



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**Determinación de conservadores en quesos
que se expenden en camionetas en la vía
pública**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO DE ALIMENTOS**

P R E S E N T A

CARLO IVAN ROJAS VERDUZCO

MÉXICO, D.F.

2009





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: OLGA DEL CARMEN VELÁZQUEZ MADRAZO.
VOCAL: MARÍA ELENA CAÑIZO SUÁREZ.
SECRETARIO: BEATRIZ DE GUADALUPE SERRANO LÓPEZ.
1° SUPLENTE: FABIOLA GONZÁLEZ OLGUIN.
2° SUPLENTE: ALEIDA MINA CETINA.

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: EDIFICIO 4 "A" FACULTAD DE QUÍMICA, ANEXO DEL LABORATORIO 4 A. DEPTO. DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA.

ASESOR DEL TEMA:

M. EN E. OLGA DEL CARMEN VELÁZQUEZ MADRAZO.

SUPERVISOR TÉCNICO:

QFB. AGUSTÍN REYO HERRERA

SUSTENTANTE:

CARLO IVAN ROJAS VERDUZCO

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por permitir llegar a este momento y concluir con el trabajo y esfuerzo de tantos años y comenzar una nueva etapa. Por la familia con la que me bendijo al poseer en ella amor, cariño, paciencia, ayuda incondicionales ante cualquier circunstancia.

A la Universidad Nacional Autónoma de México; la Facultad de Química, por todos los conocimientos, experiencia y vivencias que me formaron como alumno de esta gran institución, sin los cuales no podría haber llegado hasta donde hoy lo he hecho.

A mis padres por darme la vida y aportar tan buenos y valiosos genes a esta humilde persona.

A mi Mamá; Gloria, por todo tu amor, apoyo, cariño, ayuda, comprensión, paciencia, consejos y enorme sacrificio que has hecho por mí para empujarme a lograr concluir con mis estudios de licenciatura y ser cada día un mejor ser humano; así como los valores y disciplina que me has inculcado.

A mi Papá; Arturo, por tu amor, apoyo y sacrificio, el cariño y ayuda, también por los consejos que me has dado y tu comprensión.

A mi hermano; Arturo, por tu cariño, ayuda, apoyo, tu consejo y preocupación por mi bienestar. La paciencia que me has tenido desde niño y los cuidados que me brindaste, así como tu valiosa compañía.

A mi asesora Olga Velázquez, por la ayuda, la paciencia, respaldo y el gran apoyo para la realización de este trabajo y su paciencia durante las clases que fui su alumno.

A mi supervisor técnico Agustín Rey, por su apoyo, asesoría técnica y colaboración, al igual que la paciencia durante la elaboración de este trabajo.

A los profesores Julieta por su apoyo didáctico y con material, Ernesto y Erika por asesoría.

A mis sinodales por el tiempo dedicado a esta tesis y su aceptación como parte del jurado.

A los buenos profesores que intervinieron durante mi estancia y formación en esta prestigiosa y querida casa de estudios, de quienes me llevo un grato recuerdo y gran parte de los conocimientos que me aportaron.

Al Cepario de la Facultad de Química, integrado por Alejandro Camacho, Laura, Antonieta, Lupita y Lupita, al igual que a los compañeros que abí conocí; Blanca, Angélica, Enrique.

*A mi banda de la Facultad de Química; “Los P.Rones” con respectivas amigas y “groupies”...
El orden no implica ninguna jerarquía, los menciono conforme llegan sus nombres a mi mente.
Espero no olvidar mencionar a nadie y de ser así, disculpa no es nada personal.*

Cuaubtémoc “Tolo” Gutiérrez, Armando “Guayabas” Chávez, Fabián “Tomahawk” Hernández, Saúl “Charmín” Pedraza, Christian “Albañil” Ponce, Job “Caniloca” Valdespino, Luis “Turko” Lima, Allan “Dandy” Arenas, René “Reno” Sánchez, Adrián “Perrito” Díaz, Edwin “Tiobulo” Tioba, Mario “Pimpinela” Resendiz, René “Reno”, Raúl “Perkins” Flores, Donovan “Gigi”, David “Cosbulo” Bonilla, Gerardo Cangas, Roberto “Murphy” Rodríguez.

Yunatz'i “Yu” Martín del Campo, Paulina “Cabbage” Pérez, Jacqueline “Pake-lona” Cervantes, Luz Ma. “Luz-lona” Flores, Lourdes “Lulú” Ruiz, Claudia “Caperuza”, Raquel “Güeroles” Martínez, Amanda “Amandita” Bravo, Lina Alférez, Carolina “Mascareña” Matías

A Nallely Morales, Víctor M. Galindo, César Aguilar, Jacobo Montenegro, Gerardo Morales grandes amigos, de los mejores. Siempre me apoyaron y animaron a lograr esto. Sus buenos consejos y compañía en los difíciles momentos que llegué a vivir.

A tantos más que conocí en la facultad tales como: Marx, Armando, Elías, Donato, Aarón, Perla, Karina, Román “Mascarita”, Ricardo “Demon”, Eric “Tin”, Mónica, Claudia, Abigail, Myriam R, Martín. Entre otros muchos más...

Los laboratoristas que me ayudaron y me hicieron el paro con el material. (No quedé a deber nada, lo aclaro) Lety, Noel, Pedro, Margarito, Juan, entre otros.

A Carolina Canales por tu apoyo, comprensión y alegrías compartidas, así mismo por el tiempo en el que convivimos con mucho cariño.

En general a los demás que no alcance a mencionar, pero que en algún momento convivieron, formaron parte de un equipo de laboratorio, tomaron clase, compartieron un brindis conmigo, jugamos en un equipo... por soportarme... o por el simple hecho de pasar un buen momento.

A Claudia Rentería por tu cariño y apoyo, y las risas compartidas; además de buenos momentos.

A Juan "Chivo" Quezada, Josafat "Fato" Báez, "Los Pachucos" (Marcos, Daniel y Joel Pacheco), Héctor "Chiri", Josué "Chino" y Tonatiuh "Varilla" Gutiérrez, Roberto "Peluca" Olivares, Manuel "Pájaro" Pavón, Isaac "Trampas", Miguel "Wero", Daniel "Nana", César "Choko" Gamboa, Arturo "Bruce" y el resto de la "Banda del 6".

A mis amigos de la secundaria y preparatoria; Colegio Durango y CUDEC respectivamente, porque ya me canse de escribir y ahora veo que son muchos y no pienso escribir otras dos hojas...

A Arely Salazar por tu sinceridad, cariño y alegrías.

A Sué por tu ayuda, compañía y apoyo como parte del servicio social durante la elaboración de la investigación, también por las risas y alegría.

A los cuates que he conocido por medio de amigos, por esos ratos de desmadre.

A todos los profesores y personas que de algún modo influenciaron para bien y aportaron algo positivo en mi desde que inicié esta larga trayectoria educativa, desde la primaria hasta hoy al igual que en mi vida diaria.

GRACIAS

DEDICATORIA

A mi familia principalmente, sin ella no lo hubiera logrado.

A quién estuvo a mi lado con su apoyo y comprensión incondicional.

A mi hijo; estaremos juntos en un futuro para compartir vidas y frutos del esfuerzo.

A todo aquel que conoce el valor de la espera y posee la virtud de la paciencia.

A mí:

Como reconocimiento y recordatorio que no existe cosa que no pueda lograr cuando me lo propongo.

Determinación de conservadores en quesos que se expendan en camionetas en la vía pública

Índice

1. Introducción.....	9
2. Generalidades.....	11
2.1 Elaboración de queso.....	12
2.2 Clasificación de los quesos.....	18
2.3 Aditivos y coadyuvantes tecnológicos en quesos.....	22
2.3.1 Los conservadores.....	23
2.4 Efectos del proceso en los microorganismos.....	25
2.5 Alteraciones del queso.....	29
2.5.1 Microorganismos patógenos y el queso.....	30
2.6 Control de la microbiota en el queso.....	34
2.7 Conservadores para quesos frescos.....	35
2.8 Queso Panela y Queso Oaxaca.....	45
2.8.1. Características del queso Panela.....	47
2.8.2. Características del queso Oaxaca.....	49
2.9 Cromatografía de líquidos (HPLC).....	51
3. Objetivos general y particulares.....	54

4. Metodología	55
4.1 Muestras.....	55
4.2 Reactivos.....	55
4.3 Equipo.....	56
4.4 Material.....	57
4.5 Preparación de la fase móvil.....	57
4.6 Preparación del estándar.....	58
4.7 Preparación de la solución fortificante.....	59
4.8 Preparación de la muestra.....	60
5. Resultados	62
5.1 Parámetros cromatográficos.....	62
5.2 Determinación de conservadores.....	67
5.3 Cuantificación de conservadores.....	68
6. Discusión	70
7. Conclusiones	73
8. Bibliografía	77

Determinación de conservadores en quesos que se expenden en camionetas en la vía pública

1. Introducción

No se sabe exactamente dónde y cuando apareció el queso, aunque se cree que se desarrolló en Iraq hace unos 8 000 años, probablemente al intentar almacenar leche durante períodos prolongados. El resultado es natural y lógico, ya que probablemente el queso apareció después de producirse una serie de hechos fortuitos, como pueden ser la acidificación natural de la leche después de varios días, el prensado de una leche ácida con eliminación del suero, entre otros. Se considera que diferentes formas de queso aparecieron de manera independiente, en regiones y civilizaciones no conectadas entre sí, pues se tienen datos de quesos de Asia, Europa y África, desde civilizaciones muy tempranas (Madrid, 1994).

De acuerdo con distintos autores, se producen en todo el mundo más de 1 400 variedades de quesos (Burkhalter, 1981; Kalantzopoulos, 1993). Las variedades y los métodos de elaboración han evolucionado y se han diversificado a través del tiempo, pero durante largos períodos fue más bien un arte que un proceso científico. Las diferencias entre las variedades resultan de las modificaciones que se introducen en una o más etapas del proceso de elaboración.

México no es una excepción; la elaboración de quesos fue introducida por los conquistadores, junto con la crianza de ganado lechero, y se volvió una actividad importante en dichas zonas; la elaboración de quesos generó nuevas variedades gracias a las particularidades climáticas de las regiones, a la disponibilidad de otros recursos, como cestas para contenerlos y, desde luego, a la creatividad de los lugareños. Actualmente, hay una gran variedad de quesos, algunos producidos tradicionalmente por las mismas familias.

Algunos sólo se consiguen en las regiones donde se producen ó bajo pedido especial, como los quesos de Ocosingo y Pijijiapan, en Chiapas; en tanto que otros se elaboran a nivel industrial, particularmente en las regiones lecheras del norte, centro y occidente del país (Graber, K. 2007). La siguiente tabla muestra los datos de producción y venta de dos de los quesos más populares en México.

Tabla 1. Cantidad y Valor de Producción y de Ventas de Quesos en México.

Año	Queso	PRODUCCIÓN		VENTAS	
		Cantidad (toneladas)	Valor (miles de pesos)	Cantidad (toneladas)	Valor (miles de pesos)
2007	Oaxaca	16 423	802 662	16 185	790 188
2007	Panela	23 059	911 193	22 801	901 082

Fuente: INEGI, 2008. Cantidad y valor de producción de los productos elaborados según clase de actividad y Cantidad y valor de ventas de los productos elaborados, según clase de actividad.

Estos dos quesos en particular, son ampliamente utilizados en la dieta de los mexicanos; se producen industrialmente bajo varias marcas, y también se comercializan muchos de pequeños productores, en regiones específicas, en mercados, y en el comercio informal. En el Distrito Federal, desde hace varios años, se estacionan en la vía pública, camionetas (generalmente con placas de Michoacán) que venden a granel “productos de Oaxaca”, entre ellos estos dos tipos de quesos, que son los de mayor demanda.

En este trabajo, que es parte de un proyecto de la Facultad de Química de la UNAM, en el cual se ha determinado la calidad microbiológica de quesos Oaxaca y panela, expendidos en las camionetas, se investigó la presencia de benzoato de sodio y sorbato de potasio, como conservadores, en dichos quesos.

2. Generalidades

En prácticamente todos los países, se define al queso como el producto fresco o maduro, sólido o semisólido, obtenido por separación del suero después de la coagulación de la leche por la acción del cuajo u otros coagulantes. Después, el coágulo obtenido es prensado, moldeado, salado y conservado o madurado hasta su consumo (Madrid, 1993).

Aunque también hay otra definición admitida internacionalmente:

“Queso es el producto fresco o madurado obtenido por coagulación y separación del suero de cualquiera de los siguientes productos: leche, nata, leche desnatada (total o parcialmente), suero de mantequilla o de una mezcla de cualquiera de ellos” (Madrid, 1994).

Según la legislación mexicana (NOM-121-SSA1-1994. Bienes y servicios),

“Quesos (son los) productos elaborados con la cuajada de leche estandarizada y pasteurizada de vaca o de otras especies animales, con o sin adición de crema, obtenida por la coagulación de la caseína con cuajo, gérmenes lácticos, enzimas apropiadas, ácidos orgánicos comestibles y con o sin tratamiento ulterior por calentamiento, drenada, prensada o no, con o sin adición de fermentos de maduración, mohos especiales, sales fundentes e ingredientes comestibles opcionales, dando lugar a las diferentes variedades de quesos pudiendo por su proceso ser: fresco, madurado o procesado.”

2.1 Elaboración del queso.

A continuación se presentan las etapas necesarias para la fabricación del queso en general, ya que existen variantes específicas para cada tipo de producto (Madrid, 1994).

- A. Recepción y tratamientos previos a la leche, entre los que se incluyen refrigeración, higienización, pasteurización y bactofugación si se desea.
- B. Coagulación y separación parcial del suero.
- C. Prensado, salado y maduración.
- D. Control y salida.

Se describen brevemente dichas etapas:

A. Recepción y tratamientos previos.

La leche que se recibe para la elaboración del queso debe ser de buena calidad, con contenido bacteriano bajo. Se debe recibir a temperatura de 4-6° C y se descargan las cisternas de transporte, en un depósito intermedio, de donde pasa a un enfriador de placas que la lleva a 3-4° C y luego al tanque vertical de acero inoxidable. A continuación se higieniza la leche mediante una centrífuga, para eliminar impurezas sólidas y a continuación se pasteuriza controlando cuidadosamente las condiciones especificadas para el proceso; pudiendo variar la temperatura entre 70 y 80° C y el tiempo de 15 a 7 segundos para eliminar microorganismos patógenos que pueden perjudicar la salud del consumidor (Madrid, 1994). Después se somete a otra centrífuga hermética, especialmente diseñada para eliminar esporas (bactofugadora), ya que su peso específico es mayor que el de la leche (Bylund, 2003); este bactofugado se lleva a cabo inmediatamente después de la pasteurización, aprovechando la temperatura de salida, que disminuye la viscosidad, lo que facilita la separación de las esporas en la centrifugación.

Se ha comprobado que las esporas, por ejemplo de *Clostridium*, son resistentes a la pasteurización a 72-75° C (Madrid, 1994); y la leche no se puede calentar a temperaturas mayores, porque se dañaría la calidad del queso.

Entre los *Clostridia* que puede haber en la leche, se encuentran *Cl. perfringens*, causante de ETA's, y otros que producen fermentaciones con desprendimiento de gases que estropean el queso. El residuo de este proceso se denomina lactofugado y es donde se encuentran las esporas y muchas bacterias; es más o menos un 3% del volumen de la leche tratada y se calienta por vapor a 130-140° C, durante 3-4 segundos, suficiente para destruir las esporas. El lactofugado esterilizado es enfriado en el intercambiador de placas y se reúne con el resto de la leche.

B. Coagulación y separación parcial del suero.

En esta fase se desnaturaliza la caseína para formar la cuajada; es una etapa en la que frecuentemente se incluyen otras operaciones, antes o después de llevarla a cabo (Madrid, 1994); por ejemplo, la adición de:

- Cultivo de bacterias lácticas, cuya misión es transformar la lactosa en ácido láctico para acidificar la leche, con lo que se facilita la coagulación. La adición se realiza a una temperatura entre 25 y 30° C y se les deja crecer durante unos minutos, según el proceso específico; las temperaturas pueden variar al igual que el cultivo iniciador, como veremos más adelante en *Acidificación y cultivos iniciadores*.

- Cloruro de calcio que se requiere para la coagulación; aunque naturalmente está presente en la leche, algo del calcio se pierde en los procesos térmicos previos, por lo que la adición acelera el proceso de coagulación. Se utiliza 0.02% máximo.
- Nitrato de potasio, inhibe el crecimiento de bacterias que producen gases perjudiciales para el sabor y aroma. Se usa en dosis máxima de 20 g por cada 100 kg.
- Colorantes naturales autorizados.
- Mohos, que ayudan a desarrollar aromas y sabores durante la maduración.

Para la coagulación propiamente dicha, se adiciona el cuajo, (extracto obtenido a partir del cuajar del estómago de rumiantes, que contiene la enzima renina). La caseína que es la principal proteína de la leche, es coagulada englobando parte de la grasa y otros componentes. Normalmente, se realiza a 30-32° C, ya que a ésta temperatura se obtienen cuajadas más firmes y no se desmenuzan en pequeñas partículas al cortarlas; aunque la temperatura óptima es 40° C (Scott, 1991). Una vez lograda la coagulación se procede a cortar la cuajada, con lo que el suero atrapado puede escapar. Los granos de cuajada son mantenidos en suspensión; con agitación, los granos se hacen más compactos así que después de 10 a 15 minutos de agitación y corte se puede drenar suero sin temor a que se desintegren y escapen con el suero. Al suero que escapa se le pasa por un tamiz fino, que retiene los granos de cuajada que pudiese arrastrar (Eck, 1987).

El calentamiento de la masa coagulada ya cortada acelera el desuerado; aunque hay muchas variantes según el tipo de queso, regiones, entre otros, el calentamiento se suele hacer entre 30 y

48° C, acompañado de agitación para evitar que los trozos de coágulo se fundan unos con otros y se forme una pasta.

Si es alta la temperatura, se escapará mucho suero, generando quesos más secos y viceversa; para quesos más húmedos se usan temperaturas menores que permiten evitar más desuerado.

Si durante el calentamiento se lleva la temperatura a 44° C se pueden inactivar las bacterias lácticas añadidas al principio, con lo cual se detiene el proceso de acidificación. A temperaturas de 35-36° C se empieza a inhibir su desarrollo; esto también se controla según el tipo de queso que se desea.

El calentamiento de la cuajada se puede realizar de dos formas: por adición de agua caliente, directo a la masa, o por calentamiento del recipiente, mediante circulación de vapor o agua caliente por la camisa (Eck, 1987).

C. Prensado, salado y maduración.

A partir de esta etapa, el orden de las operaciones y los detalles de cómo se efectúan, pueden variar enormemente, según las variedades de queso e incluso, procesos específicos aún para un tipo de queso. Mencionaremos solamente los aspectos más generales.

Según el tipo de queso que se quiera hacer, el prensado previo será más o menos intenso. En el caso de quesos blandos no se aplica presión alguna, dejando que el peso del propio queso en el molde, actúe de prensa, automoldeo (ICMSF, 1998).

Si el prensado se realiza de forma que quede aire atrapado entre los granos, tendremos quesos granulados (Cantal, queso de los Pirineos, a veces Manchego).

Si el prensado se realiza con los granos bañados en suero de manera que no quede sitio para el aire, los granos se fundirán entre sí y cuando durante la maduración se formen gases, éstos quedarán atrapados en la masa formando burbujas u “ojos”, como el caso del *Gruyère* y *Emmental* (Madrid, 1994).

Después del prensado se procede a salar los quesos, bien por inmersión directa en baños de salmuera o por adición directa con la sal en grano o cristales, aplicada a la corteza o mezclada con la masa. La adición de sal ayuda a conservar el queso más tiempo, además de realzar sus aromas y sabores.

Finalmente, la maduración puede durar apenas unas horas para algunos quesos frescos, hasta meses y años para quesos duros. Durante la maduración deben cuidarse las condiciones de aireación, humedad y temperatura de las cámaras o cavas donde se realiza. Cada queso tiene sus condiciones de humedad y temperatura para una óptima maduración. Durante este período los quesos pierden peso por evaporación y se desarrollan aromas y sabores característicos de cada tipo. Es muy importante asegurar que la pérdida de humedad sea uniforme en todos los quesos almacenados.

D. Control y salida.

El control de calidad del queso comienza con el uso de leche de gran calidad; un tratamiento térmico adecuado reduce los riesgos potenciales. La pasteurización inactiva microorganismos alterantes y enzimas capaces de producir defectos en el sabor, aroma y textura del producto terminado; con esto es más fácil controlar el

proceso de elaboración del queso y obtener productos más uniformes.

Se confía en que todos los patógenos vegetativos presentes en la leche cruda pierdan viabilidad durante la maduración y almacenamiento de los quesos, aunque algunos patógenos pueden sobrevivir a este período. (D'Aoust et.al,1985; Ryser y Marth,1991; Spahr y Url, 1993)

Para estabilizar el producto terminado frecuentemente se utilizan conservadores. Debido a ello, el mayor riesgo es la producción de gas por lactobacilos relativamente resistentes al sorbato que originalmente estaban presentes en el queso. Debido a la composición y distribución estricta bajo refrigeración, los clostridios y otras bacterias vegetativas no causan normalmente problemas en estos productos.

La actividad del cultivo iniciador es una factor crítico. Al añadirse a la leche, ésta debe ser adecuada para el desarrollo del cultivo y debe seguirse la producción de ácido mediante la determinación de la acidez titulable o midiendo el descenso del pH.

Para la limpieza de los equipos y programas de higienización deben utilizarse desinfectantes basados en cloro o ácido peracético.

Para prevenir la contaminación procedente del aire deben aislarse y construirse habitaciones especiales donde se prepara el cultivo iniciador. Finalmente utilizar medios inhibidores de fagos para la preparación del cultivo iniciador, de lo contrario se corre el riesgo de infección por bacteriófagos, que llevaría a un lento desarrollo de acidificación.

La higienización estricta de la planta, incluyendo una adecuada limpieza y desinfección, minimiza la contaminación post-pasteurización y post-fermentación durante las operaciones de eliminación del suero, maduración, corte en piezas y envasado; según tipo de producto (ICMSF, 1998).

2.2 Clasificación de los quesos

Los quesos se pueden clasificar atendiendo a diversas circunstancias como: contenido de grasa, dureza, origen, tipo de leche empleada en su elaboración, maduración, proceso térmico, entre otros. Veremos algunos de los criterios más utilizados en todo el mundo.

Según el sistema de coagulación de la leche, tenemos (Madrid, 1994):

- Queso al cuajo.
- Quesos ácidos.

En los primeros se consigue la coagulación por la adición de cuajo a la leche; en los segundos, la formación de la cuajada se induce mediante acidificación.

Atendiendo al origen de la leche, hay quesos de vaca, oveja y cabra principalmente. A veces los quesos se hacen con mezcla de dos o más clases de leche.

La textura es una de las propiedades más importantes del queso; es característica de cada tipo y puede ser la diferencia entre un queso excelente y un mal producto. Por su textura, los quesos se clasifican (Madrid, 1994) en:

- Quesos compactos (sin ojos)
- Quesos con “ojos” redondeados.
- Quesos granulares, con “ojos” de formas irregulares.

Los quesos compactos están hechos con cultivos lácticos que apenas desprenden gases durante la fermentación y los azúcares son fermentados antes que el queso esté acabado.

Los quesos con ojos redondeados resultan de la producción de CO₂ ó anhídrido carbónico por bacterias lácticas, durante el proceso de maduración. El CO₂, que es gaseoso a temperatura ambiente, se acumula en los intersticios de la masa del queso, dando lugar a los ojos. Si la cuajada se coloca en los moldes sin suero, los intersticios quedan al aire y el gas carbónico se distribuye de manera irregular, lo que resulta en la formación de agujeros de formas y tamaños irregulares; esta textura también se define como “granular”.

Según el tipo de microorganismos utilizados en la maduración (Madrid, 1994) los quesos se clasifican en:

- Quesos veteados, donde se produce el crecimiento de mohos del género *Penicillium*, durante la maduración en cuevas ventiladas, dando esas vetas de color azul.
- Quesos de moho blanco, en los cuales durante la maduración hay un desarrollo de mohos blancos, como *Penicillium camembertii* o *Geotrichum* que les dan su típico aspecto.
- Quesos con desarrollo bacteriano en la corteza, en los que se unta la superficie de los quesos antes de su maduración con un cultivo de bacterias, que se desarrollan dando características especiales a los quesos, tales como *Saint Paulin* y *Port Salut*.

Por su contenido graso, expresado en porcentaje sobre el extracto seco, el *Codex Alimentarius* considera los siguientes tipos de quesos:

- Queso doble graso, el que contiene un mínimo del 60% de grasa.
- Queso extra graso, con un contenido mínimo del 45%.
- Queso graso, el que contenga un mínimo del 40% de grasa.
- Queso semigraso, con un mínimo del 20%.
- Queso magro, con un mínimo del 10% de grasa.

Por último la más conocida de las clasificaciones que se hace atendiendo al contenido de agua de los quesos (Madrid, 1994):

- Quesos frescos
- Quesos blandos
- Quesos semiduros
- Quesos duros

Los quesos frescos tienen un alto contenido en humedad (del 60-80% según variedades), su consistencia es generalmente pastosa, y como no han tenido proceso de maduración, su sabor se parece al de la leche fresca o acidificada; su color es blanco. Deben consumirse rápidamente y su transporte y conservación se realizan entre 8 y 10 °C. La coagulación de la leche se lleva a cabo por acidificación. Son quesos sin corteza o con una muy fina, que apenas se prensan, por lo que no eliminan mucho suero (Madrid, 1994).

Los quesos blandos tienen menor contenido de humedad que los anteriores (de 45 a 50 % según el tipo); se maduran durante algún tiempo, desde unos días hasta varios meses, desarrollando aromas y sabores característicos de cada variedad. Durante la maduración se evapora parte del agua por lo que desarrollan corteza de cierta consistencia. La pasta es blanda e incluso semilíquida. Por su importante contenido en humedad se deben consumir pronto, ya que al endurecerse pierden sus características más agradables (Madrid, 1994).

Quesos semiduros contienen de 40 a 45 % de humedad; su maduración que lleva de semanas hasta varios meses, hace que se pierda mucha humedad y que se forme corteza; en algunos casos se protege la superficie con alguna barrera que reduzca la evaporación y evite la formación de corteza, como papel de aluminio, ceras o plásticos. Se pueden conservar durante más tiempo (uno o varios meses). Son quesos con aromas y sabores bastante desarrollados.

En el caso de los quesos duros, éstos son sometidos a una maduración larga (incluso superior a un año) o prensados con intensidad para reducir fuertemente su contenido en humedad; por ello, su conservación puede ser prolongada (hasta uno ó dos años). Tienen un 30-40% de humedad, pasta dura, compacta, con o sin agujeros, corteza más o menos dura, con o sin cubiertas (Madrid, 1994)

Desde luego, es un poco difícil marcar la línea en algunas ocasiones, es decir que algunos quesos pueden tener características en el límite o de dos grupos.

Finalmente, la NOM 121-SSA1. Bienes y Servicios. Quesos: frescos, madurados y procesados, considera un tipo más: los quesos procesados, que define como productos que cumplen en lo general con la definición de queso y se caracterizan por ser elaborados con mezclas de quesos, fusión y emulsión con sales fundentes, aditivos para alimentos permitidos e ingredientes opcionales; son sometidos a proceso térmico de 70 °C durante 30 segundos o a cualquier otra combinación equivalente o mayor de tiempo y temperatura, lo que permite prolongar su vida de anaquel.

Puesto que este trabajo se refiere específicamente a queso panela y Oaxaca, más adelante veremos brevemente sus características y procesos de elaboración.

2.3 Aditivos y coadyuvantes tecnológicos en quesos

En la elaboración de quesos se pueden utilizar otros ingredientes que le den mejores características al producto terminado o que faciliten el proceso; algunos de los más importantes son (Madrid, 1993):

- Cloruro de sodio (sal común), para realzar aromas y ayudar a la conservación.
- Leche en polvo para ajustar en contenido de sólidos; se permite como máximo el 5%.
- Sustancias o productos naturales específicos para los quesos con sabores, por ejemplo especias, chiles, frutos secos, entre otros.
- Gelatina como estabilizante, sólo en quesos blandos pasteurizados; la cantidad máxima total de estabilizantes es de 5g/ Kg. de queso (0.5%).

- Los colorantes se permiten en ciertos casos para uniformizar el color del queso a lo largo del año. Como ejemplo están curcumina, tartrazina, xantofilas, betanina, lactoflavina entre otros.
- Los conservadores se permiten en tratamientos superficiales de la corteza o en quesos frescos y quesos blandos pasteurizados, de alto contenido en humedad, para evitar desarrollo microbiano.
- Las ceras y parafinas se utilizan en recubrimientos de la corteza.
- Los estabilizantes se utilizan en quesos frescos y en quesos blandos pasteurizados para evitar que pierdan suero durante el almacenamiento; se emplean principalmente alginatos de sodio, potasio, calcio; agar-agar, pectina, goma guar y de garrafin, así como gelatina, que ya se mencionó.
- El nitrato potásico se utiliza para evitar fermentaciones butíricas en quesos madurados; como Roquefort y Camembert, la dosis máxima indicada es 50mg/ kg de queso (0.005%).

2.3.1 Los conservadores.

Una de las causas más importantes del deterioro en los alimentos es la actividad de los microorganismos, que están presentes en ellos desde su origen. El deterioro genera problemas económicos para el fabricante y los comerciantes, así como pérdida de imagen y prestigio. Para los consumidores también implica pérdidas económicas, inconvenientes y, en algunos casos, riesgos para la salud.

Por eso, desde sus orígenes el ser humano ha tratado de aplicar las tecnologías a su alcance para conservar los alimentos; la elaboración misma del queso fue inicialmente una forma de conservar el valor nutricional de la leche, para las tribus nómadas que vivían del pastoreo.

Una de las alternativas actuales, que además puede combinarse muy bien con otros procesos para generar resultados sinérgicos en la preservación de los alimentos, es el uso de conservadores. Éstos se definen como aditivos utilizados para evitar la proliferación de microorganismos en los alimentos, de manera que se conserven sus características sensoriales y se prolongue su vida útil. En muchos productos, los conservadores cumplen también con la función de evitar procesos enzimáticos de deterioro, como la rancidez. Los conservadores generalmente aceptados en la elaboración de quesos se resumen en la tabla 2. Cabe señalar que la legislación mexicana (NOM121-SSA1) es poco específica sobre el uso de benzoatos y sorbatos en quesos frescos.

Tabla 2. Conservadores utilizados en la elaboración de quesos.

Código Unión Europea	Conservador	Indicaciones para diferentes productos Codex Stan 201-2001.		
		Quesos en general	Quesos frescos y blancos pasteurizados	Quesos fundidos
E 200	Ácido sórbico	D.máx: 1000 mg/kg, aislados o en conjunto, expresados como ácido sórbico.	D.máx: 600 mg/kg, aislados o en conjunto, expresados como ácido sórbico.	D.máx: 2000 mg/kg de producto terminado, aislados o en conjunto, expresados como ácido sórbico.
E 201	Sorbato de sodio			
E 202	Sorbato de potasio			
E 280	Ácido propiónico	D.máx: 2000 mg/kg, aislados o en conjunto, expresados como ácido propiónico		D.máx: 3000mg/kg de producto terminado, aislados o en conjunto, expresados en ácido propiónico
E 281	Propionato de sodio			
E 282	Propionato de potasio			
	Mezclas de sorbatos y propionatos	Sólo para corteza y coberturas, D.máx: 2000 mg/kg, siempre que los sorbatos no sobrepasen 1000 mg/kg		

D.máx: = Dosis máxima

Fuente: Elaboración propia a partir de Codex Stan221-2001.

2.4 Efectos del proceso en los microorganismos

Las operaciones efectuadas a lo largo de todo el proceso de elaboración del queso, van afectando a la microbiota presente; a continuación se describen brevemente los efectos de las principales operaciones:

Calentamiento. Usualmente la leche se somete a tratamiento térmico antes de su transformación en queso; debe cuidarse que el calentamiento no sea excesivo para que no existan desviaciones en el proceso de coagulación ni cambien las propiedades de la cuajada. Se aplican tratamientos de termización, subpasteurización y pasteurización.

La subpasteurización puede variar entre 64 y 70° C durante 15 a 20 segundos, dependiendo del tipo de queso que se elabore. El tratamiento reduce la población de células vegetativas, en particular de patógenos. Sin embargo, debido a que este tratamiento es más suave que la pasteurización, muchas enzimas permanecen activas, por lo que el sabor y aroma de los quesos fabricados con este proceso se parecen más a los de los quesos preparados con leche cruda, razón por la cual se utilizan en muchos casos (ICMSF, 1998).

La pasteurización se lleva a cabo a 62 °C por 30 min. o a 72°C por 15 seg. y asegura la eliminación de la mayoría de los microorganismos patógenos que pueden estar presentes en la leche. En México (y en muchas partes del mundo), los quesos deben elaborarse con leche pasteurizada (NOM121-SSA1) ya que investigaciones recientes (D'Aoust, 1985; Ryser y Marth, 1991; Spahr y Url, 1993) han demostrado que algunos patógenos como *Salmonella* y *Listeria monocytogenes* pueden sobrevivir a los procesos de maduración de queso; antes se creía que las condiciones de maduración eliminaban la viabilidad de estos microorganismos.

Otro efecto positivo de la pasteurización es la desactivación de microorganismos alterantes y enzimas capaces de producir defectos en la textura, sabor y aroma (ICMSF, 1998).

Acidificación por cultivos iniciadores. La acidificación se produce desde la etapa inicial de elaboración del queso hasta las primeras fases de la maduración. Es un paso determinante en el proceso global. Se consigue normalmente mediante la producción de ácido láctico por los cultivos iniciadores.

La cantidad y tipo de cultivo iniciador y la forma en que se añade (líquido, congelado, liofilizado o deshidratado) dependen del tipo de queso que se pretende fabricar. Un factor crítico que influye en el tipo de cultivo iniciador es la temperatura de calentamiento de la cuajada. Se utilizan cultivos iniciadores mesófilos cuando esta temperatura es inferior a 40° C. los más frecuentes son *Lc. lactis* subsp. *lactis*; *Lc. cremoris*; *Lc. lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* y *Leuconostoc* spp que se usan individualmente o en combinación bajo el nombre de cultivos iniciadores mesófilos. Todos ellos producen ácido L(+)láctico a partir de lactosa.

Los cultivos iniciadores termófilos se utilizan cuando las temperaturas de cocción de la cuajada son elevadas (45-54° C). Se usan cepas simples o mezcladas de *Strep. salivarius* subsp. *thermophilus* y *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, dependiendo del tipo de queso (ICMSF, 1998).

Se utilizan cultivos iniciadores secundarios, levaduras y mohos, para impartir alguna característica especial a ciertas variedades de queso; por ejemplo, *Penicillium camemberti* y *Penicillium roqueforti* que participan en la maduración de los quesos *Camembert* y *Roquefort*, de los que fueron aislados. (Eck, 1987)

Las levaduras están relacionadas con la degradación del ácido láctico de la superficie de ciertos quesos, como el *Camembert* (Siewert, 1979). Generalmente se añaden suspensiones acuosas o polvos de esporas-micelio, a la superficie de los quesos moldeados (Molimard y Spinnler, 1996).

Formación de la cuajada. La producción de ácido influye en diversas características de la cuajada, entre ellas, la actividad, desnaturalización y retención del agente coagulante, la fuerza de la cuajada y, por tanto, el rendimiento; sinéresis del gel, disolución del fosfato de calcio, propiedades reológicas y crecimiento de bacterias no deseables, en particular las patógenas. La coagulación de la fracción caseínica de la leche consiste en la formación de un gel acuoso debido a una débil proteólisis a un pH de alrededor de 4.6, o > 4.6 en combinación con calentamiento. Durante este proceso la grasa queda atrapada en el gel. Normalmente, se usa la coagulación enzimática mediante cuajo, coagulantes de plantas, quimosina procedente del estómago de rumiantes jóvenes o sustitutos de cuajo, como pepsina (bovina o porcina), proteinasas ácidas de origen fúngico o quimosina producida por microorganismos genéticamente modificados. Únicamente la acidificación y la disminución de la actividad acuosa (a_w) pueden inhibir ligeramente a la microbiota presente en esta etapa.

Separación del suero. Tras el corte del gel en pequeñas piezas (1-2 cm^3) se produce la sinéresis y el suero se expulsa en cantidades que dependen de la composición de la leche, pH del suero, temperatura de cocción y velocidad y tiempo de agitación. Este paso es importante para las características finales del producto, cuyos parámetros puede modificar el fabricante (Walstra, 1993). Al calentar la cuajada, cuando

las partículas de la misma han alcanzado una firmeza suficiente y un nivel de acidez adecuado, entonces el queso se moldea.

La forma y la presión que se aplica depende de la variedad de queso que se pretende fabricar. El desuerado provoca que en la cuajada prevalezca un pH menor a 5.5 y en su interior se da una fermentación láctica activa. Este carácter ácido es necesario, pues frena la acción de enzimas y se opone al desarrollo de flora bacteriana perjudicial (coliformes, esporulados anaerobios, etc)

Salado. La adición del cloruro de sodio se puede efectuar antes o después del moldeo y prensado; tiene diversos efectos, entre ellos, controla el crecimiento y metabolismo microbianos; controla las actividades enzimáticas e influye en la textura (Guinee y Fox, 1993). Al adicionar el cloruro de sodio se cambia la concentración osmótica del medio pues se transforma en un medio hipertónico respecto a los microorganismos presentes; con lo que se altera la disponibilidad de agua para los mismos. Como consecuencia en los microorganismos se alteran los transportes de membrana y ya no pueden pasar nutrientes a través de ella para su metabolismo; pues ésta se desprende de la pared celular, también se desnaturalizan proteínas. Así mismo, se causa deshidratación y se puede llegar a provocar la plasmólisis debido a la salida del agua de la célula.

Maduración. Durante esta fase se pierde agua y se producen complejas reacciones bioquímicas como resultado de la interacción del agente coagulante, las enzimas naturales de la leche, las bacterias del cultivo iniciador y los microorganismos secundarios y sus enzimas. Estos cambios bioquímicos favorecen el desarrollo de la textura, sabor y aroma característicos. Los tiempos de maduración varían dependiendo

el tipo de queso. Las temperaturas y humedades relativas durante la maduración dependen, igualmente del tipo de queso.

La microbiota del queso cambia muchísimo en esta etapa, tanto por la proliferación de los microorganismos de maduración como por la inhibición y eventual inactivación de flora alterante y patógenos. Desde luego, intervienen muchísimos factores, como los iniciadores y su capacidad de producir antibióticos, el pH final y la forma en que cambia, la actividad acuosa, la temperatura, tiempo de maduración y actividad enzimática.

2.5 Alteraciones del queso

La alteración microbiana de las diferentes variedades de queso puede ser de origen bacteriano o fúngico; se debe a microorganismos que sobreviven a las diferentes fases del proceso o a los que alcanzan al producto por recontaminación. Las operaciones que se aplican a la leche coagulada y a la cuajada ofrecen diversas oportunidades para la llegada de contaminantes, especialmente psicrótrofos que pueden ocasionar la alteración del producto, algunas veces acompañadas por defectos físicos visuales como limo amarillento o verdoso y olores anómalos a fruta o pútridos (ICMSF, 1988).

El desarrollo de mohos visibles en la superficie de los quesos es, con frecuencia, el primer signo de alteración, seguido de la aparición de tonalidades y olores extraños. La alteración de quesos frescos por levaduras se caracteriza por la formación de gas, defectos de olor y cambios visuales (ICMSF, 1998).

La alteración de origen bacteriano de los quesos puede subdividirse en “hinchamiento temprano” e “hinchamiento tardío”. El primero se observa en quesos frescos o después de pocos días de maduración. Los causantes de este defecto pueden ser levaduras, pero más frecuentemente, son bacterias capaces de fermentar la lactosa, como coliformes o *Bacillus subtilis*. El “hinchamiento tardío” se produce durante la maduración y almacenamiento de quesos duros y puede observarse después de 10 días y hasta los 5 meses. El “hinchamiento tardío” se debe a la formación de ácido butírico que conduce a la formación de gas y olores extraños; los responsables de este defecto son principalmente *Clostridium tyrobutyricum* y *Clostridium butyricum*, ya que una cantidad tan baja de esporas como de 10 /L puede ocasionar el “hinchamiento tardío” (IDF, 1990). Se han utilizado nisina, nitritos, y lisozima para evitar el hinchamiento tardío, causado por *Clostridia*.

En los quesos que se transfieren al envase sin ningún tipo de tratamiento térmico, las levaduras y mohos procedentes del material crudo pueden desempeñar un papel destacado en la alteración; generalmente se presenta crecimiento microbiano con producción de gas “hinchamiento temprano”, causados por microorganismos presentes en el queso, como lactobacilos. Para prevenir este problema se utilizan frecuentemente conservadores, como sorbato de potasio y ácido láctico, que ayudan a estabilizar el preparado (Marth, 1987).

2.5.1 Microorganismos patógenos y el queso.

Diversos factores influyen en la presencia y supervivencia de patógenos en el queso; por ejemplo, características del microorganismo, como su tolerancia al calor, ácido y sal, población inicial y estado fisiológico. También influyen las condiciones en que se llevan a cabo las etapas del

proceso de fabricación; entre los parámetros importantes cabe destacar la temperatura de almacenamiento y procesado, la producción de ácido por los cultivos iniciadores, la adición de sal y otros inhibidores y el proceso de maduración.

Salmonella. Bacilos Gram negativos, no esporulados, que pueden estar presentes en la leche, a partir de la vaca y con mucha frecuencia provienen de contaminación humana en el manejo del producto. Temperatura mínima de crecimiento desde 6.7, máxima de 45.6°C y óptima de 37°C, por lo que en varias etapas del proceso tienen oportunidad de crecer, ya que además la leche y la cuajada son suficientemente nutritivas. El intervalo de pH al que crece *Salmonella* va de 4.1 a 9, lo que también le da oportunidad de crecer en la mayoría de los quesos. Su a_w de crecimiento es aproximadamente de 0.93-0.95 de manera que representa un riesgo importante en quesos frescos, cuya a_w es cercana a este valor.

Listeria monocytogenes. Bacilo corto, Gram positivo, dotado de movilidad capaz de crecer a 4°C; organismo psicrótrofo por lo que bajo condiciones de refrigeración puede desarrollarse en quesos. Presente en la leche porque al infectar a un animal y provocarle mastitis; éste lo elimina en la leche. Al pasteurizar la leche se puede eliminar.

Escherichia coli enteropatógena. La temperatura óptima de crecimiento es de 37°C, con un intervalo de 10 a 40°C. Su pH óptimo es de 7 a 7.5 con un pH mínimo de 4 y máximo de 8.5. Para que tenga lugar una abundante multiplicación, los alimentos deben estar contaminados masivamente o incorrectamente conservados o refrigerados. Es relativamente termosensible y puede destruirse con facilidad a temperaturas de pasteurización. En general no crece bien

durante el proceso de elaboración de queso. El bajo pH y la sal son inhibidores pero si el cultivo iniciador no tiene la actividad adecuada *E. coli* puede multiplicarse y sobrevivir.

Staphylococcus aureus. Estafilococos Gram positivos con crecimiento de color amarillo a naranja, es aerobio facultativo. Fermentativo y proteolítico aunque en la mayoría de los alimentos no suelen producir aromas repugnantes. El intervalo de temperatura dentro del cual tiene lugar la multiplicación y producción de toxina está comprendido entre 4 y 46° C. A temperaturas comprendidas entre los 20 y 45° C se multiplica más rápido; siendo este rango de temperatura en el que algunas etapas de elaboración del queso se llevan a cabo; aumentando de ese modo el riesgo de desarrollo de este patógeno, sin embargo a 45° C el desarrollo es cuatro veces más rápido. El pH mínimo de crecimiento en aerobiosis es de 4.8 y de 5.5 en anaerobiosis; valor cercano al desarrollado durante el desuerado, mientras el máximo es de 8. La a_w mínima es de 0.86 en aerobiosis y de 0.90 en anaerobiosis. El queso puede ser un medio bastante propicio para el desarrollo de este peligroso microorganismo; siempre que no se cumplan condiciones de higiene necesarias.

Este microorganismo se encuentra frecuentemente en la leche a niveles bajos. La leche de vaca procedente de animales con mastitis es una fuente muy importante de cepas enterotoxigénicas, pero se destruye en la pasteurización y se inhibe por la fermentación láctica. La producción lenta de ácido por el cultivo iniciador podría permitir el crecimiento de estafilococos hasta niveles suficientemente altos para producir la enterotoxina.

Clostridium botulinum. En la leche pueden existir esporas de este microorganismo y sabemos que sobreviven la pasteurización pero las condiciones que predominantes en el queso, tales como el contenido de sal y el pH ácido provocado por el ácido láctico que genera el cultivo iniciador, evitan la germinación de las esporas y el crecimiento del microorganismo, lo cual es necesario para la formación de toxina. El uso de conservadores evita su germinación y formación de toxina, pero en el caso de no agregar conservadores, cultivo iniciador adecuado y en buenas condiciones y/o sal, este microorganismo puede desarrollarse y llegar a producir toxina, lo que implica un grave riesgo para la salud del consumidor.

Micotoxinas. Existen dos mecanismos básicos de contaminación del queso por micotoxinas: (i) pueden existir ya en la leche utilizada para la fabricación del queso y (ii) pueden formarse al crecer mohos adventicios o mohos utilizados como cultivos iniciadores (Morris y Tatini, 1987). Los niveles de micotoxinas de la leche pueden reducirse impidiendo el crecimiento de los mohos en el pienso del ganado o tratando éste con amoníaco para desactivar las micotoxinas que puedan existir (ICMSF, 1998). El crecimiento de mohos toxigénicos, como *Aspergillus versicolor*, puede controlarse mediante una limpieza y desinfección adecuadas, especialmente de las cámaras de maduración y utilizando aire filtrado. El tratamiento del queso con natamicina inhibe el crecimiento del moho superficial. Cabe destacar que rara vez se han aislado micotoxinas directamente del queso y cuando esto se logró, el moho había crecido tanto, que no era probable que ese queso se consumiera (ICMSF, 1998).

2.6 Control de la microbiota en el queso.

Como se ha mencionado, en el queso se encuentran presentes diversos microorganismos provenientes de la leche, del proceso y del ambiente, incluyendo la manipulación. La leche contiene la microbiota procedente de los conductos lactíferos y de su propio ambiente; el proceso de manufactura de queso permite desarrollo microbiano y en muchos casos se agregan iniciadores, además de que algunos organismos presentes en el ambiente también llegan a la cuajada y al queso. Un tratamiento térmico adecuado reduce los riesgos potenciales. La pasteurización inactiva también microorganismos alterantes y enzimas capaces de producir defectos en el sabor y aroma y en la textura (Jay, 2005).

Aunque muchos quesos reciben un tratamiento térmico, éste no elimina por completo a los microorganismos presentes; además hay presencia y, por lo tanto, posible contaminación después del tratamiento térmico en el resto del proceso, lo que puede ocasionar riesgos para la salud, deterioro del queso, o resultados microbiológicos fuera de normas (Gammariello, 2008).

Entre las opciones para asegurar la inocuidad y la estabilidad del queso están: el empaado, la refrigeración y el uso de agentes antimicrobianos. En los quesos, se utiliza una amplia variedad de aditivos conservadores, para asegurar su inocuidad y prolongar la vida de anaquel. Entre otros, se emplean aceites esenciales que son buenos inhibidores de flora de deterioro.

Sin embargo, la excelente disponibilidad de nutrientes en productos lácteos, puede permitir a las bacterias la reparación de daños celulares, por lo que en general se requieren condiciones más drásticas (en comparación con resultados *in vitro*), incluyendo concentración de

conservadores, para obtener buenos resultados en quesos. (Gammariello, 2008).

La contaminación a través del aire o del equipo inadecuadamente desinfectado puede contribuir con microorganismos alterantes, como mohos en los productos envasados refrigerados, los cuales causan defectos si se les presenta una oportunidad aerobia, especialmente en ausencia de inhibidores o cuando existen mohos resistentes a los conservadores.

Para la limpieza de los equipos y programas de higienización deben utilizarse desinfectantes basados en cloro o ácido peracético. El equipo y el agua que puedan tener contacto con el producto deben estar exentos de microorganismos alterantes y patógenos.

El agua de lavado debe clorarse hasta 5-10 ppm y acidificarse a pH de 5 con ácido fosfórico de grado alimentario. La higiene de las cámaras de maduración, es también muy importante. (ICMSF, 1998) Las capas de cera o plástico del queso, estanterías de almacenamiento limpias y un control cuidadoso de la humedad ayudan a minimizar la contaminación.

La pulverización con conservadores, como natamicina y sorbato, también ayuda a reducir el crecimiento de moho en la superficie de los quesos. La producción de ácido hasta un pH de 5 o menos inhibe o limita el crecimiento de patógenos.

2.7 Conservadores para quesos frescos.

Como aditivos de alimentos sólo pueden usarse conservadores de pureza especial o estándar. En general las exigencias de pureza se refieren principalmente al contenido de metales pesados,

toxicológicamente relevantes y a impurezas específicas derivadas del proceso de síntesis (Lück, 1995).

Entre los conservadores autorizados para quesos, especialmente para los frescos, se encuentran: el ácido sórbico y sus sales, así como el ácido benzoico y sus sales.

Ácido sórbico ó ácido 2,4-hexadienoico. Obtenido por primera vez en 1859 por Hofmann a partir del aceite de bayas de serba, su acción antimicrobiana fue descubierta por Müller en 1939.

Se produjo industrialmente por primera vez a mediados de la década de 1950 y se usa desde entonces, de modo creciente como conservador de alimentos. Actualmente se prefiere sobre otros conservadores debido a su inocuidad fisiológica y neutralidad organoléptica (Lück, 1995).

El ácido sórbico se utiliza como ácido libre y en forma de sales de sodio, potasio y calcio, y en diversas presentaciones como polvo, gránulos y disoluciones. Los ésteres del ácido sórbico con alcoholes de cadena corta, que igualmente tienen acción antimicrobiana, carecen de importancia conservadores de alimentos debido a su intenso olor.

La sal más utilizada, el sorbato de potasio (2,4-hexadienato de potasio) tiene masa molar de 150.22; es un polvo blanco cristalino que no presenta cambio de color después de calentar durante 90 minutos a 105° C.

Es el más soluble de los sorbatos; a temperatura ambiente, 138 g de sorbato de potasio se disuelven en 100 g de agua y hasta 54 g de

esta sal, se disuelven en 100 g de solución de cloruro de sodio al 10%, lo cual es una ventaja en alimentos (Lück, 1995).

El ácido sórbico irrita las mucosas, pero solamente en las personas altamente sensibles es capaz de causar irritación en la piel. El potencial alergénico del ácido sórbico es extremadamente bajo, puesto que como sustancia de bajo peso molecular, no causa respuesta inmune. Es fácil y rápidamente biodegradable en el suelo y en aguas residuales (Lück, 1993).

En prácticamente todos los países del mundo está permitido el uso de ácido sórbico y sorbatos de potasio y calcio, para la conservación de muchos alimentos. Las cantidades permisibles máximas, salvo en casos excepcionales, se encuentran entre el 0.1 y el 0.2%.

Su efectividad es mejor en alimentos ácidos, en valores por debajo de pH 6 y generalmente es ineficaz por encima de pH 6.5. Sus compuestos son más eficaces que el benzoato de sodio entre pH 4 y 6. Por debajo de pH 3, los sorbatos son escasamente más eficaces que los propionatos, pero casi igual que los benzoatos.

En general, los cocos catalasa-positivos son más sensibles que los catalasa-negativos y los aerobios más sensibles que los anaerobios. La resistencia de las bacterias ácido lácticas a los sorbatos, especialmente a pH 4.5 o por encima, permite su uso como funguicida en productos en los que hay fermentación láctica (Jay, 2005).

Se ha demostrado su eficiencia contra *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, coliformes y bacterias psicrótrofas que causan

alteraciones, especialmente *Pseudomonas*. El ácido sórbico prácticamente carece de acción sobre *Clostridia* (Jay, 2005).

Para que el ácido sórbico y sus sales sean capaces de desarrollar su acción dentro de la célula microbiana, tienen que penetrar primero a través de la pared celular. Cuando esto sucede, es principalmente el componente ácido el que entra. Así, a pH 3.5 un 40% del ácido sórbico disponible pasa al interior de la célula, mientras que a pH neutro el 99% del ácido sórbico es intracelular (Oka, 1960).

Este hecho explica por que su acción depende del pH. Para la conservación de alimentos, la porción no disociada del ácido sórbico tiene con mucho, la acción más eficaz. (Lück, 1995).

Las concentraciones inhibitoras mínimas del ácido sórbico, cuando se utiliza frente a algunas bacterias, levaduras y mohos implicados en la alteración de alimentos, se muestran en las tablas 3 a 5.

Tabla 3. Acción inhibitora del ácido sórbico frente a las bacterias.

Nombre del microorganismo	Valor pH	Concentración inhibitora mínima en ppm
<i>Pseudomonas spp</i>	6.0	1000
<i>Micrococcus spp</i>	5.5-6.4	500 - 1500
<i>Pediococcus cerevisiae</i>		1000
<i>Lactobacillus spp</i>	4.4-6.0	2000 - 7000
<i>Achromobacter spp</i>	4.3-6.4	100 - 1000
<i>Escherichia coli</i>	5.2-5.6	500 - 1000
<i>Serratia marcescens</i>	6.4	500
<i>Bacillus spp</i>	5.5-6.3	500 - 10 000
<i>Clostridium spp</i>	6.7-6.8	>1000
<i>Salmonella spp</i>	5.0-5.3	500 - 10 000

Fuente: (Lück, 1995)

Tabla 4. Acción inhibitoria del ácido sórbico frente a las levaduras.

Nombre del microorganismo	Valor pH	Concentración inhibitoria mínima en ppm
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	3.0	250
<i>Saccharomyces ellipsoideus</i>	3.5	200 - 2000
<i>Saccharomyces spp</i>	3.2-5.7	300 - 1000
<i>Hansenula anomala</i>	5.0	5000
<i>Brettanomyces versatilis</i>	4.6	2000
<i>Byssochlamys fulva</i>	3.5	500 - 2500
<i>Rhodotorula spp</i>	4.0-5.0	1000 - 2000
<i>Toruplosis holmii</i>	4.6	4000
<i>Torula lipolytica</i>	5.0	1000 - 2000
<i>Kloeckera apiculata</i>	3.5-4.0	1000 - 2000
<i>Candida krusei</i>	3.4	1000
<i>Candida lipolytica</i>	5.0	1000

Fuente: (Lück, 1995)

Tabla 5. Acción inhibitoria del ácido sórbico frente a los mohos.

Nombre del microorganismo	Valor pH	Concentración inhibitoria mínima en ppm
<i>Rhizopus</i> spp	3.6	1200
<i>Mucor</i> spp	3.0	100 - 1000
<i>Geotrichum candidum</i>	4.8	10 000
<i>Oospora lactis</i>	2.5-4.5	250 - 2000
<i>Trichopyton</i>	ND	1000
<i>mentagrophytes</i>		
<i>Penicillium</i> spp	3.5-5.7	200 - 1000
<i>Penicillium digitatum</i>	4.0	2000
<i>Penicillium glaucum</i>	3.0	1000 - 2500
<i>Aspergillius</i> spp	3.3-5.7	200 - 1000
<i>Aspergillius flavus</i>	ND	1000
<i>Aspergillius niger</i>	2.5-4.0	1000 - 5000
<i>Botrytis cinerea</i>	3.6	1200 - 2500
<i>Fusarium</i> spp	3.0	1000
<i>Cladosporium</i> spp	5.0-7.0	1000 - 3000

Fuente: (Lück, 1995)

N.D. = No determinado

Uno de los principales campos de aplicación de los sorbatos son los quesos de todo tipo, y constituyen una elección dictada por su acción favorable en el rango del producto y por su acción específica sobre los mohos (Lück, 1958). El ácido sórbico y los sorbatos se usan para conservar queso duro durante el período de maduración y para proteger al queso en los empaques finales. La acción de ambos frente a los microorganismos formadores de micotoxinas, es particularmente importante (Wallhäußer y Lück, 1970).

Los métodos de aplicación de los sorbatos dependen del tipo de queso y de la finalidad del conservador, pero se pueden resumir en los siguientes:

- En forma de ácido sórbico o de sorbato de potasio, como se añade al queso fresco o fundido, directamente en la masa;
- en forma de sorbato de potasio adicionado a la salmuera;
- en forma de polvo para el espolvoreado del queso;
- en forma de solución acuosa de sorbato para la inmersión, aspersion o lavado del queso;
- en forma suspensión de sorbato de calcio para el tratamiento del queso duro en maduración;
- en los materiales de envasado fungistáticos o en compuestos de revestimiento que contienen ácido sórbico, sorbato de potasio o de calcio como ingredientes activos.

Ácido benzoico ó ácido benceno-carboxílico. Su acción antimicrobiana fue descrita por vez primera en 1875, por H. Fleck, (Strahlmann, 1974) al intentar encontrar un sustituto del, entonces ya familiar, ácido salicílico. A diferencia del ácido salicílico, el ácido benzoico no pudo inicialmente producirse sintéticamente en grandes cantidades, por lo que, hasta el cambio de siglo, no fue introducido en la conservación de alimentos. Desde entonces, ha sido un conservador ampliamente utilizado en todo el mundo, principalmente debido a su bajo precio, aunque recientemente ha habido una tendencia perceptible a restringir su uso, en favor de otros conservadores considerados mejores desde el punto de vista toxicológico (Lück, 1995).

El ácido benzoico se utiliza como tal y como sal de sodio, que tiene mayor solubilidad en agua. En casos excepcionales también se emplea el benzoato de potasio.

El benzoato de sodio tiene masa molar de 144.11 es un polvo cristalino blanco, casi inodoro, con una solubilidad en agua, a temperatura ambiente de 63 g por cada 100 g.

El ácido benzoico es un aditivo alimentario con considerable potencial sensibilizador. Tanto después de la administración oral como de la aplicación tópica, puede causar reacciones de intolerancia tales como urticaria, asma y, en casos extremos, choque anafiláctico (Michills, 1991). En la mayoría de los países el ácido benzoico y los benzoatos han sido permitidos legalmente para la conservación de alimento durante muchos años. Salvo algunas excepciones las cantidades permisibles máximas están entre el 0.15 y 0.25% (Lück, 1995).

La acción antimicrobiana de este conservador se basa en diversas intervenciones sobre el sistema enzimático de los microorganismos. En muchas bacterias y levaduras, por ejemplo, inhibe a las enzimas que controlan el metabolismo del ácido acético y la fosforilación oxidativa (Bosund, 1962). Y parece inhibir también a la tirosinasa; el ácido benzoico actúa también sobre la pared celular. (Menon, 1990).

Para que sea capaz de desarrollar su acción dentro de la célula microbiana, el ácido benzoico tiene que penetrar a través de la pared celular. La parte no disociada es la que penetra con mayor facilidad, por tanto, la acción del ácido benzoico es dependiente del pH; actúa mejor a valores bajos. En contra de mohos y levaduras actúa alrededor de pH 5 a 6. Únicamente la parte no disociada tiene acción antimicrobiana. Sólo puede usarse para conservar alimentos fuertemente ácidos. Debido a su constante de disociación relativamente alta, de 6.46×10^{-5} . Dependiendo de la concentración, el ácido benzoico puede reducir el valor de pH intracelular. Este efecto,

que igualmente contribuye a inhibir el crecimiento y a destruir células (Saldmon, 1984) es más pronunciado en la porción de ácido no disociado (Eklund, 1985)

En términos generales, la acción del ácido benzoico está dirigida principalmente contra levaduras y mohos, incluidos los microorganismos productores de aflatoxinas. Las bacterias sólo son inhibidas parcialmente; tiene menos efecto sobre las bacterias ácido lácticas y clostridios (Uraih y Chipley, 1976,).

Las concentraciones inhibitoras mínimas del ácido benzoico frente a bacterias, levaduras y mohos importantes en la alteración de los alimentos, se muestran en las tablas 6 a 8.

Tabla 6. Acción inhibitora del ácido benzoico sobre las bacterias.

Nombre del microorganismo	Valor pH	Concentración inhibitora mínima en ppm
<i>Pseudomonas</i> spp	6.0	2000 - 4800
<i>Micrococcus</i> spp	5.5-5.6	500 - 1000
<i>Streptococcus</i> spp	5.2-5.6	5000 - 10 000
<i>Lactobacillus</i> spp	4.3-6.0	3000 - 18 000
<i>Escherichia coli</i>	5.2-5.6	500 - 1200
<i>Bacillus cereus</i>	6.3	5000

Fuente: (Rehm, 1961)

Tabla 7. Acción inhibitoria del ácido benzoico sobre las levaduras

Nombre del microorganismo	Valor pH	Concentración inhibitoria mínima en ppm
Levaduras esporogénicas	2.6-4.5	200 - 2000
Levaduras no esporogénicas	4.0-5.0	700 - 1500
<i>Hansenula subpelliculosa</i>	ND	2000 - 3000
<i>Picchia membranaefaciens</i>	ND	7000
<i>Picchia pastori</i>	ND	3000
<i>Candida krusei</i>	ND	3000 - 7000
<i>Toruplosis spp</i>	ND	2000 - 5000
<i>Rhodotorula spp</i>	ND	1000 - 2000
<i>Oospora lactis</i>	ND	3000

Fuente: (Balatsouras y Polymenacos, 1963)

N.D.= No determinado

Tabla 8. acción inhibitoria del ácido benzoico sobre los mohos

Nombre del microorganismo	Valor pH	Concentración inhibitoria mínima en ppm
<i>Rhizopus nigricans</i>	5.0	300 - 1200
<i>Mucor racemosus</i>	5.0	300 - 1200
<i>Penicillium spp</i>	2.6-5.0	300 - 2800
<i>Penicillium glaucum</i>	5.0	4000 - 5000
<i>Aspergillus species</i>	3.0-5.0	200 - 3000
<i>Cladosporium herbarum</i>	5.1	1000

Fuente: (Rehm, 1961)

2.8 Queso tipo Panela y Queso tipo Oaxaca

Estas variedades de queso, ampliamente conocidas y consumidas en México, están descritas y normadas por la NOM-121-SSA1-1194. Bienes y Servicios. Quesos: frescos, madurados y procesados. Especificaciones Sanitarias.

En el capítulo 5 de la norma, dedicado a la Clasificación, se consideran 4 tipos de quesos: frescos, madurados, procesados y otros. Dentro de los frescos, están estos grupos:

- Frescales, dentro de los cuales está el **Panela**, además del Canasto, Sierra, Ranchero, Fresco y otros.
- De pasta cocida, entre los cuales están el **Oaxaca**, así como Asadero, Mozzarella, De Morral y otros).
- Acidificados: Cottage, Crema, Doble crema, Petit Suisse, Nuefchatel

En cuanto a las especificaciones sanitarias quesos, la NOM establece en el capítulo 7, las especificaciones microbiológicas (inciso 7.3 de la NOM), que se encuentran en la tabla 9:

Tabla 9. Especificaciones Microbiológicas para quesos de diferentes tipos.

MICROORGANISMOS	LÍMITE MÁXIMO		
	QUESOS		
	FRESCOS	MADURADOS	PROCESADOS
Coliformes fecales (NMP/g)	100	50	
<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)	1000	100	< 100
Hongos y levaduras (UFC/g)	500	500	100
<i>Salmonella</i> en 25 g	AUSENTE	AUSENTE	AUSENTE
<i>Listeria monocytogenes</i> en 25 g	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Fuente: NOM-121-SSA1-1994

Finalmente, la NOM establece que se permite el empleo de ciertos conservadores (inciso 7.6.3) para quesos madurados y procesados, pero para quesos frescos únicamente señala (7.6.3.4):

“Para los quesos no considerados en los puntos 7.6.3.1 [quesos madurados prensados] y 7.6.3.2 [quesos procesados] sólo podrá aceptarse la presencia de ácido sórbico, ácido benzoico o sales de sodio o potasio de los ácidos anteriores, como efecto de transferencia de los ingredientes opcionales.”

Esto plantea una situación complicada, porque en la NOM no se indica cuáles son los ingredientes opcionales. Al no haber ingredientes opcionales autorizados (ni prohibidos), no queda definida esta situación.

En cambio, en el *Codex Alimentarius*, en el estándar *Codex Stan 221-2001: Codex Group Stan for unripened cheese including fresh cheese (Estándares para Quesos no madurados incluyendo queso fresco)* especifica que se pueden usar ácido sórbico y sorbatos de potasio y calcio, hasta 1g/kg, simples o combinados, expresados como ácido sórbico. También permite nisina y ácido propiónico y propionatos. No indica que se autoricen ácido benzoico o benzoatos.

Finalmente, la NOM 121-SSA1-1994, señala que:

- Los productos objeto de la norma se deben envasar en recipientes de tipo sanitario, elaborados con materiales inocuos y resistentes a distintas etapas del proceso (inciso 11.1), de tal manera que no reaccionen con el producto o alteren las características físicas, químicas y organolépticas.
- Para el embalaje se debe usar material resistente que ofrezca la protección adecuada a los empaques para impedir su deterioro exterior, a la vez que facilite su manipulación, almacenamiento y distribución (inciso 11.2).

- El transporte (inciso 11.2) foráneo o local de los productos objeto de esta Norma Oficial Mexicana [121-SSA1-1994) debe ser en vehículos que cuenten con el sistema de refrigeración o material térmico adecuado que conserve los productos a una temperatura máxima de 7 °C.
- La exhibición y venta (inciso 13) de los quesos objeto de esta norma se permite en locales que tengan las condiciones de higiene, limpieza y que cuenten con equipo de refrigeración para conservar el producto a la temperatura máxima de 7 °C.

Los quesos panela y Oaxaca que se venden en el Distrito Federal, en camionetas que se estacionan en la vía pública, han sido estudiados por un largo período en el Departamento de Alimentos y Biotecnología de la Facultad de Química de la UNAM, para determinar su calidad microbiológica; este trabajo es parte de dicho proyecto y consiste en determinar la presencia de conservadores en esos quesos.

2.8.1 Características del queso tipo Panela

El queso tipo Panela es un queso fresco, de pasta blanda, elaborado con leche pasteurizada de vaca (ocasionalmente de vaca / cabra), entera o parcialmente descremada.

Como todos los quesos frescos mexicanos su composición incluye un porcentaje elevado de agua (hasta 58%) y por ello es altamente perecedero, de ahí que tenga que conservarse bajo refrigeración desde el momento de su elaboración.

El queso tipo Panela al comercializarse poco tiempo después de elaborado muestra un color blanco brillante (es indicador de frescura), una pasta fácilmente tajable y un sabor lácteo.

Uno de los rasgos característicos de este queso es el moldeo de la cuajada que se efectúa en típicos cestos o canastos de mimbre palma o carrizo (aunque actualmente ya se hace también en cestos de plástico) en donde adquiere su forma característica por drenado, durante varias horas. Durante dicho drenado (y desuerado por exudación) las piezas se voltean varias veces.

La cantidad de cuajo influye directamente en el tiempo de coagulación, pero si se pone una cantidad excesiva, el cuajo puede darle un sabor amargo al queso. Por debajo de 10 °C, no es posible la unión los puentes de calcio con la caseína, por lo que no puede precipitar, y a una temperatura mayor de 40 °C, el cuajo se inactiva.

La temperatura de cuajado es de 32° C con un tiempo de 120 minutos; para obtener las características de este tipo de queso. Además no realiza corte de la cuajada. La adición de sal se realiza en la leche antes de cuajar. (Nieto y Cañizo, 2004)

Una vez obtenida la cuajada, se cuele y se coloca en los moldes con agujeros y envuelta en una manta y se elimina el excedente de suero que ha quedado en la pasta.

Como en la mayoría de los quesos mexicanos, no se sabe con certeza cual es el origen de este producto. Sin embargo, se supone que el tipo Panela es un queso oriundo realmente de México, pues si bien el ganado y la leche son de origen español, los cestos, y los canastillos provienen de las culturas indígenas prehispánicas.

El cuadro siguiente, muestra los datos de composición básica del queso tipo panela, pertenecientes a dos muestras comerciales difundidas en la capital del país:

Tabla 10. Composición básica del queso tipo Panela

	% H ₂ O	% SÓLIDOS TOTALES	% GRASA	% PROTEINAS	% CENIZAS	% SAL	pH
M1	58.0	42.0	20.0	20.0	3.8	2.2	5.5
M2	48.4	51.6	22.5	23.3	2.4	1.8	5.4

Fuente: (M1) Análisis directo; Rodríguez, P. (1988) (M2) Kosikowski F

Se observa, que no obstante que el pH es relativamente bajo, debido a la elevada concentración de humedad y a la escasez de sal, ese parámetro no logra ejercer un gran efecto inhibitorio en los microorganismos de deterioro. Por ello la vida de anaquel de este producto es corta, solamente algunos días, y bajo refrigeración.

El Panela circula en el mercado en piezas y se comercializan por lo general, al corte; puede considerarse como un queso mexicano verdaderamente popular, aunque también es apreciado por consumidores de mayor estatus socioeconómico.

2.8.2 Características del queso tipo Oaxaca.

Existen pocos estudios científicos sobre las condiciones de elaboración y las características reológicas y sensoriales del queso tipo Oaxaca. En nuestro país, el queso tipo Oaxaca se produce a nivel artesanal e industrial con características diferentes (Arvizu, 2004)

El queso tipo Oaxaca es un queso fresco, típico mexicano de pasta hilada elaborado normalmente con leche cruda de vaca (bronca) más leche o suero ácidos. También se puede lograr la acidez deseada por acidificación directa o por cultivos liofilizados de inoculación directa, empleando leche pasteurizada.

El queso tipo Oaxaca se produce desde nivel artesanal hasta en industrias grandes y pequeñas, en los estados de Querétaro, Guanajuato, Jalisco, Estado de México, Hidalgo, Tlaxcala y Morelos, ya que el nivel de equipo y maquinaria que se necesita para su elaboración es mínimo. La descremadora es uno de los equipos más importantes en su elaboración.

Es recomendable usar cultivos liofilizados de inoculación directa, reguladores de acidez, proteína de leche, cloruro de calcio purificado (0.020 a 0.040 %), cloruro de potasio para dar elasticidad a la cuajada y conservadores para lograr un mayor rendimiento y conservación del producto.

El tiempo de elaboración de este queso es muy largo (12 a 15 h), debido a que el proceso de acidificación de la cuajada, punto clave para fundirla y obtener la hebra característica, varía entre 6 y 8 h. Hasta ahora no hay trabajos científicos acerca de su elaboración, ni de sus características fisicoquímicas.

Sin embargo en un estudio realizado por Aguilar (2006), se obtuvieron los siguientes rangos para las características del queso tipo Oaxaca: proteína 48 %, grasa de 13.7% y humedad de 53.7%.

Durante su elaboración, la cuajada previamente acidificada o chedarizada, se masajea en agua caliente a 80 °C dentro de un recipiente hasta lograr su plastificación y posterior hilación.

El queso tipo Oaxaca posee una estructura única, caracterizada por la cantidad de material fibroso, muy similar al del *Mozzarella*. El proceso de elaboración de estos quesos requiere un estricto control del pH en la cuajada. La condición óptima para el fundido de la cuajada y estirado de la hebra está en pH de 5.2 a 5.4

2.9 Cromatografía de líquidos (HPLC)

El análisis por Cromatografía de líquidos de alta eficiencia CLAE (HPLC, por sus siglas en inglés) es rápido y eficiente y permite detectar cantidades tan pequeñas como 200 pg de material. Las oportunidades para aplicar la técnica de HPLC son casi ilimitadas, como resultado de que los instrumentos HPLC se han convertido en herramientas indispensables para muchos científicos e industriales.

Esta técnica puede ser aplicada a una gran variedad de muestras, más que otras técnicas de separación y es aplicable a mezclas extremadamente complejas encontradas en sistemas químicos y biológicos.

HPLC, es una de las técnicas analíticas más ampliamente utilizadas debido a que ha tenido una gran diversidad de aplicaciones tales como: investigación química y bioquímica; análisis de mezclas complejas, purificación de compuestos. Control de calidad; asegurando la pureza de materia prima, evaluando la estabilidad de productos y monitoreando su degradación. Control ambiental; analizando contaminantes en agua y aire, monitoreando niveles de plaguicidas en el ambiente, entre otros (Bidlingmeyer, 1992).

La cromatografía de líquidos está basada en el hecho de que, bajo las mismas condiciones, cada componente en una mezcla interactúa con su ambiente diferenciadamente de todos los demás componentes.

Cuando es usada como una herramienta analítica, la cromatografía de líquidos puede determinar el número de componentes de una mezcla, la cantidad presente de cada uno y el grado de pureza de los mismos. Cuando se utiliza en conjunción con otras técnicas analíticas, ayuda en la identificación de los componentes.

La separación es requerida cuando:

- 1) una mezcla es demasiado compleja para una medición analítica directa,
- 2) los materiales para ser analizados son muy similares,
- 3) cuando es necesario preparar materiales altamente purificados
- 4) cuando se requiere medir la cantidad de un material en particular (Bidlingmeyer, 1992).

La aplicación del HPLC en análisis de alimentos comenzó a finales de los 60's. Su uso en el campo de los alimentos se elevó súbitamente con la evolución de los materiales de las columnas que podían separar azúcares (Bidlingmeyer, 1992).

La mezcla para ser analizada es disuelta en un disolvente adecuado, introducida o "inyectada" en una de las terminales de la columna y es acarreada a través de la columna por un flujo continuo del mismo disolvente (fase móvil) en el cual la muestra fue disuelta.

La separación tiene lugar en esta columna que contiene moléculas de adsorbentes de gran superficie. Estas partículas son conocidas como la fase estacionaria. El dispositivo para la aplicación de un volumen preciso de muestra es el inyector. Los componentes de la muestra que son inyectados interactúan con la fase estacionaria de manera continua. La fase móvil (también llamada eluyente) es bombeada a través de la columna de partículas estrechamente empacadas usando un sistema de bombeo de solvente.

Con la selección adecuada de la fase móvil y el material de empaque de la columna, los componentes de la mezcla viajan a través de la columna a diferentes velocidades. Conforme emergen de la columna los componentes, un detector adecuado transmite una señal al dispositivo de grabación. Alguna veces la instrumentación contiene un dispositivo de mezcla de solventes y otra bomba para un gradiente de elusión (Bidlingmeyer, 1992).

3. Objetivo General:

- Determinar si hay presencia de sorbatos y/o benzoatos en quesos tipo Panela y tipo Oaxaca, que se expenden en camionetas, en la vía pública, en el Distrito Federal.

Objetivos particulares:

- Montar el método para la determinación de sorbatos y benzoatos en quesos, mediante Cromatografía de Líquidos de Alta Eficiencia (HPLC).
- Mejorar el proceso de extracción para la determinación de sorbatos y benzoatos en quesos.
- Determinar estos dos conservadores en los quesos en cuestión.

4. METODOLOGÍA

Para la determinación de los conservadores sorbato de potasio y benzoato de sodio en quesos Panela y Oaxaca, se utilizó Cromatografía de Líquidos de Alta Eficiencia (HPLC por sus siglas en inglés), acoplado a un espectrofotómetro UV/Vis como detector para la identificación y cuantificación de ambos conservadores.

4.1 Muestras

Las muestras fueron obtenidas de distintas camionetas que expenden productos de Oaxaca, escogidas al azar en diferentes zonas de la ciudad y área metropolitana.

En todos los casos se adquirieron las muestras, como lo hace el consumidor, es decir que se recibieron en las bolsas de plástico que utilizan los comerciantes. Enseguida se registró la temperatura del producto y se transportaron las muestras al laboratorio para determinar sorbatos y benzoatos. En las mismas muestras, otros miembros del equipo determinaron calidad microbiológica.

4.2 Reactivos

- Para elaboración de estándares y solución fortificante:
Benzoato de sodio J. T. Baker; G.A, sorbato de potasio J.T. Baker; G.A. y agua destilada.
- Para la técnica de HPLC:
Acetonitrilo J. T. Baker; Grado HPLC, hidróxido de amonio J. T. Baker; R.A., agua destilada, ácido acético glacial J. T. Baker; R.A.
- Para la extracción:
Acetonitrilo J. T. Baker; Grado HPLC y buffer de acetato de amonio al 2%

4.3 Equipo

- Cromatógrafo de líquidos de alta eficiencia marca Perkin Elmer modelo Binary LC Pump 250; con las siguientes especificaciones:

Velocidad de Flujo:

Alcance: 0-10 mL/min

Incrementos: 0.01 desde 0 hasta 0.99 y 0.1 desde 0 hasta 0.99 y 10.

Presión: Alcance: 0-6200 psi

Límites: límites alto y bajo ajustables a incrementos de 100 psi.

Flujo: Precisión: desviación estándar de 0.3% a 1mL/min. y 1000 psi, con agua.

Exactitud: $\pm 1\%$ a 1mL/min y 1000 psi, con agua.

Pulsaciones: min/max 2% p/p a 1 mL/min y 1000 psi.

Linealidad: dentro de $\pm 1\%$ absoluto desde 10% hasta 90% medido a 5mL/min.

- Columna para cromatografía de líquidos Waters Spherisorb 5 μ m ODS2 C-18 4.6x250 mm
- Detector; Waters 2487 Dual λ Absorbance Detector
Ajustable, de dos canales, UV/Vis diseñado para aplicaciones en HPLC
- Sonicador, modelo 3210 Branson, Ultrasonic Cleaner.
- Equipo de filtración en membrana Millipore®.
- Balanza analítica Mettler-Toledo AG245

4.4 Material

- Filtros Millipore® de 47mm X 0.45 μm para la fase móvil y filtros Millipore® de 47mm X 0.45 μm para disolventes orgánicos para las muestras.
- Espátulas
- Vidrios de reloj
- Probetas de 500 mL
- Vasos de pp de 50mL
- Vasos de pp 1000 mL
- Pipetas de 10mL
- Pipetas de 1mL
- Pipetas de 5mL
- Barras magnéticas
- Parrilla con agitador magnético
- Matraces aforados de 500 mL.
- Matraces aforados de 100 mL
- Frascos ámbar de 1 L
- Tubos de ensayo de 16x150mm, con tapón.
- Propipetas
- Jeringas de 5mL
- Papel filtro
- Embudos de vidrio

4.5 Preparación de la fase móvil

La fase móvil, consistió en 70% de buffer acetato de amonio con 30% de acetonitrilo.

Para la preparación del buffer de acetato de amonio se midieron 400 mL de agua destilada y se colocaron en un vaso de precipitados de 1 L, con un agitador magnético y dentro de la campana; una vez iniciada la agitación se le adicionaron 10 mL de ácido acético glacial hasta homogenizar.

Inmediatamente se agregó hidróxido de amonio hasta alcanzar un pH de 5. Esta mezcla se colocó en un matraz aforado de 500 mL y se aforó

con agua destilada. Una vez obtenidos los 500 mL de buffer de acetato de amonio al 2%, se procedió a filtrar con ayuda de un equipo Millipore® y membrana de 0.45 µm para eliminar partículas que pudieran interferir en el análisis.

Después de la filtración, tanto el buffer como el acetonitrilo se colocaron dentro de un sonicador (3210 Branson) para eliminar el aire y evitar la consecuente formación de burbujas que pudiesen interferir durante la cromatografía.

El acetato de amonio y el acetonitrilo se mezclaron dentro del cromatógrafo de líquidos (Perkin Elmer) para crear el gradiente mediante el sistema de bombeo con que cuenta este modelo.

4.6 Preparación del estándar

Para la disolución *stock* se pesaron 0.1000 g de benzoato de sodio y 0.1000 g de sorbato de potasio, se colocaron en sendos matraces aforados de 100 mL y llevados al aforo con agua destilada. Las diluciones de trabajo se realizaron como indica la siguiente tabla:

Tabla 11. Preparación de solución patrón

Volumen stock (mL)	Volumen H₂O (mL)	Concentración (µg/mL)	Volumen total (mL)
7.5	2.5	750	10
5	5	500	10
2.5	7.5	250	10
1	9	100	10

Estas soluciones fueron diluidas para poder llevar a cabo el estudio, ya que los cromatogramas mostraron intensos picos. Las diluciones con las que se trabajó fueron las siguientes:

Tabla 12. Concentración final de diluciones de solución patrón

Sorbato de potasio ($\mu\text{g/mL}$)	Benzoato de sodio ($\mu\text{g/mL}$)
10	90
7.5	67.5
5	45
2.5	22.5

Aunque en la literatura se sugieren concentraciones de 100 a 750 μg de sorbato y benzoato para el estándar, en el montaje del método resultaban muy elevadas, por lo que se llegó a las que se indican, como adecuadas para estas condiciones de trabajo.

4.7 Preparación de la solución fortificante

Para asegurar que los picos obtenidos en los cromatogramas sean claros, se utilizan soluciones fortificantes de las sustancias que se buscan, en concentración conocida. Se prepararon soluciones de sorbato de potasio y de benzoato de sodio, con una concentración de 100 $\mu\text{g/mL}$ cada una.

Para ello se pesaron 0.1006 g de sorbato de potasio y se llevaron a 100mL con agua destilada, en un matraz aforado. Para la solución de benzoato de sodio se pesaron 0.1002 g de benzoato de sodio y se llevaron a 100mL en un matraz aforado, con agua destilada. De cada una de las soluciones, una vez homogeneizada, se transfirieron 10 mL a otro matraz aforado de 100 mL y se llevaron a ese volumen, con agua

destilada. Estas soluciones contienen 100 µg/mL del conservador, cada una según el caso.

Finalmente la solución fortificante fue elaborada mezclando ambas soluciones en una proporción de 1:10 sorbato de potasio/ benzoato de sodio; con dicha mezcla se fortificaron cada una de las muestras sometidas al análisis.

Esta proporción fue utilizada debido a la gran intensidad y tamaño de los picos obtenidos en los cromatogramas de las soluciones de los conservadores objeto del estudio.

Dicha solución fortificante funcionó como método de estándar externo para poder calcular el porcentaje de conservadores presentes en las muestras.

4.8 Preparación de la muestra

Para preparar las muestras se colocó aproximadamente 1g de muestra (queso Oaxaca o panela) dentro de un tubo de ensayo con tapón y se adicionaron 10 mL de fase móvil (70% acetato de amonio al 2% con 30% de acetonitrilo).

Los tubos se colocaron dentro del sonicador para favorecer la disolución, durante 40 minutos e inmediatamente después se filtró la mezcla en papel filtro y embudo de vidrio para eliminar el material no disuelto.

Al volumen filtrado se le agregaron entre 8 y 9 mL de acetonitrilo para precipitar las proteínas y grasa; se introdujo nuevamente en el sonicador

durante 40 minutos. Esta nueva disolución se filtró también pero esta vez con papel filtro y membrana Millipore® de 0.45 µm. El filtrado se sometió al sonicador 20 minutos más y, finalmente se filtró a través de la membrana Millipore® de 0.45 µm; el propósito de esta última filtración a través de membrana, es prevenir que partículas de las muestras dañaran la bomba, el sistema de inyección u obstruyeran la columna.

La disolución obtenida, para ser inyectada en el cromatógrafo de líquidos, debía ser translúcida; además se diluyó con 10mL de solución fortificante antes de introducirla en el equipo.

De cada tubo que contenía la muestra con solución fortificante se tomaron 20 µL y se inyectaron en el cromatógrafo para una posterior recolección de datos optimizada bajo las siguientes condiciones de operación:

Flujo: 0.8 mL/min.

Absorbancia: 260 nm

Presión: 1280 psi

Temperatura : 20°C (temperatura del laboratorio)

Tiempo : 10 min.

pH : 5

Volumen de inyección: 20 µL

Solvente: Acetato de amonio al 2% / Acetonitrilo (70:30)

5. Resultados

5.1 Parámetros cromatográficos.

Tiempo muerto: $t'_m = 2.793$ min.

Tiempo de retención ajustado:

$t'_{r1} = 6.103 - 2.793 = 3.31$ min.

$t'_{r2} = 7.130 - 2.793 = 4.337$ min.

Eficiencia: $N = 5.545(t'_r / W_{1/2})^2$

$N = 5.545 (4.337/0.14091)^2 = 5252.8 = 5253$

$W_{1/2} = 0.75\text{mm} = 0.15\text{min}$; $(0.15)(.9394) = 0.14091$

$N = 0.14091$

$2.5\text{mm} = 5\text{min}$

$0.75\text{mm} = X$ $X = 0.15$ min.

Selectividad: $\alpha = t'_{r2} / t'_{r1}$

$\alpha = 4.337/3.31 = 1.31$

Factor de capacidad: $k = t'_r / t_m$

$k_1 = 3.31 / 2.793 = 1.185$

$k_2 = 4.337/2.793 = 1.552$

Resolución: $(t'_{r2} - t'_{r1})^2 / Wb_1 + Wb_2$ $Wb = 0.2394$

$R = [(4.337 - 3.31)^2 / (0.2394 + 0.2394)] = 4.289$

Para poder calcular la cantidad de conservadores presentes en las muestras estudiadas, se elaboraron curvas patrón de sorbato de potasio y benzoato de sodio, al término de las determinaciones en las muestras, los valores obtenidos se interpolaron en estas curvas y de ese modo se pudo determinar la cantidad de los conservadores mencionados.

Las tablas 13 y 14 muestran los valores de áreas y concentraciones para cada conservador, obtenidas en las curvas patrón.

Tabla 13. Curva patrón de sorbato de potasio

Concentración	Área	Parámetros estadísticos
[10µg/mL]	76,593,848	MEDIA= 77599474
	74,567,376	D.E.=3723644.29
	75,311,040	C.V.=4.79
	83,925,632	
[7.5µg/mL]	62,341,500	MEDIA= 61964749
	58,553,936	D.E. = 2237670
	62,130,796	C.V.= 3.611
	64,832,764	
[5µg/mL]	37,243,520	MEDIA= 39385394
	39,936,676	D.E.= 2095590.05
	42,569,148	C.V.=5.32
	37,792,232	
[2.5µg/mL]	22,754,836	MEDIA= 22451480
	22,164,126	D.E.= 241421.65
	22,435,478	C.V.= 1.075

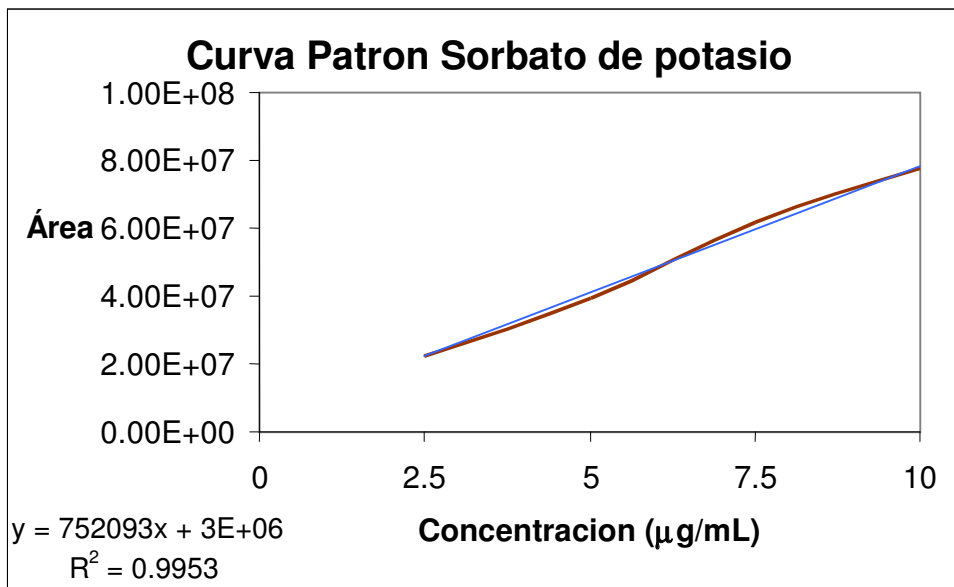
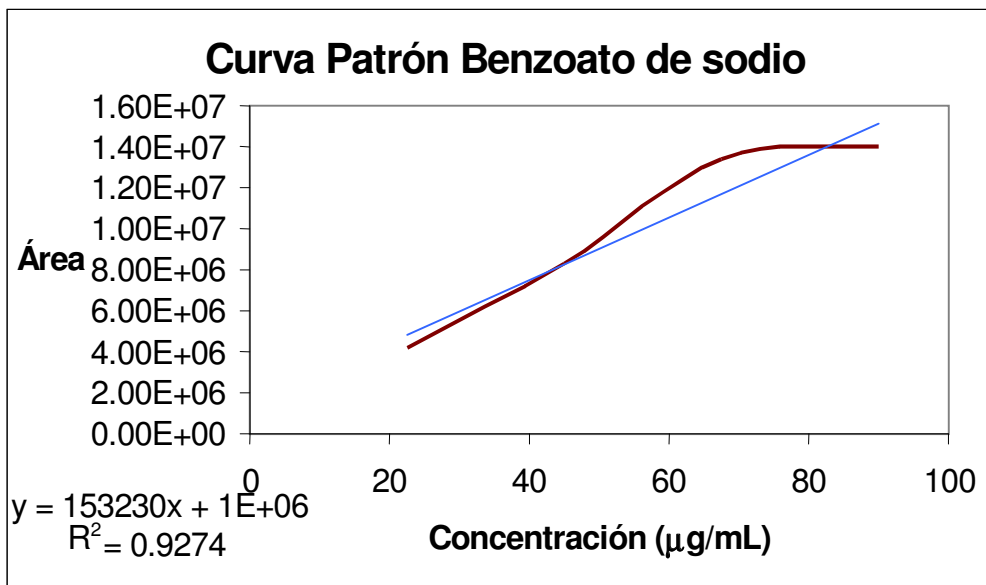


Tabla 14. Curva de Patrón de Benzoato de sodio

Concentración	Área	Parámetros estadísticos
[90µg/mL]	14,572,343	MEDIA=13981534
	13,230,478	D.E.= 677594.55
	13,386,914	C.V.= 4.84
	14,736,401	
[67.5µg/mL]	13,526,392	MEDIA= 13405489.5
	12,736,906	D.E.= 405016.8058
	13,530,072	C.V.= 3.02
	13,828,588	
[45µg/mL]	7,797,626	MEDIA= 8311672.5
	8,571,256	D.E.= 367864.699
	8,736,641	C.V.= 4.42
	8,141,167	
[22.5µg/mL]	4,293,529	MEDIA= 4187238
	3,966,554	D.E.= 156082.448
	4,301,632	C.V.= 3.72



Para la validación del método de extracción de conservadores en las muestras, se analizó una muestra comercial de queso tipo Parmesano en polvo de la marca Kraft, lote 20:12 W-1, contenido neto: 85 g, el cual reporta en la etiqueta que contiene sorbato de potasio como conservador; no indica la cantidad presente en el producto.

A esta muestra se le dio el mismo tratamiento descrito, y utilizado para las demás muestras de interés.

Los resultados obtenidos del cromatograma para la muestra de queso parmesano que se utilizó para validar la extracción, son los siguientes:

Promedio Área: 51,436,690

C.V. = 4.21%

Interpolando este valor de área en la curva patrón de sorbato de potasio y sustituyendo en la ecuación, obtenemos:

$$y = 7520933.48 x + 3344440$$

$$x = 51,436,690 - 3344440 / 7520933.48$$

$$x = 6.3944\mu\text{g/mL}$$

Para conocer el valor total de sorbato de potasio en la muestra de queso tipo parmesano se realizan los siguientes cálculos, según las diluciones realizadas:

$$6.3944\mu\text{g/mL} (10\text{mL}/1\text{mL}) = 63.944\mu\text{g/mL}_{\text{sorbato de potasio}}$$

$$63.944\mu\text{g/mL} / (3\text{mL}/12\text{mL}) = 255.776\mu\text{g/mL}_{\text{sorbato de potasio}}$$

$$255.776\mu\text{g/mL} (10\text{mL}) = 2557.76 \mu\text{g}_{\text{sorbato de potasio}}$$

$$2557.76 \mu\text{g} = 2.55 \times 10^{-3} \text{g}_{\text{sorbato de potasio}}$$

Dado que el peso de la muestra fue: 1.013g

$$x = 2.52495 \times 10^{-3} \text{g} \text{ ó } 2524.95 \mu\text{g}_{\text{sorbato de potasio}}$$

Y para reportar en porcentaje,

$$x = 0.2524 \% \text{ de sorbato de potasio}$$

lo que también equivale a 2524 ppm de sorbato de potasio, como conservador.

5.2 Determinación de conservadores

A continuación se muestran los resultados de la determinación de sorbato de potasio y benzoato de sodio (tablas 15 y 16) en 12 muestras con solución fortificante de los quesos tipo Panela y tipo Oaxaca; mediante la técnica de HPLC. La solución fortificante nos ayuda a determinar la presencia del conservador en cuestión; ya que al calcular el porcentaje de recuperación de una concentración conocida de conservador, se puede conocer la cantidad inicial de conservador presente. Al finalizar la técnica, un valor mayor al 100% de recuperación nos indica la posible presencia del conservador.

Tabla 15. Determinación y recuperación de Sorbato de potasio en 12 muestras con 4 réplicas por determinación.

Muestra	Sorbato de potasio [ppm]	Muestra con solución fortificante. [ppm]	% Recuperación
Solución fortificante	7.77	NA	NA
1 Sta. Teresa-Panela	ND	7.47	96.19
2 Sta. Teresa-Panela	ND	7.44	95.81
3 Sta. Teresa-Oaxaca	ND	7.77	100.04
4 Sn. Jerónimo-Panela	ND	7.93	102.02
5 Sn. Jerónimo-Oaxaca	ND	8.14	104.82
6 Sn. Jerónimo-Oaxaca	ND	8.20	105.55
7 Sn. Jerónimo-Panela	ND	8.00	102.94
8 Sn. Jerónimo-Oaxaca	ND	7.62	98.13
9 Sn. Jerónimo-Panela	ND	7.73	99.56
10 Zacatépetl-Oaxaca	ND	7.73	99.47
11 Zacatépetl-Panela	ND	7.87	101.25
12 Zacatépetl-Oaxaca	ND	7.77	100.01

Los resultados son promedios de 4 inyecciones.

NA: No Aplica ND: No Determinado

Tabla 16. Determinación y recuperación de Benzoato de sodio en 12 muestras con 4 réplicas por determinación.

Muestra	Benzoato de sodio [ppm]	Muestra con solución fortificante. [ppm]	% Recuperación
Solución fortificante	97.92	NA	NA
1 Sta. Teresa-Panela	ND	84.67	86.46
2 Sta. Teresa-Panela	ND	83.73	85.51
3 Sta. Teresa-Oaxaca	ND	81.73	83.46
4 Sn. Jerónimo-Panela	ND	83.89	85.67
5 Sn. Jerónimo-Oaxaca	ND	91.22	93.15
6 Sn. Jerónimo-Oaxaca	ND	91.94	93.89
7 Sn. Jerónimo-Panela	ND	90.15	92.07
8 Sn. Jerónimo-Oaxaca	ND	87.75	89.61
9 Sn. Jerónimo-Panela	ND	88.81	90.70
10 Zacatépetl-Oaxaca	ND	88.57	90.45
11 Zacatépetl-Panela	ND	90.36	92.28
12 Zacatépetl-Oaxaca	ND	89.66	91.56

Los resultados son promedios de 4 inyecciones.

NA: No Aplica ND: No Determinado

5.3 Cuantificación de conservadores

En la tabla 17 se muestran los resultados de los promedios de las 4 áreas obtenidas mediante los cromatogramas de la inyección de cada muestra sometida a este análisis. Con estos valores se lleva a cabo una interpolación en las curvas patrón realizadas para el sorbato de potasio y el benzoato de sodio, para cuantificar la concentración de los conservadores determinados por HPLC.

Tabla 17. Cuantificación de conservadores en 12 muestras fortificadas

Muestra	Benzoato de sodio Área	Benzoato de sodio [ppm]	Sorbato de potasio Área	Sorbato de potasio [ppm]
Solución fortificante	16,357,005	97.92	61,807,413	7.77
1 Sta. Teresa-Panela	14,326,867	84.67	59,580,752	7.47
2 Sta. Teresa-Panela	14,183,454	83.73	59,360,721	7.48
3 Sta. Teresa-Oaxaca	13,876,445	81.73	61,833,115	7.77
4 Sn. Jerónimo-Panela	14,207,618	83.89	62,990,290	7.93
5 Sn. Jerónimo-Oaxaca	15,330,242	91.22	64,626,734	8.14
6 Sn. Jerónimo-Oaxaca	15,440,430	91.94	65,053,729	8.20
7 Sn. Jerónimo-Panela	15,167,205	90.15	63,527,319	8.00
8 Sn. Jerónimo-Oaxaca	14,799,144	87.75	60,715,650	7.62
9 Sn. Jerónimo-Panela	14,961,675	88.81	61,550,525	7.73
10 Zacatépetl-Oaxaca	14,924,594	88.57	61,500,068	7.73
11 Zacatépetl-Panela	15,199,555	90.36	62,538,526	7.87
12 Zacatépetl-Oaxaca	15,091,954	89.66	61,815,579	7.77
ECUACIONES	$y=153229.8 x + 1352307$		$y=7520933.48x+3344440$	

6. Discusión

La detección y separación de sorbato de potasio y benzoato de sodio se alcanzó regulando el pH del buffer de acetato de amonio y su proporción dentro de la fase móvil. De este modo se optimizaron algunos parámetros como el tiempo de recolección de datos de cada corrida, el tiempo de retención, la intensidad y resolución en cada cromatograma.

Las condiciones óptimas encontradas para la separación de ambos conservadores, son:

- concentración de acetato de amonio al 2% y
- pH = 5
- proporción de 70:30 de acetato de amonio al 2% y acetonitrilo para la fase móvil.
- flujo de 0.8mL/min.

Con estas condiciones se logró una separación al 100% ($R > 1.5$) y tiempos de elusión razonablemente cortos.

El estudio se realizó en 12 muestras de quesos Panela y Oaxaca con la finalidad de determinar la presencia de conservadores en los mismos; sin embargo, los resultados obtenidos (tablas 15 y 16) muestran que; para las muestras analizadas previas a su fortificación se determinó que no existe presencia de ninguno de los 2 conservadores objeto de este estudio.

La determinación de conservador (sorbato de potasio) en una muestra comercial de queso Parmesano en polvo de la marca Kraft sirvió para verificar que la técnica de extracción de conservadores y la posterior determinación y cuantificación por medio de HPLC eran confiables y se obtuvieron resultados satisfactorios para dicha muestra. Por lo tanto se descartó la posibilidad que alguna de las técnicas no funcionara adecuadamente así como que estuviera presente algún error en el sistema de estudio.

Se recurrió a la fortificación de las muestras como una herramienta para determinar y posteriormente cuantificar los conservadores que pudieran estar presentes en cualquiera de las muestras estudiadas.

Cabe destacar que el porcentaje de recuperación en las muestras fortificadas es bastante aceptable (83 hasta 100%), lo que indica que la técnica se realizó correctamente y con resultados confiables según la bibliografía (Pylypiw, 2000)

Después de apoyarnos en la técnica de fortificación obtuvimos los resultados que se muestran en la Tabla 17, en los que se puede observar que la cantidad de conservadores cuantificada es muy similar a la cantidad de conservador contenida en la solución fortificante, salvo el caso de las muestras 4,5,6,7 y 11 para sorbato de potasio; que mostraron valores por encima del 100% de recuperación o lo que es lo mismo, cantidades de conservador mayores a 7.77 ppm.

A pesar de haber recuperado una cantidad mayor al 100%, es mínima comparada con la cantidad de conservador, en este caso sorbato de potasio, recomendada para conservación de quesos frescos.

A diferencia de lo ocurrido en el caso del sorbato de potasio en las muestras, el benzoato de sodio no pareció estar presente en ninguna muestra.

7. Conclusiones

El método utilizado en este trabajo provee de una técnica rápida y sencilla para la determinación de los conservadores sorbato de potasio y benzoato de sodio, con una preparación de muestra simple y muy conveniente para su aplicación en quesos.

Se llevó a cabo la determinación de conservadores en quesos Panela y Oaxaca procedentes de camionetas que expenden dichos productos sobre la vía pública; dichas camionetas únicamente cuentan con cajas aislantes y hielo para mantener “refrigerados” los productos; tampoco hay un método de envasado que preserve las características microbiológicas y organolépticas de estos productos. Se venden al público sin etiquetado en el que se indiquen formas de conservación, fechas de fabricación y/o caducidad. Dicho de otra manera, son productos que se introducen en el mercado como “artesanales”; se desconocen su verdadero origen y método de fabricación.

Aunque la calidad microbiológica de los productos fue determinada por otro equipo (Velázquez y Santillán) , se consideró pertinente incluir aquí dichos resultados:

Resultados de análisis microbiológicos realizado a muestras de Quesos. Mesófilos aerobios se determinó en placas Petrifilm; hongos y levaduras se determinaron en placas Petrifilm. Staphylococcus aureus enterotoxigénico se determinó por el método de Baird-Parker y Salmonella por el método de la NOM-144-SSA-1994. Método para la determinación de Salmonella en Alimentos

Muestra	Mesófilos Aerobios UFC/g	Hongos y levaduras		<i>Staphylococcus aureus</i> enterotoxigénico UFC/g	<i>Salmonella</i> spp.
		Hongos UFC/g	Levaduras UFC/g		
Camioneta de Zacatépetl					
Q. Oaxaca	15 x 10 ⁵	< 100, v.e.	180	n.d.	Ausente en 25 g
Q. Panela	13 x 10 ⁵	< 100, v.e.	120	n.d.	Ausente en 25 g
Camioneta de Santa Teresa					
Q. Oaxaca	14 x 10 ⁵	40, v.e	n.d.	n.d.	Ausente en 25 g
Q. Panela	13 x 10 ⁵	30, v.e	n.d.	n.d.	Ausente en 25 g
Camioneta de San Jerónimo	12 agosto 08				
Q. Oaxaca	12 x 10 ⁵	10, v.e	n.d.	n.d.	Ausente en 25 g
Q. Panela	19 x 10 ⁵	30, v.e	n.d.	n.d.	Ausente en 25 g
Camioneta de San Jerónimo	20 agosto 08				
Q. Oaxaca	78 x 10 ⁴	20, v.e	n.d.	n.d.	Ausente en 25 g
Q. Panela	86 x 10 ⁴	20, v.e	n.d.	n.d.	Ausente en 25 g

v.e = valor estimado; n.d. = no se detectaron

Como se puede apreciar, todos los quesos que analizamos en busca de sorbatos y benzoatos, cumplen con lo estipulado en la NOM121:SSA1.1994, pues la cantidad de hongos y levaduras presentes está muy por debajo del límite de 500 UFC/g y no se detectaron *Staphylococcus aureus* enterotoxigénico ni *Salmonella spp.* en 25 g. La norma no especifica límite de mesófilos aerobios, ya que pueden estar presentes en cantidades importantes por las bacterias lácticas que intervienen en la elaboración de quesos.

Se ha observado que la calidad microbiológica de estos productos es aceptable, por lo que son un riesgo mínimo para la salud del consumidor. Ahora que se han estudiado estos quesos mediante HPLC para la determinación de conservadores en los mismos, sabemos que no se utilizan para su elaboración.

Es sorprendente observar que son productos de buena calidad, cuando no figuran los conservadores en la formulación, se expenden y transportan con un sistema rudimentario de refrigeración.

Son una fuente ideal de nutrientes para los microorganismos en general, incluyendo a los causantes de ETA's, pero ninguno parece tener un desarrollo en los productos. Aunque generalmente cubren los quesos en las cajas aislantes, los productos no tienen la protección de un envase.

Con todo lo mencionado, se puede concluir que la calidad de estos productos es aceptable, salvo que contengan otros conservadores, lo cual conviene investigar.

A lo largo de diversos muestreos que forman parte del proyecto amplio, se han detectado dos condiciones que permiten explicar estos resultados, aunque es necesario comprobarlos:

- el queso panela que venden en todas las camionetas, es de la marca Covadonga; siempre se puede ver el sello en el producto. Covadonga es una quesería bien establecida, que seguramente tiene programas de BPHyS y de aseguramiento de calidad, lo que explica los buenos resultados del producto. Es probable que los demás quesos que venden, también sean elaborados adecuadamente, por una empresa seria y que no sean “artesanales” como supone su estilo de comercialización.
- También se ha observado que venden prácticamente todo el producto en cada jornada, lo que reduce el tiempo que los productos están expuestos a condiciones no idóneas y reduce el problema de contar sólo con cajas aislantes, en vez de refrigeración.

8. Bibliografía

- Aguilar, B. et. al. 2006. Uso de suero fermentado para reducir el tiempo de acidificación del queso Oaxaca. Agrociencia. Vol. 40, número 005. colegio de Postgraduados. Texcoco, México.
- Arvizu, P. et. al. 2004. Efecto de los factores de elaboración y almacenamiento sobre algunas características fisicoquímicas y sensoriales de queso Oaxaca. Revista Salud Pública y nutrición. Edición especial No. 6-2004. Monterrey, México
- Bidlingmeyer, B. 1992. Practical HPLC methodology and applications. 1° ed. John Wiley & Sons Inc. U.S.A.
- Bylund, M. G. & A. López Gómez. 2003. Manual de Industrias lácteas. Mundi-Prensa Libros. España. Disponible a través de Internet en: <http://books.google.com.mx/books?id=xcaN14spLCcC>
- Burkhalter, G. 1981. Catalogue of cheese. International Dairy Federation, Bulletin no. 141, Brussels.
- Codex Stan 221-2001. Norma Colectiva del Codex para el queso no madurado, incluido el queso fresco. Comisión del Codex Alimentarius. Disponible a través de Internet en: www.codexalimentarius.net/download/standards/363/CXS_221s.pdf
- D'Aoust, J. Y. et. al. 1985. *Salmonella typhimurium* phage-type 10 from Cheddar cheese implicated in major Canadian foodborne outbreak. Journal of food protection, 48.
- Eck, A. & J.C Gillis. 2000. Cheesemaking. From Science to Quality Assurance. Lavoisier Publishing Inc. New York, Paris.
- Frazier, W. C. 1993. Microbiología de alimentos. 4° ed. Ed. Acribia. España.
- Gammariello, D., S. Di Giulio, A. Conte and M. A. Del Nobile. 2008. Effects of Natural Compounds on Microbial Safety and Sensory Quality of Fior di Latte Cheese, a Typical Italian Cheese J. Dairy Sci. 2008. 91:4138-4146.
- Graber, K.H. 2008. Queso Mexicano. A guide to mexican Cheese. México Connect. Disponible a través de Internet en: http://www.mexconnect.com/mex_recipes/puebla/kgqueso1.html

- Guinee, T. and FOX. P. F. 1993. SALT in cheese: physical, chemical and biological aspects, in Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Vol. 1 General Aspects. Chapman & may. London.
- ICMSF. (International Comission on Microbiological Specifications for Foods) 1988. Microorganisms in Foods 4. Blackwell Scientific Publications, Ltd. Oxford.
- ICMSF. (International Comisión on Microbiological Specifications for Foods). 1998. Microorganismos de los alimentos 6. 1° ed. Aspen Publishers, Inc. Estados Unidos.
- IDF. (International Dairy Federation). 1990. Methods of detection and prevention of anaerobic sporeformers in relation to the quality of cheese. Bulletin no. 251. Brussels, Belgium.
- Jay J. 2005. Modern food microbiology. 7° ed. Food Science Text Series. Springer Editions. Estados Unidos.
- Kalantzopoulos, G. C. 1993. Cheeses from ewe's and goat's milk, in Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Vol. 2, Chapman & may, London.
- Lück, E. 1995. Conservación química de los alimentos. 2° ed. Ed. Acribia. España.
- Madrid, A. 1993. Los aditivos en los alimentos. 1° ed. Prensa Libros. España.
- Madrid, A. 1994. Nuevo manual de industrias alimentarias. 1° ed. Madrid Vicente Ediciones. España.
- Marth, E. 1987. Fermented milks and their future trends: I. Microbiological Aspects. Journal of Dairy Research, 54.
- Molimard, G. and Spinnler, H. 1996. Review: compounds involved in the flavor of surface mold-ripened cheeses: origins and properties. Journal of Food Sciences. 79.
- Morris and Tatini, S. 1987. Progress in cheese technology- safety aspects with microbiological emphasis, in Milk- the Vital force. D. Reidel Publishing Co. Dordrecht.
- Nieto y Cañizo. 2004. Manual de Productos Lácteos. Departamento de Alimentos y Biotecnología. Facultad de Química, UNAM.

- Norma Oficial Mexicana NOM-121-SSA1-1994, Bienes y servicios. Quesos: frescos, madurados y procesados. Especificaciones sanitarias.
- Pylypiw, Harry, Grether, Maureen. 2000. Rapid high performance liquid chromatography method for the analysis of sodium benzoate and sorbate in foods. *Journal of Chromatography A*. 883.
- Ryser, E. T. and Marth, E. 1991. *Listeria, listeriosis, and food safety*, Marcel Dekker. Inc. New York.
- Scott, R. 1991. *Fabricación de queso*. 2° ed. Ed. Acribia. España
- Spahr, U. And URL, B. 1993. Behavior of pathogenic bacteria in cheese, *International Dairy Federation no. 223, Supplement*, Brussels.
- Siewert, R. 1979. Zur Bedeutung von Hefen bei der Reifung von Camembert und Brie. *Deutsche Molkerei Zeitung*. 107
- UE. 2000. *Los aditivos en los alimentos según la union europea y legislación española*. 1° ed. AMV Ediciones. España.
- Thompson, A. 2007. *The Strange History of Cheese*. LiveScience, Imaginova. Disponible a través de Internet en: http://www.livescience.com/history/070528_cheese_science.html
- Walstra, P. 1993. *The syneresis of curd, in cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol. 1 General aspects, Chapman & Hall, London.