early, 1998).

En comparación con la leche de vaca, la de cabra tiene las siguientes características:

- Mayor contenido de minerales.
- Menor contenido de azúcares.
- Menor contenido de vitaminas B6 y B12.
- Contenido de vitamina A es algo mayor (es la vitamina misma y no parcialmente caroteno, como en la leche de vaca).
- Contenido más alto de cloruro.
- Más rica en fósforo.

Tabla 2.2 Comparación de los componentes de leche de vaca y de cabra

Propiedad	<sup>1</sup> Leche de vaca	<sup>2</sup> Leche de cabra	<sup>3</sup> Leche de cabra
pH	6.74 - 6.79		6.35-6.68
Acidez (% Ac. Láctico)	0.16 - 0.19		0.14-0.19
SNG (%) (Sólidos no grasos)	8.5 - 9.5	9.5	8.51-9.20
Densidad (g/mL)	1.027 - 1.034		1.029-1.031
Grasa (%)	3.2 - 4.2	4.3	4.45-5.80
Proteína (%)	3.4	4.0	3.46-3.69
Humedad (%)	85 - 87	86	

Fuente: (1) Alais, 1998

(2) Madrid, 1994

(3) Simons, 1991

Una cantidad considerable de leche de cabra se industrializa. Los productos más importantes son los quesos, los dulces de leche y la cajeta. Es más difícil desnatar la leche de cabra que la de vaca, porque la primera no contiene la enzima que favorece este proceso (Koeslag y col., 1990).

Por otra parte la leche de cabra disgusta a algunas personas porque tiene un olor y un sabor característicos. Esto tiene varias causas, entre ellas, leche no pasteurizada, con restos fecales de las cabras, etc., que pueden eliminarse con un manejo adecuado (Koeslag y col., 1990).

La calidad de la leche de cabra sin tratar destinada a la obtención de productos lácteos, depende de numerosos factores relacionados con la producción en la granja. Algunos de estos aspectos deben controlarse mediante buenas prácticas ganaderas, desde el cuidado de la salud y estado de los animales, además de buenas prácticas de ordeña, sistemas de limpieza y desinfección, ya que una cantidad considerable de leche de cabra se industrializa (Early, 1998).

### **2.3 La leche para elaboración de queso**

La leche empleada en la elaboración de quesos o de subproductos debe ser de buena calidad, desde el punto de vista tanto químico como microbiológico. Los mismos niveles de higiene que se exigen para la leche líquida de consumo deben ser exigidos para la leche destinada a la fabricación de quesos (Madrid, 1999; Fernández, 2000).

Las cualidades que debe tener una leche para su utilización en quesería son:

- Buena coagulación.
- Desuerado fácil.
- Buen rendimiento quesero (contenido en caseína).
- Buena calidad microbiológica para obtener quesos de sabor y aroma característicos, sin desarrollos microbianos incontrolados que producen fermentaciones que desvirtúan esas características.

Es importante notar que estas características pueden variar según la especie, la raza, época del año, tratamientos sufridos por la leche, tipo de alimentación, salud del animal, fase de lactancia, clima, etc. Por ejemplo, cuando se pasa de la alimentación invernal a base de piensos a una alimentación de primavera con pastos varía el color de la leche, baja el contenido de grasa y cambia la composición de los lípidos (Madrid, 1999).

Los antibióticos presentes en la leche son el resultado del tratamiento de animales con mastitis. La leche procedente de éstos no se debe utilizar en quesería, ya que presenta varios inconvenientes como:

- Retención de suero.
- Menor contenido en caseína, lo que se traduce en una baja en el rendimiento quesero de la leche.
- Aparición de olores desagradables en los quesos madurados (Judkins, 1981; Madrid, 1994; Alais, 1998).
- Desarrollo de resistencia a los microorganismos.
- Resistencia en los consumidores.

Por lo anterior, se debe evitar la presencia de antibióticos que inhiban el desarrollo de las bacterias lácticas que se adicionan a la leche en la quesería y no deben utilizarse calostros ni leches procedentes de animales enfermos. Además la presencia de éstos en algunas partidas de leche que llegan a la quesería es un problema que se puede aminorar mezclándolas con otras más voluminosas libres de antibióticos, con lo que se diluyen y se evitan sus efectos sobre los cultivos lácticos (Madrid, 1994).

Por otra parte, los tratamientos a los que se somete la leche antes de su conversión en queso puede tener efectos perjudiciales o benéficos. Por ejemplo puede ser perjudicial:

- Almacenamiento prolongado a bajas temperaturas de 2 a 10 °C
- Tratamientos mecánicos (bombeos, transporte por tuberías, etc.)
- Tratamientos térmicos fuertes (por encima de 82 a 85 ° C)

Por el contrario, puede mejorarse la disposición quesera de la leche con los siguientes tratamientos:

- Maduración de la leche con la adición de cultivos lácticos seleccionados.
- Adición de cloruro cálcico, favorece el proceso de coagulación.

- Bactofugación de la leche para eliminar esporas formadoras de ácido butírico y gases que perjudican la calidad de los quesos acabados (Madrid, 1994).

### **2.3.1 Microbiología de la leche**

Cuando la leche es obtenida, inicialmente en la ubre es virtualmente estéril. Pero incluso antes de abandonarla es infectada por bacterias que entran a través del canal del pezón, aunque la mayor parte de éstas son arrojadas al comienzo de la ordeña. Estas bacterias son normalmente inofensivas y reducidas en número, que van de pocas decenas a centenares por mililitro (Bylund, 2003). Sin embargo, en casos de inflamación bacteriana de la ubre (mastitis), la leche es fuertemente contaminada por bacterias y puede incluso no ser apropiada para su consumo. El grado de infección y la composición de la flora microbiana dependen de la limpieza del entorno del animal y de la limpieza de las superficies de los utensilios que están en contacto con la leche (Bylund, 2003,).

Cuando el animal es ordeñado a mano, las infecciones pueden tener su origen en el ordeñador, estiércol, aire y utensilios. La magnitud de dichas infecciones depende en gran medida de las condiciones higiénicas del que ordeña y su habilidad (Meyer, 1984; Bylund, 2003)

### **2.3.2 Bacterias presentes en la leche**

Debido a su composición, la leche es susceptible de contaminación por una amplia variedad de bacterias. La leche en la granja puede contener desde unos pocos miles de bacterias por mililitro, si se trata de un lugar higiénico, hasta varios millones, si los niveles de limpieza, desinfección y enfriamiento son bajos (Meyer, 1984; Bylund, 2003).

En la leche considerada de la más alta calidad el recuento de bacterias, en Unidades Formadoras de Colonias (UFC), debe ser inferior a 100 por mililitro (NOM-091-SSA1.1994; Bylund, 2003).

El enfriamiento rápido a temperaturas por debajo de 4°C contribuye en gran medida a la buena calidad de la leche en la granja. Este tratamiento frena el crecimiento de las bacterias en la leche, mejorando así sus cualidades para una mejor conservación (Bylund, 2003).

Los principales grupos de bacterias presentes en la leche, pueden dividirse en: bacterias ácido lácticas, coliformes, formadoras de ácido butírico, formadoras de ácido propiónico y bacterias de la putrefacción.

### **2.3.2.1 Bacterias acidolácticas**

Se encuentran sobre las plantas en la naturaleza, pero algunas especies están en grandes cantidades en la leche. Otras se encuentran en los intestinos de los animales. El grupo incluye bacilos y cocos, que pueden formar cadenas de longitud variable pero que nunca dan lugar a esporas (Meyer, 1984; Alais, 1998; Bylund, 2003).

Estas bacterias son anaerobias facultativas, la mayor parte de ellas mueren por calentamiento a 70°C, aunque la temperatura letal para algunas es hasta 80°C, prefieren la lactosa como fuente de carbono, la fermentan dando lugar a ácido láctico. La fermentación puede ser pura o impura, es decir, el producto final es casi exclusivamente ácido láctico (fermentación homofermentativa), o bien aparte de éste pueden producir otras sustancias como anhídrido carbónico e hidrógeno (fermentación heterofermentativa) (Bylund, 2003, Alais, 1998).

Los tipos más importantes de éstas bacterias de importancia en la industria son: *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, *Streptococcus diacetylactis*. *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus lactis*. (Bylund, 2003).

### **2.3.2.2 Bacterias coliformes**

Son anaerobias facultativas con una temperatura óptima de 30-37°C. Se encuentran en los intestinos, estiércol, suelo, aguas contaminadas y en las plantas. Fermentan la lactosa produciendo ácido láctico y otros ácidos orgánicos, anhídrido carbónico e hidrógeno y descomponen las proteínas de la leche, dando lugar a un sabor y olor desagradables (Fernández, 2000; Bylund, 2003). Pueden causar serios problemas durante la fabricación del queso, ya que además de causar malos sabores, la formación de gas relativamente fuerte dará lugar a una textura indeseada en las fases iniciales (como hinchamiento) (Fernández, 2000; Bylund, 2003). Sin embargo, son destruidas por la pasteurización. Se utilizan para controles de calidad microbiológica rutinaria en industrias lácteas. Si se les encuentra en la leche y en las tuberías después de la pasteurización es señal de que se ha producido una reinfeción que indica que las rutinas de limpieza y desinfección deben ser mejoradas (Fernández, 2000; Bylund, 2003).

### **2.3.2.3 Bacterias formadoras de ácido butírico**

Estas bacterias son muy comunes en la naturaleza, se les encuentra en suelos, plantas, estiércol y llegan muy fácilmente a la leche.

Las bacterias ácido-butíricas son del tipo anaerobio, forman esporas y tienen una temperatura óptima de crecimiento de 37°C. No se desarrollan bien en la leche que contenga oxígeno, pero si lo hacen en los quesos donde las condiciones anaerobias prevalecen sobre las demás.

Las propiedades del queso como medio de cultivo bacteriológico cambian durante los primeros días después de su fabricación. Comienza siendo preferentemente un sustrato azucarado, para transformarse gradualmente en un sustrato de lactato. El azúcar (lactosa) es fermentada, produciéndose ácido láctico, que es neutralizado por el calcio y otras sustancias minerales, dando lugar al lactato cálcico. Estos procesos fermentativos dan lugar a grandes cantidades de anhídrido carbónico, hidrógeno y ácido butírico. El queso

presenta una textura irregular y un sabor rancio dulce de ácido butírico (Alais, 1998; Fernández, 2000; Bylund, 2003).

La sal común (cloruro sódico) tiene un efecto muy fuerte sobre dichas bacterias. Es importante que la sal actúe sobre la bacteria tan pronto como sea posible. Esto explica el por que los quesos salados en la cuajada (salado en seco) muestran tan baja tendencia a la fermentación ácido-butírica (Bylund, 2003).

#### **2.3.2.4 Bacterias formadoras de ácido propiónico**

Ésta categoría comprende un número de especies variadas en apariencia. No forman esporas, su temperatura óptima es de alrededor de 30°C y varias especies sobreviven a la pasteurización rápida (HTST). Fermentan el lactato dando lugar a ácido propiónico, anhídrido carbónico y otros productos (Meyer, 1984; Alais, 1998; Bylund, 2003).

#### **2.3.2.5 Bacterias de la putrefacción**

Son aquellas que segregan enzimas proteolíticas. Pueden, por lo tanto, descomponer las proteínas hasta llegar al amoníaco. Este tipo de descomposición es conocido como putrefacción. Algunas son utilizadas en lácteos, pero en general pueden originar problemas. Éstas comprenden un gran número de especies, tanto cocos como bacilos, que crecen tanto aeróbica como anaeróbicamente. Contaminan la leche procedente del estiércol, piensos y agua. Muchas de ellas producen las lipasas, lo que significa que también pueden descomponer las grasas.

Algunas bacterias indeseables de la putrefacción pueden encontrarse en la leche y sus productos derivados. Una de ellas es la *Pseudomona fluorescens*, que se encuentra normalmente en suelos y agua contaminada. Produce lipasa y proteasa muy resistentes al calor, y su presencia es, por lo tanto, perturbadora en la mantequilla, que es fácilmente contaminada por ésta bacteria a través de las aguas de enjuague de mala calidad (Bylund, 2003).

Además de la lipasa, algunas bacterias de la putrefacción no deseadas producen un tipo de enzima como la renina. Pueden, por lo tanto, coagular la leche sin acidificarla (coagulación dulce) (Bylund, 2003).

## **2.4 Quesos**

### **2.4.1 Definición**

Los quesos son una forma de conservación de los dos componentes insolubles de la leche, la caseína y la grasa. Se obtienen por la coagulación de la leche seguida del desuerado en el curso del cual el lactosuero se separa de la cuajada (Alais, 1998). Otros autores mencionan que es el producto resultante de la concentración de una parte de la materia seca de la leche, por medio de una coagulación (precipitación de las caseínas) (Keating, 1986, Baduí, 1993).

### **2.4.2 Antecedentes**

El queso es un alimento universal que se produce, en casi todas las regiones del globo terrestre a partir de leche de diversas especies de mamíferos, se encuentra entre los mejores alimentos del hombre, no solamente a razón de su acusado valor nutritivo (materias nitrogenadas bajo diferentes formas, materias grasas, calcio, fósforo, etc.), sino también en razón de las cualidades organolépticas extremadamente variadas que poseen, ya que la variedad es fuente de placer (Alais, 1991, Fernández, 2000)

Se cree que los quesos tienen su origen en la observación accidental de la fermentación de la leche cuando era transportada en estómagos de animales (por ausencia de recipientes), lo que ocasionaba la separación de suero y cuajada. El secado y/o salado parcial de ésta última, se aproxima a una forma primitiva de elaboración de quesos que tribus nómadas lo preparaban así muchos siglos atrás. En la actualidad, se produce una gran diversidad de quesos, entre 400 y 1,000 tipos, dependiendo de las condiciones tecnológicas que con el tiempo introdujeron países o regiones de todos los continentes. Estas condiciones incluyen principalmente: la fuente y composición de la leche, el tipo de agente coagulante, las

condiciones de coagulación, el corte de la cuajada y el desuerado, la incorporación y tipos de cultivos microbianos, el tratamiento que reciba la cuajada, las condiciones de maduración y la eventual adición de diversos ingredientes (Badui,1993; Fernández, 2000).

En nuestro país se producen algunas variedades de quesos que no son comunes en los países industrializados. Así también, existen escasas referencias sobre su microbiología y participación como vehículos de agentes patógenos. En pequeña escala, generalmente se emplea de leche cruda y con frecuencia los quesos se comercializan sin empaque (Baduí, 1993; Fernández, 2000).

### **2.4.3 Composición**

#### **2.4.3.1 Contenido en agua y materia grasa**

Estos valores varían de un tipo de queso a otro, dentro de amplios límites y dependen de dos condiciones:

- La forma en que se realizan la coagulación y el desuerado. Estas dos operaciones determinan el contenido de materia grasa.
- La composición de la leche utilizada, que determina el contenido en materia grasa.

También existen interacciones entre éstas dos causas de variación; la manera de coagular la leche y la forma de trabajar la cuajada influyen sobre la cantidad de materia grasa retenida en ésta última. Por otra parte, el contenido de materia grasa de la leche influyen sobre el desuerado y el contenido de proteínas sobre la retención de agua (Alais, 1991).

Los quesos se definen habitualmente por su contenido en extracto seco total que va desde el 25% para los quesos de pasta fresca, hasta el 70%, en los quesos de pasta dura. A la vista de ésta considerable amplitud de variación, la composición del queso se expresa generalmente referida a su extracto seco (ES) (Alais, 1991; Madrid, 1999).

Otra característica importante de los quesos es el contenido de materia grasa por 100 de ES (“grasa sobre seco”). Para la mayor parte de los quesos “grasos” está comprendida entre 40% y 50% (Alais, 1991; Madrid, 1999)

#### **2.4.3.2 Humedad**

**Quesos de humedad elevada.** La cuajada ha experimentado en general, una fermentación láctica activa que ha desmineralizado más o menos fuertemente la pasta, que es blanda y sólo permite quesos de pequeño formato; por otra parte, las actividades microbianas son grandes y la maduración es rápida (cuando existe). El tiempo que se conservan es corto a la temperatura ordinaria. Son alimentos perecederos que presentan sabores y aspectos diversos. Su fabricación es bastante sencilla y relativamente fácil de mecanizar.

**Quesos de humedad baja.** La cuajada es firme y a veces dura, representando retención de las sales de calcio. Pueden moldearse piezas voluminosas y el queso es de buena conservación, pero su fabricación es muy delicada, exigiendo leches de buena calidad. El sabor y aspecto no son tan variados como en los anteriores (Alais, 1991; Madrid, 1999).

#### **2.4.3.3 La fracción no grasa**

En sus 9/10 partes está constituida por las materias nitrogenadas (del 85 al 91%); el resto representa las sales y los productos de degradación de la lactosa. Esta parte tiene una composición mucho más regular que la materia seca total (Alais, 1991).

#### **2.4.4 Clasificación de las variedades de queso**

Las modificaciones en los procesos de elaboración y de maduración que los fabricantes han ido realizando durante cientos de años en distintos lugares del mundo, han generado una amplísima gama de quesos diferentes. Sin embargo, muchos de estos sólo se diferencian en su tamaño, sistema de envasado, lugar de origen o denominación, pero el sistema de fabricación, textura y sabor son muy similares. Las distintas variedades

pueden clasificarse según su aspecto interno y externo, características de maduración y composición química. En la Tabla 2.3 se presentan algunas variedades (Early, 1998).

Tabla 2.3 Clasificación de los quesos

Características				
Leche	Tipo de queso	Interior	Exterior	Composición
Vaca	Duro	Ojos grandes	Corteza dura	Grasa sobre extracto
Oveja	Semiduro	redondeados	y seca	Humedad
Cabra	Blando	Ojos de tamaño	Corteza dura	Agua sobre extracto seco
Búfala	Semiblando	medio	con superficie	magro
	Cuajada ácida de suero	Ojos pequeños y redondos	viscosa	
		Ojos irregulares	y seca	
		Sin ojos	Corteza blanda	
		Venas de mohos de color azul-verdoso	y superficie viscosa	
		Venas de moho blanco	Corteza blanda	
		Con incorporación de especias	con mohos superficiales blancos	
		Con incorporación de hierbas	Corteza blanda con mohos verdes	
			Corteza blanda y parafinada	
			Sin corteza	

Fuente: Early, 1998.

### 2.4.5 Proceso de elaboración de quesos

A continuación se presentan las etapas básicas en la elaboración de queso

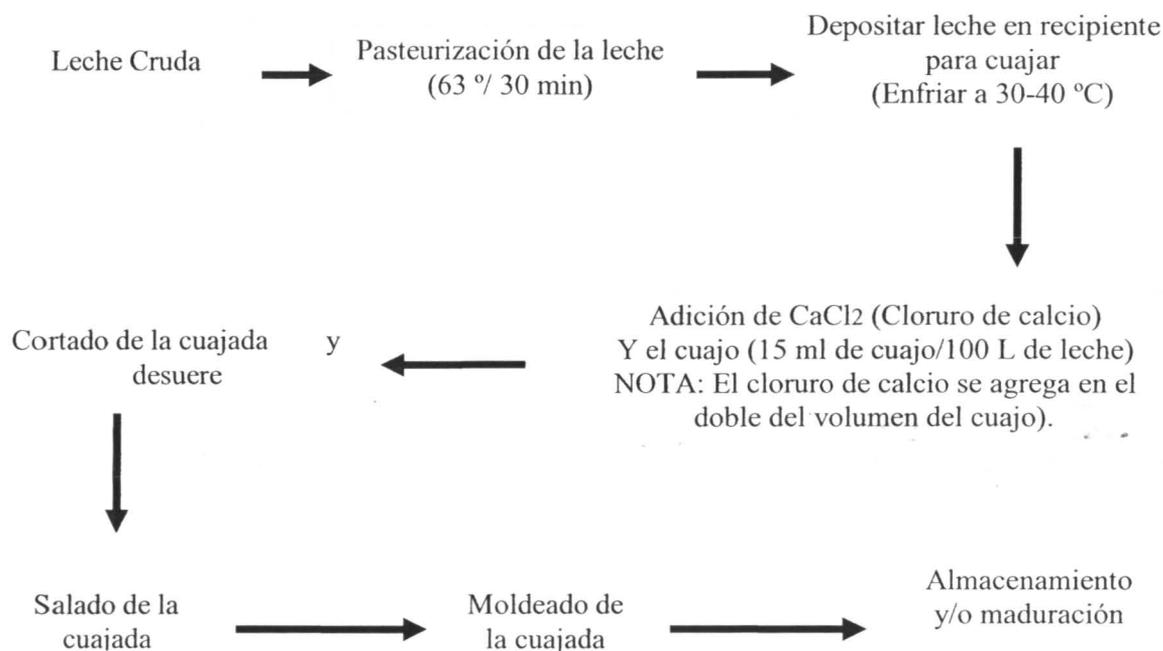


Figura 2.1 Diagrama del proceso de elaboración de queso

Fuente: Early, 1998; Madrid, 1999.

Es común que se realice la elaboración de queso a partir de leche cruda. Esta práctica provoca que en muchos de los casos el producto adquiera una deficiente calidad sanitaria, por lo que es recomendable someter la materia a un proceso de pasteurización.

#### Pasteurización

La leche para quesería debe tener pocos microorganismos. Debido a que en México es difícil encontrarlas así, el Código Sanitario de la S.S.A. establece que la leche que se emplea en la elaboración de quesos debe estar pasteurizada. Esto, además de los objetivos higiénicos, tiene razones tecnológicas (Santos, 1987; Madrid, 1999).

### Objetivos desde el punto de vista higiénico

Se realiza para eliminar el 100% de la flora patógena y el 99% de la flora total. En lo que se refiera a los quesos frescos, es obvio que pueden contener una gran variedad de microorganismos patógenos; para demostrarlo, es necesario hablar de algunos problemas microbiológicos que se presentan durante la elaboración de quesos (Santos, 1987; Alais, 1998).

- La mayoría de los microorganismos (patógenos y ordinarios) pasan a la cuajada; en el suero solo se queda una pequeña cantidad.
- El grado de acidificación del queso es muy importante en el caso de microorganismos del tipo estafilococos, coliformes y salmonelas. Cuando se ha acidificado el queso entre un pH de 4.85 y 6.40, los primeros 23 días de la fabricación, los coliformes y los estafilococos se multiplican y la *Salmonella* permanece constante.

### Objetivos desde el punto de vista técnico

Desde esta perspectiva se presentan las ventajas y desventajas en la elaboración de quesos:

#### Ventajas

- La pasteurización interrumpe la acidificación de la leche al destruir los microorganismos lácticos y así se controla mejor su maduración; también elimina los microorganismos indeseables con excepción de los esporulados.
- La eliminación de la flora inicial de la leche permite controlar adecuadamente el proceso e inocular el microorganismo deseado para producir quesos de composición y calidad más uniformes.
- Si la pasteurización se efectúa a más de 80°C, la  $\alpha$ -lactoalbúmina y la  $\beta$ -lactoglobulina coagulan y quedan retenidas en la caseína (cuajada) durante el desuerado, lo que aumenta el rendimiento y su contenido de nitrógeno en aproximadamente 4 a 5%.
- Aumenta la cantidad de grasa que se retiene en el queso (Santos, 1987; Alais, 1998).

## Desventajas

- La pasteurización provoca una modificación en la composición y en la estructura fisicoquímica de la leche, como la unión de la  $\kappa$ -caseína con la  $\beta$ -lactoglobulina, lo que inhibe parcialmente la actividad del cuajo, lo anterior obliga a aumentar el tiempo de coagulación en ocho minutos y la temperatura en 1 ó 2°C.
- Al calentar la leche se desnaturalizan la  $\alpha$ -lactoalbúmina y la  $\beta$ -lactoglobulina, que se retienen en la cuajada, debido a que estas proteínas fijan el agua, el desuerado se dificulta.
- La fijación de las proteínas del lactosuero puede afectar la proporción de las sustancias nitrogenadas distintas de la caseína, lo que a su vez, ocasiona cambios en el sabor y en la textura de los quesos
- Un calentamiento en tanque abierto rompe el equilibrio del fosfato de calcio en la leche, lo que se traduce en un empobrecimiento de calcio inorgánico que dificulta la coagulación, este problema puede solucionarse al adicionar cloruro de calcio en una proporción adecuada; un exceso de éste, ocasiona que la enzima se inactive y el queso puede quedar amargo y de pasta dura y seca (Santos, 1987).

## Adición de cloruro de calcio

La presencia de sales de calcio en forma de iones libres es necesaria para conseguir una acción efectiva del cuajo.

La adición de sales de calcio a la leche facilita la coagulación, mejora el rendimiento, acelera de cierto modo la salida del suero y determina una mejor retención de la grasa y otros sólidos.

Se usa cloruro de calcio o el fosfato monocálcico, pero el primero es más eficaz, ya que por ser más soluble (mas ionizado) permite la presencia de mas iones libres de calcio

Aunque la eficacia de la acción del cloruro de calcio es en cierta medida proporcional a su concentración en la leche la dosis de aplicación es limitada, pues el exceso de concentración puede, por un lado, provocar un sabor amargo en el queso y, por otro lado,

aunque acelere la coagulación puede retardar la sinéresis y dar origen a una cuajada porosa que elimina el suero con dificultad (Early, 1998).

### Coagulación enzimática

La coagulación enzimática es la práctica más común en la elaboración de quesos. Las enzimas que se usan para cuajar la leche son la pepsina, la enzima microbiana aislada del hongo *Mucor miehei*, el cuajo y otras que se obtienen de plantas, como la bromelina. Sin embargo, la más estudiada y empleada es la quimosina o cuajo (Santos, 1987, Madrid, 1999).

Los principales factores que intervienen en la coagulación por el cuajo son los siguientes:

- a) Cantidad de cuajo
- b) Temperatura
- c) pH
- d) Contenido de calcio

### Cortado de la cuajada

El cortado de la cuajada tiene el propósito de aumentar la superficie de exudación y favorecer la eliminación del suero. Esta operación se realiza comúnmente con cuchillas, liras, espadas, etc.

La superficie de exudación, es decir, la cantidad de desuerado, aumenta linealmente de acuerdo con el troceado, aunque existen límites, si es muy intenso las partículas de coágulo quedan muy finas y retienen grandes cantidades de suero durante el prensado.

El diámetro de los granos de la cuajada oscila entre 2 mm y 3 cm; los más pequeños son los del queso Emmental y los más grandes, los de los quesos blandos. El tamaño del grano de la cuajada afecta la cantidad de grasa que se retiene; en aquellos quesos en los que el

grano de cuajada es grande, como los blandos, en el suero queda de 0.14 a 0.24% de grasa, en los duros (como el Emmental) en que los cortes de la cuajada son más finos, el contenido de grasa en el suero es del 1%. Éste problema puede solucionarse en parte al homogenizar previamente la leche (Santos, 1987).

#### Desuerado de la cuajada

Esta operación se realiza para crear las condiciones y el sustrato necesarios para el desarrollo de los microorganismos y para la actividad enzimática durante los procesos de maduración y afinado cuajo (Santos, 1987; Madrid, 1999).

Para hacer un desuerado adecuado, es necesario conocer las propiedades de los geles, entre ellas el fenómeno de la sinéresis. Todo gel en reposo se comporta según sea láctico o enzimático y deja escapar espontáneamente el suero como consecuencia de la contracción de la red. Esto se debe a la disminución gradual de la hidratación de las micelas, lo que ocasiona que una fracción del líquido intersticial se escape en forma espontánea de las mallas de la red. Otra hipótesis es que tiene lugar un estrechamiento progresivo de las mallas del gel debido a la formación de nuevos enlaces o al reforzamiento de los ya existentes (Santos, 1987, Madrid, 1999).

Puesto que no es fácil que un coágulo enzimático desuere simplemente en reposo, en la industria se emplean métodos mecánicos o térmicos, con el objeto de destruir la cohesividad y la compacidad del coágulo. Generalmente se emplean el troceado y el agitado (Santos, 1987, Madrid, 1999).

#### Agitación de los granos de la cuajada

Inmediatamente después del troceado o cortado se efectúa la agitación de los granos para acelerar y completar el desuerado, al renovar continuamente la superficie de exudación e impedir la adherencia de los granos y así evitar la formación de un amasijo que retiene el líquido. De ésta manera se garantizan el moldeado y prensado correctos (Santos, 1987).

### Lavado de los granos

En algunos quesos, el lavado de los granos se efectúa poco después del troceado y desuerado. Esto sirve para diluir los componentes del lactosuero y si es muy prolongado, puede eliminarse el líquido que retienen los granos. El lavado se realiza generalmente con agua o con salmuera (Santos, 1987, Madrid, 1999).

### Salado de los quesos

Tiene los siguientes propósitos principales:

1. Regula el desarrollo de microorganismos, es decir retarda la proliferación de los gérmenes indeseables.
2. Favorece el desuerado.
3. Mejora el sabor.

La cantidad de sal que se emplea y el momento de adicionarla dependen del tipo de queso.

Las técnicas de salado son las siguientes:

- a) Salado del suero
- b) En la masa del queso
- c) Sobre la superficie del queso con sal seca
- d) Por salmuera (Santos, 1987)

### Moldeado de los quesos

Tiene por objeto lograr que los granos de cuajada suelden y formen piezas grandes. Existen varias formas y tamaños de moldes que proporcionan características muy especiales a los quesos. Los que poseen una superficie relativa alta (relación entre la superficie total y el volumen o masa) se salan más rápido, secan antes y se exponen más al medio ambiente.

El moldeo debe efectuarse a una temperatura templada, para los quesos que se laboren con leche pasteurizada fresca o poco maduradas (Santos, 1987).

#### Prensado

Esta operación tiene por objeto endurecer la masa de cuajada y eliminar el suero sobrante; puede realizarse por la presión que ejerce su propia masa (autoprensado) o al aplicar una fuerza externa (se utilizan comúnmente prensas horizontales neumáticas o verticales de palancas) (Santos, 1987).

#### **2.4.6 Quesos artesanales e industriales**

Hay que aprender a distinguir los quesos industriales de los artesanales. No es necesario ser experto o técnico para notar las enormes diferencias entre unos y otros.

Los primeros son mejor presentados, muchas veces importados. Si se comparan con los segundos, apreciando atentamente los sabores, uno se da cuenta de que estamos en presencia de dos mundos opuestos: uno que apuesta por la utilidad económica, otro que persigue la calidad. La gran empresa produce, en grandísima escala, lo que los artesanos hacen en cantidad limitada y cuidado personal.

En México hay más y mejores quesos de lo que se cree. Los pequeños productores se encuentran en todo el país; casi siempre tienen clientela totalmente local y serios problemas de distribución.

Cuando se habla de quesería artesanal que elabora con leche cruda y quesería artesanal o industrial que elabora con leche pasteurizada, se está hablando de dos quesos con características distintas, aunque ocasionalmente lleven el mismo nombre (Delgado, 2003).

Es válida la quesería artesanal cuando se obtienen productos diferenciados, con cualidades organolépticas distintas, más pronunciadas, más apreciadas, y en donde se toman los

recursos necesarios para obtener un producto seguro, pero que pierde esa validez cuando por fermentaciones anormales estas cualidades organolépticas positivas se vuelven en contra y cuando el queso además aumenta sus potenciales en riesgos alimentarios.

Es mucho más probable que un queso elaborado con leche pasteurizada, tenga menos posibilidades de estar defectuoso que uno elaborado con leche cruda. Pero cuando éstos son realizados en forma adecuada, son de distinta calidad organoléptica y que es más apreciada (Delgado, 2003). Además en el primero hay menor riesgo alimentario. La pasteurización por si sola no es garantía de seguridad alimentaria, pero contribuye a ella.

A igualdad de otras condiciones, el factor humedad es fundamental en las condiciones para que se desarrollen las bacterias. A mayor humedad éstas se desarrollan y multiplican en mayor grado. Por ello de las diferencias en cuanto a criterios microbiológicos en las distintas variedades.

En un queso elaborado con leche pasterizada, se eliminan todas las bacterias patógenas y entre un 90 y 98% de bacterias banales, o sea para elaborar el queso se parte de leches casi inocuas; si en el queso terminado aparecen luego bacterias contaminantes en número mayor a determinada cifra, nos dirían de las inadecuadas o malas condiciones de higiene en su elaboración.

En cambio el artesano que elabora con leche cruda, inicia su elaboración ya con bacterias contaminantes y por lógica terminará con un mayor número de ellas en el producto final. La cuestión es que su número, (no su relativa presencia), no afecte la salud del consumidor.

El queso pasterizado, si tuviera un número mayor de estas bacterias (hasta cierto límite) no causaría problemas, pero lo que se tiene en cuenta en este caso, es el significado de su presencia, ya que se parte de la leche libre de bacterias por la pasterización, su hallazgo significa falta de higiene, prevención o cuidados adecuados en el proceso de industrialización.

#### **2.4.7 Buenas Prácticas de Manufactura en quesos**

Las buenas prácticas de manufactura son procedimientos que se utilizan en las grandes empresas, que explican las condiciones de higiene que deben cumplirse en un proceso determinado, con el fin de asegurar la inocuidad y calidad higiénica de los productos que elaboran. Sin embargo, este sistema es completamente escalable y aplicable a cualquier proceso de producción de alimentos.

Comprenden actividades a instrumentar y vigilar sobre las instalaciones, equipo, utensilios, servicios, el proceso en todas y cada una de sus fases, control de fauna nociva, manejo de productos, manipulación de desechos, higiene personal, etcétera.

Principalmente en quesos es necesario cuidar una adecuada manipulación de la materia prima (leche), sanitizar o higienizar todos los recipientes con los que tendrá contacto el producto, mantener un ambiente cerrado y sin corrientes de aire, entre otras.

#### **2.5 Microbiología de quesos**

La calidad microbiológica de los quesos es muy dinámica, no importa la temperatura a la cual se almacenen. Son factores decisivos en su calidad el empleo de leche cruda o pasteurizada, el hecho de haber sido o no objeto de maduración, las condiciones sanitarias en las que fueron obtenidos y almacenados, y el tiempo transcurrido hasta el muestreo y la ejecución del análisis. Tienen interés en la microbiología sanitaria aquellos microorganismos relacionados con el deterioro del producto, los patógenos y los que tienen significado como indicadores de prácticas sanitarias de obtención y distribución (Fernández, 2000).

Como en leche, en los quesos frescos la presencia de coliformes es evidencia de descuidos en la higiene del equipo, el agua también es una fuente potencial de contaminación, en tales quesos las condiciones son favorables y se multiplican con facilidad. La presencia de estos microorganismos es objetable en quesos, constituyen un indicio consistente de

acceso de gérmenes intestinales, incluida la posibilidad de patógenos como *Salmonella*, *Staphylococcus*, etc., en este caso particularmente *Brucella spp* (Fernández, 2000).

## 2.6 *Brucella spp*

### 2.6.1 Descripción del microorganismo

Es una bacteria típica zoonótica causante de la Brucelosis (Fernández, 2000) también conocida como fiebre de Malta o fiebre ondulante en los humanos y aborto contagioso (enfermedad de Bang) en el ganado (Pelczar y col., 1983; Koneman, 1999).

En la actualidad el género comprende seis especies: *B. melitensis* afecta a cabras y borregos, *B. abortus* infecta normalmente al ganado bovino, *B. suis* a cerdos, *B. ovis* causa infección específicamente en borregos, *B. neotomae* (aislada de ratas de la madera del desierto) a roedores y *B. canis* a perros (López, 1992; Joklik, 1998). Estos microorganismos son parásitos estrictos que producen infección en el aparato genital, las glándulas mamarias, los tejidos linfáticos y el conducto intestinal en el humano (Carpenter, 1982; Pelczar y col, 1983; Bryan, 1984; Bryan, 1984), así también patógenos intracelulares facultativos (Joklik, 1998; Torres, 2002) que causan una enfermedad infecto contagiosa del tracto genitourinario de animales silvestres y domésticos, como cabras, borregos, cerdos, vacas y perros (Torres, 2002).

Las brucelas son microorganismos que producen catalasa y en general son oxidasa-positivas. Éstas proliferan con lentitud y requieren medios complejos con suero o sangre para el aislamiento primario (Joklik, 1998).

La diferenciación de especies y biotipos depende de someterlos a varias pruebas, ya que las características pueden cambiar y los cultivos adaptarse a condiciones artificiales, es necesario usar cultivos recientemente aislados (Pelczar y col., 1983).

En años recientes, el espectro de huéspedes de *Brucella* se ha ampliado al ser aislada de los mamíferos marinos (López, 1992; Rodríguez, 2005). Se han realizado aislamientos de

éste microorganismo a partir de una gran variedad de focas, leones marinos, delfines y ballenas, en las costas de diferentes continentes. Estas cepas forman claramente un grupo separado, al que de modo no oficial, han denominado *B. maris*. Dentro del grupo se distinguen dos tipos: el formado por cepas provenientes de cetáceos y el de las cepas aisladas de focas (López, 1992).

### 2.6.2 Hábitat

*Brucella* es un parásito obligado de animales. Es arrojado a través de las descargas del útero después del aborto o partos normales de animales infectados (Fernández, 2000; Rodríguez, 2005), en el feto se encuentran grandes cantidades de estos microorganismos, así también en el líquido amniótico y las membranas fetales y en ocasiones las vacas al parecer sanas, segregan leche que contiene brucelas. En menor grado pueden contribuir en las materias fecales de terneros que se alimentan de leche contaminada, ya que no toda la cantidad presente de esta bacteria se destruyen en el tracto digestivo (Rodríguez, 2005).

Las brucelas contenidas en los productos animales (incluso leche y queso) arrojados al medio ambiente pueden mantenerse viables durante meses. *B. melitenses* sobrevive por 72 días en terrenos pantanosos, 17 días en leche y 25 días en agua de mar (Rodríguez, 2005). Sin embargo actualmente no se cuenta con información suficiente que describa el comportamiento de este patógeno en alimentos de tan amplio consumo, especialmente en nuestro país.

El germen puede ser eliminado por la leche de los animales enfermos durante varios meses en periodos de lactación sucesivos, incluso sin que el animal muestre signos de infección (Fernández, 2000).

Morfología colonial.- En medio TSA (Agar Soya Trypticasa), las cepas lisas (S) producen colonias circulares, convexas con bordes regulares, translúcidas y coloración ámbar, como se observa en la Figura 2.2. A la luz reflejada son brillantes, ligeramente opalescentes y de color gris azulado. En gelosa sangre no produce hemólisis, en agar MacConkey crecen poco y no fermentan la lactosa. Las cepas rugosas (R), en TSA, producen colonias semejantes en la forma pero varían considerablemente en tamaño, color, consistencia y textura (Figura 2.3). En las cajas de TSA, se aconseja determinar la producción de catalasa y oxidasa, para las cuales las brucelas son positivas. Inmediatamente se procede a aglutinar a las colonias sospechosas con suero polivalente anti *Brucella*. Se recomienda realizar la suspensión de brucelas en solución salina fenolada al 1.0% extremando las precauciones. Si hay aglutinación, muy probablemente se trate de bacterias del género *Brucella* (López, 1992).

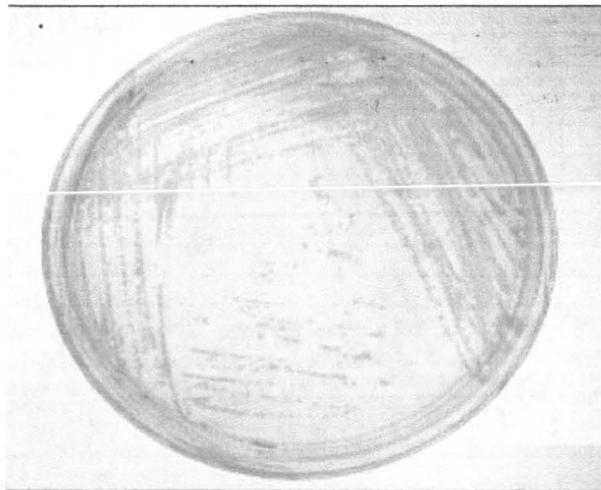
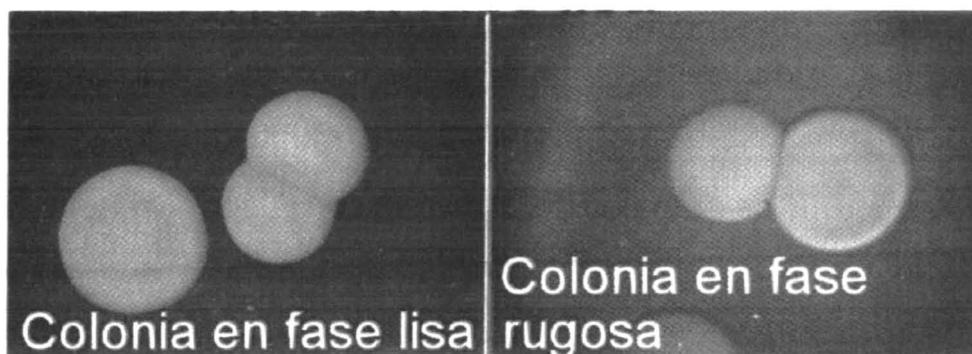


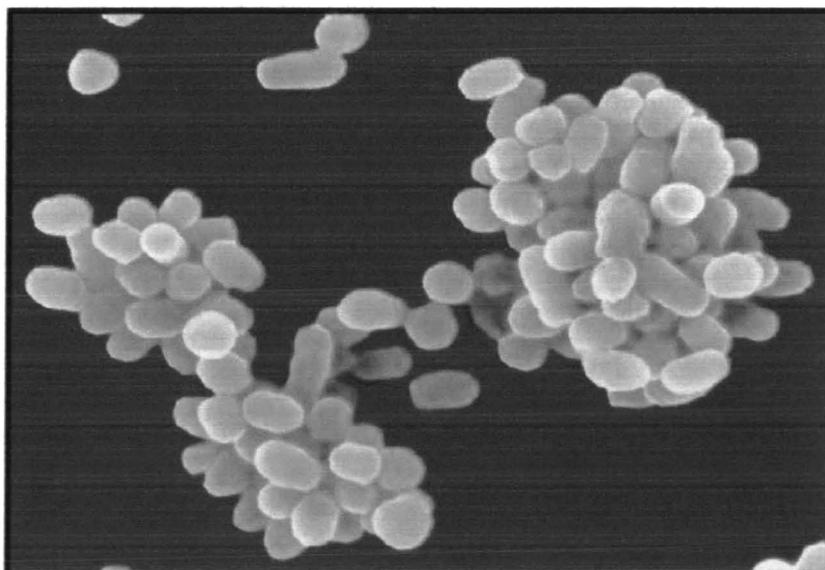
Figura 2.2 Morfología colonial de *Brucella* en agar TSA



Fuente: (López, 1992)

Figura 2.3 Colonias en fase lisa y en fase rugosa

Morfología microscópica.- Bacilos cortos pequeños gram negativos de 0.5 X 0.5 hasta 1.5  $\mu\text{m}$  de longitud, se observan aislados, en pares, en cadenas cortas o grupos (Pelczar y col., 1983; Bryan, 1984; Davis y col.; 1985; ITP, 1996; López, 1992) (Imagen de la Tinción de gram), lo podemos observar en la Figura 2.4. Al emplear la tinción de Zielh-Neelsen modificada, las brucelas se tiñen de color rojo y se observa la misma morfología. Otras bacterias se verán verdes (López, 1992).



Fuente: (López, 1992)

Figura 2.4 Morfología microscópica de Brucella (Tinción Gram)

No producen cápsula verdadera, endosporas y flagelos, son inmóviles. Son aerobias con un sistema transportador de electrones basado en citocromos, que emplea al O<sub>2</sub> o al nitrato como aceptores finales de electrones. Muchas cepas requieren CO<sub>2</sub> suplementario, especialmente en el primoaislamiento. Su temperatura óptima de crecimiento es de 37°C, aunque puede crecer entre 20 y 40°C. El pH óptimo para el crecimiento es de 6.6-7.4 (Pelczar y col., 1983).

## **2.7 Brucelosis**

### **2.7.1 Antecedentes**

Desde la antigüedad, la Brucelosis ha sido reconocida como una enfermedad febril de la región mediterránea. La primera especie del género *Brucella* fue aislada por Bruce en 1887 (Burrows, 1974; Davis y col., 1985; ITP, 1996; Kuplulu, 2003) la descubrió en el bazo de los sujetos muertos y lo llamó *B. melitensis* (Burrows, 1974; ITP, 1996; Cabello, 1999; Cazares, 2007). Esta enfermedad característica de las cabras y transmisible al hombre, es frecuente no solo en la isla de Malta (que es de ahí donde proviene el nombre de Fiebre de Malta) donde las guarniciones inglesas a menudo han sufrido epidemias graves, sino también en las islas vecinas y en las riberas del Mediterráneo (Borrows, 1974).

El segundo microorganismo del grupo fue aislado por Bang en Dinamarca en 1897, que es el responsable del aborto contagioso en el ganado, afección llamada actualmente enfermedad de Bang, y lo llamó *Bacillus abortus* después nombrada *Brucella abortus*. En 1914, Traum aisló una bacteria de fetos expulsados prematuramente de las marranas, se sabe que está muy relacionado con el bacilo de Bang y lo denominó *B. suis* (Burrows, 1974, Davis y col.; 1985; ITP, 1996).

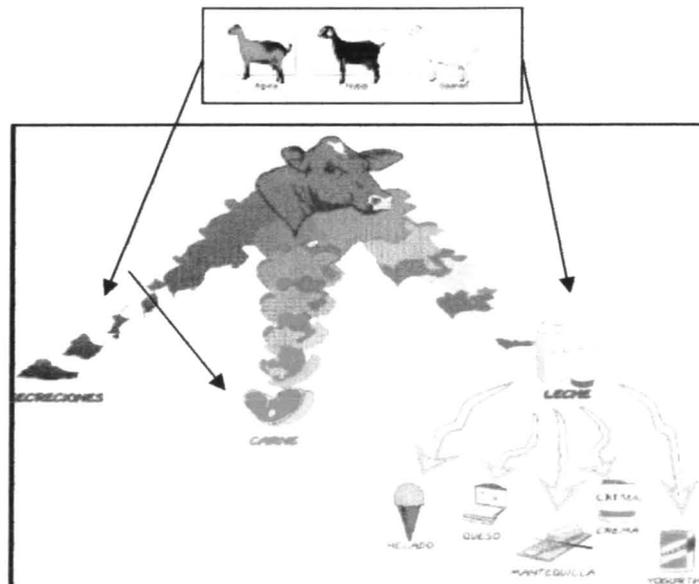
Años después, Zammit aisló la bacteria de cabras enfermas y concluyó que los humanos se enfermaban al consumir leche cruda de cabras infectadas (Torres y col., 2002).

### 2.7.2 Descripción de la enfermedad

La Brucelosis es una enfermedad que afecta animales domésticos y silvestres. En México, es reconocida como una de la zoonosis bacteriana de mayor importancia.

El hombre, huésped accidental y terminal, la adquiere de modo directo o indirecto de fuentes animales. Las bacterias responsables son del género *Brucella*, entre las que se tienen en orden de importancia para el hombre a *B. melitensis*, *B. suis*, *B. abortus* y *B. canis*.

La enfermedad en el hombre no es transmitida solo por los alimentos, tampoco es una enfermedad estrictamente intestinal; por lo común ataca por ingerir leche o sus derivados procedentes de animales infectados (Pelczar y col.; 1983; Mantur, 2004) o bien por estar en contacto con la piel o inhalar el aire de animales recién nacidos, como lo podemos observar en la Figura 2.5 (Mantur, 2004).



Fuente: López, 1992

Figura 2.5 Vías de infección de brucelosis

La Brucelosis que se relaciona específicamente a *Brucella abortus* no es muy común en niños. Por el contrario *Brucella melitensis*, en niños representa de 20-25 % de los casos (Mantur, 2004).

En el hombre la enfermedad se caracteriza por tener un periodo de incubación bastante prolongado, de 5 a 30 días o más. En el inicio del padecimiento aparece malestar generalizado, dolores musculares y de las articulaciones, cefaleas, escalofrío con sudoración nocturna y fiebre prolongada irregular (ondulante) que continúa en el estado crónico (Pelczar y col.; 1983, Koneman, 1999).

La vía digestiva genera el mayor número de casos humanos por consumo de leche, queso, crema y otros derivados sin pasteurizar. Estos productos se expanden y consumen en áreas rurales y urbanas, lo que contribuye a su mayor diseminación en población abierta. La Brucelosis aguda cursa con síntomas de fatiga, calosfríos, dolor de cabeza, de articulaciones y sudoraciones nocturnas. También existe la forma subclínica, con síntomas inaparentes o muy leves, que en general se resuelven sin ningún tratamiento. Puede haber una forma persistente, que tiende a un estado crónico, con complicaciones focalizadas o generalizadas (Escobar, 1995).

La prevención de esta enfermedad debe basarse en una estricta higiene y en la eliminación de animales afectados. De aquí se deriva la importancia de pasteurizar la leche ya sea para consumo directo o bien para la elaboración de quesos, ya que uno de los principales objetivos de la pasteurización es destruir la flora patógena y el 99 % de la flora total, además que se obtienen sabores más puros y bien cuidados (López, 1992)

La epidemiología en México abarca los estados de: Coahuila, Durango, Michoacán, Puebla, San Luis Potosí, Tamaulipas, Chihuahua, Guanajuato, Nuevo León, Querétaro, Sonora, Zacatecas (Estrada, 2007). Aproximadamente se reportan 3000 casos por año en los humanos (Luna- Martínez, 2007).

### 3. JUSTIFICACION

El proceso de producción-comercialización de productos lácteos (quesos) en la región del Altiplano Potosino y meridional se da de manera artesanal, sin el cumplimiento de las normas establecidas, tanto de leche como para queso, representando un alto riesgo sanitario a los consumidores.

Sin embargo, la implementación de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y el manejo adecuado de la materia prima en la elaboración de estos productos conducirá a la obtención de alimentos de mejor calidad sanitaria y a la prevención de enfermedades como la Brucelosis.

Este tipo de prácticas son aplicables a los procesos de elaboración artesanal, sin perder su naturaleza, siempre y cuando se elabore un producto de calidad y que sea seguro en cuestión sanitaria.

Es necesario generar información científica sobre la epidemiología de *Brucella spp* en este tipo de productos, ya que la incidencia de este microorganismo en los productos lácteos de cabra es alta y la información bibliográfica al respecto es escasa.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo general

Mejorar el proceso de elaboración de queso en San José de la Peña, mediante la implementación de Buenas Prácticas de Manufactura y evaluar el efecto de la implementación de éstas.

### 4.2 Objetivos específicos

**4.2.1.** Efectuar un diagnóstico de las condiciones de higiene y sanidad del proceso de obtención, manejo de leche y proceso de elaboración de queso de cabra en San José de la Peña, S.L.P.

**4.2.2.** Capacitar al personal involucrado (10 productores) en las técnicas de buenas prácticas de manufactura en el proceso de obtención, manejo de leche y en la elaboración de queso.

**4.2.3.** Determinar las características fisicoquímicas de la leche en base a parámetros de pH, acidez, proteína, grasa, densidad y sólidos no grasos; y en queso, pH y acidez.

**4.2.4.** Evaluar el efecto de la implementación de Buenas Prácticas de Manufactura en la elaboración de queso determinando la calidad microbiológica en función de organismos mesófilos aerobios, coliformes totales y fecales en ambos productos.

**4.2.5.** Investigar (en su caso) la presencia de *Brucella spp.* mediante pruebas bioquímicas.

## **5. METODOLOGÍA**

El trabajo de campo se realizó en la comunidad de San José de la Peña, en el municipio de Villa de Guadalupe (Apéndice 1). La parte técnica se realizó en la Planta Piloto de Ingeniería en Alimentos de la Facultad de Ciencias Químicas de la UASLP.

A continuación se describe la metodología para cada uno de los objetivos.

### **5.1 Diagnóstico de las condiciones de higiene y sanidad**

Se llevó a cabo una evaluación visual de las condiciones ambientales y de infraestructura en la comunidad considerando desde la ordeña del ganado, la manipulación de la leche (materia prima) hasta que es elaborado el producto (queso).

### **5.2 Capacitación del personal**

En base a las observaciones y al diagnóstico obtenido se planearon dos sesiones de trabajo con los productores de la comunidad quienes asistieron voluntariamente (Apéndice 2).

La capacitación consistió en destacar cuáles son las etapas de riesgo durante la producción del queso, cuáles los factores que determinan la pérdida de la calidad en el producto y las ventajas de realizar cambios en la metodología que se practica.

### **5.3 Determinación de las características fisicoquímicas**

#### **5.3.1 Recolección de las muestras de leche y queso**

Según las investigaciones realizadas por Gómez, se llevó a cabo un análisis retrospectivo de la actividad caprina lechera en el Altiplano Potosino, de donde se obtuvo que en esta zona del estado la comunidad de San José de la Peña era la que más producción de leche tenía, se mostró un grupo de productores muy organizados y con disposición de mejorar sus productos.

Cada uno de los productores de la zona estuvo de acuerdo en proporcionar las muestras de leche y queso que se les solicitara para el estudio.

Para la recolección de las muestras de leche y queso se utilizaron bolsas con cierre hermético, para evitar contaminación o su aumento; se obtuvieron aproximadamente 100 mL de leche y 100 g de queso; muestra suficiente para realizar la caracterización fisicoquímica y la evaluación microbiológica. Se transportaron en hieleras con bolsas de gel congelante a una temperatura aproximada a 4°C para evitar la actividad de la flora microbiana. Las muestras de leche fueron tomadas inmediatamente después de haber realizado la ordeña, y las de queso, en seguida de su elaboración; estas actividades se realizaron por la mañana. Cabe aclarar que ambas muestras son de la producción total del ganado de cada productor. Se transportaron las muestras en un tiempo de 2 horas y media al laboratorio de la planta piloto de Ingeniería en Alimentos de la Facultad de Ciencias Químicas para almacenar en refrigeración hasta el día siguiente para la ejecución de los análisis tanto fisicoquímicos como microbiológicos.

### **5.3.2 Caracterización fisicoquímica**

Las muestras se evaluaron en cuanto a los parámetros fisicoquímicos (pH, densidad, contenido de proteína, de grasa y de sólidos no grasos) para conocer las características fisicoquímicas que presenta este producto proveniente de San José de la Peña y comparar los resultados con datos disponibles en la bibliografía.

Debido a la variabilidad estacional de los parámetros fisicoquímicos de la leche en producción extensiva, se recolectaron muestras en cuatro ocasiones, la primera en el mes de febrero, en marzo, octubre y en noviembre la última, ya que la producción lechera varía de acuerdo a las estaciones del año. Cabe mencionar que no en todas las fechas se contó con muestras de todos los productores.

En queso se llevó a cabo la caracterización de los parámetros de pH y acidez.

### 5.3.2.1 Análisis fisicoquímicos

Para realizar los análisis de densidad, contenido de proteína, de grasa y de sólidos no grasos en leche se utilizó un analizador EKOMILK (Ekomilk-M Fast Model ®). El significado de estas determinaciones se explican a detalle en la sección 2.1.1 y 2.2.2 de éste documento.

En queso se midió de pH con un potenciómetro Mettler Toledo MP 225, y acidez que se determinó por la técnica de titulación con NaOH (según el AOAC) y se presentan en el Apéndice 3, de igual manera se realizó para leche.

## 5.4 Evaluación microbiológica

### 5.4.1 Determinación de indicadores de sanidad

Se llevó a cabo la determinación de bacterias mesófilas aerobias, organismos coliformes totales y organismos coliformes fecales en las muestras de leche (pasteurizadas y sin pasteurizar) y al queso de cabra elaborado tradicionalmente y otra evaluación aplicando BPM (Buenas Practicas de Manufactura).

Las bacterias mesófilas aerobias y los organismos coliformes son indicadores de la calidad sanitaria de un alimento, y además señalan la posible presencia de patógenos, como *Brucella spp*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* y sirven para monitorear los procesos de limpieza y desinfección.

### **5.4.2 Análisis microbiológicos**

Para realizar éstos se utilizó el método de vertido en placa (NOM-092-SSA1-1994 y NOM-113-SSA1-1994) (Apéndice 4 y 5 respectivamente), tanto para bacterias mesófilas aerobias como para coliformes totales y fecales.

### **5.4.3. Investigación de *Brucella spp***

En las muestras se investigó también la presencia de éste microorganismo (sólo en las muestras de la comunidad, sin BPM) debido a que es muy común en el ganado caprino, así como también en los productos obtenidos del mismo. Además es importante realizar más investigaciones acerca de esta bacteria, ya que la información existente es escasa y la incidencia que presenta es muy alta.

#### **5.4.3.1 Técnica y pruebas bioquímicas**

Se utilizó una técnica de aislamiento de tipo selectivo (Merck) para la identificación de *Brucella* bacteria en cuanto a morfología colonial (Apéndice 6). Además se realizaron una serie de pruebas bioquímicas (Tinción gram, prueba de catalasa y oxidasa); de las muestras que presentaron posible presencia de *Brucella*, según los resultados, las cepas sospechosas se enviaron al laboratorio del INDRE (Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia epidemiológicos) para tipificar a la bacteria.

## **5.5 Diseño experimental**

### **5.5.1. Leche**

Para evaluar el efecto de la pasteurización de la leche sobre la calidad microbiológica se aplicó un diseño de un solo factor (tratamiento de la leche) con dos niveles (sin y con pasteurización). Utilizando como variables de respuesta: las bacterias mesófilas aerobias, los organismos coliformes totales y fecales. Se consideraron muestras cuádruples para los 10 productores participantes de la comunidad.

### **5.5.2. Queso**

En el caso del queso, se aplicó un diseño de un solo factor (implementación de BPM en la elaboración del producto) con dos niveles (sin y con BPM) sobre tres variables de respuesta (bacterias mesófilas aerobias, coliformes totales y coliformes fecales). Igual que para leche, se consideraron muestras cuádruples.

### **5.5.3 Análisis estadístico**

Las diferencias entre los tratamientos se evaluaron a partir de la comparación entre las medias usando la técnica *t* de Student con significancia de  $P < 0.05$ . Dichos análisis se hicieron con el paquete estadístico, SPSS 14.

## **6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **6.1 Diagnóstico de las condiciones de higiene y sanidad**

La evaluación visual se realizó en función de los servicios con que se cuenta en la comunidad, las características de las instalaciones donde llevan a cabo el proceso de elaboración de queso, el personal que participa y las prácticas que realizan durante el procesamiento.

La comunidad de San José de la Peña no cuenta con un abastecimiento regular de agua potable, ya que en ocasiones utilizan el agua proveniente de la lluvia que almacenan en recipientes que son de materiales diversos como lámina oxidada, cubetas de asbesto, etc.

No existe energía eléctrica de manera uniforme en la comunidad; el servicio de gas L.P. es deficiente, de tal manera que en algunas casas utilizan la combustión de la leña como fuente de calentamiento para la preparación de alimentos.

Las instalaciones con que cuentan los productores de la comunidad son muy variadas ya que las casas presentan diferencias importantes desde los materiales de construcción, el diseño de la vivienda, la presencia de ventanas sin vidrios y con mosquiteros que en ocasiones se presentan rotos o despegados del marco; en otras partes, las ventanas presentan vidrios pero permanecen abiertas durante el día.

Los utensilios que utilizan en la elaboración del queso como mesas de trabajo, cubetas, cucharas, moldes para el queso, etc., son igualmente distintos, existen materiales como madera, plástico, lámina y vidrio en algunos casos.

El personal que elabora el queso en la mayoría son mujeres adultas, casi todas utilizan el pelo recogido y trenzado, portan un delantal que usan para limpiarse las manos constantemente.

Las prácticas que llevan a cabo durante la elaboración del producto son:

Reciben la leche de los centros de ordeña en cubetas que son de plástico o lámina en donde permanece para llevar a cabo el cuajado; éste, lo realizan empleando cuajo natural. Cuando se ha formado la cuajada, introducen las manos directamente en las cubetas para cortarla y pasarla a los moldes para iniciar el desuerado, operación que realizan presionando el molde contra un plato de vidrio o plástico.

Una vez que tienen el queso formado, lo dejan reposar sobre las mesas al aire libre sin ninguna protección para continuar con el desuerado durante varias horas. Algunas personas, realizan el salado del queso frotando manualmente sobre la superficie y otras, introducen el producto en cubetas con salmuera.

Cabe hacer notar, que ninguno de los productores lleva a cabo un tratamiento térmico en la materia prima por lo que la leche mantiene en aumento la actividad microbiana durante el proceso. La utilización de cuajo natural es un factor importante en la pérdida de la calidad sanitaria del queso, ya que no es difícil suponer la presencia de patógenos importantes para la salud humana. El contacto que tiene la cuajada con las manos de los trabajadores es otro factor de riesgo así como el tiempo que permanece el producto al aire libre mientras se lleva a cabo el salado.

## **6.2 Capacitación del personal involucrado**

Como resultado de la primera sesión de trabajo con los productores se acordó con ellos que era necesario implementar un tratamiento de pasteurización en la materia prima, eliminar el uso de cuajo natural y utilizar recipientes y utensilios bien lavados y desinfectados.

Con respecto a la manipulación del producto se determinó que debe existir una metodología para lavarse y desinfectar las manos, misma que deberá ponerse en práctica cada vez que se realice el proceso.

El cubrir los productos con tela que permita la liberación del suero en el queso, puede contribuir a lograr un producto de calidad, pues cubriéndolos se evita el contacto de la flora nociva.

En la segunda sesión de trabajo, los productores implementaron las recomendaciones y sugerencias que se dieron en la sesión anterior, ejecutando cada uno de ellos el proceso de elaboración en presencia nuestra (ver apéndice 2).

Respecto a la capacitación de los productores de la comunidad se obtuvieron resultados satisfactorios ya que las personas en conjunto aparentemente mostraron disponibilidad al cambio en las prácticas que llevaban a cabo durante la elaboración de su producto, participaron entusiastamente en las actividades que se programaron. Sin embargo, de

manera individual, algunos de los productores manifestaron no estar de acuerdo con todos los cambios, especialmente en el de la pasteurización de la leche y uso de cuajo industrializado, argumentando que con esto se obtiene un producto con un sabor muy distinto que no es característico de su producto y por el cual sus compradores no lo aceptarían.

### **6.3 Caracterización fisicoquímica**

#### **6.3.1 Leche**

De acuerdo a los resultados de los análisis fisicoquímicos realizados a las muestras de leche con y sin pasteurización, se puede observar en la Tabla 6.1 que la leche de cabra presenta características muy similares a las de la leche de vaca, es decir se encuentran dentro del rango de valores para estos parámetros que se reporta en la literatura (Tabla 2.2, sección 2.2.1). Cabe mencionar que los resultados de los parámetros fisicoquímicos no varían con el tratamiento térmico, por lo que en esta tabla los resultados promedio corresponden al total de muestras de leche que se evaluaron. En lo que se refiere a los resultados fisicoquímicos promedios (Tabla 6.2) claramente se observa que las propiedades de la leche proveniente de San José de la Peña (pH, acidez, contenido de proteína, contenido de SNG (sólidos no grasos)), se encuentran con valores cercanos a los reportados en la bibliografía.

Es importante destacar que el porcentaje de grasa observado, supera de manera general al que se menciona en la Tabla 2.2. Para la industria quesera, esta característica es muy apreciada (lo cual representa una gran ventaja para los productores de San José de la Peña) ya que aumenta el rendimiento del producto, debido a que los glóbulos de grasa se encuentran dispersos en forma de triglicéridos mixtos, rodeados por una membrana de fosfolípidos y proteínas que forman una emulsión, lo que le brinda la característica de insolubilidad (Bastida, 2004). Esta característica puede variar en función de la alimentación del animal, la edad y la actividad física que desarrolla.

No obstante, estos resultados, podrían sugerir un error a la hora de realizar el muestreo, ya que puede ser posible que el resultado de 9.6 % de grasa se deba a la falta de homogenización de la muestra, esto es, que se recolectó una muestra de la superficie de la leche obtenida de la ordeña.

Tabla 6.1 Resultados experimentales de los Análisis Fisicoquímicos de leche para cada productor

Productor	Propiedades					
	pH	Acidez (% de ac. láctico)	SNG (%)	Densidad (g/mL)	Grasa (%)	Proteína (%)
1	6.76	0.138	8.54	1.0266	5.21	3.24
2	6.69	0.167	9.17	1.029	6.01	3.48
3	6.73	0.157	8.57	1.030	5.38	3.25
4	6.73	0.163	9.67	1.030	7.48	3.68
5	6.73	0.16	9.45	1.030	7.62	3.60
6	6.74	0.162	9.40	1.028	7.78	3.58
7	6.73	0.172	9.59	1.027	9.60	3.64
8	6.80	0.153	9.30	1.028	6.96	3.53
9	6.65	0.160	8.40	1.027	4.30	3.19
10	6.83	0.147	9.32	1.030	7.18	3.55
Promedio	6.74	0.158	9.15	1.028	6.77	3.48
Desv. estándar	0.133	0.0098	0.525	0.001	1.703	0.207

NOTA: Los resultados que se presentan en la Tabla 6.1 son el promedio de cuatro análisis realizados (para cada productor)

Tabla 6.2 Resultados promedios de las muestras analizadas comparadas con los datos reportados en la bibliografía

Propiedad	Leche de cabra (San José de la Peña)	<sup>1</sup> Leche de cabra	<sup>2</sup> Leche de vaca
pH	6.74	6.35-6.68	6.74 - 6.79
Acidez (% Ac. Láctico)	0.16	0.14-0.19	0.16 - 0.19
SNG (%)	9.15	8.51-9.20	8.5 - 9.5
Densidad (g/ml)	1.028	1.029-1.031	1.027 - 1.034
Grasa (%)	6.77	4.45-5.80	3.2 - 4.2
Proteína (%)	3.48	3.46-3.69	3.4

Fuente: (1) Simons, 1991

(2) Alais, 1998

### 6.3.2 Queso

Los resultados de los análisis fisicoquímicos realizados a las muestras de queso de cabra, tanto de la comunidad de San José de la Peña son presentados en la tabla 6.3. Los resultados muestran un pH alrededor de 6.84 y una acidez de 0.0163 % de ácido láctico. Estos valores están un poco arriba de los valores que se reportan en la literatura.

Las condiciones de almacenamiento no controladas promueven el desarrollo de la flora microbiana presente, que ocasiona cambios en el pH y la acidez en corto tiempo. Cuando el pH de los quesos frescos se acerca a la neutralidad, se asocia una flora predominante de tipo coniforme, lo que produce a su vez, un olor y sabor característicos en los quesos.

Por otra parte, el paso del tiempo provoca disminución en la actividad de agua y al mismo tiempo, concentración de solutos específicamente de la sal (NaCl), que se adiciona en grandes cantidades en el queso de cabra. El aumento en la concentración de sal o pérdida

de agua limitan el crecimiento bacteriano, que de ninguna manera excluye al producto de una deficiente calidad sanitaria.

Tabla 6.3 Resultados de los análisis físicoquímicos de los productos de San José de la Peña y del mercado

		Media
pH	San José de la Peña	6.84*
	Valor reportado en la literatura	6.4-6.5
Acidez (% Ac. Láctico)	San José de la Peña	0.0163*
	Valor reportado en la literatura	0.1433

\*Promedio de 10 muestras (10 productores) con dos réplicas

## 6.4 Evaluación microbiológica

### 6.4.1 Leche

La evaluación microbiológica de leche se muestra en la Tabla 6.4. Se observa una diferencia entre los resultados que se obtuvieron sin la pasteurización de la leche y con ella, ya que en el primer caso la cuenta de colonias de los indicadores evaluados muestran lecturas hasta de  $10^7$  UFC/ mL. Estas cuentas tan altas en leche cruda se deben a la ausencia de higiene durante la ordeña, así como también al tiempo que transcurre y a la temperatura a la cual se mantiene la leche antes de ser utilizada para la elaboración del queso. Sin embargo, en el segundo tratamiento se observan en algunos casos cuentas menores a 100 UFC/mL lo que indica que la aplicación de temperatura por un cierto tiempo, contribuye a disminuir considerablemente la presencia de microorganismos patógenos en la materia prima.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se puede lograr obtener un producto que cumpla las especificaciones de la norma (NOM-091 - apéndice 7) en la que se establece que la leche pasteurizada debe tener una cuenta límite de 30 000 UFC/ mL para BMA. En la Tabla 6.4 se observa que una adecuada manipulación de la leche, proporciona a ésta la calidad exigida por las normas, ya que las cuentas en la mayoría de los casos disminuyeron considerablemente, tales que algunas son menores a 100 UFC/mL. Cabe aclarar que para algunos productores los resultados no fueron satisfactorios, lo que señala la necesidad de capacitación frecuente para lograr crear conciencia de lo importante que es para la salud cuidar la inocuidad de los alimentos. Dentro de la misma tabla se observa que para algunos productores (1, 8 y 9) no se determinaron los indicadores respecto al proceso de pasteurización, esto, debido a que en la época en la que se realizó la evaluación, el ganado de estos productores ya no producía leche.

La NOM-091 indica la determinación de OCT, pero no la de OCF, sin embargo, la presencia de éstos es indicativo de una mala manipulación de la leche y la probable presencia de patógenos como *E. coli*, *Salmonella* y *Shigella* entre otros.

Tabla 6.4 Resultados microbiológicos de leche sin tratamiento de pasteurización y con pasteurización

Productor	BMA UFC/mL *		OCT UFC/mL		OCF UFC/mL	
	<sup>1</sup> No Past.	<sup>2</sup> Past.	No Past.	Past.	No Past.	Past.
1	1.5 X 10 <sup>6</sup>	n.d.**	1 X10 <sup>4</sup>	n.d	2 X 10 <sup>4</sup>	n.d
2	1 X 10 <sup>5</sup>	3.5 X 10 <sup>5</sup>	1 X 10 <sup>5</sup>	5.5 X 10 <sup>4</sup>	1 X 10 <sup>3</sup>	1.5 X 10 <sup>4</sup>
3	5 X 10 <sup>5</sup>	< 100	5 X 10 <sup>3</sup>	< 100	1 X 10 <sup>3</sup>	< 100
4	6.5 X 10 <sup>3</sup>	2 X 10 <sup>3</sup>	5.5 X 10 <sup>2</sup>	1 X 10 <sup>2</sup>	2 X 10 <sup>3</sup>	< 100
5	2 X 10 <sup>4</sup>	5 X 10 <sup>2</sup>	3.5 X 10 <sup>3</sup>	< 100	11 X 10 <sup>3</sup>	1 X 10 <sup>2</sup>
6	1 X 10 <sup>4</sup>	< 100	1 X 10 <sup>4</sup>	< 100	1 X 10 <sup>3</sup>	< 100
7	7.5 X 10 <sup>4</sup>	2 X 10 <sup>3</sup>	1 X 10 <sup>2</sup>	1 X 10 <sup>2</sup>	1 X 10 <sup>3</sup>	< 100
8	2.5 X 10 <sup>4</sup>	n.d.	3.5 X 10 <sup>4</sup>	n.d.	11 X 10 <sup>4</sup>	n.d.
9	1.5 X 10 <sup>5</sup>	n.d.	4 X 10 <sup>3</sup>	n.d.	3 X 10 <sup>3</sup>	n.d.
10	1.5 X 10 <sup>7</sup>	6.5 X 10 <sup>3</sup>	2 X 10 <sup>7</sup>	1 X 10 <sup>2</sup>	n.d.	5 X 10 <sup>2</sup>

<sup>1</sup> No pasteurizada<sup>2</sup> Pasteurizada

\* Unidades formadoras de colonia por mililitro de muestra

\*\* No determinada

En la tabla 6.5 se muestran los resultados de las pruebas estadísticas para leche. Se observa diferencia entre las muestras sin tratamiento de pasteurización y las pasteurizadas ( $P < 0.02$ ), lo que indica que las diferencias no son casualidad, sino que hubo un efecto significativo sobre las variables de respuesta (BMA, OCT y OCF) debido a la pasteurización. Es probable que junto con la aplicación del tratamiento térmico hayan influido algunas prácticas desarrolladas por los trabajadores después de la capacitación que se llevo a cabo con ellos.

Tabla 6.5 Resultados del análisis estadístico realizado a las muestras de leche

<b>Prueba t de student para BMA</b>					
Tratamientos	Media**	Desv. Estándar	t	df	Sig.*
Con Pasteurización (n=7)	2.95	1.6	2.55	30	0.016
Sin Pasteurización (n=25)	4.35	1.19			

<b>Prueba t de student para OCT</b>					
Tratamientos	Media	Desv. Estándar	t	df	Sig.
Con Pasteurización (n=7)	1.96	1.32	3.94	24	0.001
Sin Pasteurización (n=25)	4.18	1.26			

<b>Prueba t de student para OCF</b>					
Tratamientos	Media	Desv. Estándar	t	df	Sig.
Con Pasteurización (n=7)	1.84	1.22	3.52	14	0.003
Sin Pasteurización (n=25)	3.57	0.73			

\*Nivel de Significancia

\*\* Los números corresponden a la media de los logaritmos de las cuentas microbianas

En las siguientes imágenes se observa la diferencia en cuanto al crecimiento de la flora microbiana total y organismo coliformes totales en agar cuenta estándar y rojo violeta bilis respectivamente cuando no hay tratamiento térmico (izquierda) y cuando sí lo hay (derecha). Las fotografías corresponden a la misma muestra y a la misma dilución.



Figura 6.1 Cuenta de BMA sin pasteurización

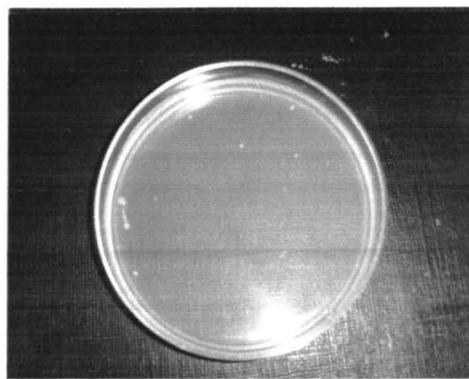


Figura 6.2 Cuenta de BMA con pasteurización

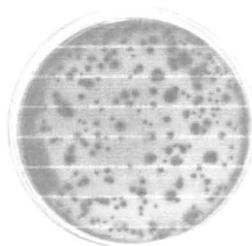


Figura 6.3 Cuenta de OCT sin pasteurización

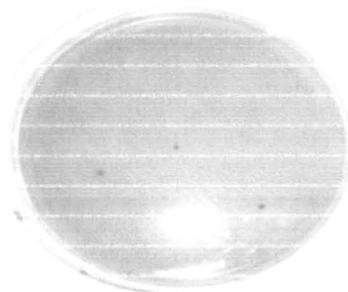


Figura 6.4 Cuenta de OCT con pasteurización

#### 6.4.2 Queso

De acuerdo a los resultados microbiológicos obtenidos del análisis del queso de cabra mostrados en la Tabla 6.6, se observa que el producto elaborado tradicionalmente muestra una deficiente calidad sanitaria entre los distintos productores, ya que se tienen muestras con cuentas hasta de  $10^8$  UFC/g; lo que pone de manifiesto un inadecuado procedimiento de elaboración.

Los valores observados de éstos indicadores (BMA, OCF, OCT) son alarmantes, ya que se tienen promedios hasta de 100 millones de microorganismos por gramo de producto y esto

nos hace pensar en la posible presencia de patógenos, lo que significaría un riesgo importante para la salud humana. En un producto como el queso, la multiplicación de microorganismos es muy propicia, ya que se trata de un sustrato con alta actividad de agua, azúcares y proteínas fácilmente asimilables por las bacterias que les permite alcanzar cifras tan altas en corto tiempo, tal y como las que se obtuvieron.

Tabla 6.6 Resultados microbiológicos de queso de cabra con el proceso tradicional y con Buenas Prácticas de Manufactura

Productor	BMA UFC/g**		OCT UFC/g		OCF UFC/g	
	<sup>1</sup> Tradic.	Con BPM	Tradic.	Con BPM.	Tradic.	Con BPM
1	1.5 X 10 <sup>8</sup>	n.d.**	1.5 X10 <sup>7</sup>	n.d.	1.5 X 10 <sup>5</sup>	n.d.
2	4 X 10 <sup>7</sup>	<100	1 X 10 <sup>6</sup>	<100	2 X 10 <sup>5</sup>	<100
3	1 X 10 <sup>7</sup>	2 X 10 <sup>3</sup>	4 X 10 <sup>7</sup>	<100	2 X 10 <sup>4</sup>	<100
4	2 X 10 <sup>7</sup>	2 X 10 <sup>3</sup>	5 X 10 <sup>5</sup>	<100	1.5 X 10 <sup>5</sup>	<100
5	2.5 X 10 <sup>7</sup>	1 X 10 <sup>2</sup>	5 X 10 <sup>7</sup>	< 100	3 X 10 <sup>5</sup>	<100
6	1 X 10 <sup>7</sup>	<100	4 X 10 <sup>6</sup>	< 100	1 X 10 <sup>4</sup>	<100
7	5 X 10 <sup>8</sup>	3.5 X 10 <sup>6</sup>	7 X 10 <sup>6</sup>	2.5 X10 <sup>5</sup>	2.5 X 10 <sup>7</sup>	3 X 10 <sup>5</sup>
8	1.5 X 10 <sup>8</sup>	n.d.	2 X 10 <sup>5</sup>	n.d.	1 X 10 <sup>6</sup>	n.d.
9	5 X 10 <sup>8</sup>	n.d.	1 X 10 <sup>8</sup>	n.d.	3.5 X 10 <sup>5</sup>	n.d.
10	1.5 X 10 <sup>7</sup>	6.5 X 10 <sup>4</sup>	7 X 10 <sup>7</sup>	3 X 10 <sup>4</sup>	5 X 10 <sup>7</sup>	2 X 10 <sup>4</sup>

\* Elaboración tradicional \*\* Unidades formadoras de colonia por gramo de muestra

\*\* No determinada

Por otra parte, en la misma tabla, se observan los resultados de los análisis que se realizaron al queso elaborado con leche pasteurizada e implementando buenas prácticas de manufactura. Es notable el cambio obtenido, se muestran cuentas menores a 100 UFC/g, lo que indica que si la materia prima es manipulada adecuadamente y el proceso

de elaboración es debidamente cuidado se obtiene un producto con buena calidad sanitaria y con satisfacción de la NOM-121 (Apéndice 8). Cabe aclarar que algunos de los resultados que se presentan no son satisfactorios, esto indica que las BPM no se practicaron correctamente en los procesos de elaboración de dichos productores.

Es importante señalar que en la NOM-121 solo se indica la determinación de OCF y permite como límite máximo 100 NMP/g de producto lo que equivale a decir 100 UFC/g; sin embargo, la presencia de BMA y de OCT, sugieren deficiencias en el proceso de elaboración del producto.

La cuenta de OCF es útil porque indica que el alimento fue expuesto a una contaminación de tipo fecal, esto no se podría manifestar con la determinación exclusiva de OCT, ya que la presencia de éstos no implica necesariamente un previo contacto con materia fecal, sino más bien puede deberse a las siguientes causas: leche no pasteurizada, equipo mal saneado, ausencia de higiene durante la ordeña, exposición del producto a la flora nociva, etc. Esta afirmación es válida tanto para alimentos crudos, como industrializados o cocinados.

Los resultados de los análisis estadísticos para queso se muestran en la Tabla 6.7. Se observa diferencia significativa ( $P < 0.003$ ) entre los análisis que se realizaron a las muestras con el proceso de elaboración tradicional y a las que se trataron implementando Buenas Practicas de Manufactura.

Es evidente, según los resultados, que la sustitución del cuajo natural por el industrializado, así como el cubrir el producto elaborado con telas adecuadas que permitan el desuerado pero que al mismo tiempo protejan al producto del contacto con el polvo y la flora nociva, influyen directamente en la obtención de un producto con mejor calidad microbiológica y por tanto más seguro para el consumidor.

Tabla 6.7 Resultados del análisis estadístico realizado a las muestras de queso

<b>Prueba t de student para BMA</b>					
Tratamientos	Media**	Desv. Estándar	t	df	Sig.*
Con BPM (n=7)	2.95	1.6	-8.687	27	0.002
Tradicional (n=22)	7.60	0.82			

<b>Prueba t de student para OCT</b>					
Tratamientos	Media	Desv. Estándar	t	df	Sig.
Con BPM (n=7)	1.96	1.32	-8.687	27	0.0015
Tradicional (n=22)	6.43	1.14			

<b>Prueba t de student para OCF</b>					
Tratamientos	Media	Desv. Estándar	t	df	Sig.
Con BPM (n=7)	1.84	1.23	-6.378	15	0.001
Tradicional (n=10)	5.61	1.18			

\* Nivel de Significancia

\*\* Los números corresponden a la media de los logaritmos de las cuentas microbianas

### 6.4.3 Investigación de *Brucella spp*

#### 6.4.3.1 Leche

Los resultados sobre la investigación de éste microorganismo se observan en la Tabla 6.8. Se deduce que existe la probabilidad de que el microorganismo *Brucella spp* se encuentre presente, ya que la morfología colonial coincide con la reportada en la bibliografía (Fig. 2.1). En cuanto a las características microscópicas se observa que son típicas de ésta bacteria y bioquímicamente también existieron coincidencias ya que las pruebas de catalasa y oxidasa resultaron positivas. Sin embargo, en la tipificación que realizaron en el laboratorio del Instituto Nacional de Diagnóstico y referencia Epidemiológicos (INDRE),

se descartó la presencia de la bacteria, en base a una serie de pruebas que se realizaron, señaladas en la Tabla 6.9. Se llevaron a cabo dos pruebas para identificar el microorganismo, primero se realizó una siembra de las cepas en agar Mc Conkey, en el cual *Brucella spp.* no crece, sin embargo las cepas que se analizaron presentaron crecimiento en este agar, por lo tanto el crecimiento de bacterias en este medio es positivo, pero no significa que se trate de *Brucella spp.* También se realizó una prueba en suero polivalente para la que *Brucella* debería ser positiva, y en este caso resultó negativa, lo que permitió descartar su presencia.

Tabla 6.8 Investigación de *Brucella spp.* en leche sin pasteurizar

Productor	Resultados			
	Siembra en agar	Tinción gram	Prueba de catalasa	Prueba de oxidasa
1	Colonias sospechosas	Bacilos cortos Gram negativos, pero se muestran algo empalmados	+	+
4	Colonias sospechosas	Se observa una tinción Gram muy típica para <i>Brucella</i> (Bacilos cortos Gram Negativos)	+	+
5	Colonias sospechosas	Son Gram negativos, pero se observan algunos cocos en cadenas que se confunden con bacilos cortos	-	+
8	Algunas colonias sospechosas	Se observan bacilos cortos Gram positivos, no se distinguen bien	+	+
9	Colonias sospechosas	Se observa una morfología muy típica para <i>Brucella</i>	+	+

Tabla 6.9 Evaluación realizada en el INDRE

Cepa No. (Productor)	Origen	Crecimiento en agar Mc Conkey	Suero Polivalente
1	*leche	+	-
4	leche	+	-
5	leche	+	-
8	leche	+	-
9	leche	+	-

\* Leche sin pasteurizar

#### 6.4.3.2 Queso

En la investigación de *Brucella* en queso, se presenta el mismo caso que para leche. Los resultados se presentan en la Tabla 6.10, y éstos parecen indicar la probabilidad de que se trate de *Brucella* según las pruebas morfológicas y bioquímicas realizadas. Sin embargo, en el laboratorio del INDRE descartaron su presencia (Tabla 6.11) por el crecimiento en agar Mc Conkey y no aglutinación con el suero polivalente.

Es importante destacar que el resultado negativo sobre la identificación de *Brucella* en los productos no los excluye de su presencia, existen factores que pueden influir en la obtención de un resultado negativo, esto es; el tamaño de muestra obtenido, la distribución heterogénea del microorganismo, el estado fisiológico de la bacteria a la hora del análisis por ejemplo.

Tabla 6.10 Investigación de *Brucella spp.* en queso elaborado sin Buenas Prácticas de Manufactura

Productor	Resultados			
	Siembra en agar	Tinción gram	Prueba de catalasa	Prueba de oxidasa
1	Una colonia sospechosa	Se observa una morfología muy típica para <i>Brucella</i> (Bacilos cortos gram negativos)	+	+
4	Colonias sospechosas	Se observa una tinción gram muy típica para <i>Brucella</i> (Bacilos cortos gram negativos)	+	+
7	Colonias sospechosas	Morfología muy típica	+	+
8	Algunas colonias sospechosas	Se observan bacilos cortos gram negativos pero también se observan cocos gram negativos	+	+
10	Colonias sospechosas	Se observan bacilos cortos y cocos gram negativos	+	+

Tabla 6.11. Evaluación realizada en el INDRE

Cepa No. (Productor)	Origen	Crecimiento en agar Mc Conkey	Suero Polivalente
1	queso*	+	-
4	queso	+	-
7	queso	+	-
8	queso	+	-
10	queso	+	-

\* Queso elaborado sin BPM

## 7. CONCLUSIONES

El diagnóstico realizado, conjuntamente con los resultados microbiológicos obtenidos demuestran que se requieren instalaciones y manejo adecuados, además de la pasteurización, para producir quesos de acuerdo a la legislación.

De manera general los productores muestran disposición, aunque existe una marcada resistencia por parte de algunos a realizar cambio en el proceso de elaboración tradicional.

La leche de cabra proveniente de San José de la Peña muestra propiedades fisicoquímicas muy similares a las reportadas en la literatura para leche de cabra.

Los análisis microbiológicos realizados tanto a leche como a queso revelan que los productos lácteos elaborados en la región presentan un grave riesgo sanitario para los consumidores por las altas cuentas microbianas registradas.

La pasteurización es un proceso determinante en la disminución de la carga microbiana original en la leche de cabra.

Los resultados indicaron un efecto significativo de la aplicación de las Buenas Prácticas de Manufactura sobre localización sanitaria de los productos tanto de leche como de queso.

Se logró estandarizar y mejorar el proceso de elaboración de queso en San José de la Peña mediante la aplicación de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), incluso se pueden mejorar los límites permitidos por las normas sanitarias.

No fue posible detectar la presencia de *Brucella spp.* en los productos.

## SUGERENCIAS

Debido al alto consumo y producción de queso de este tipo es necesario prevenir riesgos por lo que:

Se requiere de la creación de programas de capacitación por parte de las autoridades gubernamentales hacia los productores en el campo en cuanto al manejo y cuidado de los animales y de los productos alimenticios que de ellos se obtienen, ya que las condiciones en las que se encontró a la comunidad (en cuanto a higiene en la elaboración de quesos) no fueron las más adecuadas.

Se recomienda, concientizar a los productores y autoridades sanitarias sobre la necesidad de aplicar controles más estrictos en la producción de queso tradicional con la intención de reducir los riesgos de epidemias.

Es necesario que exista la permanente vigilancia por parte de las autoridades sanitarias de la localidad para lograr un control sobre la producción, comercialización y distribución de este tipo de productos elaborados artesanalmente.

Se considera necesario ampliar la investigación sobre la incidencia y el comportamiento de *Brucella spp.* en éste tipo de productos, ya que el hecho de no haberla detectado en esta investigación no necesariamente implica su ausencia.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- Alais, C. 1998. Ciencia de la leche. Principios de técnica lechera, Ed. CECSA, México, 16-17:178-195:226-235.
- Badui, D. S. 1993. Química de los alimentos. Ed. Pearson Educación. México. 581-602.
- Bastida A., G. 2004. Factores que influyen en la calidad de la leche cruda producida en granjas bovinas semiespecializadas en el sur del D.F. Tesis de maestría Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 4-7.
- Burrows, W. 1974. Tratado de microbiología. Ed. Interamericana. México. 472-480.
- Bryan., A.H., Bryan, C., Bryan, C.G. 1984. Bacteriología principios y prácticas. Editorial continental, S.A. de C.V. México, D.F. 245-250.
- Burdon, K.L., Williams R.P. 1980. Microbiología. Publicaciones Cultural, S.A. México. 70-76: 98-99.
- Buffa, M., Guamis, B., Royo, C. y Trujillo, A. J. 2001. Microbiological chang throughout ripening of goat cheese made from raw, pasteurized and high-pressure-treated milk. Food Microbiology. 45-51.  
Available online at <http://www.idealibrary.com>
- Bylund, G., Madrid, V.A., López G., A. 2003. Manual de industrias lácteas. Tetra Pak processing systems AB. Madrid, España. 55-59.
- Cabello, R. 1999. Microbiología y parasitología humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas. Ed. Médica panamericana. México, D.F. 348-350.
- Carpenter, P.L. 1982. Microbiología. Nueva Editorial Interamericana. México. 408-409.
- Cazares S. F. R. 2007. *Brucella*. (Memorias) curso teórico práctico: Capacitación Y Actualización en el Diagnóstico de la Brucelosis Humana. Instituto de Diagnóstico de la Brucelosis Humana (INDRE).
- Davis, B.D., Dulbeco, M.D, Renato, M.D., Eisen, H.N., Ginsberg, M.D., Harold, S. Barry M.D., Wood, W. Jr. M.D. 1985. Tratado de microbiología. Salvat Editores, S.A. Mallorca 41. España. 561-565.
- Delgado, R., L. C., Torres D., J.M. 2003. Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima, Perú, y la supuesta acción bactericida de *Lactobacillus spp*. Revista panamericana de salud pública.
- Early, R. 1998. Tecnología de los productos lácteos. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 1-2: 85-123.

- Escobar, G., A., Zárate, A. M.L., Giono, C., S. 1995. Manual de técnicas de laboratorio. Volumen I. Virología y Bacteriología. Secretaría de Salud. México, D.F.
- Estrada A. A. Dr. 2007. Brucelosis. (Memorias) curso teórico práctico : capacitación y actualización en el diagnóstico de la brucelosis humana. Instituto de diagnóstico de la brucelosis humana (INDRE).
- Fernández E., E. 2000. Microbiología e inocuidad de los alimentos. Universidad Autónoma de Querétaro. México, 153: 591-594.
- Figuroa, V., C., Meda G., F., Janacua V., H. 2006. Manual de buenas prácticas en producción de leche caprina. Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación. SAGARPA. Servicio nacional de sanidad, inocuidad y calidad agroalimentaria. Senasica. Dirección general de inocuidad, agroalimentaria, acuícola y pesquera.
- Forbes, B.A. 2004. Diagnóstico microbiológico. Bailey & Scott. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires Argentina. 507-510.
- Genevieve, G., Y., Colchero, F. 1975. Witton's microbiología. Mc. Graw Hill Book Company, INC- New York. México. 415-420.
- Gómez, R., W.J. 2007. Tesis: la caprinocultura como elemento articulador del desarrollo rural en el altiplano potosino. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Facultad de Ciencias Químicas, Ingeniería y Medicina. Programa multidisciplinario de posgrado de ciencias ambientales. 1-128.
- ITP. 1996. Microorganism in food 5. Characteristics of microbial pathogens. Ed. Blackie Academic & Professional. Great Bratrain.36-42.
- Joklik, W., K.D., Phill W., H.P., Amost D., D.B., Wilfert, C.M. 1998. Zinsser microbiología. Editorial Médica Panamericana, S.A. Buenos Aires, Argentina. 827-835.
- Judkins, H.F., Keener, H.A. 1981. La leche. Compañía Editorial Continental, S.A de C.V. Novena impresión. 286-295.
- Koeslag I. J., Fernán C., Z.A., Kirchner S., F.R., Orozco L., A., Alanís M., A., Orozco L., F. 1990. Manuales para educación agropecuaria CABRAS. Editorial Trillas. México. 66: 101.
- Koneman, E.W. 1999. Diagnostico microbiológico Texto, atlas y color. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. 424-430.

- Kuplulu O., S.B. 2003. Isolation and identification of *Brucella spp.* in ice cream. Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology, Ankara University, Ankara, Turkey.  
[www.elsevier.com/locate/foodcont](http://www.elsevier.com/locate/foodcont)  
Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)
- López, M.A. 1992. *Brucella*. Capítulo 10. <http://www.microbiología.org.mx/microbiosenlinea>
- Luna- M., J.E. 2007. Medidas de prevención y prevención de la brucelosis animal. (Memorias) curso teórico práctico: Capacitación Y Actualización en el Diagnóstico de la Brucelosis Humana. Instituto de Diagnóstico de la Brucelosis Humana (INDRE).
- Luquet F., M., Bonjean-Linczowski, Y., Keilling J., De Wilde, R. 1991. Leche y productos lácteos Vaca-Oveja-Cabra. 1 La leche de la mama a la lechería. Ed. Acribia. Zaragoza, España. 5-7.
- Macfaddin, J.F. 2003. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Ed. Médica Panamericana. México. 73-88:344-352.
- Madrid, A: 1994. Nuevo manual de tecnología quesera. Ediciones Mundi Prensa. México. 32-50.
- Madrid, A. 1999. Tecnología quesera. Editorial Mundi-Prensa. Madrid (España). 10-14: 31-32.
- Mantur, B.G., Akki, A.S., Mangalgi, S.S., Patil, S.V., Gobur, R.H., Peerapur, B.V. 2004. Childhood brucellosis- a microbiological, epidemiological and clinical study. Journal of Tropical Pediatrics. Vol. 50, No. 3. Oxford University Press.
- Meyer I., M. y col. 1984. Manuales para la educación agropecuaria. Elaboración de productos lácteos. Ed. Trillas. México. 15-18.
- Norma oficial mexicana NOM-092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
- Norma oficial mexicana NOM-113-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.
- Norma oficial mexicana NOM-121-SSA1-1994. Bienes y servicios. Quesos: frescos, madurados y procesados. Especificaciones sanitarias.
- Norma oficial mexicana NOM-155-SCF1-2003, Leche fórmula láctea y producto lácteo combinado. Denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba.

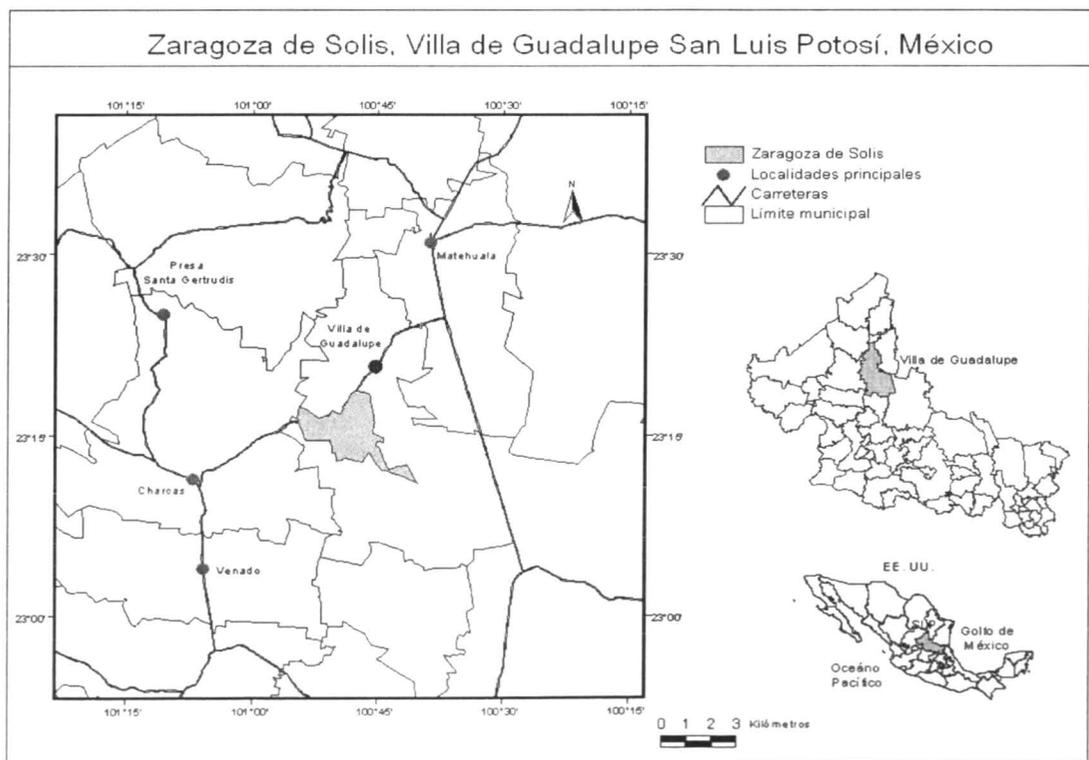
- Norma oficial mexicana NOM-091-SSA1-1994. Leche pasteurizada de vaca.
- Pelczar, M.J. Reid, R.D., Chan E., C.S. 1983. Microbiología. Ed. Mc Graw Hill. México, D.F. 533-536.
- Roberts, D., Hooper, W., Greenwood, M. Microbiología práctica de los alimentos. Ed. ACRIBIA. Zaragoza (España), 146-148.
- Roca R., A.M. 2003. La composición de la leche: mucho más que calcio. Puleva salud [http://www.pulevasalud.com/subcategoria.jhtml?ID\\_\\_\\_\\_\\_CATEGORIA=100519&ABRIR\\_SECCION=2](http://www.pulevasalud.com/subcategoria.jhtml?ID_____CATEGORIA=100519&ABRIR_SECCION=2).  
[www.pulevasalud.com](http://www.pulevasalud.com)
- Rodríguez V., Y., Ramírez S., W., Atúnez S., G., Pérez B., F., Ramírez P., Y., Igarza P., A. 2005. Brucelosis bovina, aspectos históricos y epidemiológicos. REDVET. 6(9): 1695-7504.  
<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>  
<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090905.html>
- Santos M., A. 1987. Leche y sus derivados. Ed. Trillas. México, D.F. 177-205.
- Torres V., M.R., Castillo A., A. 2002. Agentes patógenos transmitidos por alimentos. Volumen II. Guadalajara, Jalisco, México. 49-65.
- Tortora, Frunke, Case. 1998. Microbiology an introduction. Addison Wesley Longman. Pearson Custom Publishing. United States of America. 607.
- Valdés, R. 2001. Problemática y oportunidades de desarrollo de la caprinocultura en el Sureste de Coahuila. Gobierno del Estado de Coahuila, Sagarpa, UAAAN. Coahuila, México. 79.

## Cartografía y diagnóstico del medio físico: San José de la Peña, Villa de Guadalupe, S.L.P.

El pueblo de San José de la Peña, es un anexo del ejido Zaragoza de Solís y pertenece al municipio de Villa de Guadalupe y se localiza entre las coordenadas geográficas 23 12 a 23 19 LN y 100 44 a 100 48 LW, a una altitud de 1730msnm. Ver figura 1 y figura 2.

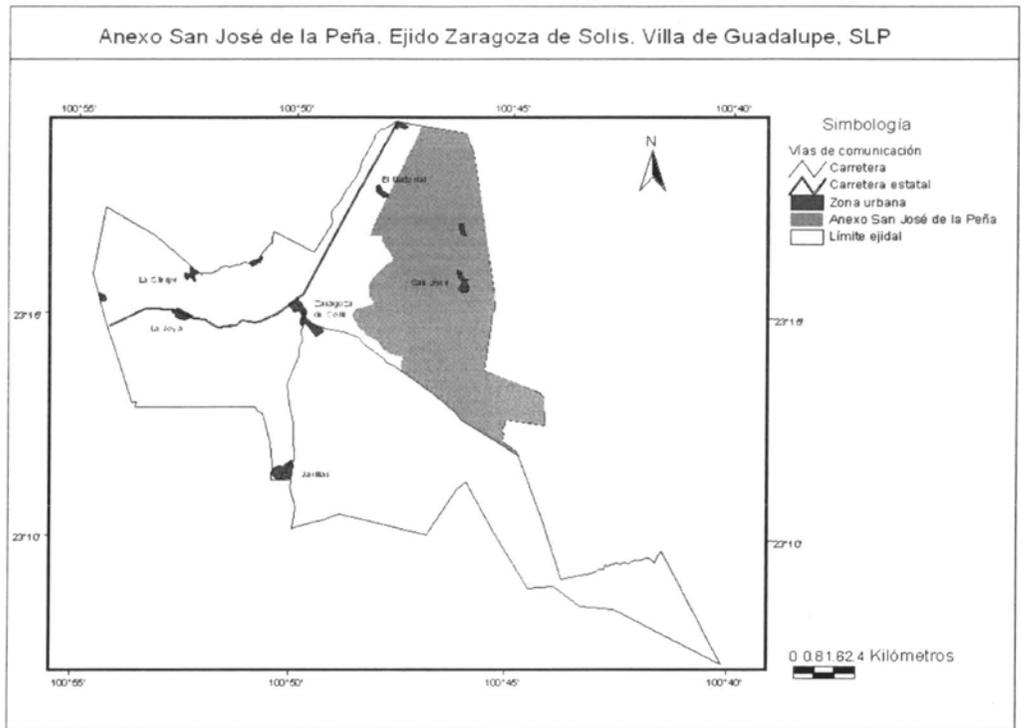
El acceso más sencillo desde San Luis Potosí es tomando la carretera a Matehuala y dando la vuelta a la izquierda en la desviación hacia Charcas, después de aproximadamente 31 Km. por el camino a Charcas, se da vuelta a la izquierda en una terracería rumbo a San José de la Peña por 7 Km. Ver figura 1.

La comunidad cuenta con 63 habitantes, incluyendo a 11 familias, con un promedio de 62 cabras por productor (Gómez, 2007).



Fuente: Gómez, 2007

Figura 1. Ubicación San José de la Peña



Fuente: Gómez, 2007

Figura 2. Coordenadas geográficas San José de la Peña

## APÉNDICE 2

### **Talleres participativos de capacitación de los productores de San José de la Peña**

#### **Taller 1**

##### Sesión 1

Evaluación visual de las condiciones sanitarias de ordeña del ganado, manipulación de la leche y proceso de elaboración de queso. Posteriormente se realizaron comentarios con los productores acerca de las condiciones en las que se encontró la comunidad.

##### Sesión 2

Definición de acciones correctivas en el proceso de elaboración del producto, en base a las condiciones de la comunidad y propuestas para poder adaptar un proceso de elaboración de queso que comúnmente se lleva a cabo con Buenas Prácticas de Manufactura, así como también proponer mejoras para cuando se realiza la ordeña y la manera adecuada de manipular la leche.

#### **Taller 2**

##### Sesión 1

Impartición de un curso teórico (a los 10 productores participantes) del proceso de elaboración de queso, en el que se explicó cada una de las etapas y sus objetivos (pag. 21-25 de éste documento), se les otorgó el material necesario para adaptar un proceso de elaboración común a las condiciones en las que se encuentra la comunidad y así elaborar un mejor producto (cuajo estandarizado, cloruro de calcio, manta de cielo, hipoclorito de sodio) y posteriormente sugerencias para implementar Buenas Prácticas de Manufactura desde la ordeña hasta la elaboración del producto, estas recomendaciones y sugerencias se presentan a continuación:

Para la ordeña:

- Mantener un medio ambiente limpio, seco y sin estrés
- La hora de la ordeña debe ser una rutina consistente (es decir ordeñar a las cabras a la misma hora)

- Evitar que la cabra esté asustada o excitada antes de la ordeña
- Retirar a la cabra del establo al momento de la ordeña (para una ordeña más higiénica)
- El ordeñador debe lavarse y secarse las manos completamente (de preferencia entre cabra y cabra)
- Lavar las ubres y los pezones (con agua y jabón)
- Secar los pezones de 15 a 20 segundos para un estímulo adecuado
- Asegurarse de que las ubres y los pezones estén secos
- Evitar comer mientras se está realizando la ordeña y realizar esta actividad en un sitio definido
- Si alguna persona presenta enfermedad o síntomas de ella, evitar que participe en las labores de ordeña.
- El ganado debe ser manejado sin violencia (Figueroa y col., 2006)

Para la elaboración del queso:

- Antes de comenzar a manipular la materia prima (leche) lavarse las manos con agua y jabón
- Pasteurizar la leche a 63 °C/ 30 min
- Después de pasteurizar la leche, cuidar que todos los recipientes que estarán en contacto con ésta estén lavados y desinfectados con una solución de **hipoclorito de sodio** a una concentración de 2 ppm (partes por millón)
- Utilizar cuajo industrial (pastillas o solución) en la concentración que señale el distribuidor
- El desuerado del producto deberá realizarse en un lugar cerrado y sin corrientes de aire
- Cubrir el producto elaborado con manta de cielo (se recomienda que se hierva en agua durante un tiempo mínimo de 10 minutos), para evitar su contaminación mientras se desuera completamente
- Evitar comer en el área donde se elabora el producto

## Sesión 2

En esta sesión se llevó a la práctica principalmente lo visto en cuanto al proceso de elaboración de queso, y se realizó una demostración ante los productores para elaborar el producto aplicando las sugerencias para implementar las Buenas Prácticas de Manufactura.

## APÉNDICE 3

### ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS

#### **Determinación de acidez actual (pH) o aparente**

Este tipo de acidez depende de la concentración de los minerales, las proteínas y la lactosa principalmente.

##### *Material y equipo:*

Potenciómetro con electrodos de vidrio y calomel o electrodo combinado

Termómetro

Vasos de precipitado de 50 mL

##### *Reactivos:*

Soluciones amortiguadoras (buffer) de pH 4.0, 7.0 y 10.0

##### *Procedimiento:*

- a) Encienda el potenciómetro 30 minutos, antes de hacer la determinación, al cabo de los cuales se calibra con las soluciones buffer antes mencionadas.
- b) Ponga unos 30 ml del producto en un vaso de precipitado e introduzca el electrodo de potenciómetro en el líquido, cuidando que la parte sensible del electrodo quede sumergida en el líquido o bien macerar 20 g de muestra sólida en 40 mL de agua destilada (Relación 1:3) hasta homogenizar esta.
- c) Introduzca los electrodos del potenciómetro en la muestra.
- d) Agite manual o mecánicamente y cuando tenga una lectura estable proceda a registrarla.

#### **Determinación de acidez real o titulable**

Esta acidez se le conoce con el nombre de real o titulable, y se determina por titulación directa con hidróxido de sodio 0.1 N.

##### *Material y equipo:*

Bureta

Pipetas volumétricas de 9 mL

Vasos de precipitado de 100 mL

##### *Reactivos:*

Fenolftaleína

Hidróxido de sodio

*Preparación de reactivos:*

Hidróxido de sodio 0.1 N: disolver 4 g de hidróxido de sodio en un litro de agua y valorar con solución de ácido clorhídrico 0.1 N

Indicador de fenolftaleína: disolver 5 g de fenolftaleína en 375 mL de alcohol etílico de 95% y diluir con agua destilada hasta 500 mL. neutralizar con NaOH 0.1 N hasta color rosado incipiente.

*Procedimiento:*

- a) Mida 9 mL con la pipeta volumétrica y póngalos en el vaso de precipitado o 9 g de muestra sólida y disuélvala en agua.
- b) Añada 5 gotas de fenolftaleína y titule con NaOH 0.1 N hasta que aparezca un color rosado, el cual debe persistir durante 10 a 15 segundos.

*Cálculos:*

El número de mL de NaOH 0.1 N se señalan directamente como g/L de ácido láctico.

Si el volumen de leche titulada no fuera de 9 mL o fuera sólida, o la normalidad de la sosa no fuese 0.1 N, aplique la siguiente fórmula para calcular la acidez:

$$\text{g/L} = (\text{mL de NaOH})(N_{\text{NaOH}})(0.09)(1000)/\text{mL de muestra}$$

## **APÉNDICE 4**

### **MÉTODO PARA LA CUENTA DE BACTERIAS AEROBIAS EN PLACAS**

(NOM-092-SSA1-1994)

#### **Preparación del diluyente (peptona)**

- 1.- Se adiciona 1 g de diluyente (peptona), en 1 L de agua, agitando para disolver.
- 2.- Se colocan 90 mL en frascos de dilución de boca ancha, se tapan y se esterilizan a 121 °C por 15 min.

#### **Preparación del agar para cuenta estándar**

- 1.- Se vierten 23,5 g de agar para cuenta estándar en 1000 mL de agua, hervir para disolver perfectamente.
- 2.- Distribuir en recipientes de vidrio esterilizables (matraces erlenmeyer) de capacidad no mayor de 500 mL, cantidades de aproximadamente la mitad del volumen del mismo. Esterilizar en autoclave a  $121 \pm 1,0$  °C, durante 15 minutos. El pH final del medio debe ser  $7,0 \pm 0,2$  a 25°C, se ajusta con ácido clorhídrico 0,1N o con hidróxido de sodio 0,1N a 25°C, de forma que después del calentamiento se mantenga en este valor.
- 3.- Si el medio de cultivo es utilizado inmediatamente, enfriar a  $45^{\circ}\text{C} \pm 1,0$  °C en baño de agua y mantenerlo a esta temperatura hasta antes de su uso.

#### **Procedimiento para la siembra de la muestra**

- Distribuir las cajas de petri estériles en la mesa de trabajo de manera que la inoculación; la adición de medio de cultivo y homogenización, se puedan realizar cómoda y libremente.
- Se realizan las diluciones correspondientes, partiendo de 9 mL de muestra si es líquida o 9 g si es sólida, y se colocan en 90 ml de diluyente obteniendo así la primera dilución ( $10^{-1}$ ), posteriormente se toma 1 mL para realizar la siguiente

dilución ( $10^{-2}$ ) y así sucesivamente hasta llegar a una dilución de  $10^{-4}$  para leche y  $10^{-6}$  para queso.

- Inocular 1 mL de cada dilución en las cajas petri previamente marcadas.
- Después de inocular las diluciones de las muestras preparadas según la NOM-110-SSA1-1994, preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico, en las cajas Petri, agregar de 12 a 15 mL del medio preparado, mezclarlo sobre una superficie lisa y horizontal hasta lograr una completa incorporación del inóculo en el medio; cuidar que el medio no moje la cubierta de las cajas. Dejar solidificar.
- Incluir una caja sin inóculo por cada lote de medio y diluyente preparado como testigo de esterilidad.
- El tiempo transcurrido desde el momento en que la muestra se incorpora al diluyente hasta que finalmente se adiciona el medio de cultivo a las cajas, no debe exceder de 20 minutos.
- Se incuban las cajas en posición invertida por  $24 \pm 2$  h a  $35$  °C, en una incubadora Thermolyne Type 41900 Incubator con termostato.
- Transcurrido el tiempo de incubación, se efectúa el conteo de las colonias desarrolladas, considerando las cajas que tengan una cuenta entre 30 y 300 colonias.
- Calcular la cantidad total de la población presente en la muestra, multiplicando el número de colonias desarrolladas en la caja por el inverso de la dilución correspondiente.

## **APÉNDICE 5**

### **MÉTODO PARA LA CUENTA DE MICROORGANISMOS COLIFORMES TOTALES EN PLACA**

(NOM-113-SSA1-1994)

#### **Preparación del diluyente (peptona)**

- 1.- Se adiciona 1 g de diluyente (peptona), en 1 L de agua, agitando para disolver.
- 2.- Se colocan 90 mL en frascos de dilución de boca ancha, se tapan y se esterilizan a 121 °C por 15 min

#### **Preparación del medio (Agar-rojo- violeta-bilis-lactosa (RVBA))**

- 1.- Se vierten 41,5 g de agar rojo violeta bilis lactosa (RVBA) en 1000 mL de agua, hervir para disolver perfectamente
- 2.- Distribuir en recipientes de vidrio esterilizables. Mezclar perfectamente y ajustar el pH a 7,4 con ácido clorhídrico 0,1N o con hidróxido de sodio 0,1N a 25°C, de forma que después del calentamiento se mantenga en este valor. Esterilizar en autoclave a  $121 \pm 1,0$  °C, durante 15 minutos
- 3.- Calentar con agitación constante y hervir durante 2 minutos. Enfriar inmediatamente el medio en un baño de agua hasta que llegue a 45° C

#### **Procedimiento para la siembra de la muestra**

- Distribuir las cajas estériles en la mesa de trabajo de manera que la inoculación; la adición de medio de cultivo y homogenización, se puedan realizar cómoda y libremente. Marcar las cajas en sus tapas con los datos pertinentes previamente a su inoculación y correr por duplicado.
- Se realizan las diluciones correspondientes, partiendo de 9 mL de muestra si es líquida ó 9 g si es sólida, y se colocan en 90 mL de diluyente y esa es la primera dilución ( $10^{-1}$ ), posteriormente se toma 1 mL para realizar la siguiente dilución

( $10^{-2}$ ) y así sucesivamente hasta llegar a una dilución de  $10^{-4}$  para leche y  $10^{-6}$  para queso.

- Colocar en cajas Petri por duplicado 1 mL de la muestra líquida directa o de la dilución primaria, utilizando para tal propósito una pipeta estéril.
- Repetir el procedimiento tantas veces como diluciones decimales se requiera sembrar, utilizando una pipeta estéril diferente para cada dilución.
- Verter de 15 a 20 mL del medio RVBA fundido y mantenido a  $45 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$  en baño de agua. En el caso de utilizar cajas de Petri de plástico se vierte de 10 a 15 mL del medio. El tiempo transcurrido entre la preparación de la dilución primaria y el momento en que se vierte el medio de cultivo, no debe exceder de 20 minutos.
- Mezclar cuidadosamente el inóculo con el medio con seis movimientos de derecha a izquierda, seis movimientos en el sentido de las manecillas del reloj, seis movimientos en el sentido contrario al de las manecillas del reloj y seis de atrás para adelante, sobre una superficie lisa y nivelada. Permitir que la mezcla solidifique dejando las cajas Petri reposar sobre una superficie horizontal fría.
- Preparar una caja control con 15 mL de medio para verificar la esterilidad.
- Después de que está el medio completamente solidificado en la caja, verter aproximadamente 4 mL del medio RVBA a  $45 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$  en la superficie del medio inoculado. Dejar que solidifique.
- Invertir las placas y colocarlas en la incubadora a  $35^{\circ}\text{C}$ , durante  $24 \pm 2$  horas.
- Después del periodo especificado para la incubación, contar las colonias con el contador de colonias.
- Seleccionar las placas que contengan entre 15 y 150 colonias. Las colonias típicas son de color rojo oscuro, generalmente se encuentran rodeadas de un halo de precipitación debido a las sales biliares, el cual es de color rojo claro o rosa, la morfología colonial es semejante a lentes biconvexos con un diámetro de 0,5 a 2,0 mm.

NOTA: Es el mismo procedimiento para coliformes fecales, solo varía la temperatura de incubación que en éste caso es de  $44.5^{\circ}\text{C}$ .

## APÉNDICE 6

### TECNICA PARA EL AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE *Brucella spp*

#### Enriquecimiento de la muestra

(Caldo Triptosa)



#### Siembra por Extensión en Superficie

Preparación del medio (Selectivo para *Brucella*)

41 g/L

Esterilizar en autoclave

(15 min/121 °C, pH 7.0±0.2)

Enfriar a 45-50 °C

Incorporar en forma de soluciones asépticas obtenidas por filtración:

-Bacitracina 25.000 UI/litro

-Sulfato de Polimixina 6.000 UI/litro

-Cicloheximida 100 mg/litro

-Violeta de etilo 1,25 mg/litro

Verter en placas y dejar solidificar

Sembrar 0.1 ml de muestra (previamente enriquecida)

Extender en capa fina sobre la superficie del agar con varilla de vidrio estéril

Incubar (en atmósfera con 10 % de CO<sub>2</sub> por 4 a 5 días a 37 °C)



**Identificación**

## APÉNDICE 7

### **NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-091-SSA1-1994. BIENES Y SERVICIOS. LECHE PASTEURIZADA DE VACA. DISPOSICIONES Y ESPECIFICACIONES SANITARIAS.**

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Salud.

JOSE MELJEM MOCTEZUMA, Director General de Control Sanitario de Bienes y Servicios, por acuerdo del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, con fundamento en los artículos 39 de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; 3 fracción XXII, 13, 194 fracción I, 197, 401 BIS, 401 BIS 1, 401 BIS 2 de la Ley General de Salud; 3o. fracción XI, 38 fracción II, 40 fracciones I, VI, VIII, XI, XIII, 41, 43, 47 fracción IV, 50 y 53 de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 2o. fracción III inciso b), 347, 348 fracción I y demás relativos del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario de Actividades, Establecimientos, Productos y Servicios; 8o. fracción IV y 13 fracción I del Reglamento Interior de la Secretaría de Salud.

#### **5. Disposiciones sanitarias**

Los productos objeto de esta norma, además de cumplir con lo establecido en el Reglamento, deben ajustarse a las siguientes disposiciones:

5.1 Los materiales del equipo y utensilios que se empleen deben cumplir con las características establecidas en la NOM-120-SSA1-1994 Prácticas de Higiene y Sanidad para el proceso de alimentos, bebidas no alcohólicas y alcohólicas y en la NOM-093-SSA1-1994 Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos.

5.2 Los detergentes y sanitizantes que se empleen para el lavado y desinfección de los utensilios y el equipo utilizado, deben ser removidos de forma tal que no representen riesgo a la salud, ni modifiquen las características del producto. En el apéndice informativo B se enlistan los sanitizantes recomendados.

5.3 Los productos objeto de esta norma deben pasteurizarse de la siguiente manera:

5.3.1 Se someterán a una temperatura de 63°C, sosteniéndola por un período mínimo de 30 minutos (Pasteurización lenta) o,

5.3.2 Se someterán a una temperatura de 72°C, sosteniéndola por un período mínimo de 15 segundos (Pasteurización rápida) o,

5.3.3 Someterlos a otra relación de tiempo y temperatura cuyo efecto sea equivalente.

5.3.4 Una vez alcanzados respectivamente las temperaturas y tiempos señalados, se enfriarán bruscamente a 4°C.

5.4 En la leche pasteurizada de vaca para su transporte, almacenamiento y venta no se permite realizar las siguientes operaciones:

5.4.1 Colocar hielo o mantas húmedas directamente sobre las canastillas o envase para su conservación.

5.4.2 Mantenerla durante su transporte a una temperatura superior a los 9°C.

5.4.3 Reprocesar los productos que contengan microorganismos patógenos o sustancias tóxicas que los hagan no aptos para su consumo.

5.4.4 La fabricación de los productos objeto de esta norma en establecimientos distintos a las plantas pasteurizadoras, o locales que no reúnan las condiciones sanitarias que establece la Secretaría de Salud.

## **6. Especificaciones sanitarias**

Los productos objeto de este ordenamiento deben cumplir con las siguientes especificaciones:

### 6.1 Físicas

6.1.1 Estar libres de materia extraña.

6.1.2 Sensoriales

Color: Característico del tipo de producto que se trate

Olor: Característico del producto, exento de olores extraños

Sabor: Característico, exento de sabores extraños

6.2 Físico-químicas

Deben dar reacción negativa a la prueba de fosfatasa y a la de inhibidores. Tener una acidez mínima de 1,3 o máxima de 1,7g/l expresada como ácido láctico.

6.3 Microbiológicas

### ESPECIFICACIONES LIMITE MAXIMO

Mesofilicos aerobios UFC/ml 30 000

Organismos Coliformes totales UFC/ml en planta 10

Organismos Coliformes totales UFC/ml en punto de venta 20

Salmonella spp\* en 25 ml Ausente

Staphylococcus aureus\* en 25 ml Ausente

Listeria monocytogenes\* en 25 ml Negativo

- Se determinarán únicamente bajo situaciones de emergencia sanitaria, cuando la Secretaría de Salud de acuerdo al muestreo y los resultados de los análisis microbiológicos detecte la presencia de dichos microorganismos, asimismo ordenará la realización de un plan de trabajo por parte del fabricante o importador para controlar la presencia de los mismos.

## APÉNDICE 8

### **NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-121-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS. QUESOS: FRESCOS, MADURADOS Y PROCESADOS. ESPECIFICACIONES SANITARIAS.**

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Salud.

JOSE MELJEM MOCTEZUMA, Director General de Control Sanitario de Bienes y Servicios, por acuerdo del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, con fundamento en los artículos 39 de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; 3 fracción XXII, 13, 194 fracción I, 197, 401 BIS, 401 BIS 1, 401 BIS 2 de la Ley General de Salud, 3 fracción XI, 38 fracción II, 40 fracciones I, VI, VIII, XI, XIII, 41, 43, 47 fracción IV, 50 y 53 de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 2o. fracción III inciso b), 347, 348 fracción I y demás relativos del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario de Actividades, Establecimientos, Productos y Servicios; 8o. fracción IV y 13 fracción I del Reglamento Interior de la Secretaría de Salud

#### **6. Disposiciones sanitarias**

Los productos objeto de esta norma, además de cumplir con lo establecido en el Reglamento, deben ajustarse a las siguientes disposiciones:

6.1 La leche de vaca, cabra o de otras especies animales o sus mezclas deben estar libres de toda sustancia ajena a su composición y ser pasteurizada de acuerdo a lo establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-091-SSA1-1994. Leche pasteurizada de vaca. Especificaciones sanitarias.

6.2 Las presentaciones del producto en porciones pequeñas para la venta a granel podrán ser envasadas previamente en la planta donde se elabora.

#### **7. Especificaciones sanitarias**

Los productos objeto de este ordenamiento, deben cumplir con las siguientes especificaciones:

##### 7.1 Organolépticas

7.1.1 Los quesos frescos o frescales son de consistencia desde untable hasta rebanable, de aroma y sabor característico sin olores y sabores ajenos.

7.1.2 Los quesos madurados son de consistencia desde blanda hasta extradura sin aromas y sabores ajenos, pueden presentar o no ojos típicos de fermentación o vetas coloreadas de los mohos empleados para su maduración.

7.1.3 Los quesos procesados en general cumplen con lo señalado en el punto 7.1.1.

##### 7.2 Químicas

Los productos objeto de esta norma no deben rebasar 12 UF/g de fosfatasa residual.

##### 7.3 Microbiológicas

#### TABLA 1

#### MICROORGANISMOS FRESCOS MADURADOS PROCESADOS\*

#### LIMITE MAXIMO