



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO**  
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

**PRÁCTICAS SANITARIAS: CALIDAD HIGIÉNICA DE  
PRODUCTOS Y PROCESOS EN UNA QUESERÍA DE SOYATLÁN  
DEL ORO, JALISCO**

**TESIS**  
QUE COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE



**MAESTRO EN CIENCIAS EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA  
AGROALIMENTARIA**

REGIÓN GENERAL ACADÉMICA  
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES  
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

PRESENTA:

**HEIDI MARIBEL CASTRO RUBIO**



Noviembre 2014, Chapingo, Estado de México.

**PRÁCTICAS SANITARIAS: CALIDAD HIGIÉNICA DE PRODUCTOS Y  
PROCESOS EN UNA QUESERÍA DE SOYATLÁN DEL ORO, JALISCO**

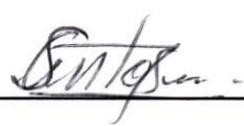
Tesis realizada por **Heidi Maribel Castro Rubio** bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA  
AGROALIMENTARIA**

**DIRECTOR:**

  
\_\_\_\_\_  
**DR. GABRIEL LEYVA RUELAS**

**CO-DIRECTOR:**

  
\_\_\_\_\_  
**M.C. ARMANDO SANTOS MORENO**

**ASESOR:**

  
\_\_\_\_\_  
**DRA. MA. CARMEN YBARRA MONCADA**

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, a la Universidad Autónoma Chapingo y al Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria por el financiamiento de mis estudios y por darme la oportunidad de cumplir una más de mis metas

Al Dr. Gabriel Leyva Ruelas por su invaluable y constante confianza, asesoría y apoyo en la realización de esta investigación.

Al M.C. Armando Santos Moreno por el interés, orientación, comprensión y tiempo prestado durante mis estudios.

A la Dra. Ma. Carmen Ybarra Moncada por el apoyo, asesoría y orientación brindada en la parte estadística del documento.

A la QFB Fabiola Morales y Mauricio Arellano por el apoyo brindado en los análisis microbiológicos y fisicoquímicos, mismos que fueron fundamentales en este trabajo.

A los dueños y empleados de la quesería Soyatlán del Oro, porque sin su colaboración e interés en una mejor higiene de sus productos, este trabajo no hubiera sido posible.

## DEDICATORIA

A Dios por sus grandes bendiciones y permitirme terminar esta etapa de mi vida.

A mis padres, Gastón Castro Santos y Maribel Rubio Ureta con mucho amor, porque ellos han sido la base de mi formación y me han apoyado siempre.

A mis hermanos, Gildardo, Gastón y Jaime Roberto por todo su amor, confianza y apoyo durante este tiempo alejada de ellos.

A mi esposo Azareel Angulo Castro por todo su amor, confianza y apoyo incondicional que me brindó día a día.

A mi hijo Azareel Angulo Castro que amo con todo mi ser y llegó a mi vida poquito antes de culminar mis estudios, inundó mi vida de esperanza y me llenó de aliento para seguir adelante en la construcción de nuestro “futuro”.

## **DATOS BIOGRÁFICOS**

Heidi Maribel Castro Rubio, nació el 7 de Julio de 1988 en Guamuchil, Salvador Alvarado, Sinaloa, obtuvo el título de Licenciada en Nutrición en la Universidad Autónoma de Durango (Campus Culiacán) en el año 2011.

# PRÁCTICAS SANITARIAS: CALIDAD HIGIÉNICA DE PRODUCTOS Y PROCESOS EN UNA QUESERÍA DE SOYATLÁN DEL ORO, JALISCO

## HEALTH PRACTICES: HYGIENIC QUALITY OF PRODUCTS AND PROCESSES IN A CHEESE FACTORY OF SOYATLÁN DEL ORO, JALISCO

Heidi M. Castro-Rubio, Gabriel Leyva-Ruelas, Armando Santos-Moreno, Ma. Carmen Ybarra-Moncada.

### RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue realizar un diagnóstico general de las condiciones de higiene de la empresa y de los procesos de elaboración de los diferentes quesos (adobera de quesadilla, adobera de mesa y panela), evaluar la calidad sanitaria de la materia prima y productos, además proponer un programa de sanitización para la microempresa. Para determinar la calidad sanitaria de la leche, se evaluaron BMA, *Staphylococcus aureus* y coliformes totales en dos épocas del año (lluvias y secas); BMA, *Staphylococcus aureus*, coliformes totales, *E. coli*, *Salmonella spp.* y *Listeria monocytogenes* en los quesos. Se encontraron altas cuentas de microorganismos indicadores y presencia de bacterias patógenas en leche y en quesos. La materia prima no cumplió con las especificaciones sanitarias de la Norma Mexicana NMX-F-700-COFOCALEC-2004 y la Norma Europea (92/46/EEC). De la misma manera, los quesos no cumplieron con las especificaciones de la Norma Europea 92/46/EEC y la Norma Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010 en cuanto a calidad sanitaria.

**Palabras clave:** calidad sanitaria, microorganismos indicadores, bacterias patógenas.

### ABSTRACT

The aim of this study was to conduct a general analysis of the hygiene conditions of the company and processes of different cheeses (adobera de quesadilla, adobera de mesa and panela), evaluate the sanitary quality of raw materials and products, and also to propose a sanitation program for microenterprises. To determine the sanitary quality of milk, BMA, *Staphylococcus aureus* and total coliforms were quantified in two seasons (rainy and dry), while in cheese BMA, *Staphylococcus aureus*, total coliforms, *E. coli*, *Salmonella spp.* and *Listeria monocytogenes* were assessed. High scores of indicator organisms and the presence of pathogenic bacteria in milk and cheese were found. The raw material did not meet the sanitary specifications of the Mexican Standard NMX-F-700-COFOCALEC-2004 or the European standard (92/46/EEC). Likewise, the cheese did not meet the specifications of EN 92/46/EEC or the Mexican Official Standard NOM -243-SSA1-2010 on food safety.

**Keywords:** food safety, indicator microorganisms, pathogenic bacteria.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. JUSTIFICACIÓN .....	4
3. OBJETIVOS .....	5
4. HIPÓTESIS .....	6
5. MARCO TEÓRICO .....	7
5.1 Contexto internacional de la producción de leche.....	7
5.2 Contexto nacional de la producción de leche .....	9
5.3 Contexto internacional de la producción de queso .....	11
5.4 Contexto nacional de la producción de queso .....	13
5.5 La agroindustria quesera en México .....	14
5.6 Los quesos mexicanos genuinos.....	16
5.7 La quesería en México .....	17
5.8 Quesos regionales que se producen en el estado de Jalisco .....	18
5.8.1 Queso Cotija .....	18
5.8.2 Queso Adobera.....	18
5.9 Reproducción tipo artesanal .....	19
5.10 La microbiología de los quesos elaborados con leche cruda.....	20
5.10.1 Microorganismos que deterioran el queso fresco de leche cruda.....	22
5.10.2 Microorganismos patógenos en queso fresco de leche cruda .....	23
5.11 Factores que influyen en el crecimiento microbiano.....	29
5.11.1 Actividad del agua.....	29
5.11.2 pH .....	30
5.11.3 Disponibilidad de oxígeno.....	31
5.11.4 Nutrientes disponibles .....	31
5.11.5 Temperatura .....	31
5.12 Procedimientos de operación estándar (POE) .....	32
5.12.1 Procedimientos operativos estandarizados de sanitización (POES) .....	32

5.12.2 Procedimiento de limpieza.....	33
5.13 Buenas prácticas de manufactura (BPM).....	34
5.14 Principios del HACCP.....	35
5.15 Ubicación del área de estudio.....	37
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	42
6.1 Planeación experimental.....	42
6.1.1 Diseño de tratamientos.....	42
6.1.2 Variables respuesta evaluadas.....	42
6.1.3 Muestreo.....	43
6.1.4 Modelo estadístico.....	43
6.2 Análisis microbiológico.....	44
6.2.1 Preparación de la muestra.....	44
6.2.2 Aislamiento e identificación de <i>Salmonella spp.</i> .....	45
6.2.3 <i>Listeria monocytogenes.</i> .....	51
6.2.4 Cuantificación de <i>Staphylococcus aureus.</i> .....	52
6.2.5 Cuantificación de Mesófilos aerobios.....	53
6.2.6 Coliformes totales.....	53
6.2.7 Detección e identificación de <i>Escherichia coli</i> .....	54
6.2.7.1 Confirmación bioquímica (pruebas IMVC). ....	55
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	59
7.1 Análisis microbiológico de la leche.....	59
7.1.1 Bacterias mesófilas aerobias.....	59
7.1.2 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	61
7.1.3 Coliformes totales.....	63
7.2 Análisis microbiológico de quesos.....	65
7.2.1 Bacterias mesófilas aerobias.....	65
7.2.2 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	67
7.2.3 Coliformes totales.....	69
7.2.4 <i>Escherichia coli</i> .....	72
7.2.5 <i>Salmonella spp.</i> .....	73
7.2.6 <i>Listeria monocytogenes</i> .....	73
7.3 Análisis químico proximal de quesos.....	75
7.3.1 Proteína.....	76

7.3.2 Grasa.....	77
7.3.3 Humedad .....	78
7.3.4 Cenizas .....	80
7.4 Programa de sanitización adaptado a los Procedimientos Operativos Estandarizados de Sanitización (POES) para la microempresa .....	82
8. CONCLUSIONES.....	94
9. BIBLIOGRAFÍA.....	96

## LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Contrastes entre la gran industria y la pequeña industria quesera en México.....	15
Cuadro 2. Parámetros intrínsecos y extrínsecos que afectan el crecimiento microbiano.....	29
Cuadro 3. Diseño de tratamientos con tres diferentes quesos en dos épocas del año. ....	42
Cuadro 4. Variables respuesta para el análisis microbiológico y análisis químico proximal.....	43
Cuadro 5. Presencia de <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella spp.</i> y <i>Listeria monocytogenes</i> en queso panela, queso adobera de quesadilla y queso adobera de mesa en época de lluvias y época de secas. ....	75
Cuadro 6. Especificaciones fisicoquímicas del queso panela, queso adobera de quesadilla y queso adobera de mesa en época de lluvias y época de secas. ....	76

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Producción mundial de leche en el año 2011. ....	8
Figura 2. Principales exportadores de leche entera de vaca en el año 2011.....	8
Figura 3. Principales importadores de leche entera de vaca en el año 2011.....	9
Figura 4. Distribución de la producción nacional de leche de bovino en el año 2010. ....	10
Figura 5. Principales países productores de queso de leche de vaca en el año 2011. ....	11
Figura 6. Principales exportadores de queso de leche entera de vaca en el año 2011. ....	12
Figura 7. Principales importadores de queso de leche entera de vaca.....	12
en el año 2011. ....	12
Figura 8. Localidad de Sotatlán del Oro.....	38
Figura 9. Localidades y vías de acceso al municipio de Atengo, Jalisco. ....	39
Figura 10. Preparación de la muestra para su análisis. ....	45
Figura 11. Preenriquecimiento de <i>Salmonella spp.</i> .....	46
Figura 12. Enriquecimiento de <i>Salmonella spp.</i> .....	47
Figura 13. Aislamiento de <i>Salmonella spp.</i> en medios sólidos. ....	48
Figura 14. Selección de colonias para la tinción de Gram .....	48
Figura 15. Purificación de colonias con características típicas de <i>Salmonella spp.</i> .....	49
Figura 16. Comprobación de la morfología celular de las colonias típicas de <i>Salmonella spp.</i> .....	49
Figura 17. Identificación bioquímica de las colonias sospechosas de <i>Salmonella spp.</i> .....	51
Figura 18. <i>Listeria monocytogenes.</i> .....	52

Figura 19. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	52
Figura 20. Bacterias Mesófilas Aerobias.....	53
Figura 21. Coliformes totales. ....	54
Figura 22. Aislamiento selectivo de <i>E. coli</i> .....	54
Figura 23. Purificación y selección de colonias con características de <i>E. coli</i> . .	55
Figura 24. Prueba bioquímica para la producción de indol. ....	56
Figura 25. Prueba bioquímica para la reacción de rojo de metilo y Voges Proskauer. ....	57
Figura 26. Prueba bioquímica para la reacción de citrato.....	58
Figura 27. Bacterias mesófilas aeróbias en leche cruda de vaca en época de lluvias y época de secas. ....	60
Figura 28. <i>Staphylococcus aureus</i> en leche cruda de vaca en época de lluvias y época de secas.. ....	61
Figura 29. Coliformes totales en leche cruda de vaca en época de lluvias y época de secas.. ....	64
Figura 30. Bacterias mesófilas aerobias en queso adobera de quesadilla, adobera de mesa y panela en época de lluvias y época de secas.....	66
Figura 31. <i>Staphylococcus aureus</i> en queso adobera de quesadilla, adobera de mesa y panela en época de lluvias y época de secas.....	68
Figura 32. Coliformes totales en queso adobera de quesadilla, adobera de mesa y panela en época de lluvias y época de secas.. ....	70
Figura 33. Porcentaje de proteína en queso adobera de quesadilla, adobera de mesa y panela en época de lluvias y época de secas.....	76
Figura 34. Porcentaje de grasa en queso adobera de quesadilla, adobera de mesa y panela en época de lluvias y época de secas.....	78
Figura 35. Porcentaje de humedad en queso adobera de quesadilla, adobera de mesa y panela en época de lluvias y época de secas.....	79
Figura 36. Porcentaje de humedad en queso adobera de quesadilla, adobera de mesa y panela en época de lluvias y época de secas.....	81
Figura 37. Diagrama de bloques para la elaboración de queso adobera.....	82
Figura 38. Transporte y recepción de la materia prima en la quesería. ....	83

Figura 39. Operación de colado de la leche con tela de algodón. ....	84
Figura 40. Los instrumentos de madera, recipientes de plástico y el personal, representan una fuente importante de microorganismos contaminantes y patógenos en la elaboración de los quesos. ....	85
Figura 41. Uso de telas de algodón y malas prácticas de higiene del personal durante el desuerado de la cuajada. ....	86
Figura 42. Prácticas manuales durante el corte de la cuajada en bloques. ....	87
Figura 43. Contacto manual del personal durante la chedarización de la cuajada. ....	87
Figura 44. Salado y molido de la cuajada. ....	88
Figura 45. Moldeado de la cuajada en molde de madera. ....	89
Figura 46. Prensado del queso adobera. ....	91
Figura 47. Oreado de los quesos adobera. ....	92

## 1. INTRODUCCIÓN

En general, la mayoría de las enfermedades transmitidas por los alimentos, son de origen microbiano, constituyen uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial, donde los alimentos y el agua contaminada son fuente importante de contagio (Castillo *et al.*, 2004).

En México las organizaciones sanitarias, consideran prioritario establecer programas sanitarios en los alimentos, mediante la aplicación de sistemas de higiene que minimicen la contaminación por microorganismos, y al mismo tiempo, evitar enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA's). La producción de queso artesanal, con escasas medidas de higiene, favorece la presencia de microorganismos patógenos ya que se sabe que para su elaboración se utiliza como materia prima leche entera cruda.

En el país hay grandes, medianas y pequeñas empresas productoras de queso, donde las pequeñas son las que cuentan con estos tipos de problemas, dado que no cuentan con la tecnología necesaria para un buen manejo. Una manera de solucionar esto es con la implementación de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y de Higiene (BPH) en la producción de alimentos.

Por otro lado, también los intereses de ciertos sectores han querido catalogar a los alimentos artesanales y tradicionales como riesgosos microbiológicamente, por ejemplo; en México la normatividad sanitaria vigente (NOM-243-SSA1-2010) define que un queso es aquel que se elabora únicamente con leche pasteurizada. Con esta definición quedarían excluidas poco más de 30 variedades de queso que se elaboran con leche cruda en toda la República Mexicana.

De acuerdo a las estadísticas del FAOSTAT (2011), Estados Unidos, India y China, son los principales países productores de leche, sin embargo, a nivel nacional, Jalisco destaca como principal productor (SIAP, 2012). Asimismo, como un importante productor de queso; específicamente en el municipio Atengo, se encuentra la comunidad de Soyatlán del Oro, que se caracteriza por la producción de quesos artesanales como el adobera. En la localidad hay cuatro microempresas productoras de queso que se han estudiado: Quesos y Cremas Rosarito, Productos Lácteos Lupita Moreno, Quesos y Productos Lácteos Soyatlán del Oro y Quesos Panelas Crema “El Tesoro”; todas fabrican tres tipos de quesos: adobera de mesa, adobera para quesadilla y panela.

Como materia prima para la elaboración de quesos adobera, se emplea leche cruda de vaca de ganado de libre pastoreo y su proceso se realiza por cuajado enzimático. Se puede clasificar como un queso de pasta semidura, prensada y tajable, se vende fresco, u oreado cierto tiempo. Se presenta en dos

modalidades, como adobera de mesa y como adobera de quesadilla (Sánchez, 2012).

De acuerdo con Sánchez (2012), se ha reportado alta contaminación de bacterias mesófilas aerobias, alto número de bacterias coliformes totales y fecales, así también, algunos patógenos como *Salmonella* en los quesos. Considerando lo anterior, se requiere un estudio detallado del proceso de elaboración de cada uno de estos productos. Es por ello que el objetivo del presente trabajo de investigación fue realizar un diagnóstico general de las condiciones de higiene de la empresa y de los procesos de elaboración de los diferentes quesos (adobera de quesadilla, adobera de mesa y panela), evaluar la calidad sanitaria de la materia prima y productos, y de esta manera proponer un programa de sanitización para la microempresa.

## 2. JUSTIFICACIÓN

La mayoría de las empresas productoras de queso en el país son pequeñas y medianas, algunas son familiares con características artesanales, por lo que no cuentan con procesos y tecnología sofisticada, carecen de conocimientos acerca de la importancia de la calidad higiénica de los productos.

De acuerdo con Sánchez (2012), se ha reportado alta contaminación de bacterias mesófilas aerobias, *Staphylococcus aureus*, alto número de bacterias coliformes totales y fecales, así también, algunos patógenos como *Salmonella* en los quesos adobera de la comunidad de Soyatlán del Oro, Jalisco.

Considerando lo anterior, se requiere un estudio detallado del proceso de elaboración de cada uno de estos productos, para definir el grado de higiene y las fuentes de contaminación, para adaptar los Procedimientos Operativos Estandarizados de Sanitización (POES), que se traducirá en lo posible, en la aplicación de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y de Higiene (BPH). Esto dará como resultado una mejora en la eficiencia productiva y en la calidad del producto.

### **3. OBJETIVOS**

- Hacer un diagnóstico general de las condiciones de higiene de la empresa y de los procesos de elaboración de quesos.
- Evaluar la calidad sanitaria de los productos (queso) y materia prima (leche).
- Definir un programa de sanitización, adaptando los Procedimientos Operativos Estandarizados de Sanitización (POES) para la empresa en estudio.

#### **4. HIPÓTESIS**

Los quesos que produce la microempresa en estudio, no cumple con las normas oficiales nacionales e internacionales en cuanto a la calidad microbiológica.

La mala calidad sanitaria de los quesos se debe a que las fuentes principales de contaminación son los equipos, utensilios, personal, el medio ambiente y el proceso de elaboración.

La mala calidad sanitaria de la materia prima influye significativamente sobre la calidad higiénica de los productos terminados.

## **5. MARCO TEÓRICO**

### **5.1 Contexto internacional de la producción de leche**

De acuerdo con la FAO (2013), alrededor de 150 millones de hogares en todo el mundo se dedican a la producción de leche. En la mayoría de los países en desarrollo, la leche es producida por pequeños agricultores y la producción lechera contribuye a los medios de vida, la seguridad alimentaria y la nutrición de los hogares.

En las últimas décadas, los países en desarrollo han aumentado su participación en la producción lechera mundial. Este crecimiento se debe principalmente al aumento del número de animales destinados a la producción, y no al de la productividad por cabeza. En muchos países en desarrollo, la mala calidad de los recursos forrajeros, las enfermedades, el acceso limitado a mercados y servicios (p. ej., sanidad animal, crédito y capacitación) y el reducido potencial genético de los animales lecheros para la producción láctea limitan la productividad lechera, a diferencia de los países desarrollados (FAO, 2013).

En el 2011, se produjeron 727 millones de toneladas de leche en todo el mundo y los principales países productores fueron Estados Unidos, India y China, como se puede observar en la Figura 1 (FAO, 2014).

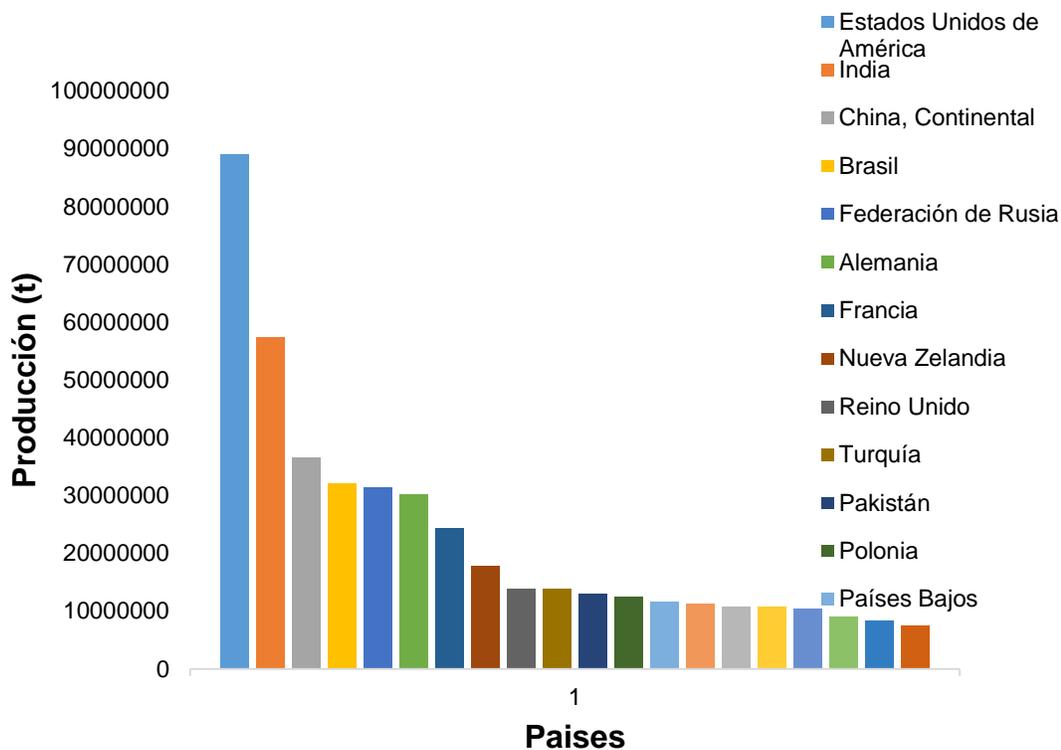


Figura 1. Producción mundial de leche en el año 2011.  
Fuente: FAO, 2014

De acuerdo a la Figura 2, en cuanto a las exportaciones de leche entera de vaca, el principal país es Alemania, le siguen Francia y Bélgica (FAO, 2014).

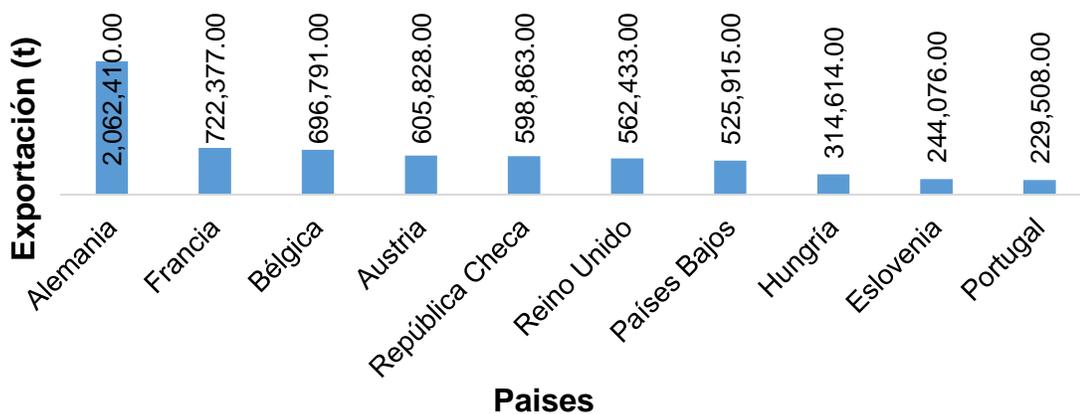


Figura 2. Principales exportadores de leche entera de vaca en el año 2011.  
Fuente: FAO, 2014

De acuerdo a la Figura 3, los países que más leche entera de vaca importan son Italia, Alemania y Bélgica (FAO, 2014).

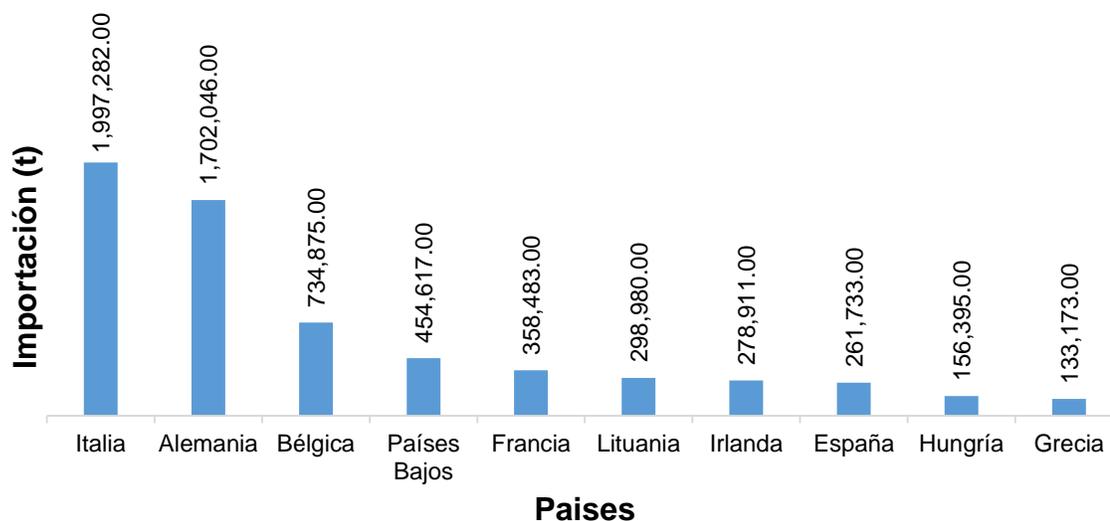


Figura 3. Principales importadores de leche entera de vaca en el año 2011.  
Fuente: FAO, 2014

## 5.2 Contexto nacional de la producción de leche

En México la producción de leche de bovino es muy heterogénea desde el punto de vista tecnológico, agroecológico y socioeconómico, incluyendo la gran variedad de climas regionales y características de tradiciones y costumbres de las poblaciones. Sin embargo, la industria de productos lácteos es la tercera actividad más importante dentro de la rama de la industria de alimentos en México, y su crecimiento depende de la disponibilidad de la leche nacional (SE, 2012).

El país es totalmente dependiente en leche, debido a que para cubrir las necesidades de consumo de la población se ve en la necesidad de realizar

importaciones de productos lácteos por aproximadamente 568 mil toneladas y cerca de 37 millones de litros de leche fluida (SIAP, 2011).

En el 2011, la producción de leche en México fue de 10, 675, 691 toneladas (SAGARPA, 2012). En la Figura 4, se visualiza la distribución de la producción de leche durante el 2010, de la cual se destaca que el estado de Jalisco es el que concentra la mayor producción de leche y Coahuila ocupa el segundo lugar de la producción nacional, es por ello que la Región Lagunera es la zona más importante en producción de leche (SAGARPA, 2012).

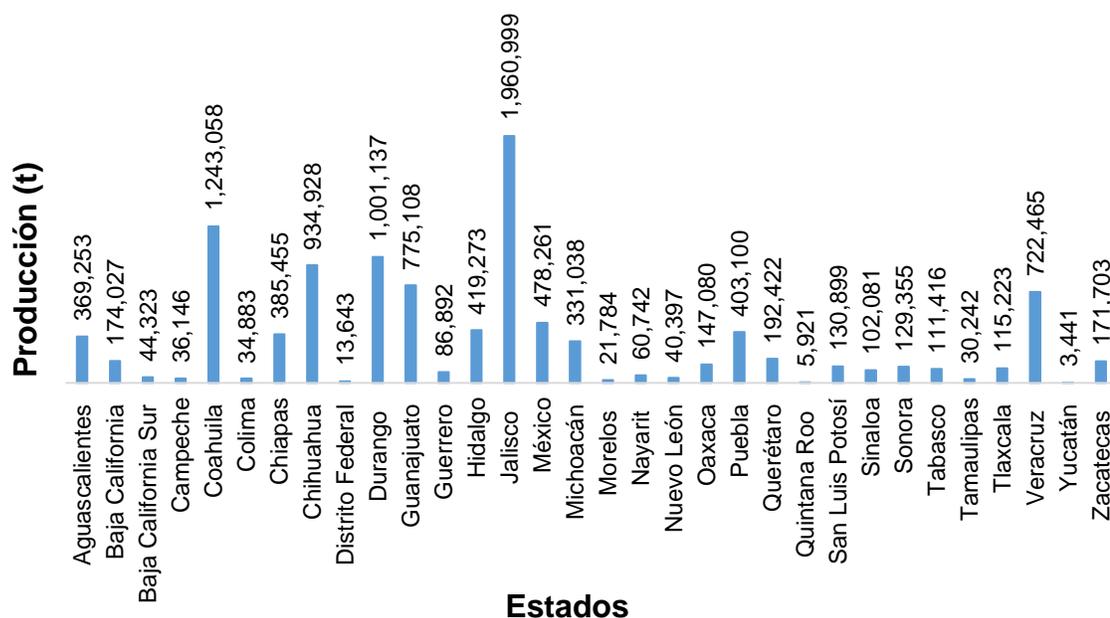


Figura 4. Distribución de la producción nacional de leche de bovino en el año 2010.

Fuente: SAGARPA, 2012.

### 5.3 Contexto internacional de la producción de queso

El queso es uno de los principales productos agrícolas del mundo. Según la FAO, Organización para la Alimentación y la Agricultura de las Naciones Unidas, la producción mundial de queso es más de 18 millones de toneladas (FAO, 2012). En la Figura 5 se observan los principales países productores de queso. Es Estados Unidos el mayor productor, le siguen Alemania y Francia.

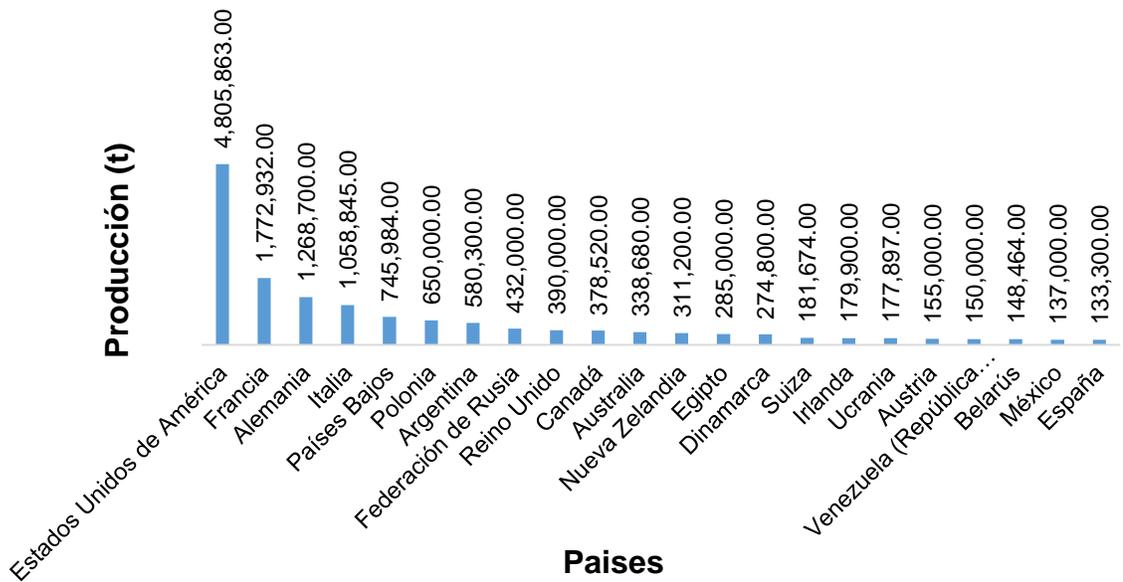


Figura 5. Principales países productores de queso de leche de vaca en el año 2011.

Fuente: FAO, 2014

En cuanto a las exportaciones de queso de leche entera de vaca, el país con mayor valor monetario de ellas es Alemania, en segundo lugar se encuentran los Países bajos y le sigue Francia (Figura 6).

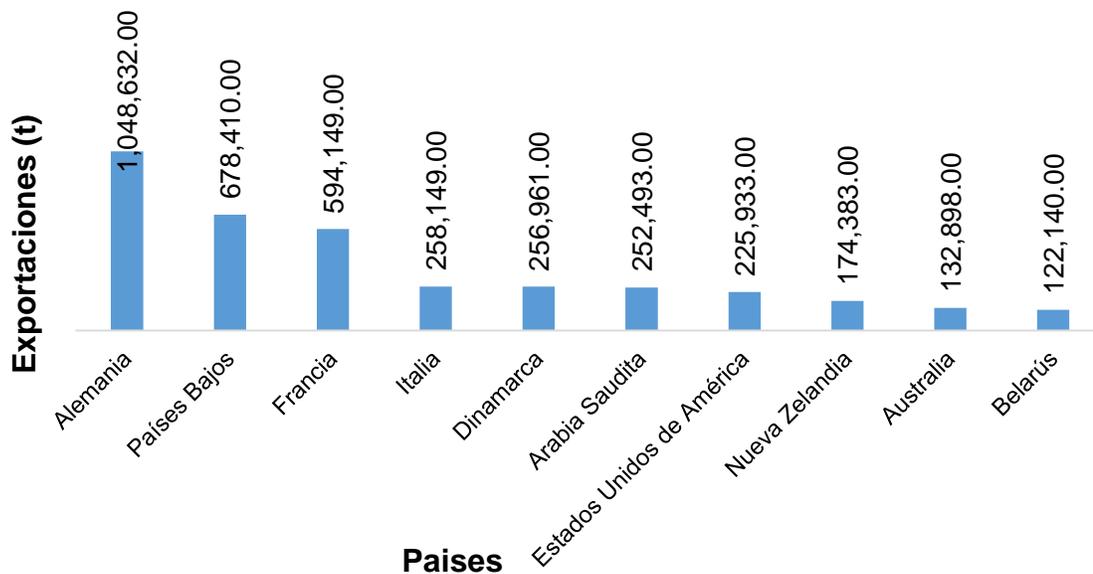


Figura 6. Principales exportadores de queso de leche entera de vaca en el año 2011.

Fuente: FAO, 2014

Los países que más queso de leche entera de vaca importan son Alemania, Italia y Reino Unido (Figura 7).

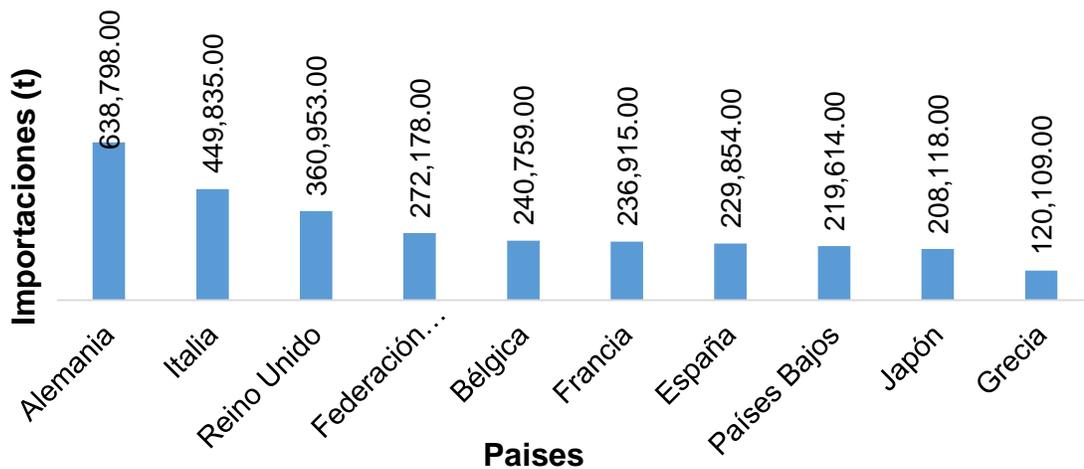


Figura 7. Principales importadores de queso de leche entera de vaca en el año 2011.

Fuente: FAO, 2014

En el consumo de queso por persona, Grecia se encuentra en el primer puesto del ranking mundial, con una media de 27.3 kg consumidos por habitante anualmente. Francia es el segundo consumidor mundial, con unos 24 kg por persona. En la tercera posición se encuentra Italia, con 22.9 kg por persona/año (FAO, 2014).

#### **5.4 Contexto nacional de la producción de queso**

En México, no se ha logrado consolidar un sistema lácteo capaz de satisfacer las necesidades del país, por lo que se tiene que recurrir a las importaciones de leche en polvo y a las cada vez más importantes de derivados lácteos (las de queso alcanzaron las 85 mil toneladas en el año 2005 y se estimaban en 90 mil toneladas en el año 2009).

Estas importaciones representan entre 35 y 40 por ciento del consumo nacional aparente (considerando litros de leche equivalentes); el consumo nacional aparente de queso en el país es de 2.1 kg/año por habitante (Cesín *et al.*, 2007). Se consumen en mayor proporción los quesos frescos (Villegas y Cervantes, 2012).

La producción de queso en México se estima en 152 mil toneladas, de las cuales 149,888 corresponden a siete tipos de quesos; el queso fresco es el que tiene un mayor peso relativo, tanto en cantidad producida como en valor de la producción. En términos generales es el queso que requiere menor tecnología para su elaboración y es el segundo más barato (Villegas y Cervantes, 2012).

## 5.5 La agroindustria quesera en México

La agroindustria láctea nacional está conformada por el conjunto de empresas involucradas en el acondicionamiento y transformación de la leche en derivados. Esta agroindustria presenta dos rasgos notables: su heterogeneidad y su concentración económica y tecnológica (Cervantes *et al.*, 2010).

La producción de leche en México, está fuertemente influida por la estacionalidad (principalmente a través de la alimentación y el estrés ante el cambio de tiempo), se enfrenta a problemas de volúmenes variables de proceso durante el año; esto es, a escasez y a “excedentes” de leche. La influencia estacional es tanto más marcada cuando más extremo es el clima; por ejemplo, en el trópico se produce entre dos y tres veces más leche en temporada de lluvias que en la de sequía, lo cual acarrea problemas de abasto y de costos de producción. La quesería es, por tanto, una de las industrias agroalimentarias más pesadas por la labor y consistencia que demanda (Villegas, 2004).

En México, la industria quesera se clasifica en tres estratos, según el volumen de leche que procesa diariamente.

- Pequeña: transforma volúmenes menos de 2000 L/día.
- Mediana: procesa entre 2000 y 20 000 L/día.
- Gran industria: trata volúmenes mayores a 20 000 L/día.

En el Cuadro 1 se presentan algunos rasgos contrastantes entre la gran agroindustria quesera y la pequeña. Este cuadro, alude solamente algunas características notables entre ambos tipos de industria quesera; la industria mediana posee rasgos mixtos.

Cuadro 1. Contrastes entre la gran industria y la pequeña industria quesera en México.

<b>Gran industria</b>	<b>Pequeña industria</b>
Plantas transformadoras de grandes volúmenes de leche, mayores a 20 000 l/día. Son escasas en el país.	Plantas transformadoras de bajos volúmenes de leche (menores de 2000 l/día). Innumerables queserías en el país, en las zonas templadas y tropicales.
Presentan mayor nivel tecnológico, <i>i. e.</i> :	Disponen de menor nivel tecnológico, <i>i. e.</i> :
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Mayor presencia de equipo</li> <li>- Más moderno</li> <li>- Mayor conocimiento técnico</li> <li>- Mayor organización empresarial</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Menor equipo</li> <li>- Mayor obsolescencia</li> <li>- Predomina el conocimiento empírico</li> <li>- Deficiente organización empresarial</li> </ul>
Produce derivados con leche pasteurizada, emplea aditivos y ejerce mayor control de calidad en materia prima, procesos y productos.	Elabora productos con leche cruda o bronca, no emplea aditivos, el control de calidad en materia prima, proceso y productos es muy limitado o inexistente.
Presenta menores problemas de abastecimiento de leche debido a:	Se enfrenta a mayores problemas de abastecimiento debido a:
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Mejor articulación con productores</li> <li>- Presencia de ganado especializado</li> <li>- Mayor disponibilidad de forraje</li> <li>- Mejores vías de colecta</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Escasa articulación con productores</li> <li>- Presencia de ganado criollo y de doble propósito</li> <li>- Disponibilidad de forraje, dependiendo de la estación</li> <li>- Malas vías de colecta</li> </ul>
Es más sensible al cambio tecnológico, administrativo, etcétera.	Es más conservadora, poco sensible a innovaciones.
Elabora quesos genuinos, pero también quesos extendidos.	Fabrica solamente quesos genuinos.
Sus productos tienen marca.	A menudo sus quesos no poseen marca.
Difusión comercial de amplio alcance en el mercado nacional.	Alcance comercial regional.
Elabora quesos más homogéneos y de mayor vida de anaquel.	Productos más heterogéneos y de menor vida de anaquel.
Cumple o tiende a cumplir la normatividad	Desconoce, evade o incumple la normatividad.
Gran importancia económica, por los volúmenes procesados.	Importancia no sólo económica, sino social por el gran número de queseros involucrados.

Fuente: (Villegas, 2004).

## **5.6 Los quesos mexicanos genuinos**

Los quesos mexicanos genuinos son aquéllos que se elaboran a partir de leche fluida de vaca o cabra, con el mínimo de aditivos, incorporando solamente los permitidos por las normas vigentes, por ejemplo, cuajo, cloruro de calcio y sal; poseen una fuerte raíz histórica que data desde la Colonia hasta hace unas décadas y se elaboran en gran parte del territorio nacional, algunos son regionales y otros meramente locales. Entre los quesos que podemos mencionar se encuentran el Oaxaca, elaborado en Oaxaca y el Cotija Región de Origen, de la Sierra de Jalmich, sin embargo, se han identificado muchos otros quesos genuinos, cerca de 40, los cuales se producen en diferentes lugares de la República Mexicana (Villegas, 2010b).

De acuerdo con Villegas (2010), gran parte de estos quesos son elaborados por la industria artesanal, gozan de prestigio y aprecio por su origen, genuinidad y sus características sensoriales. Tal vez el único aspecto negativo que se les atribuye es que no son totalmente garantes de inocuidad, ya que una buena parte de ellos se elaboran con leche cruda, es decir sin pasteurizar.

Los agentes de fermentación en una pasta quesera son básicamente los microorganismos, principalmente bacterias que llegan a la leche por contaminación durante la ordeña y manejo posterior, y que pueden multiplicarse en el lapso previo al acondicionamiento de la leche para hacer el queso (Villegas, 2012a). Los quesos artesanales genuinos generalmente se distribuyen

sin etiqueta, de manera informal en tianguis, mercados y sobre todo a nivel local.

### **5.7 La quesería en México**

La agroindustria quesera (AIQ) se caracteriza por ser el subsector de la agroindustria lechera (AIL) con mayor número de empresas. Oficialmente existen alrededor de 1 500 queserías, que emplean cerca de 20 mil personas (Castro *et al.*, 2001; INEGI 2009).

Sin embargo, la producción de queso se ha mantenido también en varias pequeñas cuencas queseras en todo el país. Existen así algunas regiones más o menos grandes, especializadas en la producción de queso: Tulancingo, en Hidalgo; San José de Gracia, en Michoacán; la región sur de Tlaxcala-Puebla, la Costa de Chiapas; las colonias menonitas, en Chihuahua; la Sierra de Jalmich, etcétera. Sin embargo, las empresas más importantes se ubican en el norte y en los estados de Jalisco y Guanajuato (Pomeón y Cervantes, 2010).

Los quesos en México se han elaborado desde la colonización, los españoles trajeron a la nueva España los primeros hatos de ganado criollo. Las primeras actividades ganaderas se desarrollaron en los Altos de Jalisco (Pomeón y Cervantes, 2010).

De acuerdo con Villegas (2004), los principales quesos producidos son los de consumo más difundido en todo el país, con dominio de los quesos frescos

tradicionales: tipo panela, Oaxaca, Cotija, manchego mexicano, y tipo Chihuahua.

## **5.8 Quesos regionales que se producen en el estado de Jalisco**

### **5.8.1 Queso Cotija**

El queso cotija es el más conocido en todo el país, se elabora desde hace más de cuatro siglos, en la región serrana entre los estados de Jalisco y Michoacán exactamente en la Sierra Jalmich (Álvarez *et al.*, 2005). Es un queso de pasta dura, prensada, no cocida, madurada; se elabora con leche cruda de vaca de ganado especializado (Holstein, Holstein criollo) o de doble propósito (pardo suizo-cebú, Holstein-cebú). Este queso, se presenta en forma cilíndrica de entre 20 y 30 kg. Es de pasta friable (desmoronable, adecuada para rellenar), ácida y con un elevado porcentaje de sal. Cuando está bien madurado presenta un color blanco amarillento agradable y un sabor-aroma bastante pronunciado (Cervantes y Villegas, 2004).

### **5.8.2 Queso Adobera**

El queso Adobera tiene décadas de existencia, y quizá siglos. Es elaborado y altamente apreciado en Jalisco, de donde posiblemente es oriundo, pero también se elabora en otros estados del país como Guanajuato, Zacatecas e Hidalgo. Se fabrica con leche cruda de vaca, es fresco y ligeramente añejado, de pasta blanda, acidificada por la microflora natural de la leche y prensado ligeramente. Debido a su pH de alrededor de 5.1 a 5.3, se comporta como los

quesos de pasta hilada (filata), fundiéndose fácilmente al calor. Se presenta en el mercado como prismas rectangulares con dos presentaciones comunes: una de 500 g y otra de 1 kg. Muestra un color blanco o ligeramente amarillento, y una pasta un tanto granulada, aunque fina, fácilmente tajable. El color está influido por la riqueza en grasa de la leche con que se elabora. Depende también de la época del año (época de lluvias o sequía), ya que la estación influye directamente en el tipo de forraje que consumen las vacas y éste en el color, por la presencia de carotenoides (Cervantes y Villegas, 2004).

El queso adobera es un alimento auténtico, tradicional y nutritivo, con características específicas y propias del territorio en donde se elabora. Forma parte fundamental en el sustento de todos los actores del sistema, como ganaderos y queseros; tiene gran valor económico, además de social y cultural. Es un queso de consumo frecuente y común entre los habitantes de Soyatlán del Oro y representa una fuente de ingresos importante tanto para los productores de leche, los de queso y para las personas que de ellos dependen (Cervantes y Villegas, 2008).

### **5.9 Reproducción tipo artesanal**

La producción de quesos genuinos mexicanos, manufacturados exclusivamente de manera artesanal, se realiza en territorios de extensión diversa; algunos no van más allá que un municipio, por ejemplo los elaborados en Chiautla, Puebla; otros en territorios más amplios, como el queso Cotija, elaborado en la Sierra Jalmich, pero tienen características en común: la mayoría, principalmente

maduros, se han desarrollado en territorios marginales, con vías de comunicación limitadas (Villegas y Cervantes, 2012).

En la quesería artesanal, la mayoría de las veces el producto se elabora con leche auténtica cruda (sin pasteurizar) y con procesos tradicionales. Generalmente estos quesos son de circulación local o regional, tienen como nichos de mercado a consumidores de esos mismos espacios geográficos y, recientemente, a una creciente población de clientes que buscan productos de calidad, con evocación de lo tradicional y genuino, pero respetando las tradiciones locales y el medio ambiente (Poméon y Cervantes, 2010).

#### **5.10 La microbiología de los quesos elaborados con leche cruda**

Las sutilezas del queso, así como su seguridad y vida útil, son grandemente determinadas por la composición y evolución de su microbiota. La comprensión de las interacciones microbianas permite mejorar la formación del sabor del queso y controlar y/o prevenir el crecimiento de microorganismos patógenos y deteriorantes (Irlinger y Mounier, 2009).

Generalmente, en la comparación de estudios entre quesos “crudos” y quesos pasteurizados, los quesos “crudos” se caracterizan por una microbiota rica, natural y altamente variable; esta diversidad microbiana no se halla en quesos elaborados con leche pasteurizada (Fox *et al.*, 2004).

Varios organismos han sido relacionados con brotes de intoxicación por queso, pero *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* han sido lo más comunes en Europa. Sin embargo, no hay indicadores que muestren que *Mycobacterium bovis*, *Brucella abortus* y los tan nombrados patógenos emergentes, *Campylobacter jejunii*, *Yersinia enterocolitica* y *Aeromonas hydrophila* crezcan durante la elaboración del queso (Fox *et al.*, 2004).

Los quesos frescos muy ácidos inhiben el desarrollo de la mayor parte de las bacterias y se parecen a las leches fermentadas en su selectividad para levaduras y mohos. No obstante, en algunas variedades, el contenido de sal es lo suficientemente alto como para inhibir el crecimiento de las bacterias Gram negativo. Como las variedades más duras, los quesos blandos han causado brotes de intoxicaciones por *Salmonella*. Cuando el queso se fabrica artesanalmente en malas condiciones, la contaminación de las cuajadas o del producto terminado, suponen un riesgo importante. Un brote de Salmonelosis producido por el consumo del queso Suizo Vacherin Mont d' Or se atribuyó a la contaminación del queso con los desechos de unas instalaciones porcinas próximas a la quesería. También se han atribuido al consumo de quesos blando intoxicaciones por toxinas estafilocócicas, pero los brotes son escasos y no hay datos epidemiológicos completos (Varnam y Sutherland, 1994).

*Escherichia coli* es frecuente en los quesos blandos y puede encontrarse presente en gran número. Las cepas no son generalmente patógenas aunque *E. coli* enterotoxinógena se ha aislado durante algunos estudios. No está

determinada la importancia de *E. coli* en los quesos bandos, aunque deben de estar ausentes las cepas reconocidas como causantes de diarreas (Varnam y Sutherland, 1994).

#### **5.10.1 Microorganismos que deterioran el queso fresco de leche cruda**

La contaminación y el crecimiento microbiano pueden dar lugar a cambios indeseables en la apariencia, textura, sabor y olor; por lo tanto, reducen la calidad de los alimentos (Sperber y Doyle, 2009).

El elevado contenido de humedad en los quesos, provoca que sean susceptibles al deterioro microbiológico por bacterias coliformes y psicrófilas. Las bacterias coliformes habitan en el tracto intestinal del hombre y animales de sangre caliente, pertenecen a la familia de las *Enterobacteriaceae*. Otro grupo importante son las bacterias psicrófilas, Gram-negativas, aerobias que son destruidas durante la pasteurización o durante el cuajo de la pasta, su presencia en quesos indica contaminación por el manejo del producto (Madigan y Martiniko, 2004).

El defecto más común que se encuentra en los quesos, es por la producción de gas, que se observa principalmente por la formación de pequeños hoyos causados por bacterias coliformes y/o levaduras, que presentan problemas en quesos debido a la elevada  $a_w$  (Fox *et al.*, 2000).

### **5.10.2 Microorganismos patógenos en queso fresco de leche cruda**

La leche constituye un producto altamente perecedero, que además, puede ser vehículo de bacterias patógenas para el hombre (*Mycobacterium tuberculosis*, *Brucella*, *Salmonella*, *Escherichia coli* enteropatógeno, *Listeria monocytogenes* y otras). Con el fin de eliminar esta flora la leche es sometida a un proceso de pasteurización (62°C durante 30 minutos: pasteurización baja; 72°C durante 15 minutos: pasteurización alta). Aunque no siempre es efectivo (Pascual y Calderón, 2000).

Los quesos elaborados con leche sin pasteurizar, están asociados con Enfermedades Alimentarias (ETA's), con mayor frecuencia que los fabricados a partir de leche pasteurizada. Tanto las infecciones como las intoxicaciones alimentarias, son el resultado de un tratamiento deficiente de la pasteurización de la leche o cuando se presenta un problema de recontaminación de los quesos por microorganismos patógenos (Cristóbal *et al.*, 2003).

La presencia de microorganismos patógenos en quesos frescos se debe también a las medidas de higiene deficiente en la quesería, escasa eficiencia de los cultivos lácticos, del manejo inapropiado de la cuajada durante el procesamiento, incorrecto manejo de la temperatura de almacenamiento, en el transporte y distribución del queso (Farkye, 2002). Otro factor importante es el control de humedad de los quesos frescos mexicanos, ya que altos valores de humedad favorecen el desarrollo de microorganismos patógenos como

*Salmonella*, *E. coli* serotipo O157:H7 y *Listeria monocytogenes*. Estos microorganismos patógenos causan infecciones alimentarias.

Los problemas infecciosos por *Salmonella* en quesos, son de los más frecuentes en países desarrollados y subdesarrollados (Urquilla, 2005). En México en el 2002, se registraron 1364 brotes infecciosos por este patógeno (INEGI, 2002). La frecuencia de infecciones por *Salmonella*, son mayores cuando se consumen productos lácteos elaborados con leche sin pasteurizar (Ratman *et al.*, 1984). Los serotipos responsables de estos brotes son *Salmonella enteritidis* y *Salmonella typhimurium* (Gutiérrez, 2002). En el proceso de elaboración de quesos, es frecuente que durante la cuajada, manejo y etiquetado, se desarrolle *Salmonella typhimurium* (Varman, 1991).

En Estados Unidos se presentó un brote de Listeriosis que fue asociado con el consumo de quesos provenientes de México, provocando 48 muertes (Fox *et al.*, 2000).

Otras bacterias como *S. aureus* causan intoxicaciones alimentarias como consecuencia de la ingestión de toxinas bacterianas presentes en los quesos y otros alimentos; estas toxinas se clasifican como enterotóxicas, debido a que producen gastroenteritis o inflamación de la mucosa que reviste el tracto intestinal (Frazier, 1997., Cristóbal *et al.*, 2003 y Santos, 2007).

### **5.10.2.1 *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* es una especie bacteriana integrada por formas cocáceas de 0.8 – 1  $\mu\text{m}$  de diámetro, que se dividen en más de un plano, por lo que se agrupan irregularmente en racimos. Son inmóviles y carecen de esporas. Son Gram positivos. Las fosas nasales del hombre constituyen el reservorio principal del germen, desde donde se disemina la piel, manos, rostro, pelo, etc. Esta especie bacteriana crece entre 7 y 47.8 °C, con una temperatura óptima a 35 – 37 °C. La producción de enterotoxina se realiza entre 10 y 46°C, con temperatura óptima a 37 – 45 °C. El germen se suele destruir a temperatura de pasteurización, pero no siempre. Respecto al pH se multiplica a valores comprendidos entre 4 y 9.8, con un óptimo de 6 - 7. Crece entre amplios límites de  $a_w$ , el crecimiento del germen se realiza a una  $a_w$  comprendida entre 0.83 y 0.99; la elaboración de enterotoxina requiere 0.86 – 0.99 de  $a_w$ . *Staphylococcus aureus* es una especie halotolerante, con concentraciones de sal superiores a 5 – 7 por 100 (Pascual y Calderón, 2000).

*Staphylococcus aureus* es altamente vulnerable a la destrucción por el tratamiento térmico y casi todos los agentes desinfectantes. Así, la presencia de esta bacteria o sus enterotoxinas en los alimentos procesados o en equipos de procesamiento de alimentos es generalmente una indicación de un saneamiento deficiente. *S. aureus* puede causar una intoxicación alimentaria grave (Bennet y Lancette, 2001).

### **5.10.2.2 *Salmonella***

El género *Salmonella* pertenece a la familia Enterobacteriaceae integrado por gérmenes de forma bacilar, no esporulados. Los microorganismos del género *Salmonella* son bacilos Gram negativos (0.7 a 1.5 x 5 µm), no fermentadores de lactosa. Son móviles por medio de flagelos peritricos, con la excepción de *Salmonella pullorum* y *Salmonella gallinarum*. Fermentan glucosa con producción de ácido y gas (excepto *S. typhi*). También fermentan L-arabinosa, maltosa, D-manitol, D-manosa, L-ramnosa, D-sorbitol, trehalosa, D-xilosa y D-dulcita. Son oxidasa negativo, catalasa positivo, indol y Voges-Proskauer (VP) negativo, rojo de metilo y citrato de Simmons positivo, urea negativo y producen SH<sub>2</sub>. *Salmonella* es la causante de la salmonelosis la cual es una zoonosis de distribución mundial. La tasa de incidencia de la infección es mayor en los lactantes y en niños de corta edad. Epidemiológicamente, las infecciones por *Salmonella* pueden causar pequeños brotes en la población en general, sin embargo el 60 - 80% de los casos son esporádicos (Caffer *et al.*, 2008).

### **5.10.2.3 *Escherichia coli***

*Escherichia coli* es huésped constante del intestino del hombre y de los animales de sangre caliente. Por su especificidad está considerado como un buen índice de contaminación fecal. Tiene el inconveniente de vivir poco tiempo en el ambiente extraentérico, por lo que su presencia en los alimentos indica contaminación reciente. Se destruye a temperatura de pasteurización y también durante su almacenamiento en frío, sobre todo a temperatura de congelación. Su escasa resistencia hace que no sea un buen indicador de flora patógena;

así, por ejemplo, es mucho menos resistente que la *Salmonella* a las condiciones ambientales y a la acción del frío. Pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*. Es un germen de forma bacilar, casi siempre móvil, Gram negativo. Posee estructura antigénica. Su detección en los alimentos sirve como índice de contaminación fecal de los mismos. La mayor parte de las cepas son inocuas, pero existen algunas que son patógenas para el hombre (Pascual y Calderón, 2000)

#### **5.10.2.4 *Listeria monocytogenes***

El género *Listeria* está compuesto por bacterias Gram positivas. Son cocobacilos aerobios o anaerobios facultativos, no esporulados, no capsulados, catalasa positiva, móviles entre 10 y 25°C. Se presenta aislado, en parejas, cadenas cortas o agrupadas en V. El género *Listeria* comprende seis especies: *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. innocua*, *L. welshimeri* y *L. grayi*. Las dos especies potencialmente patógenas son *L. monocytogenes* y *L. ivanovii* (Callejo *et al.*, 2008).

*Listeria monocytogenes* es el agente causal de una enfermedad transmitida por los alimentos conocida como listeriosis. La listeriosis es una enfermedad poco frecuente pero grave que afecta al hombre y a los animales, se reveló como un fenómeno de interés a partir de la década de los ochenta del siglo XX. Afecta a niños (incluyendo a recién nacidos y lactantes), embarazadas y sus fetos, ancianos y personas inmunocomprometido; tiene un prolongado periodo de

incubación y sus manifestaciones clínicas son muy variadas, por lo que se dificulta el diagnóstico y se eleva la letalidad (Martino *et al.*, 2005).

*L. monocytogenes* es una bacteria ampliamente difundida en la naturaleza. Su presencia en los alimentos está determinada por su extensa distribución en el ambiente – tierra, aguas servidas, materia fecal, vegetación, ensilados y entorno de la producción de alimentos – o que confiere una importante oportunidad para contaminarlos (Michanie, 2004).

Esta bacteria es uno de los patógenos más importantes de origen alimentario, dado que resiste diversas condiciones ambientales, como pH bajo, altas concentraciones de sal, sobre todo, tiene la capacidad de sobrevivir a temperaturas de refrigeración (2-4°C) y tratamientos insatisfactorios de pasteurización logrando que se constituya en una seria amenaza a la seguridad de la industria alimentaria (Espinoza *et al.*, 2003).

En el caso de la leche, la contaminación se produce durante el ordeño. Los brotes epidémicos ocasionados por *L. monocytogenes* se han asociado al consumo de productos lácteos tales como quesos blandos, quesos de tipo Cheddar y en quesos de tipo Camembert (Trepát, 2002).

El queso elaborado artesanalmente es uno de los productos lácteos que ofrece condiciones favorables para el crecimiento de *Listeria*, porque es elaborado a partir de leche cruda sin pasteurización, inadecuadas prácticas de manufactura, que sumadas a la alta humedad y al hecho de no estar sujetos a controles de

almacenamientos, distribución y expendio, se convierten en un vehículo potencial de transmisión de *L. monocytogenes* y otros microorganismos patógenos (Espinoza *et al.*, 2003).

### 5.11 Factores que influyen en el crecimiento microbiano

Químicamente el alimento es un sustrato complejo por lo que es difícil predecir cuándo y cómo crecerán microorganismos en un producto alimenticio determinado. La mayoría de los alimentos contienen suficientes nutrientes para permitir el crecimiento microbiano. Son muchos los factores (Cuadro 2) que previenen o limitan el crecimiento de los microorganismos en los alimentos (Forsythe, 2000).

Cuadro 2. Parámetros intrínsecos y extrínsecos que afectan el crecimiento microbiano.

Intrínsecos	Extrínsecos
Actividad de agua	Temperatura
Disponibilidad de oxígeno	Humedad relativa
pH, acidez	
Nutrientes disponibles	

Fuente: Forsythe, 2000.

#### 5.11.1 Actividad del agua

La actividad o disponibilidad del agua es la relación de la presión de vapor del agua de la muestra y de la del agua pura a la misma temperatura:

$$a_w = \text{presión de vapor de agua de la muestra} / \text{presión de vapor del agua pura.}$$

Este parámetro puede actuar de tres maneras en un alimento:

- 1) Como atributo inherente (factor intrínseco) que determina la posibilidad de proliferación bacteriana.
- 2) Como un factor del tratamiento o procesado, por ejemplo en la desecación, en la salazón o en la conservación de un alimento con azúcar.
- 3) Como un parámetro extrínseco, por ejemplo, en el almacenamiento de las carnes frescas a una determinada humedad relativa con el fin de reducir el crecimiento microbiano en la superficie.

La respuesta de los diferentes grupos de microorganismos a la  $a_w$  difiere mucho en función de su posición taxonómica. Las bacterias Gram negativas generalmente son más sensibles que las Gram positivas a la  $a_w$  reducida. En caso de *Staphylococcus aureus* tiene un crecimiento óptimo en un  $a_w$  de 0.86 (Mossel y Moreno, 2003).

### **5.11.2 pH**

El pH de un alimento depende de su concentración de iones hidrógeno. La mayoría de las bacterias son incapaces de crecer en valores de pH muy por debajo de 4.5 – 5 (Mossel y Moreno, 2003).

### **5.11.3 Disponibilidad de oxígeno**

Las actividades de las bacterias, como las de los microorganismos en general, dependen de sus necesidades de oxígeno. Las bacterias que dependen para su actividad del oxígeno se denominan aerobias obligas o aerobias estrictas. Son pocas las bacterias aerobias obligadas, pero muchas de las que crecen en la superficie de los alimentos como las *Pseudomonas* y mohos, se consideran en general aerobias. En el otro extremo de la escala, las anaerobias obligadas sólo crecen en ausencia de oxígeno libre (Hayes, 1993).

### **5.11.4 Nutrientes disponibles**

Las necesidades de nutrientes de los microorganismos son función de las características de los propios microorganismos, y se ven influenciadas también por otras condiciones predominantes. Por ejemplo, a temperaturas de crecimiento más bajas, algunos microorganismos se vuelven más exigentes en el aspecto nutritivo (Mossel y Moreno, 2003).

### **5.11.5 Temperatura**

La temperatura influye tanto en la duración de la fase de lactancia de los microorganismos como en su tiempo de generación. En las diversas clases, géneros y especies de microorganismos de importancia en los alimentos existe una variación continua de los intervalos de crecimiento, de modo que entre todos ellos abarcan todo un intervalo de temperaturas de crecimiento desde aproximadamente -10 °C hasta 65 °C y aun en algún caso hasta 85 – 90 °C (Mossel y Moreno, 2003).

## **5.12 Procedimientos de operación estándar (POE)**

La ISO-9000 (2005) define a un procedimiento como la forma especificada para llevar a cabo una actividad o un proceso.

Los POE son aquellos procedimientos escritos que describen y explican cómo realizar una tarea para lograr un fin específico, de la mejor manera posible. Existen varias actividades y operaciones, además de las de limpieza y desinfección, que se llevan a cabo en un establecimiento elaborador de alimentos que resulta conveniente estandarizar y dejar constancia escrita de ello para evitar errores que pudieran atentar contra la inocuidad del producto final (ANMAT, 2009).

Jackson y Ashton (2000) mencionan que los procedimientos para ser efectivos, deben pasar por cuatro pruebas: entendimiento, realización, auditabilidad y obligatoriedad. Por consiguiente, se deben escribir en los términos más sencillos posibles, tomando en cuenta las capacidades de entendimiento del menos preparado de los miembros del personal. Es también vital que el procedimiento pueda implantarse en la práctica.

### **5.12.1 Procedimientos operativos estandarizados de sanitización (POES)**

Los POES, son un programa de limpieza y desinfección de utensilios, instalaciones y equipo, que tiene por objeto asegurar y garantizar que el producto sea inocuo (SENASICA, 2010).

Feldman (2011) explica que la aplicación de POES es un requerimiento fundamental para la implementación de sistemas que aseguren la calidad de los alimentos.

### **5.12.2 Procedimiento de limpieza**

El proceso de limpieza pretende eliminar residuos de alimentos que proporcionan los nutrientes necesarios para la multiplicación microbiana. Al mismo tiempo, este proceso puede eliminar también la mayoría de los microorganismos mediante la acción física del lavado y enjuagado (Baird-Parker *et al.*, 1991).

Las operaciones de limpieza y desinfección son partes esenciales de la producción de alimentos y la eficiencia con que estas operaciones se realicen y ejerce una enorme influencia en la calidad final del producto (Forsythe y Hayes, 1999).

Los procedimientos de limpieza especificados por el CODEX (2003) consisten en:

- Eliminar los residuos gruesos de las superficies.
- Aplicar una solución detergente para desprender la capa de suciedad y bacterias y mantenerla en solución o suspensión.
- Enjuagar con agua potable, para eliminar la suciedad suspendida y los residuos de detergente.

- Lavar en seco o aplicar otros métodos apropiados para quitar y recoger residuos y desechos.
- Desinfectar y posteriormente enjuagar a menos que las instrucciones del fabricante indiquen, con fundamento científico, que el enjuague no es necesario.

### **5.13 Buenas prácticas de manufactura (BPM)**

Las Buenas prácticas de manufactura (BPM) entendidas como el “conjunto de prácticas generales orientadas hacia el objetivo común de prevenir y disminuir los peligros a que están expuestos los alimentos desde la obtención o producción de sus materias primas hasta su elaboración final”, son consideradas uno de los pilares para el HACCP (FAO y OMS, 2005). Las BPM fueron implementadas por primera vez en los Estados Unidos de América en 1969, recomendadas luego por el Codex Alimentarius y contempladas también en el Reglamento Técnico del MERCOSUR (Cravero *et al.*, 2007).

Las BPM comprenden acciones de limpieza e higiene de materia prima, producto, instalaciones, almacenamiento, equipo, proceso y personal con el objetivo de obtener alimentos inocuos a través de los siguientes grupos de lineamientos: higiene y limpieza personal, prácticas de trabajo, limpieza y desinfección, control del agua, manejo integrado de plagas, rastreabilidad de productos y materias primas, capacitación y diseño higiénico (ASQ, 2002).

La aplicación de BPM en el proceso de producción de alimentos, bebidas, aditivos y materias primas, reduce significativamente el riesgo de infecciones, infestaciones e intoxicaciones alimentarias, además minimiza la pérdida del producto, al protegerlo de contaminantes. Lo que contribuye a una imagen de calidad y evita al empresario sanciones económicas legales por parte de la autoridad sanitaria (SSA, 1994).

La correcta implementación de BPM requiere de la colaboración de todos los operarios o manipuladores de alimentos así como de los empresarios, industriales o expendedores de materias primas. La implementación del programa de BPM permite cumplir con requisitos internacionales, necesarios hoy en día para poder permanecer en el mercado y a la vez, brindar a los clientes lo que ellos esperan de una empresa seria y responsable: alimentos sanos, seguros y de excelente calidad (Cravero *et al.*, 2007).

#### **5.14 Principios del HACCP**

Según Robinson y Wilbey (1998), el sistema identifica, en particular, siete aspectos de la producción que merecen atención, aspectos que incluyen siete principios:

- 1) Identificación de los riesgos potenciales relacionados con los alimentos, partiendo desde la producción de las materia prima, siguiendo por su procesado y distribución, hasta terminar en el momento del consumo. Evaluar el peligro que cada riesgo pueda

suponer y determinar las medidas preventivas necesarias para reducir el riesgo.

- 2) Determinar los puntos precisos de la secuencia anterior que pueden controlarse, al objeto de eliminar o reducir el peligro al mínimo de que se presente. Si el fallo del control de un punto particular, supone riesgo para la salud pública, entonces el paso en el proceso, se considera como un punto crítico de control (CCP); si no existe el máximo riesgo, el paso puede identificarse como punto controlado (CP).
- 3) Establecimiento de «blancos» objetivo y tolerancias admisibles, que deben alcanzarse, el objetivo de mantener el control de un CCP/CP.
- 4) Establecimiento de un sistema de seguimiento de las observaciones prescritas y/o pruebas de laboratorio para asegurar que el control es correcto.
- 5) Establecimiento de procedimiento de acción correctora, a tomar, si el proceder seguido indica que un CCP/CP no está bajo control.
- 6) Establecimiento de un procedimiento de verificación de que el sistema HACCP funciona eficazmente, por ejemplo, introducción de pruebas adicionales para asegurar que los principales componentes del sistema, funcionan dentro de las normas establecidas.

- 7) Establecimiento de un sistema de documentación que registre con exactitud los detalles de todas las operaciones, incluyendo no sólo los aspectos como tiempos/temperaturas y parámetros microbiológicos, sino también las responsabilidades de los operarios individuales.

A primera vista, este procedimiento puede parecer desalentador, pero si cada fase de un proceso de manufactura se identifica y considera, al menos inicialmente, como identidad independiente, entonces la implantación puede proporcionar considerables beneficios a los fabricantes.

#### **5.15 Ubicación del área de estudio**

La zona de estudio se encuentra ubicada en el estado de Jalisco, en la Región de la Sierra Amula. En el municipio de Atengo, perteneciente a la Región de la Sierra Amula se encuentra la comunidad de Soyatlán del Oro (Figura 8), la cual, tiene una tradición quesera desde hace más de un siglo; los principales productos que elaboran son: queso panela, adobera de mesa y adobera de quesadilla.



Figura 8. Localidad de Soyatlán del Oro

En el municipio de Atengo, perteneciente a la Región de la Sierra Amula se encuentra la comunidad de Soyatlán del Oro, que es una de sus localidades más importantes, entre otros aspectos, por su concentración de población y tradición quesera desde hace más de un siglo.

El municipio de Atengo se encuentra ubicado entre los paralelos 20°12' y 20°27' de latitud norte; los meridianos 104°09' y 104°25' de longitud oeste; altitud entre 1 400 y 2 300 m. Colinda al norte con los municipios de Mixtlán y Tecolotlán; al este con los municipios de Tecolotlán y Tenamaxtlán; al sur con los municipios de Tenamaxtlán, Ayutla y Cuautla; al oeste con los municipios de Cuautla, Atenguillo y Mixtlán. Cuenta con 21 localidades y una población total de 4 918 habitantes.

El territorio municipal tiene un extensión de 412.42 kilómetros cuadrados, que representan tan sólo el 0.56% de la superficie del estado de Jalisco. En lo referente a su fisiografía, se encuentra en las provincias del Eje Neovolcánico (80.29%) y la Sierra Madre del Sur (19.71%) (INEGI, 2009).

En la Figura 9, se observa que la comunidad de Soyatlán del Oro se encuentra muy cerca de la cabecera municipal, Atengo, y la mayor parte de los caminos entre las comunidades del municipio son brechas y terracería.



Figura 9. Localidades y vías de acceso al municipio de Atengo, Jalisco.  
Fuente: Gobierno del Estado de Jalisco, Centro Estatal de Estudios Municipales.

En este municipio existen atractivos naturales que caracterizan el lugar, como zonas montañosas y serranías que en su altura fluctúan alrededor de los 1,400 a 2,100 metros, la superficie plana y semiplana es reducida (López, 2002). Además, cuenta con bosques localizados en la parte norte, oeste y sur de la cabecera municipal donde se ubica el Picacho, La Tetilla y Telexeca.

El clima es semicálido subhúmedo con lluvias en verano, de humedad media (92.02%) y templado subhúmedo con lluvias en verano, de mayor humedad (7.98%); las temperaturas oscilan entre 16 y 22°C, con una precipitación media anual de 800 – 1100 mm (INEGI, 2009). Los vientos dominantes son en dirección noreste y los días promedio con heladas son de 29 en el año.

Gran parte de este poblado se encuentra formado de suelos cafés y café rojizo de bosque (López, 2002). El suelo predominante es el cambisol (62.11%), aunque también se presentan el phaeozem (16.98%), regosol (9.62%), umbrisol (4.95%), leptosol (2.88%), luvisol (2.79%) y andosol (0.13%) (INEGI, 2009). El uso del suelo se distribuye en agricultura (19.58%), zona urbana (0.54%), bosque (59.48%), pastizal (19.29%) y selva (1.11%) (INEGI, 2009).

Los recursos hidrológicos del municipio los constituyen los ríos Atengo y San Pedro, conjuntamente con arroyos de caudal permanente como el Salitre La Pila y Yerbabuena; sólo en época de lluvias se forman los arroyos de caudal, principalmente Cofradía de Pimienta, Los Guajes y Agua Fría. Cuenta además

con almacenamientos de agua como la presa de la Garruñoza y diversos pozos profundos (López, 2002).

Parte de la riqueza natural con que cuenta el municipio está representada por 13,600 hectáreas de bosque, donde predominan especies de encino, pino, roble y oyamel; y en las zonas planas, vegetación baja espinosa y matorral. Cuenta con recursos minerales como oro, plata y cobre; además de minerales no metálicos como ópalo y barita. Entre la fauna se encuentran el venado y el jabalí, así mismo la componen especies menores como conejo, armadillo, ardilla, tecolote, gallina y gavián entre otros (López, 2002). Las actividades económicas principales del municipio son la agricultura, destacando el cultivo del maíz y el garbanzo; la ganadería, principalmente con producción de bovinos, aves y porcinos; industria con seis establecimientos instalados, destacando la fabricación de muebles no metálicos y la construcción de infraestructura en la zona urbana; actividad forestal, producción de pino para aserradero, de encino para combustibles y oyamel para celulosa; turismo, hospedaje y restaurantes; comercio, principalmente establecimientos que venden artículos de primera necesidad relacionados con las ramas alimentaria, textil y de calzado.

La industria se abastece con materias primas de la localidad para la elaboración de productos lácteos, materias de construcción, forrajes y carbón; las artesanías que produce son principalmente chamarras forradas a mano, muebles típicos y soguillas de piel (López, 2002).

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1 Planeación experimental

#### 6.1.1 Diseño de tratamientos

Se analizaron tres diferentes tipos de quesos en dos épocas del año en una misma quesería, lo que generó 6 tratamientos, mismos que aparecen en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Diseño de tratamientos con tres diferentes quesos en dos épocas del año.

<b>Tipo de queso</b>	<b>Época del año</b>	<b>Combinaciones de tratamientos</b>
Q. Panela	Lluvias	Q. Panela-lluvias
Q. Quesadilla	Secas	Q. Panela-secas
Q. Mesa		Q. Quesadilla-lluvias
		Q. Quesadilla-secas
		Q. Mesa-lluvias
		Q. Mesa-secas

#### 6.1.2 Variables respuesta evaluadas

Las variables respuesta utilizadas en el experimento se muestran en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Variables respuesta para el análisis microbiológico y análisis químico proximal.

<b>Análisis microbiológico</b>	<b>Análisis químico proximal</b>
Bacterias mesófilas aerobias	Proteína
<i>Staphylococcus aureus</i>	Grasa
Coliformes totales	Humedad
<i>Salmonella spp.</i>	Cenizas
<i>E. coli</i>	
<i>Listeria monocytogenes</i>	

### 6.1.3 Muestreo

Se realizaron dos muestreos, el primero se llevó a cabo en época de lluvias (mes de agosto), el segundo en época de secas (mes de marzo). Se ensayaron cinco repeticiones de cada tratamiento.

### 6.1.4 Modelo estadístico

La asignación de tratamientos a las unidades experimentales fue completamente al azar, para el análisis de los resultados se aplicó un modelo mixto con efectos fijos y efectos aleatorios con medidas repetidas en el tiempo, con cinco repeticiones de cada tratamiento, como unidad experimental se consideró un fragmento de queso (25 g de muestra), se realizó un ANOVA con el paquete estadístico SAS versión 9.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) (Correa, 2004). La ecuación general del modelo se muestra a continuación.

$$y = X \beta + W v + e$$

**Donde:**

$y$  = vector de observación.

$X$  = matriz de efectos fijos.

$\beta$  = vector de parámetros de efectos fijos.

$W$  = matriz de efectos aleatorios.

$v$  = vector de parámetros de efectos aleatorios.

$e$  = vector de error aleatorio.

## **6.2 Análisis microbiológico**

### **6.2.1 Preparación de la muestra**

Se pesaron 25 gramos de queso y se licuaron con 225 mL de una solución estéril de agua peptonada (DIBICO® S.A de C.V., México) al 0.1 % (p/v) en una licuadora (estéril) Oster modelo 450-20 (Sunbeam Mexicana, S.A. de C.V.) durante 1 minuto a velocidad moderada, la mezcla se vertió en un frasco estéril con rosca. Se prepararon las siguientes diluciones,  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  y  $10^{-6}$ , en tubos con 9 mL de solución estéril de agua peptonada al 0.1 % (p/v) como se muestra en la Figura 10; las muestras se sembraron en placa y en tubo dependiendo del tipo de bacteria a analizar.

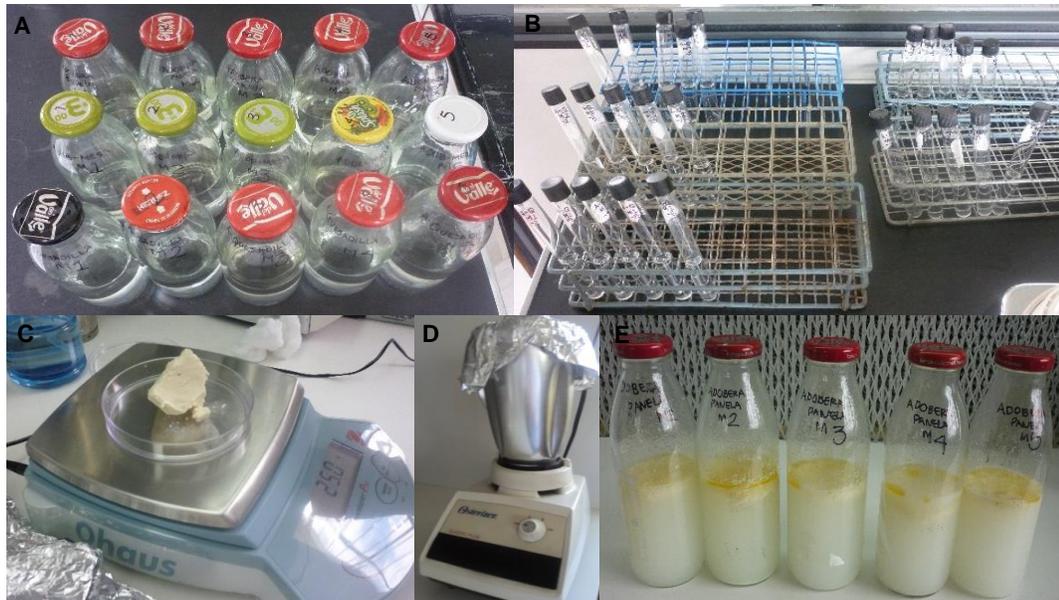


Figura 10. Preparación de la muestra para su análisis.

### 6.2.2 Aislamiento e identificación de *Salmonella spp.*

La detección de *Salmonella spp.* se realizó de acuerdo a la metodología planteada en la NOM-114-SSA1-1994, bienes y servicios, método para la determinación de *Salmonella* en alimentos, también se basó en la metodología propuesta por Pascual y Calderón, 2000; para confirmar la presencia o ausencia de *Salmonella spp.*

Para el aislamiento e identificación de bacterias del género *Salmonella* se utilizaron las siguientes etapas:

- Preenriquecimiento en medio líquido no selectivo.
- Enriquecimiento en medios líquidos selectivos.
- Aislamiento diferencial sobre medios sólidos selectivos.
- Confirmación bioquímica de las colonias sospechosas.

### 6.2.2.1 Preenriquecimiento en medio líquido no selectivo.

Como se muestra en la Figura 11, en esta etapa se utilizó como medio de cultivo el homogeneizado de los 25 gramos de muestra con los 225 mL de solución estéril de agua peptonada (DIBICO® S.A de C.V., México) al 0.1 % (p/v). La mezcla homogeneizada se colocó en la incubadora a una temperatura de 37 °C durante 48 h.



Figura 11. Preenriquecimiento de *Salmonella spp.*

### 6.2.2.2 Enriquecimiento en medios líquidos selectivos.

Se agitó suavemente el cultivo de preenriquecimiento y se sembró con pipeta estéril de 1 mL en dos tubos con medio de Caldo Tetrionato (BDBioxon®, Becton Dickinson de México S.A de C.V., México) y dos tubos con Caldo Selenito Cistina (DIBICO® S.A de C.V., México) para cada muestra, cada uno de los tubos contenían 10 mL de medio de cultivo, así como se muestra en la Figura 12. Los tubos se metieron a incubar a 37 °C por 24 h.



Figura 12. Enriquecimiento de *Salmonella* spp.

### 6.2.2.3 Aislamiento diferencial sobre medios sólidos selectivos.

A partir de los cultivos obtenidos de Caldo Tetrionato y Caldo Selenito Cistina, se sembraron placas con los siguientes medios: Agar XLD (BDBioxon®, Becton Dickinson de México S.A de C.V., México), Agar de Sulfito y Bismuto (BDBioxon®, Becton Dickinson de México S.A de C.V., México), Agar entérico Hektooen (Difco™ Becton Dickinson de México S.A de C.V) y CHROMagar *Salmonella* (CHROMagar™), como se observa en la Figura 13. Las placas estriadas se metieron a la incubadora a una temperatura de 37 °C por 48 h.



Figura 13. Aislamiento de *Salmonella spp.* en medios sólidos.

De acuerdo a la Figura 14, las colonias sospechosas de los medios selectivos anteriores, se sometieron a tinción de Gram para determinar las características morfológicas de cada una de ellas.



Figura 14. Selección de colonias para la tinción de Gram

De las colonias sospechosas en los medios selectivos, se suspendieron las células en agua peptonada estéril al 0.1 %, y de aquí se sembraron placas con

Agar nutritivo para su purificación (Figura 15). Éstas se incubaron a las condiciones anteriormente descritas.

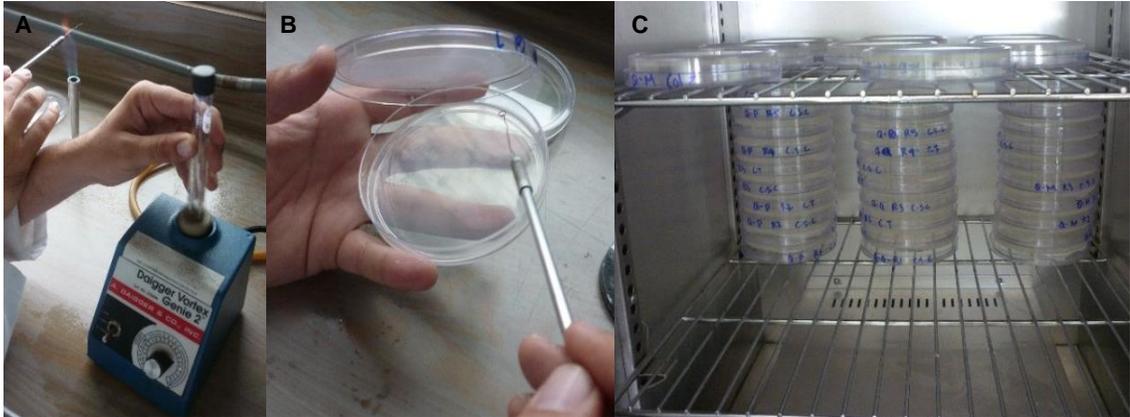


Figura 15. Purificación de colonias con características típicas de *Salmonella* spp.

Posteriormente se reconfirmó la pureza de las cepas mediante la tinción de Gram, como se muestra en la Figura 16.

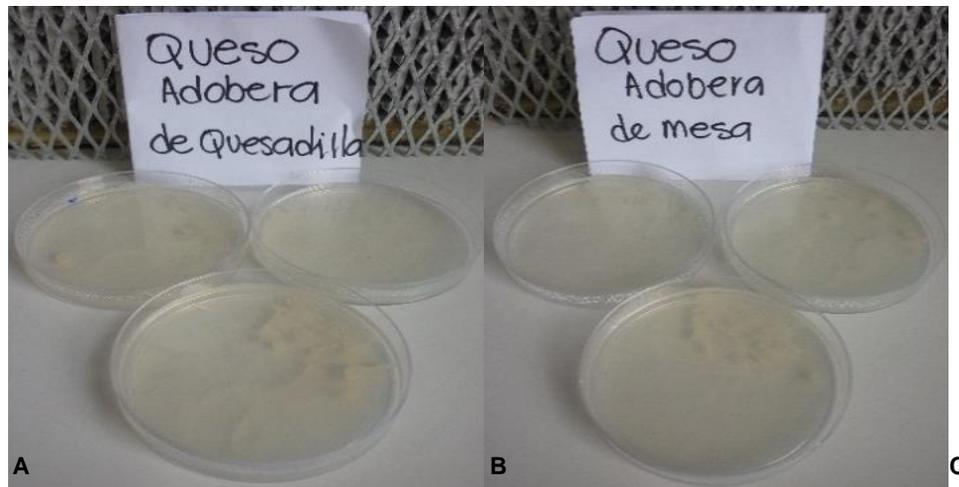


Figura 16. Comprobación de la morfología celular de las colonias típicas de *Salmonella* spp.

#### **6.2.2.4 Identificación bioquímica de las colonias sospechosas.**

Se seleccionaron cinco cepas sospechosas de *Salmonella*, y para su identificación se utilizaron las siguientes pruebas bioquímicas: triple azúcar hierro, lisina hierro, y caldo urea.

Lisina y hierro triple azúcar. De las cepas anteriormente seleccionadas se sembraron tres tubos para cada una con asa en Agar de Hierro y Triple Azúcar (DIBICO® S.A de C.V., México), primero en la superficie inclinada por diseminación y, luego, en el fondo por picadura (Figura 17); posteriormente, fueron puestas en la estufa a 37° C por 24 horas.

Lisina hierro. Igualmente, para cada sepa sospechosa se sembraron tres tubos (Figura 17), se sembró por picadura en el fondo y por diseminación en la superficie inclinada en el medio Agar de Hierro y Lisina (DIBICO® S.A de C.V., México), se incubaron durante 48 horas a 47° C.

Caldo urea. De las mismas cepas seleccionadas, se sembró con asa en tubos que contenían Caldo Urea (BDBioxon®, Becton Dickinson de México S.A de C.V., México), así como lo muestra la Figura 17, y posteriormente se incubó en baño María a 37 °C por 2 h.



Figura 17. Identificación bioquímica de las colonias sospechosas de *Salmonella* spp.

### 6.2.3 *Listeria monocytogenes*.

Para el aislamiento e identificación de *Listeria monocytogenes* se utilizó CHROMagar Listeria (CHROMagar™ Listeria de Paris Francia), es un medio cromogénico para la detección, aislamiento y recuento de *Listeria*.

En esta prueba se analizaron todas las variedades de queso, sembrando directamente en el medio antes mencionado (mediante tres estrías simples en cuadrantes), como se observa en la Figura 18; los cultivos se incubaron a 37° C por 24 horas, después de este tiempo se analizaron las colonias típicas de *Listeria* en este medio de cultivo.

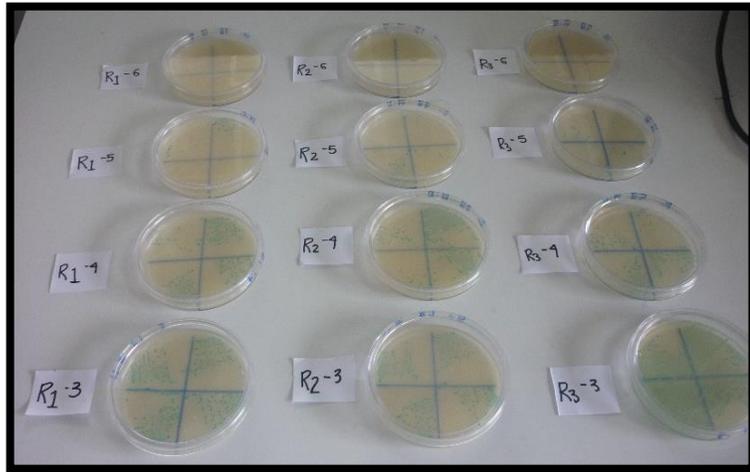


Figura 18. *Listeria monocytogenes*.

#### 6.2.4 Cuantificación de *Staphylococcus aureus*

Para esta prueba se seleccionaron las diluciones  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  y  $10^{-6}$  de la preparación de la muestra; se sembraron placas (0.1 mL) con medio selectivo de Agar de Baird Parker (BDBioxon® Becton Dickinson de México S.A de C.V., México) y las placas se incubaron a 37 °C durante 24 horas. Transcurrido el tiempo, se realizó el conteo de las colonias típicas de *Staphylococcus aureus* (colonias negras pequeñas con halos alrededor) como se muestra en la Figura 19.

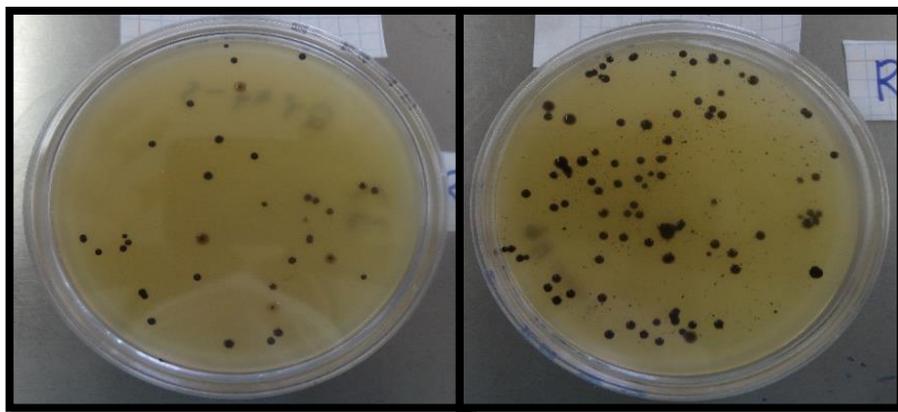


Figura 19. *Staphylococcus aureus*.

### 6.2.5 Cuantificación de Mesófilos aerobios

A partir de las diluciones  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  y  $10^{-6}$  de la preparación de la muestra; se sembraron placas (0.1 mL) en Agar para Métodos Estándar (Becton Dickinson de México S.A de C.V) y se introdujeron a la incubadora a  $37^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas. Transcurrido el tiempo de incubación, se contaron las colonias (Figura 20).

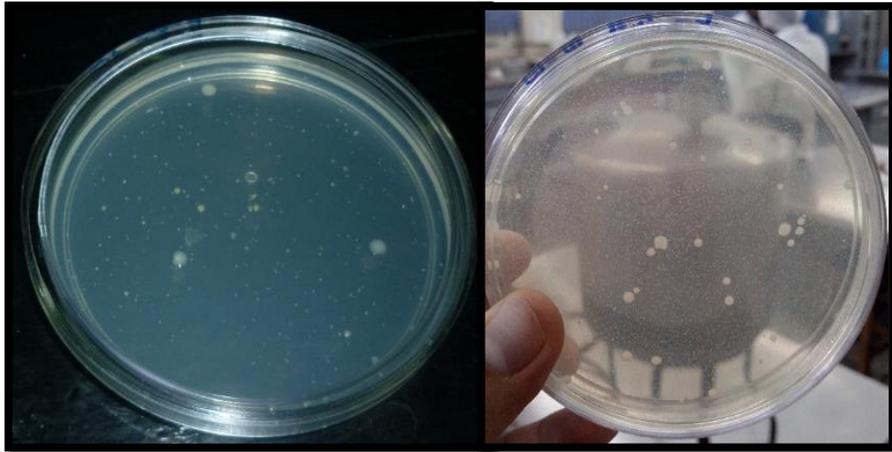


Figura 20. Bacterias Mesófilas Aerobias

### 6.2.6 Coliformes totales

De las mismas diluciones de la preparación de la muestra  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  y  $10^{-6}$ ; se sembraron placas (0.1 mL) en Agar Bilis Rojo-Violeta (BDBioxon®, Becton Dickinson de México S.A de C.V., México) como medio sólido selectivo, las placas se metieron a incubar a  $37^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas. Una vez que transcurrió el tiempo, se realizó el conteo de las colonias típicas de coliformes totales para ese medio (colonias rojo oscuro con halo rosa alrededor) como se muestra en la Figura 21.

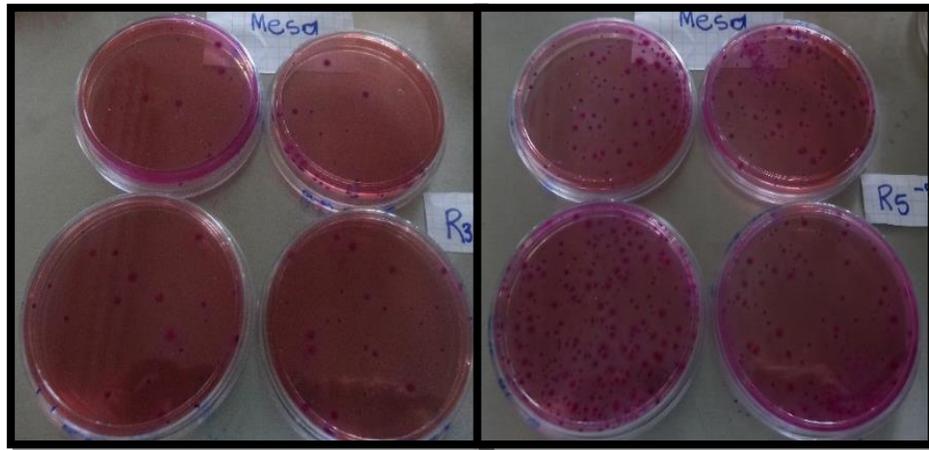


Figura 21. Coliformes totales.

### 6.2.7 Detección e identificación de *Escherichia coli*

A partir de las placas de Agar Bilis Rojo-Violeta (BDBioxon®, Becton Dickinson de México S.A de C.V., México) se aislaron colonias en el medio de Eosina y Azul de Metileno (BDBioxon®, Becton Dickinson de México S.A de C.V., México) como medio sólido selectivo y se introdujeron a la incubadora a 37 °C durante 24 horas. Se aislaron tres colonias por muestra (Figura 22).

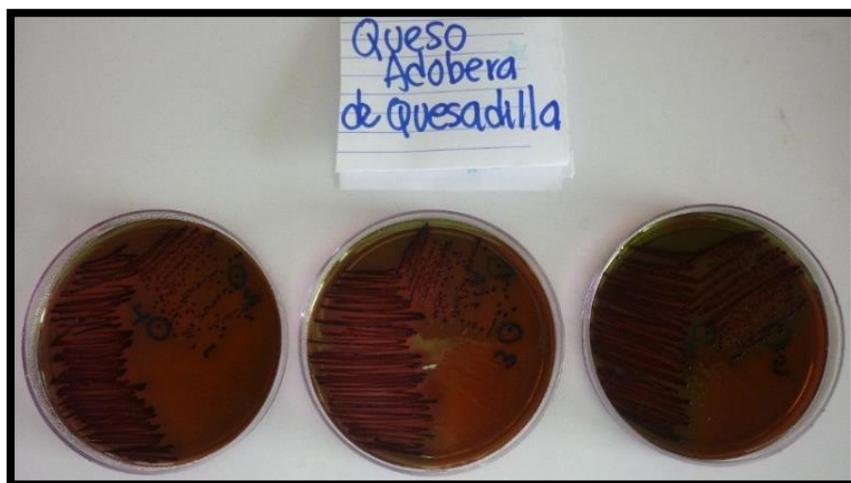


Figura 22. Aislamiento selectivo de *E. coli*.

Se seleccionaron cinco cepas sospechosas de *E. coli* para realizarles tinción de Gram y poder observar en el microscopio si las células presentaban las características de *E. coli*.

De las colonias que resultaron sospechosas, se suspendieron las células en agua peptonada estéril al 0.1 %, y de aquí se sembraron placas en Agar para Métodos Estándar (Becton Dickinson de México S.A de C.V) para su purificación (Figura 23), las cajas se incubaron a 37° C durante 24 horas. Se realizaron tinciones de Gram para comprobar la morfología celular y así pasar a la siguiente etapa.

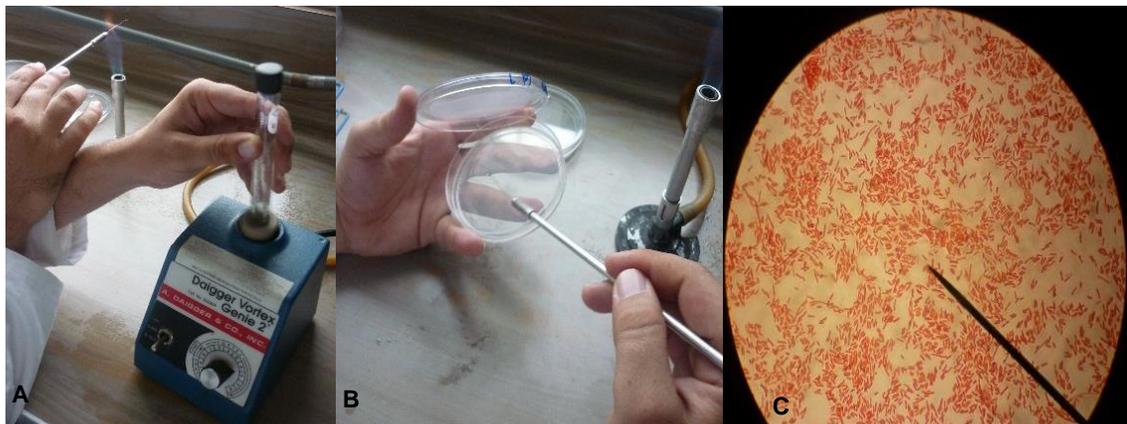


Figura 23. Purificación y selección de colonias con características de *E. coli*.

#### 6.2.7.1 Confirmación bioquímica (pruebas IMVC).

- I: Indol
- M: Rojo de metilo
- V: Voges Proskauer
- C: Citrato

Producción de indol. De las colonias purificadas en el Agar para Métodos Estándar (Becton Dickinson de México S.A de C.V), se sembraron dos colonias de cada placa en tubos con Caldo Soya Trypticaseína (BDBioxon®, Becton Dickinson de México S.A de C.V., México), se pasaron a incubar a baño María a 44.5 °C durante 24 horas. Pasado ese tiempo, se incorporaron 0.5 mL de reactivo de Kovacs a cada tubo. La reacción positiva se manifiesta por la formación de un anillo rojo en la superficie del medio; la reacción negativa muestra un anillo amarillo.



Figura 24. Prueba bioquímica para la producción de indol.

Reacción del rojo de metilo. Para llevar a cabo las pruebas de rojo de metilo y Voges Proskauer, se sembraron dos tubos de medio MR-VP (BDBioxon®, Becton Dickinson de México S.A de C.V., México) para cada colonia con características similares a *E. coli*. Se incubaron a 37 °C durante 4 días.

A uno de los tubos que contenían el cultivo sobre el medio de MR-VP, se añadieron dos gotas del reactivo rojo de metilo. Esta reacción, en caso positiva se produce una coloración roja, en la reacción negativa, el color es amarillo.

Reacción Voges Proskauer. Al cultivo obtenido en el otro tubo del medio MR-VP, se añadieron 0.6 mL de reactivo A y 0.2 mL de reactivo B. Posteriormente se agitó la mezcla y se le agregaron cristales de creatinina para intensificar la reacción. La reacción positiva se manifiesta por un fuerte color rojo.



Figura 25. Prueba bioquímica para la reacción de rojo de metilo y Voges Proskauer.

Reacción del citrato. A partir del cultivo en Agar para Métodos Estándar (Becton Dickinson de México S.A de C.V), se sembró con estría simple sobre la superficie inclinada de Agar Citrato de Simmons (BDBioxon®, Becton Dickinson de México S.A de C.V., México) en tubos. Se incubaron a 37 °C durante 24 horas. La reacción es positiva cuando se produce crecimiento en el medio. *E. coli* es una bacteria citrato-negativa, es decir, no crece sobre Agar Citrato de Simmons (BDBioxon®, Becton Dickinson de México S.A de C.V., México).



Figura 26. Prueba bioquímica para la reacción de citrato.

## 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1 Análisis microbiológico de la leche

#### 7.1.1 Bacterias mesófilas aerobias

En la Figura 27, se muestra la población de bacterias mesófilas aerobias (BMA) en leche cruda de vaca, colectada en época de lluvias (mes de agosto) y de secas (mes de marzo), de diversos productores del municipio de Atengo, Jalisco que proveen leche a pequeñas queserías artesanales de la región. La prueba de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ) indicó diferencias significativas en el número de BMA entre ambas épocas de muestreo. En tiempo de lluvias la población de BMA fue  $8.76 \pm 0.38 \log_{10} \text{ UFC mL}^{-1}$  mayor que en temporada de secas. Estos resultados no coinciden con los datos reportados por Álvarez *et al.*, (2012) en un estudio realizado sobre la calidad sanitaria de leche cruda colectada en unidades familiares del sur de la Ciudad de México, donde reportaron menor contenido de BMA en temporada de lluvias ( $7220 \text{ UFC mL}^{-1}$ ) y mayor número en época de secas ( $13152 \text{ UFC mL}^{-1}$ ). Desde luego es importante considerar en estos casos las condiciones ambientales de cada región, así como el tipo de hatos ganaderos, su manejo y alimentación, entre otros factores (Varnam y Sutherland, 2001).

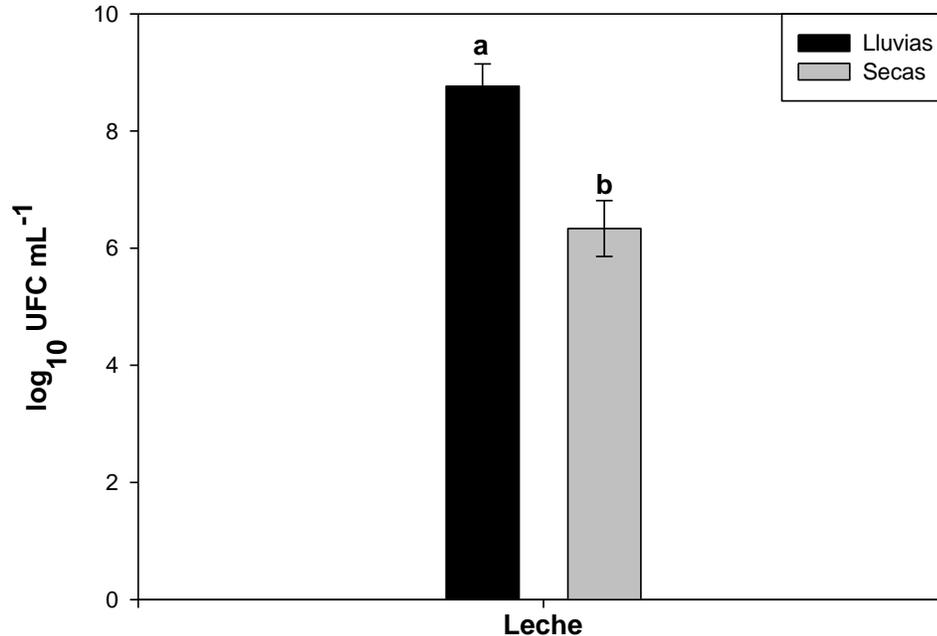


Figura 27. Bacterias mesófilas aeróbicas en leche cruda de vaca en época de lluvias y época de secas. Medias con letras diferentes son estadísticamente significativas (Tukey,  $\alpha=0.05$ ).

La Norma Internacional Europea (92/46/EEC) señala valores de  $M = 50\ 000$ , y la NMX-F-700-COFOCALEC-2004 para clase 1 =  $\leq 100\ 000$  y para clase 4 como límite máximo  $600\ 000$  a  $1\ 200\ 000$  para BMA para leche cruda y en este estudio se encontró que la población de BMA en leche cruda colectada en época de lluvias fue de  $8.76 \pm 0.31 \log_{10} \text{ UFC mL}^{-1}$  y  $6.33 \pm 0.47 \log_{10} \text{ UFC mL}^{-1}$  en tiempo de secas, lo que indica que superan los límites microbiológicos establecidos por estas normas, y por lo tanto no cumplen en cuanto a calidad sanitaria. Lo anterior se explica porque la leche llega a las queserías cuatro horas después de la ordeña, sin refrigerar, condiciones que favorecen la multiplicación de los microorganismos, agregando que existe escasa higiene del producto durante todo su manejo. Como lo mencionan Cilliers *et al.* (2014), donde aseguran que la leche cruda tiene una variada microflora proveniente de

diferentes fuentes; las superficies exteriores de los animales, del equipo de ordeña (contenedores), el medio de transporte, agregando que la leche es un medio de cultivo ideal para el crecimiento de muchos microorganismos porque tiene un alto contenido de agua y abundantes nutrientes en un medio casi neutro (Tamime, 2009).

### 7.1.2 *Staphylococcus aureus*

En la Figura 28, se observa la población de *Staphylococcus aureus* en leche cruda de vaca, colectada en época de lluvias y época de secas. La prueba de Tuckey ( $\alpha = 0,05$ ) mostró diferencias significativas en el número de *S. aureus* entre ambas épocas del muestreo. En el periodo de lluvias la población de *S. aureus* fue  $6.39 \pm 0.31 \log_{10} \text{UFC mL}^{-1}$  mayor que en el periodo de secas.

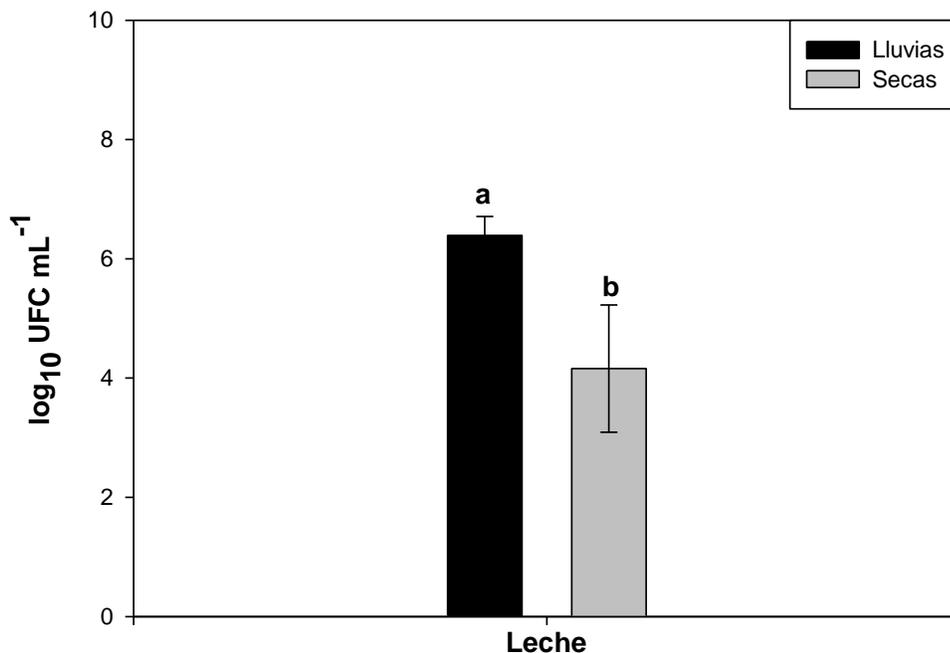


Figura 28. *Staphylococcus aureus* en leche cruda de vaca en época de lluvias y época de secas. Medias con letras diferentes son estadísticamente significativas (Tukey  $\alpha=0.05$ ).

La Norma Internacional Europea (92/46/EEC) señala valores de  $M = 500$  UFC  $\text{mL}^{-1}$  para *S. aureus* en leche cruda de vaca y en este estudio se encontró que la población de para *S. aureus* en la leche colectada en época de lluvias fue de  $6.39 \pm 0.31 \log_{10}$  UFC  $\text{mL}^{-1}$  y  $4.15 \pm 1.06 \log_{10}$  UFC  $\text{mL}^{-1}$  en época de secas; por lo tanto, la materia prima sobrepasa los límites microbiológicos establecidos por la norma y no cumple en cuanto a calidad sanitaria. El origen de estas bacterias son las malas prácticas ganaderas y las personas involucradas en el manejo del producto; como se reporta en un estudio realizado por Ragnhild *et al.* (2011), sobre la presencia de *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* en el proceso de elaboración de queso de leche cruda en unas fincas de Noruega, encontraron un 47.3 % de contaminación por *S. aureus* en las muestras analizadas; de acuerdo con el análisis, la contaminación por este microorganismo aumentó durante las primeras 3 horas, lo cual incrementó a un 73.6 %; los autores aseguraron que *S. aureus* da cuenta del estado de higiene del proceso de producción de quesos.

Con relación a lo anterior, Moreno *et al.* (2008), realizaron un estudio de comparación de la incidencia de patógenos principales y secundarios en casos de mastitis en el ganado lechero de las regiones de los altos y zona centro del Estado de Jalisco; tomando en cuenta que el Estado de Jalisco tiene su temporada de lluvias dependiendo de la temporada de ciclones, que comienza a mediados o finales de mayo y termina en noviembre, conduce a que en tiempo de estiaje la limpieza de corrales se realice 1 o 2 veces por semana ya que en épocas de lluvias no se realiza sino esporádicamente, sólo en casos de

demasiada acumulación de agua y estiércol en corrales. Así mismo, como lo mencionan Wolter *et al.* (2004), las heces fecales en exceso y la humedad hacen que se forme un medio de crecimiento excelente para algunos microorganismos como *E. coli* y *S. aureus* que pueden diseminarse más fácilmente causando mayor número de casos de mastitis, y por lo tanto, contaminación de la leche.

### **7.1.3 Coliformes totales**

La población de bacterias coliformes totales en leche cruda de vaca en época de lluvias y época de secas se muestra en la Figura 29. La prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ) mostró diferencias significativas en el número de coliformes totales entre ambas épocas del muestreo. La población de coliformes totales en tiempo de lluvias fue de  $7.30 \pm 0.36 \log_{10}$  UFC mL<sup>-1</sup>, mayor que en temporada de secas. Se ha comprobado que en época de lluvias existe mayor humedad y mayor estancamiento de heces fecales en los corrales de ganado, por lo tanto, se forma un medio de crecimiento favorable para el desarrollo de microorganismo como *E. coli*, lo que propicia una fácil contaminación a la leche (Wolter *et al.*, 2004).

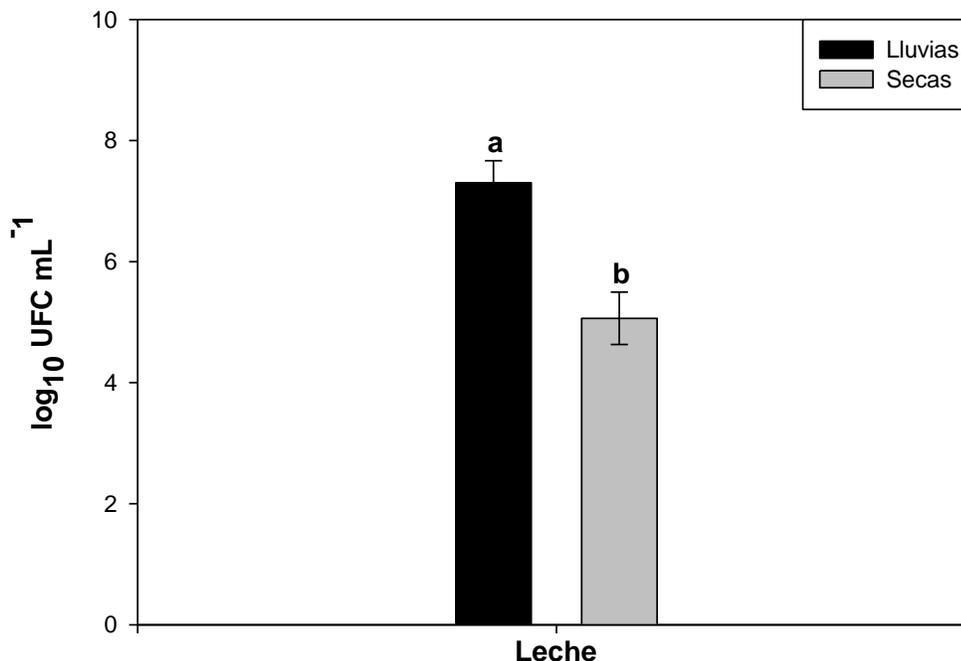


Figura 29. Coliformes totales en leche cruda de vaca en época de lluvias y época de secas. Medias con letras diferentes son estadísticamente significativas (Tukey  $\alpha=0.05$ ).

La Norma Internacional Europea (92/46/EEC) y la NMX-F-700-COFOCALEC-2004 no muestran valores de bacterias coliformes totales para leche cruda de vaca, sin embargo, Chambers (2002) considera que cuentas  $>$  a  $100 \text{ UFC mL}^{-1}$  son evidencia de malas prácticas de elaboración que conducen a la contaminación de la leche y en este estudio se encontró que la población de coliformes totales en leche cruda colectada en época de lluvias fue de  $7.30 \pm 0.36 \text{ log}_{10} \text{ UFC mL}^{-1}$  y  $5.06 \pm 0.43 \text{ log}_{10} \text{ UFC mL}^{-1}$  en temporada de secas; por lo tanto, tiene una deficiente calidad sanitaria. La presencia de coliformes es un indicador de contaminación fecal, es por eso que las altas cuentas de coliformes en la leche cruda puede deberse a las malas prácticas ganaderas (los operarios no se lavan correctamente las manos, no limpian ni desinfectan bien los pezones antes y después del ordeño). Como lo mencionan Carderón *et*

*al.* (2006), en un estudio donde evaluaron la calidad de leches crudas en Sabana de Bogotá, Colombia, y reportaron mala calidad sanitaria de la leche por deficientes prácticas de ordeño ya que encontraron cuentas de coliformes de  $4.589 \log^{10} \text{ UFC mL}^{-1}$ . Por otro lado, Belli *et al.* (2013), evaluaron la contaminación microbiana de la leche cruda y pasteurizada en una unidad de procesamiento de leche en pequeña escala ubicado en Maroua, Región del Norte de Camerún. Los niveles de contaminación de las muestras de leche cruda variaron ampliamente; un alto porcentaje (87,1%) de las muestras mostró niveles de coliformes por debajo del umbral, pero algunas muestras mostraron un nivel de contaminación alta ( $> 5 \log \text{ UFC mL}^{-1}$ ), que indica un estado de higiene inadecuada de la leche.

## **7.2 Análisis microbiológico de quesos**

### **7.2.1 Bacterias mesófilas aerobias**

La interacción entre tratamientos y épocas para la cuenta de bacterias mesófilas aerobias (BMA) resultó altamente significativa ( $p < 0.0001$ ). En la Figura 30, se muestra la población de BMA en los quesos adobera de mesa, adobera de quesadilla y panela en tiempo de lluvias y de secas. La prueba de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ) indicó diferencias significativas en el número de BMA en los tres diferentes quesos entre ambas épocas de muestreo; sin embargo, el queso panela resultó con las cuentas más bajas de BMA en ambas épocas, en tiempo de lluvias  $7.68 \pm 0.02 \log_{10} \text{ UFC g}^{-1}$  y  $8.43 \pm 0.00 \log_{10} \text{ UFC g}^{-1}$  en época de

secas. En dos de los tratamientos se observó mayor presencia de BMA en temporada de secas; esto se puede deber a que en época de estiaje hay más polvo, por lo tanto, mayor concentración de estas bacterias en el aire (INECC, 2014). Así mismo, el aumento del número de BMA puede atribuirse a que en la planta quesera se observaron grandes deficiencias higiénicas y sanitarias. Como lo mencionan Cristóbal y Mautua (2003), en un estudio donde evaluaron la microbiología de quesos frescos artesanales comercializados en los mercados municipales del distrito Pueblo Libre, Lima, Perú, donde encontraron cuentas de  $7.3 \geq 10^7$  UFC  $g^{-1}$  de BMA; los autores concluyeron que las cuentas altas de BMA se debió a la poca higiene durante el procesamiento y manipulación de la materia prima de los quesos comercializados en los mercados, por lo tanto, no cumplen con lo establecido en la Norma Técnica Peruana (NTP 202.087) y regulaciones sanitarias vigentes de su país.

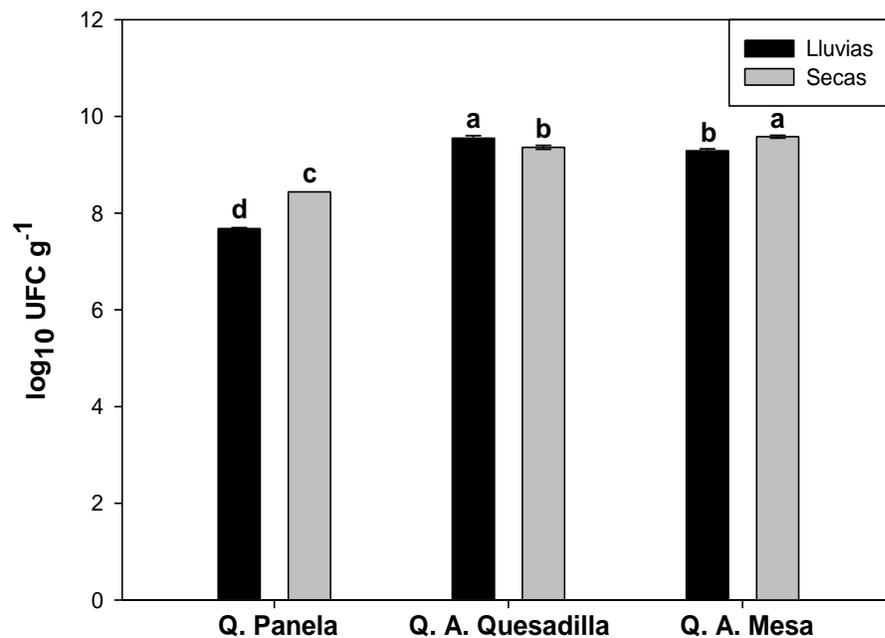


Figura 30. Bacterias mesófilas aerobias en queso adobera de quesadilla, adobera de mesa y panela en época de lluvias y época de secas. Medias con letras diferentes son estadísticamente significativas (Tukey  $\alpha=0.05$ ).

Los resultados coinciden con los reportados por Bonetta *et al.* (2008), donde encontraron cuentas desde 6.77 hasta 11.48  $\log_{10}$  UFC  $g^{-1}$  en quesos provenientes de cinco queserías que elaboran queso “Robiola di Roccaverano” a nivel industrial y artesanal en Italia; dichos quesos fueron analizados a los cero días de almacenamiento y producidos en tres épocas del año (primavera, verano y otoño).

### **7.2.2 *Staphylococcus aureus***

La interacción entre tratamientos y épocas para la cuenta de *Staphylococcus aureus* fue altamente significativa ( $p < 0.0001$ ). En la Figura 31, se observa la población de *Staphylococcus aureus* en los tres quesos en época de lluvias y época de secas. La prueba de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ) mostró diferencia significativa en el número de *Staphylococcus aureus* en el queso adobera de quesadilla y en el adobera de mesa en ambas épocas; sin embargo, el queso panela resultó estadísticamente igual en los dos periodos. La presencia de *S. aureus* en las muestras de queso, resultan de un mal manejo en el proceso de ordeña y elaboración del producto, ya que este microorganismo indica el contacto directo del humano en los alimentos (Tan *et al.*, 2014). En la quesería se realizó cambio de personal, lo que pudo haber influido en las cuentas totales de los productos; los quesos adobera de mesa y adobera de quesadilla fueron elaborado por diferente personal en época de lluvias y época de secas, en cambio, el queso panela fue elaborado por las mismas personas en ambas épocas; por lo que la causa de este resultado fue el contacto directo de los empleados con los quesos, ya que *S. aureus* es un patógeno que habita en la

piel, la boca y fosas nasales de los seres humanos y es la causa de la intoxicación alimentaria, que es una de las enfermedades más comunes transmitidas por los alimentos (Martin *et al.*, 2014).

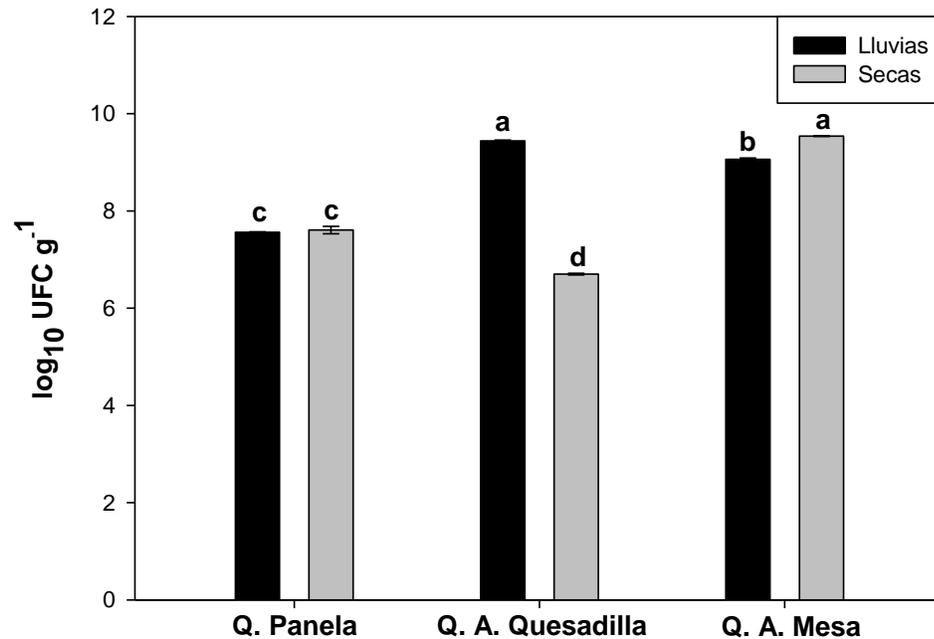


Figura 31. *Staphylococcus aureus* en queso adobera de quesadilla, adobera de mesa y panela en época de lluvias y época de secas. Medias con letras diferentes son estadísticamente significativas (Tukey  $\alpha=0.05$ ). Medias con letras iguales son estadísticamente iguales (Tukey,  $\alpha = 0.05$ ).

La Norma Internacional Europea (92/46/EEC) señala valores de  $M = 1 \times 10^4$  UFC g<sup>-1</sup>, y la NOM-243-SSA1-2010 de  $1\ 000$  UFC g<sup>-1</sup> para *Staphylococcus aureus* en quesos frescos elaborados con leche cruda y en este estudio, el queso que resultó con menor población de este patógeno fue el adobera de quesadilla en época de secas con  $6.70 \pm 0.01$  log<sub>10</sub> UFC g<sup>-1</sup>, lo que indica que los tres tipos de quesos superan los límites microbiológicos establecidos por estas normas, y por lo tanto, no cumplen en cuanto a calidad sanitaria. Estos resultados coinciden con los reportados por Luján *et al.* (2006), en un estudio donde analizaron la presencia de *S. aureus* en quesos frescos artesanales en

tres distritos de Lima, Perú; de 30 muestras analizadas, 24 (80 %) presentaron numeración de *S. aureus* por encima de  $10^2$  UFC  $g^{-1}$  límite máximo establecido por la Norma Técnica Peruana (NTP 202.087) para el queso fresco producido de manera artesanal. Así mismo, Ragnhild *et al.* (2011) investigaron la presencia de *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* en la producción de quesos artesanales en pequeñas fincas en Noruega, el 80.8 % de las muestras analizadas presentaron contaminación por *S. aureus*.

### **7.2.3 Coliformes totales**

Para la cuenta de coliformes totales, la interacción entre tratamientos y épocas de muestreo resultó altamente significativa ( $p < 0.0001$ ). En la Figura 32, se muestra la cantidad de coliformes totales en los quesos adobera de mesa, adobera de quesadilla y panela en época de lluvias y de secas. La prueba de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ) mostró diferencia significativa en el número de coliformes totales en los tres tipos de quesos en las dos épocas de muestreo. El queso adobera de quesadilla resultó con las cuentas más elevadas de coliformes totales, en tiempo de lluvias fue de  $8.50 \pm 0.00 \log_{10}$  UFC  $g^{-1}$  y  $7.69 \pm 0.04 \log_{10}$  UFC  $g^{-1}$  en temporada de secas. Sin embargo, el adobera de mesa y el panela tuvieron cuentas más elevadas de coliformes totales en época de secas; esto puede explicarse porque en época de estiaje la temperatura es más alta y favorece el crecimiento de estos microorganismos (Chattopadhyay, 2014). Las cuentas elevadas de coliformes totales en todas las muestras analizadas, confirman la ausencia de condiciones higiénicas durante el proceso de

elaboración de los productos por parte de los queseros, también se debe a las malas prácticas de ordeño de los proveedores de la leche con la que los artesanos elaboran los quesos, al tiempo que tarda la leche en llegar a la quesería después de la ordeña (cuatro horas), sin refrigerar, y junto con eso, a una mala higienización de los equipos involucrados en la preparación de los productos. Resultados similares han sido reportados por Bernal (2008) para productores en pequeña escala del centro de México y Morgan *et al.*, (2003) para productores de leche de cabra en pequeña y mediana escala de Grecia y Portugal. Estos autores concuerdan que la baja calidad de la materia prima para la elaboración de los quesos se debe a la falta de higiene y manejo de la leche, así como a la carencia del equipo de refrigeración, situación agravada por las altas temperaturas como ocurre en Soyatlán del Oro, Jalisco.

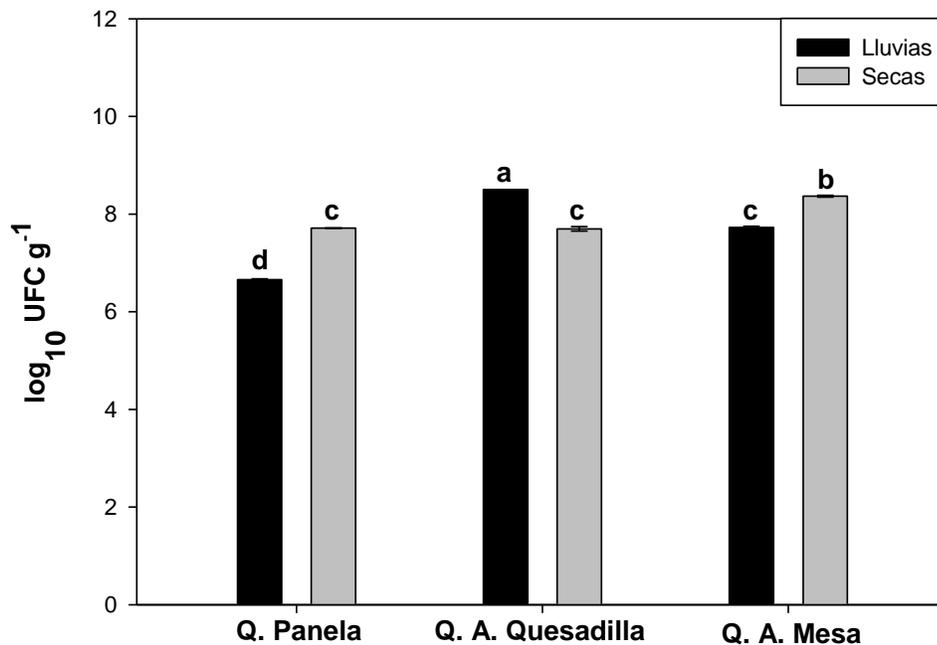


Figura 32. Coliformes totales en queso adobera de quesadilla, adobera de mesa y panela en época de lluvias y época de secas. Medias con letras diferentes son estadísticamente significativas (Tukey  $\alpha=0.05$ ).

Según lo establecido en la NOM-243-SSA1-2010 en donde sólo se encuentra la especificación para quesos de suero, el límite permitido de coliformes totales es de 100 UFC g<sup>-1</sup> por lo que considerando este valor, todos los quesos quedan fuera de norma, debido a que el queso panela fue el que tuvo cuentas más bajas de coliformes totales, en temporada de lluvias  $6.65 \pm 0.01 \log_{10}$  UFC g<sup>-1</sup> y  $7.71 \pm 4.44 \log_{10}$  UFC g<sup>-1</sup> en temporada de secas. Resultados similares han sido reportados por Cristóbal y Maurtua (2003), en un estudio donde evaluaron la microbiología de quesos frescos artesanales comercializados en los mercados municipales del distrito Pueblo Libre, Lima, Perú, en donde el 74.2 % de 39 muestras analizadas sobrepasaron los valores límites de coliformes totales establecidos por la Norma Técnica Peruana (NTP 202.087). Así mismo, Bonetta *et al.* (2008) realizaron un estudio para determinar la microflora y características físico-químicas del queso fresco Italiano “Rubiola di Roccaverano” para obtener una descripción más precisa para su Denominación de Origen Protegida (DOP), encontraron cuentas de coliformes totales desde 1.56 hasta 6.11 log<sub>10</sub> UFC g<sup>-1</sup>.

Con relación a lo anterior Donnelly (2007), encontró de manera general, cuentas más altas de coliformes en quesos blandos en comparación con quesos duros o semi duros, debido a que los primeros, tienden a tener pH más altos, periodos más cortos de maduración, alta actividad de agua y bajas concentraciones de sal. Por otra parte, las bacterias coliformes son capaces de proliferar en los alimentos, incrementando su número rápidamente, sin que haya habido una alta contaminación (Olivas y Alarcón, 2004).

#### **7.2.4 *Escherichia coli***

El queso adobera de quesadilla, el adobera de mesa y el panela mostraron presencia de *E. coli* en época de lluvias y época de secas (Cuadro 5). La presencia de *E. coli* podría estar relacionado con las prácticas de ordeño tradicionales que se realizan en campo, en corrales totalmente expuestos a corrientes de aire en donde se mezcla el polvo y la materia fecal del ganado, misma que van a dar a la leche recién ordeñada, además de que las personas que llevan a cabo esta actividad no lavan y no desinfectan los pezones. Estos resultados no coinciden con los reportados por D'Amico y Donnelly (2010), en un estudio realizado sobre la calidad microbiológica de la leche cruda utilizada para la producción de queso artesanal en pequeña escala en Vermont, Estados Unidos, donde reportaron que de las 101 muestras analizadas no hubo presencia de *E. coli*. Sin embargo, Sánchez (2012) y Villanueva (2012), cuantificaron coliformes fecales en quesos adobera de Soyatlán del Oro, Jalisco, y reportaron que los quesos no cumplen en cuanto a calidad sanitaria, debido a que las cuentas de *E. coli* están por arriba de 100 UFC g<sup>-1</sup>, siendo éste el límite máximo permitido por la NOM-243-SSA1-2010. Así mismo, Bonetta *et al.* (2008), realizaron un estudio donde detectaron cuentas hasta de 2.48 log<sub>10</sub> UFC g<sup>-1</sup> de *E. coli* a los cero días de almacenamiento en quesos elaborados artesanalmente en Italia.

### **7.2.5 *Salmonella spp.***

Las pruebas de detección de *Salmonella spp.* dieron positivo para los tres diferentes tipos de quesos en las dos épocas analizadas (Cuadro 5). Por lo tanto, los quesos no cumplen en cuanto a calidad sanitaria y están fuera de norma, ya que la Norma Internacional Europea (92/46/EEC) y la NOM-243-SSA1-2010 indican que para quesos frescos o cualquier producto lácteo, *Salmonella spp.*, debe de estar ausente en 25 g de muestra. Hilal *et al.* (2007), realizaron un estudio durante el periodo de marzo de 2004 hasta marzo de 2005, donde analizaron la presencia de *L. monocytogenes* y *Salmonella spp.* en quesos de leche cruda de Tulum, Estambul los cuales se obtuvieron de diferentes mercados, éstos patógenos se analizaron de acuerdo a los métodos de la FDA "La Food and Drug Administration de EE.UU."; *L. monocytogenes* estuvo presente en 12 muestras de 250 quesos y *Salmonella spp.* estuvo presente en 6 muestras; los autores afirman que *L. monocytogenes* y *Salmonella spp.* están relacionados con el uso de leche cruda, los procesos de elaboración no higiénicos y condiciones de almacenamiento. Así mismo, De Buyser *et al.* (2001), aseguran que *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* son los patógenos más frecuentes asociados con la leche cruda y los productos lácteos en los países industrializados.

### **7.2.6 *Listeria monocytogenes***

Los tres diferentes tipos de quesos resultaron positivos en las pruebas de *L. monocytogenes* en las temporadas de lluvias y secas (Cuadro 5). La Norma

Internacional Europea (92/46/EEC) y la NOM-243-SSA1-2010 indican que los quesos frescos elaborados con leche cruda de vaca o cualquier producto lácteo, *L. monocytogenes*, debe estar ausente en 25 g de muestra; por lo tanto, los quesos no cumplen en cuanto a la calidad sanitaria y no cumple con las normas. La presencia de *L. monocytogenes* en leche cruda y en los quesos, constituye un peligro potencial para los consumidores. La contaminación de la leche puede originarse a través de la alimentación de las vacas con ensilaje de mala calidad o por presencia del patógeno en el ambiente del lugar de ordeño sobre las superficies de los estanques de recepción de la leche en la planta lechera, entre otros factores (Peeler y Bunning, 1994). En un estudio realizado por Schöbitz *et al.* (2001), sobre la presencia de *L. monocytogenes* en leche cruda de plantas lecheras de las regiones VIII<sup>a</sup>, IX<sup>a</sup> y X<sup>a</sup> de Chile, los análisis bacteriológicos indicaron que de 50 muestras, 11 (22 %) fueron positivas a la presencia de *L. monocytogenes*. Por otro lado, Kinde, *et al.* (2007), estudiaron en el año 2004 las muestras de quesos blandos elaborados con leche cruda que cruzaban los peatones de México a los EE.UU., el 2% presentó *L. monocytogenes*. Así mismo, Ragnhild *et al.* (2011), encontraron un 1.4 % de contaminación por *L. monocytogenes* en quesos de leche cruda de vaca en Noruega. La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria por sus siglas en inglés “EFSA”, (2012), señala que la contaminación por *Listeria monocytogenes* no es específicamente en quesos de leche cruda, sino también, en quesos con leche pasteurizada se ha encontrado este patógeno.

Cuadro 5. Presencia de *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y *Listeria monocytogenes* en queso panela, queso adobera de quesadilla y queso adobera de mesa en época de lluvias y época de secas.

	Queso panela		Queso adobera de quesadilla		Queso adobera de mesa	
	Lluvias	Secas	Lluvias	Secas	Lluvias	Secas
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Salmonella spp.</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Listeria monocytogenes</i>	+	+	+	+	+	+

### 7.3 Análisis químico proximal de quesos

En el Cuadro 6, se muestran las especificaciones fisicoquímicas del queso adobera de quesadilla, el adobera de mesa y el panela muestreados en época de lluvias (mes de agosto) y de secas (mes de marzo). De acuerdo con la NMX-F-713-COFOCALEC-2005, el queso adobera de mesa se clasifica como un producto duro (porcentaje de humeado sin materia grasa (%HSMG) entre (49 – 56 %) y bajo en grasa ( $\geq 10$  %); el adobera de quesadilla como un producto extra duro (porcentaje de humeado sin materia grasa (%HSMG) ( $< 51$  %) y semi graso ( $\geq 25$  %), y el panela como un producto semiduro (porcentaje de humeado sin materia grasa (%HSMG) entre (54 – 63 %) y bajo en grasa ( $\geq 10$  %). Además, los tres diferentes tipos de quesos, cumplen con las especificaciones mínimas de proteína (10%<sub>om/m</sub> mín), grasa (2%<sub>om/m</sub> mín) y humedad (80%<sub>om/m</sub> máx).

Cuadro 6. Especificaciones fisicoquímicas del queso panela, queso adobera de quesadilla y queso adobera de mesa en época de lluvias y época de secas.

<b>Lluvias</b>	<b>% Proteína</b>	<b>% Grasa</b>	<b>% Humedad</b>
Q. Panela	12.76 ± 0.25	20.06 ± 0.66	59.63 ± 2.12
Q. A. Quesadilla	20.45 ± 0.98	27.67 ± 0.72	44.22 ± 0.52
Q. A. Mesa	15.85 ± 0.75	22.82 ± 0.83	53.26 ± 0.03

<b>Secas</b>	<b>% Proteína</b>	<b>% Grasa</b>	<b>% Humedad</b>
Q. Panela	17.69 ± 0.39	21.55 ± 0.59	57.11 ± 0.85
Q. A. Quesadilla	24.62 ± 0.15	26.66 ± 0.08	44.16 ± 0.12
Q. A. Mesa	19.84 ± 0.37	22.86 ± 1.31	53.64 ± 0.98

### 7.3.1 Proteína

El factor tratamientos y factor época, fueron altamente significativos ( $p < 0.0001$ ) para la variable de proteína. De acuerdo a los resultados observados en la Figura 33, se observa que el queso con menor contenido de proteína en ambas épocas es el panela, seguido del adobera de mesa.

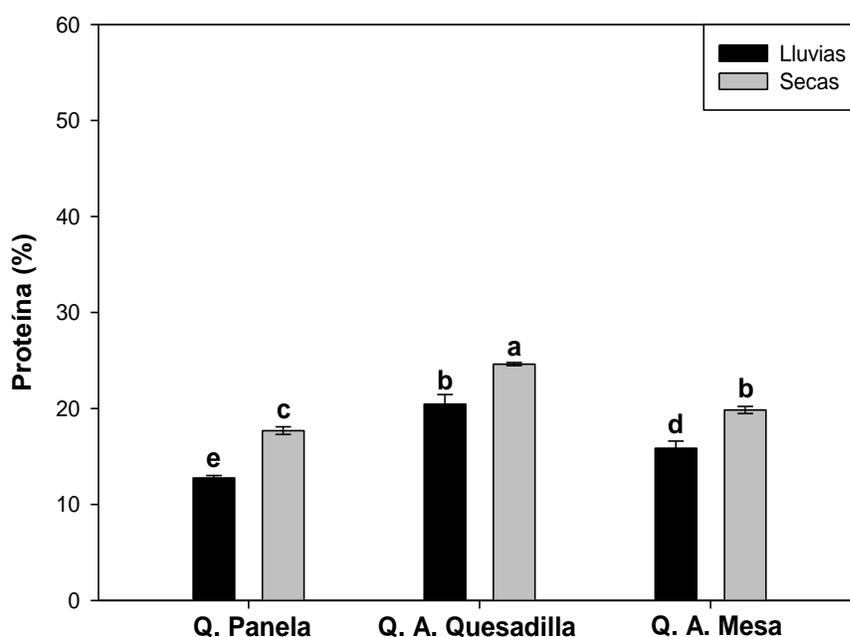


Figura 33. Porcentaje de proteína en queso adobera de quesadilla, adobera de mesa y panela en época de lluvias y época de secas. Medias con letras diferentes son estadísticamente significativas (Tukey  $\alpha=0.05$ ).

En los tres quesos se observó diferencia significativa en ambas épocas. Tunick, *et al.* (2007) no encontraron diferencia significativa en la proteína en queso chihuahua debido al efecto de la estacionalidad, esto es contrario a lo encontrado en el los quesos analizados, lo cual puede deberse a la diferencia de sistemas de explotación ganadera utilizados en cada caso.

### **7.3.2 Grasa**

La interacción entre tratamientos y épocas de muestreo no fue significativa; sin embargo, el factor tratamientos resultó altamente significativo ( $p < 0.0001$ ) para el contenido de grasa. Según la prueba de Tuckey, se observa diferencia significativa en el queso panela en época de lluvias y época de secas (Figura 34). Sin embargo, el queso adobera de quesadilla y el adobera de mesa no mostraron diferencia significativa entre épocas del año. Se observa que el queso con mayor porcentaje de grasa en ambas épocas es el adobera de quesadilla, seguido del adobera de mesa.

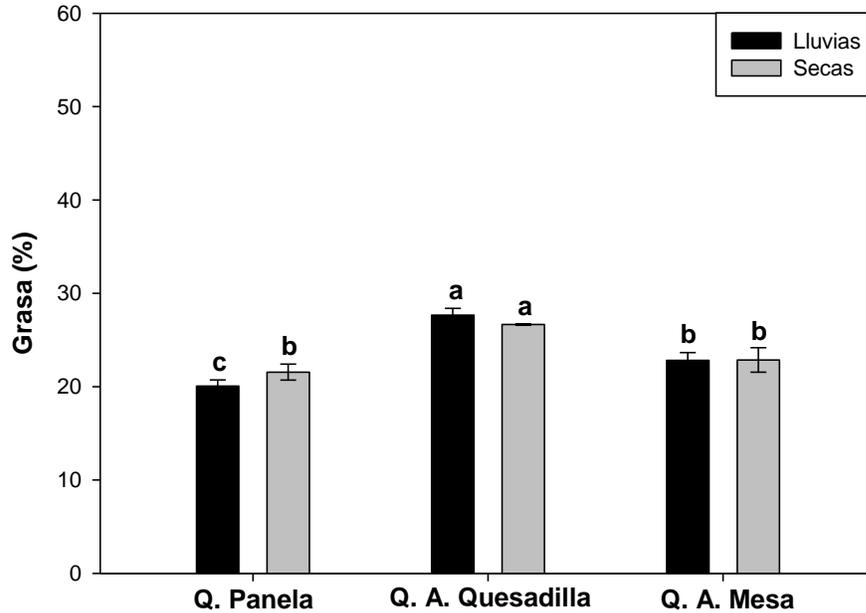


Figura 34. Porcentaje de grasa en queso adobera de quesadilla, adobera de mesa y panela en época de lluvias y época de secas. Medias con letras diferentes son estadísticamente significativas (Tukey  $\alpha=0.05$ ). Medias con letras iguales son estadísticamente iguales (Tukey  $\alpha=0.05$ ).

Tal como lo menciona Alais (1985), el contenido de materia grasa varía de un tipo de queso a otro, dentro de amplios límites y depende de la composición de la leche utilizada; por otra parte, la manera de coagular la leche y la manera de trabajar la cuajada influyen sobre la cantidad de materia grasa retenida en esta última.

### 7.3.3 Humedad

Respecto a la variable humedad, la interacción entre tratamientos y épocas de muestreo no fue significativa; sin embargo, el factor tratamientos resultó altamente significativo ( $p < 0.0001$ ). De acuerdo a la Figura 35, se observa que el queso con mayor contenido de humedad es el panela, seguido del adobera de mesa. Este resultado se debe a que no se realiza un mismo prensado a los

diferentes quesos; en el queso panela, se deja que la cuajada se escurra por sí sola en el molde, hasta la venta. Sin embargo, el queso adobera de mesa es sumamente escurrido y posteriormente prensado de 9 a 21 horas, dependiendo la urgencia de entrega de algún pedido. Así mismo, el queso adobera de quesadilla al igual que el adobera de mesa se escurre, posteriormente se deja chedarizar, enseguida se muele y se prensa por 9 horas aproximadamente.

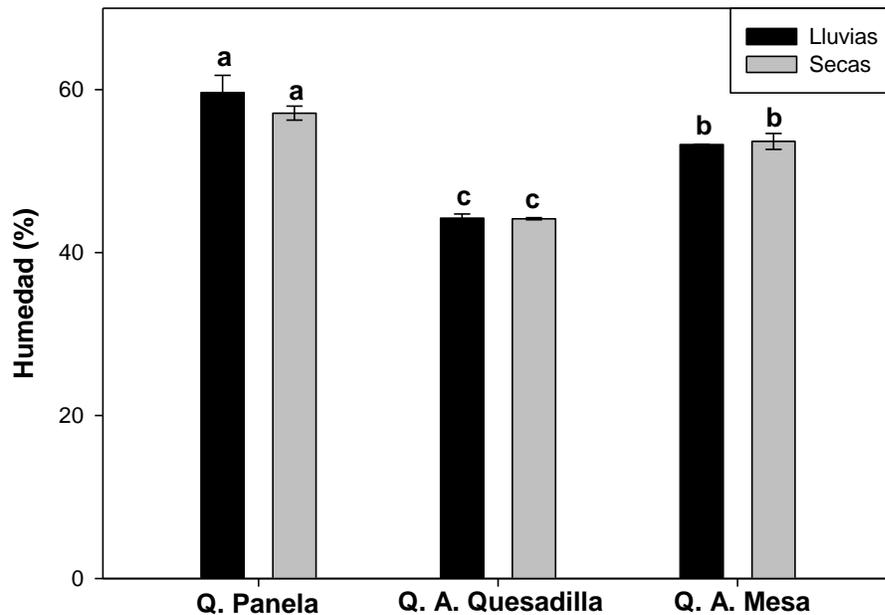


Figura 35. Porcentaje de humedad en queso adobera de quesadilla, adobera de mesa y panela en época de lluvias y época de secas. Medias con letras diferentes son estadísticamente significativas (Tukey  $\alpha=0.05$ ). Medias con letras iguales son estadísticamente iguales (Tukey,  $\alpha = 0.05$ ).

La prueba de Tuckey, arrojó que los tres diferentes quesos fueron estadísticamente iguales entre épocas del año. De acuerdo con Fox *et al.* (2004), los tres diferentes quesos entran en la clasificación de quesos blandos por el contenido de humedad (mayor de 40 %). Inda (2000), menciona que el contenido de humedad depende de la sinéresis que ocurre en la cuajada del

queso, y ésta depende de la firmeza del coágulo al momento del corte: si el corte es tardío, la sinéresis puede ser algo menor, pero también se ha observado que una menor temperatura de coagulación causa una sinéresis también ligeramente menor; esto se debe a que el corte comienza en una etapa más tardía de la conformación de la cuajada.

#### **7.3.4 Cenizas**

Para el caso de cenizas; la interacción entre tratamientos y épocas, el factor tratamientos y factor época, resultaron significativos ( $p < 0.0001$ ). Esto puede deberse, a que en época de lluvias se analizó el contenido de cenizas y en época de secas el contenido de sal; el análisis se cambió sólo por facilidad. Sin embargo; de acuerdo a los resultados de la Figura 36, se observa que el queso con menor contenido de cenizas en época de lluvias fue el adobera de quesadilla, y el queso con menor porcentaje en época de secas fue el adobera de mesa. Según la prueba de Tuckey, sólo hubo diferencia significativa en el adobera de quesadilla entre épocas del año; mientras que los demás tratamientos, fueron estadísticamente iguales.

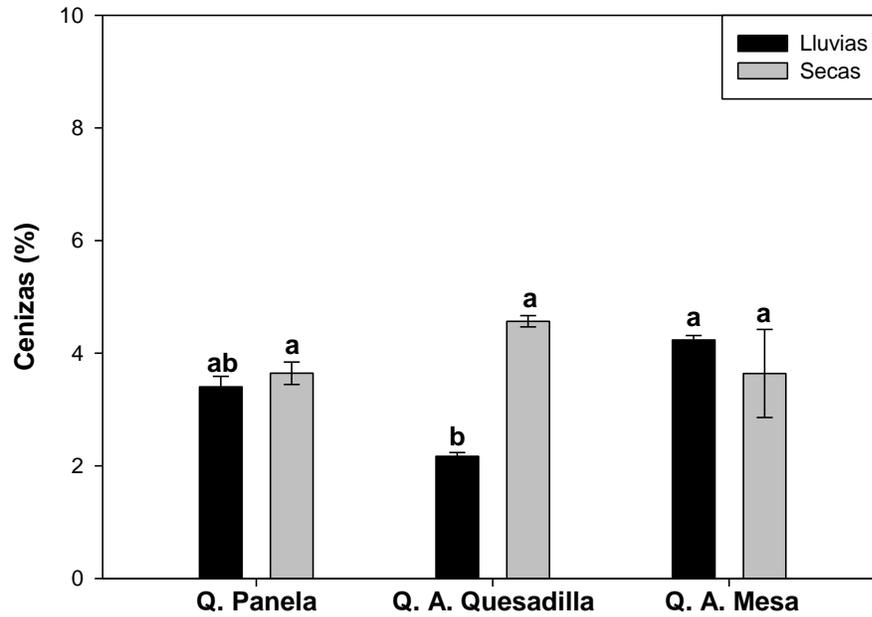


Figura 36. Porcentaje de humedad en queso adobera de quesadilla, adobera de mesa y panela en época de lluvias y época de secas. Medias con letras diferentes son estadísticamente significativas (Tukey  $\alpha=0.05$ ). Medias con letras iguales son estadísticamente iguales (Tukey,  $\alpha=0.05$ ).

## 7.4 Programa de sanitización adaptado a los Procedimientos Operativos Estandarizados de Sanitización (POES) para la microempresa

En la Figura 37 se muestra el diagrama de bloques para la fabricación de quesos en la empresa Soyatlán del Oro.

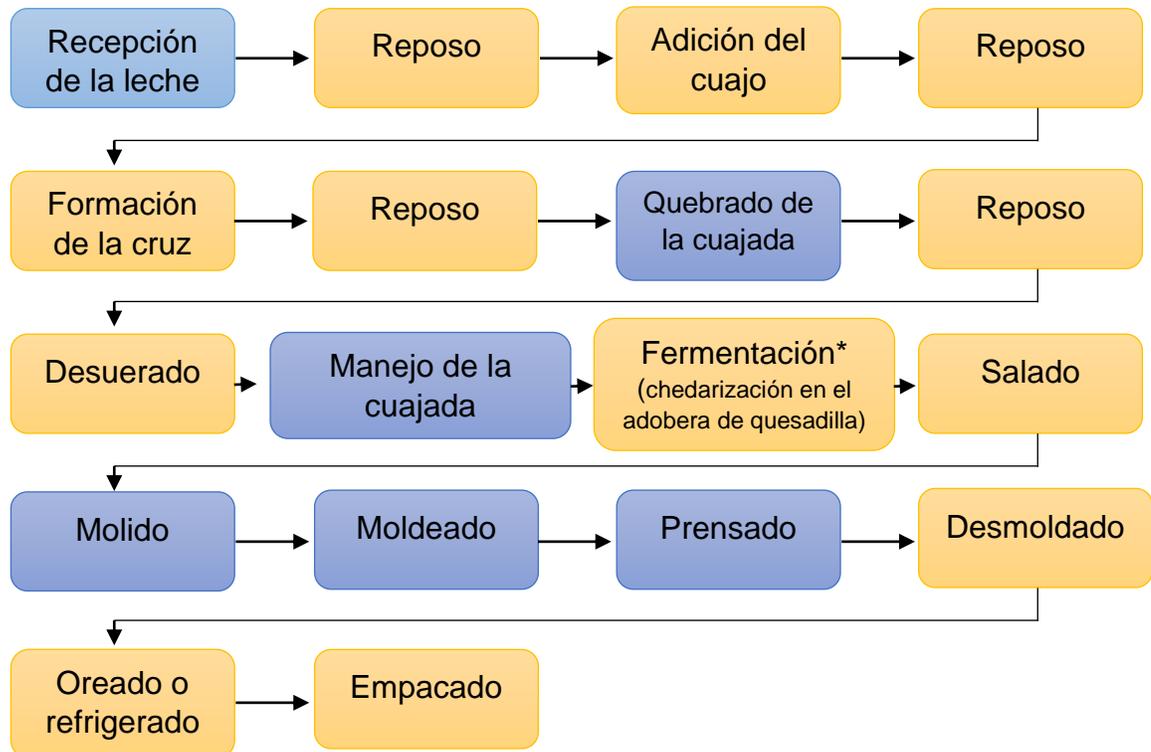


Figura 37. Diagrama de bloques para la elaboración de queso adobera.

Los productores de leche transportan el producto a la quesería en peroles de acero inoxidable o de plástico, los medios de transporte son animales de carga o en vehículos de motor como se muestra en la Figura 38, transcurriendo en promedio 3.5 horas desde la ordeña hasta el punto de recepción. En este período de tiempo se desconocen las condiciones de manejo e higiene de la leche por parte de los productores, pero no es difícil deducir por lo que se

observa en la Figura 38, que no se transporta en condiciones de refrigeración, sino expuesta al sol. El tiempo transcurrido desde la ordeña hasta que se recibe en la quesería y la temperatura ambiental, son factores suficientes para que los microorganismos se desarrollen rápidamente en la leche, sin considerar que los recipientes donde se transporta carecen de higiene. Lo anterior explica la elevada cantidad de BMA encontradas en la leche cruda al momento de llegar a la empresa como se muestra en la Figura 38. La quesería no tiene control sobre la materia prima, los productores de leche son independientes, no existen convenios de entrega, por lo tanto, no se les puede dar recomendaciones sobre el manejo higiénico del producto, dando por resultado que la leche que entregan los productores es de calidad microbiológica heterogénea y no cumple con las especificaciones sanitarias que exigen la Norma Mexicana (NMX-F-700-COFOCALEC-2004) y la Norma Sanitaria de la Unión Europea (92/46/EEC). Las alternativas para disminuir o eliminar este problema serían: realizar pruebas rápidas para determinar la calidad sanitaria de la leche al momento de la recepción, convencer y capacitar a los productores de leche mediante pláticas o talleres, sobre el manejo higiénico del producto.



Figura 38. Transporte y recepción de la materia prima en la quesería.

**Colado.** La leche se cuela con una bolsa de tela para eliminar material físico como pelos de vaca, insectos, restos de alimento del ganado y se deposita en recipientes de plástico de 200 L (Figura 39). Por tratarse de una quesería artesanal, el colado se realiza con una manta de tela de algodón. Sin embargo, como resultado del sobreuso puede representar una fuente importante de contaminación microbiana; por lo que es recomendable someterla a ebullición previamente a su uso.



Figura 39. Operación de colado de la leche con tela de algodón.

**Quebrado de la cuajada.** Como se muestra en la Figura 40, los queseros utilizan una pala grande de madera para quebrar la cuajada durante tres minutos aproximadamente, y después se deja asentar por 20 minutos. Se considera que la pala de madera como la que se utiliza en esta etapa del proceso de elaboración de los quesos es fuente importante de microorganismos, ya que puede aportar bacterias contaminantes y patógenas como *Salmonella*, *E. coli* y *Listeria monocytogenes*, estas se incrustan entre las

porosidades de la madera Carminatti *et al.* (2000). Al respecto, Welker *et al.* (1997) mencionan que los utensilios de madera absorben humedad y restos de alimentos que favorecen la presencia y desarrollo de microorganismos patógenos que complican su eliminación, por lo tanto, se debe evitar el uso de materiales de madera en la elaboración de alimentos en general. Sobre el particular, la NOM-251-SSA1-2009, recomienda utilizar instrumentos o herramientas lisos, sin roturas, fácil de lavar y desinfectar. Lo mismo aplica para otras fases del proceso de elaboración de los quesos donde se emplean instrumentos metálicos o de madera como: formación de la cruz, manejo de la cuajada, moldeado y prensado.



Figura 40. Los instrumentos de madera, recipientes de plástico y el personal, representan una fuente importante de microorganismos contaminantes y patógenos en la elaboración de los quesos.

**Desuerado.** En esta operación se vierte la cuajada con una cubeta de plástico en una bolsa de tela de algodón (Figura 41); el tiempo de desuerado tarda de

una a cuatro horas aproximadamente. De no tomar medidas sanitarias como desinfectar las cubetas, las telas y proteger la cuajada de la presencia de insectos, deficiente desinfección de equipos e instrumentos, malas prácticas de higiene del personal, se incrementa la posibilidad de contaminación por microorganismos de los quesos.



Figura 41. Uso de telas de algodón y malas prácticas de higiene del personal durante el desuerado de la cuajada.

**Manejo de la cuajada (“bloque”).** Se saca la cuajada de la funda manualmente o con el apoyo de una cuchara de madera y comienza a cortarse en cuadros de unos 10 cm por lado, permitiendo que otra vez escurra el suero por unos 20 minutos (Figura 42). En el caso del queso adobera de mesa, el siguiente paso es el salado y el molido; y para el queso adobera de quesadilla, previamente se favorece la fermentación láctica, como a continuación se detalla.



Figura 42. Prácticas manuales durante el corte de la cuajada en bloques.

**Fermentación de la cuajada.** Se reposa la cuajada en botes de plástico y de ésta se desprende otro poco de suero, mismo que la va acidificando (Figura 43). Este paso tarda 24 horas aproximadamente, transcurrido el tiempo, se saca la cuajada y se procede a salarla.



Figura 43. Contacto manual del personal durante la chedarización de la cuajada.

**Salado y molido.** La cuajada se sala a mano, o colocándola en una revolvedora e incorporando sal gruesa (Figura 44), en un rango de 1.5 al 2.14% de sal por kg de cuajada, después, se pasa por un molino de criba.



Figura 44. Salado y molido de la cuajada.

**Moldeado.** Como se muestra en la Figura 45, la cuajada se moldea manualmente y se envuelve en manta dentro de moldes de madera, a manera de que la cuajada no quede al ras del molde, sino formando una especie de bordo que lo sobrepasa, para que después del prensado se obtenga forma de prisma rectangular. Como lo mencionan Tan *et al.* (2014), *Staphylococcus aureus* resulta de un mal manejo en la elaboración de quesos, ya que este microorganismo indica el contacto directo del humano en los alimentos. Así mismo, Hilal *et al.* (2007), en base a un estudio realizado, afirman que *Salmonella spp.* y *E. coli* están relacionados con los procesos de elaboración no higiénicos de quesos. Lo anterior explica las elevadas cuentas de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp* y presencia de *E. coli* en los tres tipos de quesos. El contacto directo de las manos en la cuajada durante todo el proceso, junto con la poca higiene que se muestra en la Figura 45, por parte de los empleados, son condiciones favorables para que se contamine el producto. Lo cual da como resultado que los quesos no cumplen con los límites establecidos por la Norma Sanitaria de la Unión Europea (92/46/EEC) y la

Norma Oficial Mexicana (NOM-243-SSA1-2010) en las cifras de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* y *E. coli*; y por lo tanto, no cumplen en cuanto a calidad sanitaria. Las alternativas para disminuir o excluir este problema son: todo personal que labora en la microempresa debe lavarse y desinfectarse las manos frecuentemente, ya que en la mayor parte del proceso toman con las manos la cuajada; por ejemplo, para introducirla a la revolvedora, para salarla y para moldearla. También deben usar cofia y cubre bocas, botas, guantes, camisola de manga larga; y no se debe permitir el uso de joyería ni adornos en las manos, deben usar uñas cortas, barba y bigotes cortos (NOM-251-SSA1-2009 y SSA, 1996); sin embargo, en los siguientes pasos del proceso: desuerado, manejo de la cuajada, fermentado de la cuajada, salado y molido, moldeado y desmoldado, almacenado y empacado; también tienen contacto directo de las manos en la cuajada, por lo que, se recomienda adoptar la misma solución que el paso anterior.



Figura 45. Moldeado de la cuajada en molde de madera.

**Prensado.** Los empleados de la quesería arreglan los moldes en hileras y les colocan una tabla de madera. Se les aplica presión con piedras grandes como se muestra en la Figura 46. El tiempo de prensado varía de acuerdo a la

urgencia de entrega de algún pedido, pero normalmente dura de 9 a 21 horas. Como se observa en la Figura 46, las piedras que son usadas como medio de presión están tiradas en el piso, donde éste tiene aguas estancadas en las roturas. En plantas de producción de alimentos, *Listeria monocytogenes* puede encontrarse en el suelo, aguas estancadas y equipos de procesamiento, entre otros. Su crecimiento en este entorno se ve favorecido por la alta humedad y la presencia de nutrientes (FAO, 2007). Las piedras que utilizan son porosas y absorbentes, que sirven como albergues para que microorganismos como *L. monocytogenes* sobrevivan durante largos períodos de tiempo. Lo anterior podría explicar la presencia de *L. monocytogenes* en los tres tipos de quesos; por lo tanto, no cumplen con las especificaciones sanitarias que exigen la Norma Oficial Mexicana (NOM-251-SSA1-2009) y la Norma Sanitaria de la Unión Europea (92/46/EEC). Las alternativas para disminuir o eliminar este problema son: recubrir las roturas y grietas de los pisos para que no se estanque el agua, las coladeras o desagües deben limpiarse y desinfectarse con agua caliente y clorada, ya que son necesarios para evacuar rápidamente los desechos líquidos (SSA, 1996, NOM-251-SSA1-2009, I *et al.*, 1996, y Moster and Buys, 2008). En el prensado se debe evitar usar piedras y cambiar por prensas de acero inoxidable.



Figura 46. Prensado del queso adobera.

**Desmoldado, almacenamiento y empaquetado.** Como se muestra en la Figura 47, una vez prensados los quesos, se sacan las piezas de los moldes, para meterlos dentro de bolsas y posteriormente guardarlos en refrigeración entre 4 y 14°C. Estos son empaquetados en bolsas de plástico autoadherible y etiquetados al momento de la venta. Cuando los quesos se almacenan, no se deben refrigerar junto con otros alimentos (carnes y pescados), el refrigerador debe limpiarse de manera constante y contar con un mecanismo que permita mantener una temperatura máxima de 4 °C (SSA, 1996, I *et al.*, 1996 y NOM-251-SSA1-2009). Las bolsas de plástico con las que son empaquetados, deben estar bien cerradas y mantenerse dentro de algún contenedor o envueltas en un material que evite que puedan contaminarse con microorganismos.



Figura 47. Oreado de los quesos adobera.

**Recomendaciones generales.** Para la limpieza y desinfección de equipos, utensilios e instalaciones de la empresa se recomienda, utilizar hipoclorito de sodio en una concentración de 50 ppm durante 1 minuto (SSA, 1996 y Møretro, *et al.*, 2012).

El agua que esté en contacto directo con los equipos, utensilios e instalaciones, debe ser potable y libre de organismos coliformes totales y fecales (NOM-251-SSA1-2009 y NOM-127-SSA1-199).

El personal que labore en la microempresa, debe capacitarse en las buenas prácticas de higiene, por lo menos una vez al año. La capacitación debe incluir: higiene personal, ropa apropiada y lavado de manos; la naturaleza de los productos, en particular su capacidad para el desarrollo de los microorganismos patógenos; las condiciones en las que se debe recibir y almacenar la materia prima; repercusión del producto contaminado en la salud del consumidor (NOM-251-SSA1-2009).

Se debe tener cuidado con los utensilios de plástico utilizados en el proceso de elaboración de los quesos, ya que microorganismos como *Escherichia coli* O26, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella spp.* pueden incrustarse entre las porosidades del plástico; sin embargo, la aplicación de un proceso de lavado adecuado antes del tratamiento desinfectante puede evitar la contaminación cruzada (Li, *et al.*, 2014).

## 8. CONCLUSIONES

En el diagnóstico realizado en la quesería artesanal *Soyatlán del Oro*, de Sayotlan del Oro, Jalisco, sobre la calidad higiénica de materia prima, productos y procesos técnicos de producción, se encontraron altas cuentas de microorganismos indicadores y presencia de bacterias patógenas en la leche sin pasteurizar y en los diferentes tipos de quesos tanto en época de lluvias como en época de secas. Lo anterior indica falta de higiene en todo el proceso de fabricación. Sin embargo, los tres diferentes quesos cumplieron con la Norma Mexicana NMX-F-713-COFOCALEC-2005 en lo referente a las especificaciones mínimas del contenido de proteína, grasa y humedad, clasificando al queso adobera de quesadilla como un producto semi graso y extra duro, el adobera de mesa como un producto bajo en grasa y duro, y el panela como un producto bajo en grasa y semiduro.

La materia prima no cumplió con las especificaciones sanitarias de la Norma Mexicana (NMX-F-700-COFOCALEC-2004), así como con los estándares internacionales contemplados en la Norma Europea (92/46/EEC), para las variables; Bacterias Mesófilas Aerobias (BMA), *S. aureus* y coliformes totales en ambas épocas del año. De la misma manera, los quesos adobera de quesadilla, adobera de mesa y panela resultaron ser de baja calidad higiénica ya que no

cumplieron con los valores límites de las mismas variables microbiológicas antes mencionadas establecidos en la Norma Sanitaria de la Unión Europea (92/46/EEC) y la Norma Oficial Mexicana (NOM-243-SSA1-2010).

El 100 % de las muestras de quesos fueron positivos para *E. coli*, y *Salmonella spp.* Adicionalmente, en el 80 % se detectó la presencia de *Listeria monocytogenes*. Por lo tanto, estos productos representan alto riesgo para la salud del consumidor.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

- Alais, Ch. (1985). Ciencia de la leche: principios de técnica lechera. Ed. Reverté. España. pp: 873.
- Álvarez, F.G., Herrera, H.J.G., Alonso, B.G. y Barreras, S.A. (2012). Calidad de la leche cruda en unidades de producción familiar del sur de Ciudad de México. Archivos de Medicina Veterinaria. Vol 44. pp: 237-242.
- ANMAT. (2009). Gacetilla Clave del Mes: Higiene e Inocuidad de los Alimentos: Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento (POES). Instituto Nacional de Alimentos. Argentina. p: 6.
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis (15th Edn.), Assoc. Agricult. Chemists Washington, D.C. Estados Unidos de América.
- ASQ Food, Drug and Cosmetic Division. (2002). HACCP: Manual del auditor de Calidad. Acribia. Zaragoza, España. p. 266.
- Baird-Parker, A.C., Bryan, F., Busta, F., y Col. (1991). El sistema de análisis de riesgos y puntos críticos. Editorial Acribia, S.A. p: 332.
- Belli, P., Cantafora, A.F., Stella, S., Barbieri, S. and Crimella, C. (2013). Microbiological survey of milk and dairy products from a small scale dairy processing unit in Maroua (Cameroon). Food Control. Vol 32. pp: 366–370.
- Bennet, R.W. y Lancette. R.E. (2001). Capítulo 12. *Staphylococcus aureus*. Manual de Análisis Bacteriológicos. Disponible en: Manual de Procedimientos: Aislamiento, identificación y caracterización de *Listeria monocytogenes*. Departamento Bacteriología. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas.

- Bernal, M. R. (2008). Diagnóstico de la calidad físicoquímica y sanitaria de la leche producida en los sistemas campesinos del Estado de México. Tesis Doctoral. Programa de Doctorado en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, México.
- Bonetta, S., Coisson, J.D., Barile, D., Bonetta, S., Travaglia, F., Piana, G., Carraro, E. y Arlorio, M. (2008). Microbiological and Chemical Characterization of a Typical Italian Cheese: Robiola di Roccaverano. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol 56. pp: 7223-7230.
- Caffer, M.I., Terragno, R. and Binsztein, N. (2008). Manual de Procedimientos: Diagnóstico y caracterización de *Salmonella* spp. Departamento Bacteriología. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas.
- Calderón A., García F. y Martínez G. (2006). Indicadores de calidad de leches crudas en diferentes regiones de Colombia. *Rev MVZ Córdoba*. Vol 11. pp: 725-737.
- Callejo, R., Prieto, M., Martínez, C., Aguerre, L., Rocca, F. and Martínez, G. (2008). *Bacteriological Analytical Manual*. FDA.
- Carminati, D., Perrone, A., Neviani, E., and Mucchetti G. (2000). Influence of traditional brine washing of smear Taleggio cheese on the surface spreading of *Listeria innocua*. *Journal of Food Protection*. Vol 63. pp: 1353–1358.
- Chambers, J.V. (2002). The microbiology of raw milk. En: *Dairy Microbiology Handbook*, 2nd edn Vol. 1, (ed. R.K. Robinson), pp: 39-90, John Wiley & Sons, New York.
- Cervantes, E. F. y Villegas de Gante, A. (2012). La leche y los quesos artesanales de México. Universidad Autónoma Chapingo. Primera edición. Centro de Investigación Económicas, Sociales y Tecnológicas de la Agroindustria y la Agricultura Mundial (CIESTAAM). México. pp. 57-58. p 67. p 171.
- Cesín, V.A., Aliphath, F.M., Ramírez, V.B., Herrera, H.J.G. y Martínez, C.M. (2007). “Ganadería lechera y producción de queso. Estudio en tres comunidades del municipio de Tetlatlahuaca en el estado de Tlaxcala, México”. *Técnica Pecuaria en México*. Vol 45. pp 61-76.

- Chattopadhyay, P. (2014). FREEZING OF FOODS | Growth and Survival of Microorganisms. Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition). pp: 968–971.
- Cilliers, F.P., Gouws, P.A., Koutchma, T., Engelbrecht, Y., Adriaanse, C. and Swart, P. (2014). A microbiological, biochemical and sensory characterisation of bovine milk treated by heat and ultraviolet (UV) light for manufacturing Cheddar cheese. Innovative Food Science & Emerging Technologies. Vol 23. pp: 94–106.
- CODEX. (2003). Principios generales de higiene de los alimentos. Normas Internacionales de los alimentos. Organización Mundial de la Salud.
- Consejo para el Fomento de la Calidad de la Leche y sus Derivados. (2004). NMX-F-700-COFOCALEC-2004. Sistema producto leche-Alimento lácteo leche cruda de vaca- Especificaciones físico-químicas y sanitarias y métodos de prueba.
- Consejo para el Fomento de la Calidad de la Leche y sus Derivados. (2004). NMX-F-717-COFOCALEC-2006. Sistema Producto Leche – Alimentos – Lácteos – Guía para el muestreo de leche y productos lácteos.
- Correa, L. G. (2004). Análisis de medidas repetidas. Facultad de ciencias agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia. –Sede Medellín-
- Cravero, A. P., Ramón, A. N., Bocanera, B., Giménez M.B. and Ruiz, C. G. (2007). Aplicación de Buenas Prácticas de Manufactura y determinación de agentes contaminantes en hamburguesas expandidas en Salta (Argentina). Revista de Salud Pública y Nutrición. Vol 8. Sin numeración.
- Cristóbal D.R.R. y Maurtua T.D.J. (2003). Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima, Perú, y la supuesta acción bactericida de *Lactobacillus spp.* Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health. Vol 14. pp: 158-164.
- D'Amico D.J. y Donnelly C.W. (2010). Microbiological quality of raw milk used for small-scale artisan cheese production in Vermont: Effect of farm characteristics and practices. Journal of Dairy Science. Vol 93. pp 134-147.

- De Buyser, M.-L., Dufour, B., Maire, M. and Lafarge, V. (2001). Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialised countries. *Food Microbiol.* Vol. 67. pp. 1–17.
- Donnelly, W. C. (2007). What factors should be considered to reduce coliform counts?. *Pathogens and food poisoning bacteria*. En: *Cheese problems solved*. (Ed. McSweeney, P.L.H.). Ed. CRC. Nueva York. pp: 143-144.
- EFSA European Food Safety Authority. (2012). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2010. *Food Safety*. Vol. 10. p: 2597.
- FAO y OMS. (2005). Conferencia Regional FAO/OMS sobre Inocuidad de los Alimentos para las Américas y el Caribe. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Organización Mundial de la Salud. San José, Costa Rica.
- Feldman, P., Melero, M. y Teisaire, C. (2011). *Sistemas de Gestión de Calidad en el Sector Agroalimentario*. Ministerio de agricultura, ganadería y pesca. Argentina. p: 50.
- Forsythe, S.J. y Hayes, P.R. (1999). *Higiene de los Alimentos, microbiología y HACCP*. Editorial Acribia, S.A. 3ª edición. España. p: 489.
- Fox, F. P., Guinee, P. T. Cogan, M. T. and McSweeney, H. L. P. (2000). *Fundamentals of Cheese Science*. (Ed. Jane Colilla, pp. 45-47, 206-232, 484-501.
- Fox, P. F., McSweeney P. L. H., Cogan T. M., y Guinee T. P. (2004). *Cheese chemistry, physic and microbiology*. Vol 2. 3ra Edición. Ed. Eselvier academic press, EUA. p 564.
- Hayes, P. R. (1993). *Microbiología e higiene de los alimentos*. Ed. Acribia, S. A. España. p. 369.
- Hilal, C., Hamparsun, H., Enver, B.B. and Beyza, U. (2007). Prevalence of *L. monocytogenes* and *Salmonella spp.* in Tulum cheese. *Food Control*. Vol 18. pp: 576-579.
- Instituto Nacional de Ecología y Campo Climático INECC. (2014). *Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales*.

- Instituto de Nacional de Geografía y Estadística (INEGI) (2009).
- Inda (2000). Optimización del rendimiento y Aseguramiento de Inocuidad en la Industria Quesera. Organización de los Estados Americanos (OEA). México.
- Irlinger, F. y Mounier, J. (2009). Microbial interactions in cheese: implications for cheese quality and safety. Science Direct. Current Opinion in Biotechnology. Vol 20. pp. 142-148.
- ISO-9000. (2005). Sistemas de gestión de la calidad - Fundamentos y vocabulario. Secretaria Central de ISO. Suiza. p: 42.
- Jackson, P. y Ashton, D. (2000). ISO9000/BS5750 Implemente calidad de clase mundial. Editorial Limusa, S.A. de C.V. 4a reimpression. Méxio. p: 240.
- Kinde, H., Mikolon, A., Rodriguez-Lainz, A., Adams, C., Walker, R.L., Cernek-Hoskins, S., Treviso, S., Ginsberg, M., Rast, R., Harris, B., Payeur, J.B., Waterman, S. and Ardans, A. (2007). Recovery of *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, and *Mycobacterium bovis* from cheese entering the United States through a noncommercial land port of entry. Journal of Food Protection. Vol 70. pp: 47-52.
- Li, R., Kuda, T., and Yano, T. (2014). Effect of food residues on efficiency of surfactant disinfectants against food related pathogens adhered on polystyrene and ceramic surfaces. LWT - Food Science and Technology. Vol 57. pp: 200-206.
- López, L. (2002). Apuntes históricos. Boletín informativo del Archivo Histórico de Jalisco. Memoria y cultura de los municipios. Gobierno de Jalisco. Secretaría General de Gobierno. 37. 1-4.
- Luján D., Valentín M. y Molina M. (2006). Evaluación de la presencia de *Staphylococcus aureus* en quesos frescos artesanales en tres distritos de Lima, Perú. Rev de la Facultad de Salud Pública y Nutrición. Vol 7. Sin numeración.
- Martín E., Lina G. y Dumitrescu O. (2014). *Staphylococcus aureus*. Enciclopedia de Microbiología de Alimentos (Segunda Edición). pp 501-507.

- Martino, Z. T. K., Leyva, C. V., Pérez, C. A., Reyes, M., Suarez, H. and Lara, O. C. (2005). Determinación de *Listeria spp.* en quesos y embutidos comercializados en Cuba. Rev. Cubana de Salud Pública. Sociedad Cubana de Administración de Salud La Habana, Cuba. Vol 31. pp. 217-222.
- Michanie, S. (2004). *Listeria monocytogenes*. Ganados & Carnes. Buenos Aires, Argentina.
- Moreno-Martínez, J.M., Guerrero-Quiroz, L.A., Castañeda-Vázquez, H., Roa-Vidal, J.J., Bañuelos-Pineda, J., Mireles-Flores, S. and Moreno-Gómez, E.R. (2008). Comparación de la incidencia de patógenos principales y secundarios en casos de mastitis en el ganado lechero de las regiones de los altos y zona centro del Estado de Jalisco. Avances en la investigación científica en el CUCBA.
- Møretrø, T., Heir, E., Nesse, L. L., Vestby, L. K., and Langsrud, S. (2012). Control of *Salmonella* in food related environments by chemical disinfection. Food Research International. Vol 45. pp: 532-544.
- Morgan, F., Massouras, T., Barbosa, M., Roseiro, L., Ravasco, F. Kandarakis, I., Bonnin, V., Fistakoris, M., Anifantakis, E., Jaubert, G., Raynal-Ljutovac, K. (2003). Characteristics of goat milk collected from small and medium enterprises in Greece, Portugal and France. Small Ruminant Research. Vol 47. pp 39-49.
- Mossel, D. A. A. y Moreno, G. B. (2003). Microbiología de los alimentos. 2a edición. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. FAO. (2014). Cultivos y productos de ganadería.
- Pascual, A. M. R., Calderón y Pascual V. (2000). Microbiología Alimentaria: Metodología analítica para alimentos y bebidas. Ed. Díaz de Santos, S.A. Segunda Edición. MADRID (España). pp: 3-8. p: 441.
- Peeler, J. y Bunning, V.K. (1994). Hazard assessment of *Listeria monocytogenes* in the processing of bovine milk. Journal of Food Protection. Vol 57. Pp: 658-752.

- Poméon, T. y Cervantes, F. (2010) “El sector lechero y quesero en México de 1990 a 2009: entre lo global y local” Reporte de Investigación. Vol 89. pp 1-47.
- Ragnhild, A. J., Ragna, H., Elin, B. S. and Magne S. (2011). *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in Norwegian raw milk cheese production. Food Microbiology. Vol 28. pp: 492–496.
- Robinson, R. K. y Wilbey, R. A. (1998). Fabricación de queso. Editorial Acribia, S. A. pp. 86-88.
- Sánchez, C. A. (2012). Caracterización de queso adobera de Soyatlán del Oro, Atengo, Jalisco. Tesis de Maestría. Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Universidad Autónoma Chapingo. México.
- Schöbitz, R., Marín. M., Horzella, M. y Carrasco, E. (2001). Presencia de *Listeria monocytogenes* en leche cruda y quesos frescos artesanales. Agro sur. Vol 29. pp 114-119.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). (2012).
- Secretaría de Economía (SE). (2012). Análisis del Sector Lácteo en México.
- Secretaría de Salud. (1994). Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
- Secretaría de Salud. (1994). Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.
- Secretaría de Salud. (1994). NOM-113-SSA1-1994, bienes y servicios. Métodos para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.
- Secretaría de Salud. (1994). NOM-114-SSA1-1994, bienes y servicios. Métodos para la determinación de *Salmonella* spp. en alimentos.
- Secretaría de Salud. (1994). NOM-115-SSA1-1994, bienes y servicios. Métodos para la determinación de *Staphylococcus aureus* en alimentos.

- Secretaría de Salud. (1994). NOM-120-SSA1-1994, relativa a Bienes y Servicios. Prácticas de higiene y sanidad para el proceso de alimentos, bebidas no alcohólicas y alcohólicas. México, D.F.
- Secretaría de Salud. (1994). NOM-127-SSA1-1994, "Salud ambiental, agua para uso y consumo humano-límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización".
- Secretaría de Salud. (1995). NOM-143-SSA1-1995, bienes y servicios. Método de prueba microbiológica para alimentos. Determinación de *Listeria monocytogenes*.
- Secretaría de Salud. (2009). NOM-251-SSA1-2009, Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios.
- Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). (2010). Manual de Buenas Prácticas de Manejo y envasado de la miel.
- Servicio de Información Estadística Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2013).
- Sperber, W.H. and Doyle, M.P. (2009). Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages. Springer Science + Business Media LLC, New York, NY.
- Tamime, A. (2009). Milk Processing and Quality Management. Ed. Wiley Blackwell. UK. pp: 37.
- Trepat, Q. M. (2002). Incidencia y Comportamiento de *Salmonella* y *Listeria* en Pechugas de Pavo Curadas. Universidad Autónoma de Barcelona. Facultad de Veterinaria.
- Tunick, M. H., Van Hekken, D.L. Molina-Corral, F.J., Tomasula, P.M., Call, J., Luchansky, J., y Gardea, A.A. (2008). Mexican Chihuahua cheese: Make procedures, composition, protein profiles, and microbiology. Int. J. Dairy Technol. 61. pp:62-69.
- Varnam, H. A. y Sutherland. J. P. (1994). Leche y productos lácteos. Tecnología, química y microbiología. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza (España). p. 350.

- Villanueva, P. Z. (2012). Exploración de la microbiota coliforme y patógena del queso adobera texturizado de Soyatlán del Oro, Atengo, Jalisco. Tesis de Licenciatura. Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Universidad Autónoma Chapingo. México.
- Villegas de Gante, Abraham. (2004). Tecnología quesera. Editorial Trillas, S.A. de C.V. pp. 325.
- Welker, C., Faiola, N., Davis, S., Maffatore, I., and Bat, C. A. (1997). Bacterial Retention and Cleanability of Plastic and Wood Cutting Boards with Commercial Food Service Maintenance Practices. *Journal of Food Protection*. Vol 60. pp. 407-413.
- Wolter, W., Castañeda, H., Kloppert, B., and Zschöck, M. (2004). Mastitis bovina, Prevención, diagnóstico y tratamiento. 1ª. Edición. Editorial Universitaria. Universidad de Guadalajara. México. pp 146-153.