



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

EVALUACIÓN DE LA CONFORMIDAD CON LA NORMATIVIDAD MEXICANA (NOM) DE REQUESÓN ARTESANAL ELABORADO EN EL ESTADO DE MÉXICO

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
INGENIERA EN ALIMENTOS**

**PRESENTA:
SCARLETT VILLEGAS LIAHUT**

Asesora: M. en C. María Guadalupe Amaya León

Coasesora: Dra. Sara Esther Valdés Martínez

Cuautitlán Izcalli, Estado de México, 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

Carta firma

Dedicatorias

A Dios por estar conmigo a cada momento, a quien debo lo que tengo y lo que soy. Gracias por tu amor y tus bendiciones.

A mis padres Ricardo e Ivonne, quienes han sido y serán mi fuerza impulsora en cada etapa de mi vida y sin quienes nada hubiera sido posible. Gracias por creer en mí, por su amor y apoyo incondicional, por motivarme a salir adelante y por ser los padres que toda persona desearía tener. Con este logro quiero devolverles solo un poco de todo lo que ustedes me han dado. ¡Todos mis logros son suyos! y este es solo el principio, los amo infinitamente.

A mis hermanos Ricardo y Paulina, la alegría de mi vida. Gracias por compartir sus vidas conmigo y por soportarme en momentos difíciles. Siempre voy a estar a su lado cuando me necesiten y sé que ustedes también lo estarán para mí, son unos hermanos maravilloso, los amo con toda el alma.

A Maythe, mi tercera hermana y la persona con quien he reído y llorado más. Gracias por estar conmigo en cada una de las etapas de mi vida y por todas las cosas increíbles que hemos pasado juntas, no hace falta decir lo mucho que te quiero porque tú lo sabes. Siempre juntas, sin importar que tan lejos estemos.

A mis amigos Andrés, Arelhi, Clau, Iván, Pau, Rodrigo, Tania y Umbe por enseñarme el valor de la amistad. Gracias por las desveladas, los viajes, las aventuras y todos los buenos momentos.

A mis asesoras por su apoyo incondicional en la elaboración de este proyecto.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	9
RESUMEN.....	11
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES.....	12
1.1. Leche	12
1.1.1 Definición.....	12
1.1.2 Composición química.....	13
1.1.3 Propiedades fisicoquímicas	15
1.1.4 Parámetros de calidad.....	16
1.1.5 Principales estados productores de México.....	19
1.1.6 Productos y derivados lácteos	21
1.2 Suero de leche	27
1.2.1 Características generales	27
1.2.2 Aplicaciones	27
1.2.3 Composición química.....	29
1.3 Requesón	34
1.3.1 Definición.....	34
1.3.2 Características generales	34
1.3.3 Producción artesanal.....	36
1.3.4 Obtención de requesón	38
1.3.5 Composición química y aporte nutritivo	40
1.3.6 Calidad.....	43
1.3.7 Buenas Prácticas de Manufactura.....	46

1.4 Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA´s) y microorganismos patógenos presentes en requesón	49
1.4.1 <i>Salmonella spp</i>	54
1.4.2 <i>Escherichia coli</i>	57
1.4.3 <i>Listeria monocytogenes</i>	60
1.4.4 <i>Vibrio cholerae</i>	63
1.4.5 <i>Staphylococcus aureus</i>	65
1.4.6 Micotoxinas y micotoxicosis	67
1.5 Identificación bacteriana	69
1.5.1 Medios de cultivo	69
1.5.2 Colonias características.	71
1.5.3 Pruebas bioquímicas	73
CAPÍTULO II. METODOLOGÍA	80
2.1 Problema de investigación.....	80
2.2 Justificación	80
2.3 Objetivos	81
2.4 Materiales y métodos.....	82
2.4.1. Muestreo	82
2.5 Análisis Químico Proximal	83
2.5.1 Prueba de lugol para determinación de almidones	83
2.6 Análisis microbiológico	84
CAPÍTULO III. RESULTADOS	86
3.1 ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL	86
3.1.1 Composición química de requesones comerciales comparada con establecida en etiqueta.....	102

3.2 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.....	105
3.2.1 Pruebas bioquímicas de identificación	109
CONCLUSIONES	120
RECOMENDACIONES	122
REFERENCIAS	123

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química de leches de distintas especies.....	15
Tabla 2. Propiedades fisicoquímicas de distintas leches	16
Tabla 3. Aspectos que determinan la calidad de la leche	18
Tabla 4. Temperaturas y tiempos de tratamientos térmicos de la leche	19
Tabla 5. Productos y derivados lácteos	22
Tabla 6. Producción industrial de leche y lácteos	23
Tabla 7. Composición de algunos productos lácteos.....	26
Tabla 8. Algunos usos del suero de leche	28
Tabla 9. Composición química general del suero de leche	30
Tabla 10. Composición de aminoácidos de las proteínas del suero ...	31
Tabla 11. Contraste entre la producción artesanal e industrial quesera en México.....	37
Tabla 12. Composición química de requesón por 100g	40
Tabla 13. Composición química de requesón por 100g.	41
Tabla 14. Límite máximo permitido de patógenos en requesón	44
Tabla 15. Defectos más comunes en requesón	45
Tabla 16. BPM's para elaboración de requesón	47
Tabla 17. Incidencias por enfermedades gastrointestinales en 2011 .	50
Tabla 18. Enfermedades causadas por <i>E. coli</i>	59
Tabla 19. Tipos de listeriosis	62
Tabla 20. Clasificación de medios de cultivo	70

Tabla 21. Colonias características de microorganismos presentes en requesón	72
Tabla 22. Características metabólicas de bacterias	74
Tabla 23. Pruebas bioquímicas primarias.....	77
Tabla 24. Pruebas bioquímicas secundarias.....	78
Tabla 25. Lugar de procedencia de requesones analizados.....	82
Tabla 26. Técnicas de AQP	83
Tabla 27. Reactivos, materiales y equipo para prueba de yodo..	84
Tabla 28. Técnicas de análisis microbiológico.....	85
Tabla 29. Análisis estadístico comparativo de AQP	87
Tabla 30. Composición química proximal de requesón comercial comparada con lo establecido en su etiqueta.....	103
Tabla 31. Análisis estadístico comparativo de análisis microbiológico..	106
Tabla 32. Resultados de prueba IMViC.....	110
Tabla 33. Pruebas bioquímicas para identificación de <i>E.coli</i>	110

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución geográfica de principales estados productores de leche.	20
Figura 2. Participación en la producción de leche por Estado en 2009	20
Figura 3. Principal uso de la leche fluida en México en 2009	21
Figura 4. Diagrama de proceso para elaboración de requesón	38
Figura 5. Número de casos de enfermedades del tracto intestinal.....	52
Figura 6. Distribución de casos de intoxicación alimentaria bacteriana por año	52
Figura 7. Número de casos de cólera presentados en la República Mexicana	53
Figura 8. Número de casos de fiebre tifoidea de 2000 a 2008	54
Figura 9: Colonias de <i>Salmonella spp</i> en agar XLD	55
Figura 10. Agrupación característica en “racimo de uvas” de <i>S. aureus</i>	65
Figura 11. Colonias β -hemolíticas de <i>S. aureus</i> en agar sangre	66
Figura 12. Fases de crecimiento fúngico.....	68
Figura 13. Riesgos para la salud humana.	68
Figura 14. Comparación de porcentaje de humedad requesón	91
Figura 15. Comparación de porcentaje de proteína	93
Figura 15. Comparación de porcentaje de carbohidratos	94
Figura 17. Almidones detectados por prueba de yodo en requesón industrial 1	96

Figura 18. Almidones detectados por prueba de yodo en requesón industrial 2.....	96
Figura 19. Almidones detectados por prueba de yodo requesón en artesanal 1.....	97
Figura 20. Almidones detectados por prueba de yodo en requesón artesanal 2.....	97
Figura 21. Almidones detectados por prueba de yodo en requesón artesanal 3.....	97
Figura 22. Almidones detectados por prueba de yodo en requesón artesanal 4.....	98
Figura 23. Almidones detectados por prueba de yodo en requesón artesanal 5.....	98
Figura 24. Almidones detectados por prueba de yodo en requesón artesanal 6.....	98
Figura 25. Almidones detectados por prueba de yodo en requesón artesanal 7.....	99
Figura 26. Comparación de porcentaje de grasas	99
Figura 27. Comparación de porcentaje de cenizas.....	101
Figura 28. Comparación entre resultados experimentales y valor en etiqueta de requesón industrial 1.....	103
Figura 29. Comparación entre resultados experimentales y valor en etiqueta de requesón industrial 2.....	104
Figura 30. Presencia de colonias características de <i>E. coli</i> en Agar Mac Conkey	109
Figura 31. Prueba IMViC para <i>E. coli</i>	109
Figura 32. UFC/g de coliformes totales presentes en requesones ...	114
Figura 33. NMP/g de coliformes fecales presentes en requesones ..	114

Figura 34. UFC/g de Hongos presentes en requesones	116
Figura 35. Porcentaje de requesones contaminados microbiológicamente.....	119

INTRODUCCIÓN

La actividad quesera inevitablemente produce como subproducto una gran cantidad de suero de leche (aproximadamente el 83% del volumen de la leche utilizada en la elaboración de queso) y su aplicación o eliminación es una importante consideración industrial. Además de las pérdidas monetarias y el impacto ambiental que conlleva su eliminación, este contiene nutrientes valiosos, por lo que en los últimos años se ha impulsado su uso extensivo en la alimentación humana (Robinson *et al*, 2002).

En este sentido, una de las formas más ventajosas de utilizar el suero es la fabricación de requesón. Este se puede obtener mediante la fermentación del suero de leche por la acción de lactobacilos, con ayuda de un medio ácido y sometiendo a calentamiento (90-95°C) y su consumo es recomendable por su contenido proteico (Panisello, 2004).

En Latinoamérica se calcula que alrededor del 80% de la leche que se consume y por tanto los derivados lácteos, incluyendo el requesón se encuentran presentes en el mercado informal (Bennet *et al*, 2006), lo que comúnmente se llama en México “talleres artesanales”, que no cumplen con los requisitos legales correspondientes incluyendo los requisitos sanitarios que demanda el mercado; esta producción se realiza en la mayoría de los casos en instalaciones sucias, el personal que trabaja en la fabricación no adopta las más elementales normas de higiene y por lo general adquiere hábitos empíricos, el equipamiento que utilizan es inadecuado, el proceso de elaboración carece de estándares y normas de calidad e higiene, el producto terminado no tiene garantía, fecha de elaboración, fecha de vencimiento y dirección, no cuentan con ningún tipo de registro sanitario (Barsky & Llovet, 1982). Lo anterior, hace que se elaboren productos no inocuos, que no cumplen con lo establecido en la normatividad mexicana y por lo tanto, no garantizan la calidad y seguridad alimentaria NOM-251-SSA1-2009. Estos productos pueden repercutir en la salud del consumidor, ya que pueden estar siendo comercializados con cantidades considerables de patógenos (nocivos al organismo), los

cuales provocan Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA's) que causan principalmente trastornos del tracto intestinal e incluso pueden provocar la muerte (Bravo, 2004), por lo que con el presente trabajo se pretende concientizar sobre el impacto que tiene en la salud el consumo de quesos artesanales expendidos en el Estado de México, pero también resaltar que si se fabrican con los requisitos sanitarios adecuados son benéficos en la dieta diaria, ya que sus proteínas (lactoglobulina y lactoalbúmina) son de mayor valor nutritivo que la caseína del queso común, sobre todo por su contenido de lisina y aminoácidos azufrados (Rodríguez & Magro, 2008), contiene alto contenido de elementos vestigiales y sales minerales, bajo contenido de grasa y un precio accesible (Scholz, 1995).

RESUMEN

Para este trabajo se evaluó la conformidad con base a la normatividad mexicana para productos lácteos de nueve requesones expandidos en el Estado de México (siete artesanales y dos comerciales). También se realizó una comparación de las diferencias tanto composicionales como higiénicas entre los requesones elaborados artesanalmente y los que se producen a nivel industrial.

Para la evaluación de la conformidad se realizó la determinación de la composición química de cada requesón por medio de Análisis Químico Proximal (AQP) y la presencia de microorganismos patógenos (coliformes totales y fecales, *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Vibrio cholerae* y hongos) según la NOM-243-SSA1-2010, lo que permitió conocer su composición y saber si los requesones fueron elaborados bajo Buenas Prácticas de Fabricación y el riesgo que representa el consumo de los fabricados en ausencia de estas.

Los resultados obtenidos permitieron comprobar que el consumo de requesón en la dieta diaria puede resultar benéfico para la población, debido al alto contenido proteico y al bajo contenido de grasa que posee, además de ser un alimento que en su mayoría se comercializa a un precio accesible. Sin embargo, también derivaron en una alta cantidad de microorganismos patógenos, lo que permitió comprobar que tanto los talleres artesanales como los puntos de venta de requesón artesanal no siguen los lineamientos básicos de higiene como son las Buenas Prácticas de Manufactura, establecidos en la normatividad. Por lo que se puede decir que la producción artesanal de requesón en el Estado de México es deficiente en cuanto a calidad higiénica.

Así mismo se encontró que los requesones elaborados a nivel industrial analizados para este proyecto tampoco cumplen con todos los lineamientos establecidos en dicha normatividad, sobre todo en cuanto al etiquetado.

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1. Leche

1.1.1 Definición

Desde principios de siglo se ha definido a la leche de varias y distintas maneras, siendo algunas de estas las siguientes:

- 1) La Secretaría de Salud define la leche como: “el producto destinado para consumo humano proveniente de la secreción natural de las glándulas mamarias de las vacas sanas o de cualquier otra especie animal, excluido el calostro” (NOM-243-SSA1-2010).
- 2) La Secretaría de Comercio y Fomento Industrial la define como: “el producto obtenido de la secreción de las glándulas mamarias de las vacas, sin calostro, el cual debe ser sometido a tratamientos térmicos u otros procesos que garanticen la inocuidad del producto; además puede someterse a otras operaciones tales como clarificación, homogeneización, estandarización u otras, siempre y cuando no contaminen al producto” (NOM-155-SCF1-2012).
- 3) La leche se define en el CODEX ALIMENTARIUS (CODEX STAN 206-1999) como: “la secreción mamaria normal de animales lecheros, obtenida mediante uno o más ordeños, sin ningún tipo de adición o extracción, destinados al consumo en forma de leche líquida o a elaboración ulterior”.

Debe entenderse por leche únicamente la de vaca ya que la leche de otras especies de mamíferos se denominan explícitamente: leche humana, leche de cabra, leche de oveja, etc. (Bylund, 2003).

1.1.2 Composición química

La leche es un alimento casi completo, ya que sólo es pobre en hierro, vitamina D y vitamina C (Maza *et al*, 2011). En general la leche está compuesta por agua, proteínas, grasas, azúcares, vitaminas y minerales, además de otras sustancias que están presentes en menor concentración y que en conjunto forman un sistema fisicoquímico relativamente estable; esto se debe a que todos los constituyentes se encuentran en equilibrio estableciendo tres estados de dispersión (Badui, 2006 y Francis & Gaona, 1999).

- Fase disuelta o fase hídrica: lactosa, sales minerales y orgánicas, proteínas de suero (no agregadas), fragmentos de proteínas (péptidos, proteosa-peptona), nitrógeno no proteico, vitaminas hidrosolubles, elementos traza y otros componentes minoritarios (carbohidratos, ácidos orgánicos, aminoácidos, ácidos grasos, ácidos nucleicos, nucleótidos y nucleosidos).
- Fase coloidal o suspensión micelar (suspensión de la caseína ligada a sales minerales): caseína micelar, caseína soluble, vesículas y fragmentos de membrana, enzimas (plasmina, glicoproteínas, glicolípidos, colesterol, entre otras), proteínas del suero (agregadas, incluidos los componentes adsorbidos) y sales minerales y orgánicas.
- Fase dispersa (emulsión de la materia grasa bajo forma globular): glóbulos grasos (mono, di y triglicéridos, colesterol y vitaminas liposolubles), incluida la membrana y otros componentes adsorbidos, entre otros, sales minerales y orgánicas, elementos traza y enzimas como la fosfatasa alcalina y la xantín oxidasa.

Lo que permite la división de los compuestos en 3 grandes grupos: agua, sólidos no grasos (sólidos del suero de leche) y grasa.

La suma de los sólidos no grasos y la grasa forma los sólidos totales o extracto seco total (Schlimme & Buchheim, 2002 y Revilla, 1982).

La especie animal que produce mayor cantidad de leche en todo el mundo es la vaca, que puede encontrarse en todos los continentes. Sin embargo existen otras especies animales cuya leche es de gran importancia para determinadas poblaciones como fuente de proteínas animales y otros constituyentes de alto valor nutritivo.

La importancia de conocer la composición química de los distintos tipos de leche radica en que de esta dependerá la composición de los derivados lácteos y estará en función de diversos factores como son:

- Especie, raza y genética del mamífero.
- Salud, alimentación y edad del mamífero.
- Medio ambiente.
- Nivel de producción.
- Etapa de lactancia.
- Época del año.
- Cantidad de granos en la dieta del mamífero.
- Uso de aditivos para incrementar la producción de leche y el rendimiento de sus componentes (Maza *et al*, 2011).

En la tabla 1 se muestra la composición de leche procedente de distintas especies animales, las cifras dadas son valores medios, ya que la composición de la leche de las diversas especies puede verse afectada por los factores mencionados anteriormente.

Tabla 1. Composición química de leches de distintas especies.

Especie	Humedad	Proteína Total %	Caseína %	Seroproteína %	Grasa %	CHOS %	Cenizas %
Humana	87.8	1.2	0.5	0.7	3.8	7.0	0.2
Caballo	89.4	2.2	1.3	0.9	1.7	6.2	0.5
Vaca	87.3	3.5	2.8	0.7	3.7	4.8	0.7
Búfalo	83	4.0	3.5	0.5	7.5	4.8	0.7
Cabra	87	3.3	2.7	0.6	4.2	4.7	0.8
Oveja	81	5.8	4.9	0.9	7.9	4.5	0.8

Fuente: Bylund, 2003 y De Cos *et al*, 2005.

La leche de oveja contiene casi el doble de proteína que las leches de vaca y cabra. El contenido proteico de la leche de cabra es a su vez menor que el de la leche de vaca, sin embargo ofrece la ventaja para el ser humano de mayor digestibilidad, ya que el tamaño medio de los glóbulos de grasa es inferior a los de vaca, por lo que son más fácilmente atacados por las enzimas digestivas, por tanto, es más digerible. La leche de vaca también contiene más del doble de proteínas y minerales que la leche humana (Gil, 2010).

1.1.3 Propiedades fisicoquímicas

La leche debe ser un líquido blanco, opaco, mate, más o menos amarillento según el contenido en β -carotenos de la materia grasa, dos veces más viscoso que el agua, con un olor poco acentuado pero característico y sabor ligeramente dulce (Chamorro & Losada, 2002).

Las propiedades fisicoquímicas de la leche son consecuencia de su composición y estructura. Las principales características se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Propiedades fisicoquímicas de distintas leches.

Propiedad	Leche de vaca	Leche de oveja	Leche de cabra
Densidad a 20°C (g/mL)	1.0270 a 1.0320	1.0340 a 1.0350	1.0260 a 1.0420
Viscosidad (mPa.s)	1.236	2.936	1.186
Tensión superficial (N/m)	50	49.9	52
Índice de refracción (N₀²⁰)	1.3440 a 1.3485	1.3490	1.3454 a 1.4548
Temperatura de Congelación (°C)	-0.53 a 0.59	-0.583	-0.570
Acidez (% Ácido láctico)	0.15 a 0.18	0.18 a 0.22	0.16 a 0.18
pH	6.5 a 6.8	6.60-6.68	6.50 a 6.80

Fuente: Gil, 2010 y Chamorro & Losada, 2002.

Los componentes de la leche contribuyen de manera decisiva en las propiedades fisicoquímicas. La concentración de lactosa por ejemplo, contribuye de manera proporcional al descenso del punto de congelación y al aumento de la temperatura del punto de ebullición.

El punto de congelación es un parámetro muy importante ya que permite detectar fraudes por adición de agua, uno de los mayores problemas en la industria láctea (Schlimme & Buchheim, 2002).

1.1.4 Parámetros de calidad

Un producto de calidad es aquel que cumple con las necesidades del consumidor. De esta manera la calidad tiene 3 aspectos conocidos como las 3 C's:

- Conformidad (con las expectativas del cliente).
- Costo (los consumidores quieren recibir valor por su dinero).
- Consistencia (en las características que el cliente espera del producto).

Tomando como base las 3 C's la leche de calidad será aquel producto que cumpla consistentemente con las expectativas nutricionales, sanitarias y organolépticas del consumidor y cuya composición justifique lo que se está pagando por ella (Maza *et al*, 2011). La calidad se puede dividir en:

- **Calidad organoléptica:** tanto para la leche como para sus derivados es la que mayor influencia tiene en el consumidor. Se considera buena cuando satisface a un buen número de consumidores. En este tipo de calidad cada consumidor encuentra en el alimento cualidades características de cada alimento como gustativas, olfativas, visuales y de textura (Serra & Bugueño, 2004).
- **Calidad composicional:** esta calidad define la bondad de un alimento como nutriente, su contenido en grasas, proteínas, vitaminas, carbohidratos, etc. Desde el punto de vista cualitativo busca un equilibrio nutricional del alimento, o un enriquecimiento de un elemento en particular (Serra & Bugueño, 2004). En el caso de la leche corresponde al contenido de sólidos grasos y no grasos determinado por factores genéticos y nutricionales (Acoleche *et al*, 1999).
- **Calidad higiénica o microbiológica:** corresponde al contenido de bacterias y organismos patógenos en la leche y sus derivados y a la presencia de residuos de medicamentos que pueden afectar la salud humana o afectar la producción de algunos derivados lácteos (Acoleche *et al*, 1999).

Esta última requiere mucha atención, ya que mientras la calidad composicional, una vez determinada es inmutable, la calidad higiénica, específicamente en el aspecto microbiano está en constante cambio (Francis & Gaona, 1999), ya que debido a su composición química, la leche es una materia prima fácilmente alterable, ya sea por condiciones ambientales, como por contaminaciones microbianas, lo que la convierte en un alimento perecedero y de alto riesgo, además muchas veces, un producto final no puede ser de mayor calidad que las materias primas con las que se elabora.

Por lo anterior tanto para el consumidor como para el productor es de fundamental importancia mantener y mejorar la calidad de la leche, ya que esta determina la calidad de cualquier derivado lácteo (Oliszewski *et al*, 2001). En la tabla 3 se muestran los principales aspectos que determinan la calidad de la leche y por lo tanto garantizan al consumidor la calidad higiénica y nutritiva del producto.

Tabla 3. Aspectos que determinan la calidad de la leche

<ul style="list-style-type: none">-Estado de salud de la vaca (ausencia de mastitis).-Buenas Prácticas de ordeño.-Color, olor y sabor característicos a leche.-Composición química.-Ausencia de calostro.-Ausencia de patógenos, aflatoxinas, residuos químicos, adulterantes y antibióticos.-Ausencia de alteraciones en proteína o agua (densidad y punto crioscópico).-Acidez de la leche.-Ausencia de materia extraña.-No coagular por ebullición.-Prueba de alcohol al 68% negativa.-Someterse a tratamiento térmico.

Fuente: Oliszewski *et al*, 2001; NOM-155-SCFI-2012 y NOM-184-SSA1-2002.

La tabla 4 muestra las temperaturas y los tiempos a los que debe ser sometida la leche para asegurar un buen tratamiento térmico.

Tabla 4. Temperaturas y tiempos para tratamiento térmico de la leche

TRATAMIENTO	TEMPERATURA Y TIEMPO
Pasteurización	Lenta: 62-65*°C/30 min. Rápida: 71-72°C**/15 seg.
Ultrapasteurización y esterilización	135°C a 149°C/2 a 8 seg. y 120°C/20 min

*63°C comúnmente, ** 72°C comúnmente

Fuente: NOM-243-SSA1-2010 y Jeantet *et al*, 2005.

Pasteurización: se refiere al tratamiento térmico suave para los alimentos, menos drástico que la esterilización (Geankoplis, 1998). Tiene por finalidad la destrucción de las formas vegetativas, incluyendo ciertos patógenos (*Salmonella*, *Brucella*, *Listeria*, etc.), no destruye esporas resistentes al calor. La actividad residual de las enzimas de la leche es un buen indicador de la naturaleza del tratamiento térmico, ya que la pasteurización debe inactivar la fosfatasa alcalina, pero preservar la peroxidasa (leche considerada de “alta calidad”) (Jeantet *et al*, 2005).

1.1.5 Principales estados productores de México

En México la producción lechera se desarrolla en todo su territorio, pero durante el periodo de 2005 a 2010 se concentró en cuatro estados, los que contribuyeron conjuntamente con el 45% de la producción nacional en este período; destacándose Jalisco, Coahuila, Durango y Chihuahua. Cabe señalar, que los estados de Coahuila y Durango se encuentra ubicados en la Región Lagunera, que es la más importante cuenca lechera del país, y que ocupa el primer lugar en producción a nivel nacional (SE, 2012).

En la figura 1 se muestra la distribución geográfica de los principales estados productores de leche para el año 2009.



Figura 1. Distribución geográfica de principales estados productores de leche, 2009; (SAGARPA, 2010).

En la figura 2 se observa que para el 2009 la producción se concentra principalmente en 9 entidades federativas, que aportaron en conjunto el 74.2% del total nacional. Se consolidaron como principales estados Jalisco con 18% del total de la producción, la región lagunera (Coahuila y Durango) con 21.3%, Chihuahua con 8.8%, seguido por Veracruz, Guanajuato, Estado de México, Hidalgo y Puebla (SE, 2012).

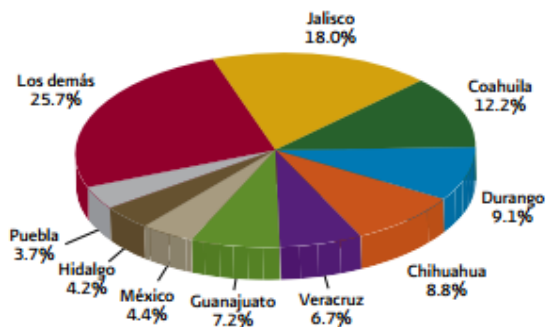


Figura 2. Participación en la producción de leche por estado, 2009; (SAGARPA, 2009).

1.1.6 Productos y derivados lácteos

La leche y sus derivados, son alimentos que el ser humano ha consumido desde hace milenios, desde que la primera tribu se hizo sedentaria y domesticó cierto tipo de animales.

Los derivados productos lácteos son aquellos que el ser humano fue capaz de desarrollar a partir de leche y que proporcionan al organismo nutrientes de elevado valor biológico (Aranceta & Serra, 2005). Un poco más de la mitad del consumo total de leche es en forma de leche fluída y el resto se utiliza para la elaboración de dichos productos lácteos (SAGARPA, 2009).

La figura 3 muestra el principal uso de la leche fluída en México para el año 2009.

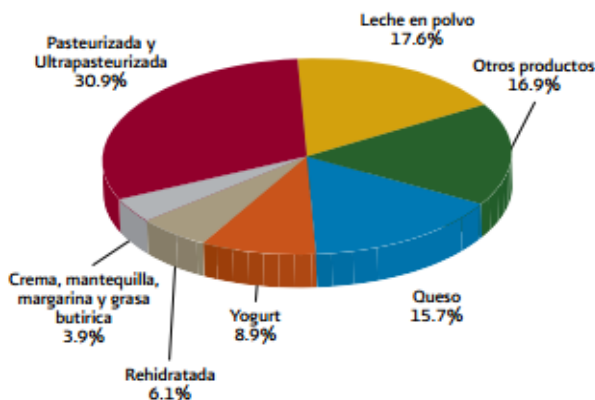


Figura 3. Principal uso de la leche fluída en México en 2009; (SAGARPA, 2009).

Con el fin de agrupar de una manera simple a los productos lácteos, el Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios de México y Maza *et al*, 2011 los clasifica en:

- 1) **Productos lácteos:** son el resultado de la transformación de la leche o modificación de sus componentes y que se han obtenido mediante la adición o sustracción de otros componentes de la misma leche y a los que se les han añadido aditivos alimentarios y otros ingredientes diferentes a la leche o los obtenidos a partir de ella, con el fin de conferir al producto final una determinada cualidad fisicoquímica o biológica.
- 2) **Derivados lácteos:** son los lácteos obtenidos a partir de un determinado componente de la leche mediante una transformación característica y a los que no se les añade ningún otro ingrediente o aditivo. Normalmente se usan como materia prima para la elaboración de otros productos y son componentes separados de la leche.

La tabla 5 muestra cuales son considerados productos lácteos y derivados lácteos según el Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios de México.

Tabla 5. Productos y derivados lácteos

Productos lácteos	Derivados lácteos
<ul style="list-style-type: none"> • Crema. • Dulces de leche y helados • Jocoque. • Leche acidificada, fermentada, azucarada, evaporada, en polvo o rehidratada. • Leche combinada y recombinada y reconstituída. • Mantequilla. • Queso. • Yogurt. 	<ul style="list-style-type: none"> • Caseína o caseinatos de grado alimentario. • Requesón. • Sueros.

Fuente: Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios de México, 1999.

1.1.6.1 Producción de lácteos

La mayor producción de estos productos se encuentra asociada entre otros factores, al comportamiento de la demanda de estos productos, apoyada en la estabilidad de la economía en general y en modificaciones en las preferencias de algunos segmentos de la población. La tabla 6 muestra la producción industrial de leche y los principales derivados lácteos en México hasta el año 2011 (INEGI, 2011).

Tabla 6. Producción industrial de leche y lácteos (toneladas)

PRODUCTO	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
Leche Pasteurizada	3,049,707	2,978,866	2,871,632	2,834,948	2,811,882	2,791,100	2,742,719
Leche Ultra pasteurizada	1,448,734	1,512,869	1,601,620	1,748,865	1,790,263	1,650,258	1,482,043
Yogurt	447,689	448,917	637,119	632,745	647,573	706,324	730,925
Crema natural	158,016	202,552	216,809	137,224	139,329	136,518	140,556
Leche en polvo	207,471	225,580	253,041	247,826	237,311	248,121	239,226
Quesos	187,405	202,593	229,498	239,364	255,670	275,316	275,413
Mantequilla	36,084	36,020	37,475	36,238	35,082	40,551	42,989

Fuente: Encuesta mensual de la industria manufacturera (INEGI, 2011).

Entre 2005 y 2011, la producción industrial de leche y productos lácteos registra un comportamiento favorable en la mayor parte de los productos, con base en información del INEGI destacan la producción de yogurt y quesos, con una tasa de crecimiento promedio de 7.3 y 5.7%, mientras que la producción de leche en polvo y de mantequilla creció por arriba del 2.0% en promedio; en contraste, la leche ultrapasteurizada crece marginalmente, mientras que la leche pasteurizada, reporta un decremento en su producción en el periodo referido. A continuación se describe brevemente las características de los lácteos de mayor consumo en México:

Crema: según la NOM-185-SSA1 llama así “al producto en el que se ha reunido una fracción determinada de grasa y sólidos no grasos de la leche, ya sea por reposo, por centrifugación o reconstitución, sometida a pasteurización o cualquier otro tratamiento térmico que asegure su inocuidad” (Maza *et al*, 2011).

Queso: según la NOM-243-SSA1-2010 se define como “un producto elaborado 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” (NOM-243-SSA1-2010). Es básicamente el resultado de la concentración de los principales componentes de la leche (proteínas y materia grasa) por acción de acidificación y una enzima (Mahaut *et al*, 2003).

Las operaciones fundamentales en la elaboración del queso son: normalización de la leche en cuanto a grasa en relación a los sólidos no grasos (caseína), tratamiento térmico de la leche, adición de cultivos iniciadores bacterianos cuya misión es la producción de ácido láctico a partir de lactosa, adición de sales y aditivos, coagulación por acción del cuajo o mediante acidificación del medio, desuerado, salado y madurado (a excepción del queso fresco). Existen sin embargo quesos cuya materia prima es precisamente el suero y no la leche, como en el caso del requesón y sus propiedades físicas, fisicoquímicas y nutrimentales cambian radicalmente (Gil, 2010 y Hernández & Sastre, 1999).

Yogurt: es el producto obtenido de la fermentación de leche, estandarizada o no, por medio de la acción de microorganismos: *Streptococcus thermophilus*, el cual confiere aroma y textura y *Lactobacillus delbrueckii* subespecie *bulgaricus*, que es responsable de la acidez y por tanto, de la reducción del pH. Estas bacterias lácticas son las responsables de las transformaciones metabólicas en los carbohidratos, proteínas y lípidos de la leche, la transformación más importante es la fermentación láctica, que utiliza lactosa como sustrato. (De Cos *et al*, 2005 y NOM-181-SCF1-2010).

Mantequilla: según la NOM-185-SSA1-2002 se llama así al producto obtenido a partir de la grasa de la leche o grasa de la crema, la cual ha sido pasteurizada, sometida a maduración, fermentación o acidificación, batido o amasado, pudiendo ser o no adicionada con sal. Se puede elaborar a partir de nata dulce o acidificada (Hernández & Sastre, 1999).

La mantequilla debe ser densa, de sabor fresco y consistencia suave, el contenido de agua debe estar disperso en forma de finas gotas, de tal manera que la grasa aparezca como un producto seco (Bylund, 2003). El proceso clásico de su elaboración se resume en los siguientes pasos:

Obtención de la nata por centrifugación de la leche, pasteurización y refrigeración de la nata, maduración física de la nata a temperatura de refrigeración, el tiempo suficiente para obtener una relación óptima de grasa sólida y líquida, batido de la nata para invertir la emulsión de esta (con esto se obtienen los “granos de mantequilla” y el suero resultante o “mazada”), salado opcional, amasado de los granos, moldeado, envasado y almacenamiento en frío (Gil, 2010).

Leche en polvo: es la leche que ha sido sometida a un proceso de secado por aspersion (deshidratación generalmente mediante atomización y evaporación).

Puede estar estandarizada (en su contenido de grasa) o no, y si su contenido de grasa está entre el 12 y 14% puede denominarse “leche semidescremada”. Este producto llega también a producirse a partir de leche con grasa vegetal. Se presenta como un polvo color crema y para su consumo debe rehidratarse con agua (Maza, *et al*, 2011), se utiliza para muchas aplicaciones, tales como: recombinación de leche, en la industria panadera para aumentar el volumen del pan y mejorar su capacidad de absorción de agua y como sustituyente de huevo, para la producción de chocolate con leche, en la producción de alimentos infantiles como sustituto de leche materna y en la producción de helados (Bylund, 2003).

La tabla 7 nos muestra la composición media de algunos productos lácteos.

Tabla 7. Composición en porcentaje de algunos productos lácteos.

Producto	Grasa	Proteínas	CHOS	Cenizas	Agua
Leche (entera)	3.5	3.1	4.5	0.7	88.2
Leche desnatada	0.1	3.2	4.6	0.7	90.6
Leche en polvo (entera)	26.0	24.5	39.0	7.0	3.5
Leche evaporada	7.6	6.8	9.8	1.5	74.4
Leche* condensada	8.6	8.2	55.0	1.7	27.3
Leche concentrada	14.0	13.2	18.0	2.8	51.0
Mantequilla	82.0	0.6	0.4	0.1	16.0
Queso semiduro	35.0	24.0	-	3.8	36.5
Queso fresco	22.0	16.0	0.7	2.2	57.0
Yogurt natural	3.6	3.8	4.9	0.7	87.0

*Contenido en lactosa más sacarosa

Fuente: Hernández & Sastre, 1999 y De Cos *et al*, 2005.

1.2 Suero de leche

1.2.1 Características generales

- 1) Es un líquido blancuzco con tonalidad amarillo-verdosa resultante de la coagulación de la leche durante la elaboración del queso, se obtiene tras la separación de las caseínas, la grasa y una parte de los demás componentes en forma de cuajada (Zadow, 1992)
- 2) Como una definición más extensa la NOM-243-SSA1-2010 lo define como el líquido obtenido de la coagulación de la caseína de la leche, mediante la acción de enzimas coagulantes de origen animal, vegetal o microbiano, por la adición de ácidos orgánicos o minerales de grado alimentario; acidificación por intercambio iónico hasta alcanzar el punto isoeléctrico de la caseína.

El suero de leche según su acidez se divide en suero dulce con pH mayor a 5.8, suero medio ácido con pH entre 5.8 y 5.0 y suero ácido con pH menor a 5.0. En México los primeros dos son los que se producen principalmente y su producción se incrementa año con año de acuerdo con los datos de producción de queso de la Cámara de Productos Alimenticios Elaborados con Leche (García *et al*, 2004 y Zadow, 1992).

1.2.2 Aplicaciones

El suero de leche o suero de quesería constituye del 80-90% del volumen de la leche y contiene del 50-55% de sus nutrientes (Acevedo, 2010).

En años pasados el suero se consideraba un producto residual de desperdicio, sin embargo con el tiempo se descubrió que su eliminación es una importante consideración industrial, debido al valor de los nutrientes que contiene (proteínas, de alto valor nutritivo, sales vestigiales y minerales y lactosa) y al impacto ambiental que conlleva su eliminación (Scholz, 1995). En la actualidad la presión ecologista y la mayor conciencia del valor nutritivo inherente de los componentes del suero han cambiado completamente el panorama respecto al suero y su manipulación y han impulsado su uso en la alimentación humana (Robinson *et al*, 2002). La tabla 8 muestra algunos usos del suero.

Tabla 8. Algunos usos del suero de la leche

Suero Líquido	Suero en polvo
<ul style="list-style-type: none"> -Alimentación de ganado -Pastelería -Bebidas carbónicas (bebidas de suero) -Jarabes de lactosa y/o galactosa/glucosa -Preparados farmacéuticos y cosméticos -Obtención de albúmina -Producción de quesos de suero -Fermentación para obtención de riboflavina, alcohol butílico y acetona -Fabricación de ácido láctico -Suero pasteurizado y azucarado -Crema de suero -Mantequilla de suero -Medio de fermentación para producir antibióticos. -Fabricación de vinagre -Barnices, resinas, curtientes, plásticos 	<ul style="list-style-type: none"> -Alimentación de ganado -Panadería y pastelería -Alimentos infantiles -Fermentación para bebidas alcohólicas (cervecería) -Quesos fundidos -Industria chocolatera

Fuente: Robinson *et al*, 2002; Cantú, 1975 y García *et al*, 2004.

1.2.3 Composición química

Su composición varía dependiendo de las características de la leche, del tipo de queso del cual proviene, del pH al que el lactosuero se separa de la cuajada y de las condiciones de elaboración del queso (Acevedo, 2010).

Las leches con mayor porcentaje de grasa y proteína darán como resultado suero con mayor proporción de las mismas sustancias. La clase de queso influye principalmente en el porcentaje de grasa, porque la temperatura alcanzada en la cocción y la mayor o menor división de la cuajada hace que pasen al suero cantidades distintas de materia grasa, por esta razón los quesos de pasta dura, que exigen alta temperatura y mayor división de la cuajada, dan lugar a un suero más rico en grasa que el que produce la fabricación de quesos frescos y blandos (Cantú, 1975).

En cuanto a las condiciones de elaboración los contenidos de proteína y grasa dependen en gran medida de cómo se haya tratado el coágulo, los finos de cuajada en el suero aumentan la proteína, mientras que la manipulación poca cuidadosa de la cuajada aumenta el nivel de grasa. El filtrado y la centrifugación del suero alteraran tanto los contenidos de grasa como de proteína.

Por otra parte el contenido mineral es relativamente constante, pero puede alterarse por adición de sustancias químicas a la leche como nitratos, cloruro de calcio o hidróxido de calcio (Robinson *et al*, 2002). Aún con estas variaciones la tabla 9 muestra la composición química general del suero de leche.

Tabla 9: Composición química general del suero de leche

Agua	Ácido láctico	Proteína*	Grasa	Lactosa	Cenizas
93%	0.2%	0.9%	0.3%	4.9%	0.6%

*70% del nitrógeno total (proteína cruda) corresponde a proteína verdadera.

Fuente: García *et al*, 2004 y Hernández *et al*, 2003

1.2.3.1 Proteínas

Ya que el valor del suero de quesería y por lo tanto de sus derivados está en función de la calidad de sus proteínas, que aunque se encuentren en baja proporción poseen alta calidad nutritiva y se encuentran en alto porcentaje en sus derivados, es conveniente describirlas.

Las proteínas del suero o seroproteínas suponen alrededor del 20% del contenido total de las proteínas de la leche. Se suele definir las como las proteínas que quedan en solución cuando el pH de la leche se lleva hasta 4.6 (punto isoelectrico de la caseína) ya que son menos susceptibles al pH ácido en comparación con las caseínas y son proteínas sensibles al calor, de forma que cuando se someten a tratamientos térmicos se desnaturalizan (Gil, 2010).

A diferencia de las caseínas las proteínas del suero son compactas, globulares, con un peso molecular que varía entre 14000 y 1000000 daltones y son solubles en un intervalo de pH muy amplio (incluso a pH ácido siempre y cuando no se hayan desnaturalizado) (Badui, 2006).

Se clasifican principalmente en albúminas y globulinas, entre las que se incluyen α -lactoalbúminas, β -lactoglobulinas, inmunoglobulinas, proteasas-peptonas y otros compuestos nitrogenados minoritarios no específicos como lactoferrina y lisozima.

Las seroproteínas son consideradas proteínas de alto valor biológico que cuentan con un amplio perfil de aminoácidos que incluye aminoácidos azufrados como la cisteína y la metionina, aminoácidos de cadena ramificada, lisina y triptófano, con lo que se compensan las deficiencias de la caseína (Maza, *et al*, 2011). La tabla 10 muestra la composición química de los aminoácidos de las proteínas presentes en el suero de leche.

Tabla 10: Composición de aminoácidos de las proteínas del suero de leche.

Aminoácidos	Proteínas de suero			
	β -Lg-A	α -La-B	Albúmina	Inmuno-globulinas
Ácido aspártico	10.2	17.1	9.4	8.1
Treonina	4.5	5.0	4.9	8.9
Serina	3.4	4.3	3.5	9.5
Ácido glutámico	17.9	11.9	14.4	10.7
Prolina	4.3	1.4	4.1	8.4
Glicina	1.0	2.4	1.4	4.0
Alanina	5.5	1.5	5.0	3.8
Cisteína	0.6	0	5.5	2.70.
Cistina	2.3	5.8	-	-
Valina	5.5	4.2	5.0	8.1
Metionina	2.9	0.9	0.7	0.8
Isoleucina	6.3	6.4	2.2	2.6
Leucina	13.8	10.4	10.6	8.3
Tirosina	3.6	4.6	4.6	6.0
Fenilalanina	3.3	4.2	5.9	3.5
Triptofano	2.1	5.3	0.5	2.4
Lisina	10.7	10.9	11.2	6.0
Histidina	1.5	2.9	3.3	1.8
Arginina	2.6	1.1	5.3	3.7

Fuente: Badui, 2006 y Belitz *et al*, 2009.

A continuación se describen brevemente las proteínas del suero:

- **β -Lactoglobulina:** es la proteína soluble más abundante en la leche de vaca. Pertenece a la familia de las lipocalinas y como la mayoría de estas puede ligar pequeñas moléculas hidrofóbicas dentro de la cavidad central (Acevedo, 2010). Posee un peso molecular cercano a los 18 kD y un punto isoeléctrico de 5.1 a pH neutro y temperatura ambiente, interviene en la desnaturalización proteica tras calentamiento de la leche por la formación de puentes disulfuro entre la β -lactoglobulina y la k- caseína y/o α -lactoalbúmina. Se ha propuesto que tiene un efecto regulador sobre el metabolismo de los fosfatos en la glándula mamaria. Suma aproximadamente 45% del total de las proteínas del suero y ejerce una influencia decisiva en la estabilidad térmica de los lácteos (Gil, 2010 y Badui, 2006). Es la responsable de las reacciones alérgicas en infantes alimentados con leche de vaca (Acevedo, 2010).
- **α -Lactoalbúmina:** es por orden de importancia la segunda en el lactosuero. Tiene un peso molecular próximo a los 16 kD, su punto isoeléctrico está entre 4.2 y 4.5 y supone del 20 al 25% de las proteínas del suero. Su papel esencial es el de intervenir como cofactor en la síntesis de la lactosa, por regulación de la actividad de la enzima galactosiltransferasa (Acevedo, 2010).
- **Albúmina sérica:** es exactamente igual a la albúmina del suero sanguíneo y constituye aproximadamente 10% del total de las proteínas del suero, su peso molecular aproximado es de 65 kD. Su papel principal es en la sangre y es transportar ácidos grasos libres (Gil, 2010 y Badui, 2006).

- **Proteasas-peptonas:** son péptidos que provienen de la proteólisis de la β -caseína. Constituye una fracción muy heterogénea que todavía no está bien definida. Poseen un peso molecular inferior a los 10 kD y contienen en su estructura glúcidos y ácido siálico en proporciones variables. Se les ha definido como la fracción de proteínas de la leche que no precipitan por calentamiento a 95°C durante 30 min, seguida de acidificación a pH 4.6, son importantes en la industria quesera ya que su acumulación está asociada a la aparición de sabores amargos (Gil, 2010 y Badui, 2006).
- **Inmunoglobulinas y otras proteínas:** Las inmunoglobulinas son específicas de la leche, puesto que se sintetizan en los linfocitos B producidos en la médula ósea y son transportados por la sangre. Desempeñan un papel fundamental en la transferencia de anticuerpos de la madre al ternero, por lo que el calostro es muy rico en estas globulinas.

Otras proteínas del suero son las que se denominan metalproteínas, al tener la capacidad de fijar específicamente y de forma reversible cobre y hierro y son las siguientes: lactoferrina, transferrina, ceruloplasmina (Gil, 2010 y Badui, 2006).

1.3 Requesón

1.3.1 Definición

- 1) El requesón es un derivado lácteo perteneciente al grupo de los quesos de suero, estos en general son productos obtenidos a partir del suero de leche entera, semidescremada, o descremada pasteurizada de vaca, cabra u oveja, el cual es coagulado por calentamiento en medio ácido para favorecer la obtención de la cuajada, la que es salada, drenada, moldeada, empacada y etiquetada y posteriormente refrigerada para su conservación NOM-243-SSA1-201 y NOM-035-SSA1-1993). En muchas ocasiones se llama requesón a todos los quesos de suero, sin embargo debe referirse con este término únicamente al elaborado a partir de leche de vaca, los elaborados con suero de leche de cabra u oveja se denominan simplemente quesos de suero (Maza, *et al*, 2011).
- 2) La FAO define al requesón como un precipitado de las proteínas séricas, albúmina y lactoglobulina, que atrapan en su estructura a la lactosa y a la materia grasa remanentes del suero de quesería (FAO, 2011)

1.3.2 Características generales

El requesón se produce en la mayoría de los estados de México tiene sabor suave y delicado, de forma amorfa y pasta blanda (Cervantes *et al*, 2008). Se obtiene de la fermentación por *lactobacilos* del suero sobrante de la elaboración de otros quesos. En la elaboración artesanal se utiliza solución acuosa de ácido acético (vinagre) o jugo de frutas ácidas (soluciones acuosas de ácido cítrico), en cantidades que suponen entre un 5 y 10% del volumen del propio lactosuero.

Después de su fermentación, el suero se calienta a temperaturas próximas a ebullición (80-90°C), para que sus proteínas precipiten y formen un coágulo débil de consistencia blanda y color blanco, que asciende lentamente a la superficie y se retira con un tamiz o tela que se coloca en moldes apropiados donde permanecerá algunas horas para que escurra el suero y adquiera la consistencia necesaria, dando como resultado requesón (Cantú, 1975 y Panisello, 2004).

Es una importante fuente proteica ya que contiene cuatro veces más proteínas que la leche. Además sus proteínas lactoglobulina y lactoalbúmina (componente mayoritario, coagula con calor), son de mayor valor biológico que las presentes en otros lácteos como la caseína. Esto se debe a que se elabora a partir del suero lácteo cuyas proteínas se caracterizan por tener los aminoácidos esenciales (lisina, leucina y triptófano).

Su contenido graso (3-9%) es menor que el de la mayoría de los quesos (la mitad que el fresco y casi ocho veces que uno semicurado) y aporta 75 kcal por cada 100g. Por otra parte es un alimento de fácil digestión.

En cuanto a sales minerales aporta la mitad de calcio que la leche y en cuanto a vitaminas destacan principalmente su contenido de B1, B2 y ácido fólico (Panisello, 2004 y Cantú, 1975).

En el mercado formal existen muy pocas industrias que comercializan requesón, esto se debe probablemente a que la demanda de este alimento no es muy alta, pero principalmente a la amplia diferencia en precio entre el comercializado formalmente y el informal (artesanal), con una diferencia aproximada del (300%), es por eso que en México la mayor producción de este derivado lácteo se lleva a cabo a nivel artesanal.

1.3.3 Producción artesanal

Los quesos que actualmente se industrializan en grandes volúmenes, se empezaron a elaborar con procedimientos artesanales, con el tiempo se han mejorado, pero aún existen deficiencias que se deben erradicar para que recobren el lugar que les corresponde como parte de la cultura de nuestro país (Cervantes *et al*, 2008).

El gran inconveniente de la producción artesanal es que normalmente los talleres no cumplen con los requisitos sanitarios que demanda el mercado, la producción se realiza en la mayoría de los casos en instalaciones sucias, el personal que trabaja en la fabricación no adopta las más elementales normas de higiene y por lo general adquiere hábitos empíricos, el equipamiento que utilizan es inadecuado, el proceso de elaboración carece de estándares y normas de calidad de higiene, el producto terminado no tiene garantía, fecha de elaboración, fecha de vencimiento, ni dirección donde se elabora el producto y no cuentan con ningún tipo de registro sanitario (Guidi & Mamani, 2001 y Barsky & Llovet, 1982). Todo esto repercute en la salud del consumidor, por lo que es de vital importancia la producción de un producto tan perecedero como es el requesón bajo Buenas Prácticas de Manufactura, las cuales se describirán más adelante.

La tabla 11 muestra la diferencia entre la producción artesanal e industrial de requesón en México:

Tabla 11. Contraste entre la producción artesanal e industrial quesera en México.

INDUSTRIAL	ARTESANAL
-Plantas transformadoras de grandes volúmenes de leche (>20,000 L/día). Son escasas en el país.	Plantas transformadoras de bajos volúmenes de leche (<20,000 L/día). Innumerables en el país.
Presentan mejor nivel tecnológico: mayor y mejor equipo, mejor conocimiento técnico y mayor organización empresarial.	Disponen de menor nivel técnico: equipo escaso, mayor obsolescencia, predomina conocimiento empírico y deficiente organización empresarial.
Derivados con leche pasteurizada, emplea aditivos y ejerce mayor control de calidad en materia prima, procesos y productos.	Elaboración de productos con leche cruda o bronca, no emplea aditivos, control de calidad limitada o inexistente.
Sensible a cambios tecnológicos, administrativos, etc.	Conservadora, poco sensible a innovaciones.
Productos con marca.	La mayoría no posee marca.
Difusión comercial de amplio alcance en el mercado nacional.	Alcance comercial regional.
Quesos más homogéneos y con mayor vida de anaquel.	Quesos más heterogéneos y menor vida de anaquel.
Tiende a cumplir la normatividad.	Desconoce, evade o incumple la normatividad.
Gran importancia económica, por los volúmenes procesados.	Importancia no solo económica, sino social porque existen muchas queserías involucradas.

Fuente: Cervantes *et al*, 2008

1.3.4 Obtención de requesón

La elaboración del requesón es relativamente sencilla a partir de la obtención del suero. La figura 4 muestra el diagrama general de proceso de su elaboración.

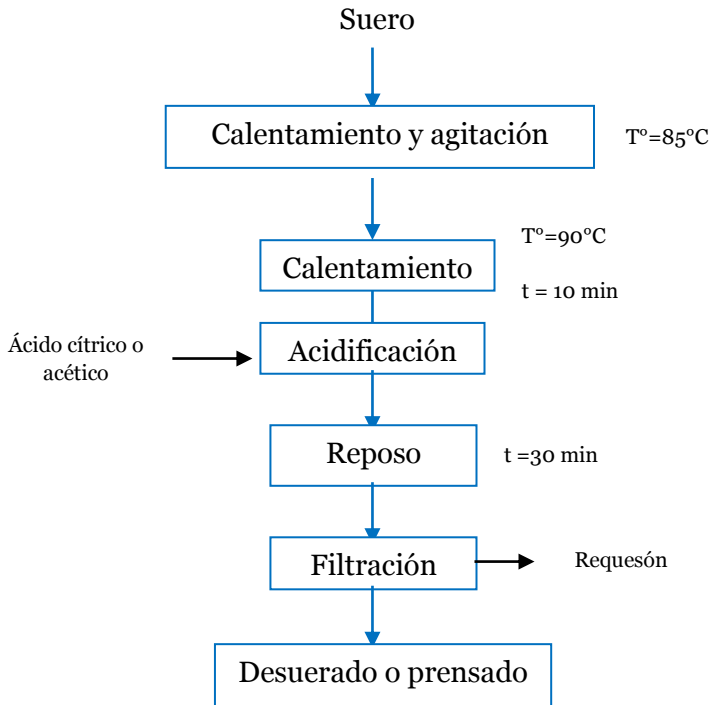


Figura 4. Diagrama de proceso para elaboración de requesón.
Fuente: Hernández *et al*, 2003; Scholz, 1995 y Valencia, 2001.

Una vez que se obtiene el suero de quesería, que normalmente resulta con una temperatura aproximada de $35\text{-}40^{\circ}\text{C}$ se calienta hasta 85°C (la albúmina inicia su coagulación a 80°C), debe agitar constantemente (cada 3 minutos).

Al alcanzar 85°C se deja de agitar para que el suero alcance una temperatura de 90°C, evitando la ebullición que provocaría que la masa formada volviera a disolverse afectando el rendimiento y consistencia del producto final, para lo cual se pueden añadir pequeñas cantidades de suero, tras alcanzar esta temperatura se acidifica, con lo que la precipitación en pequeños flóculos de la proteína del suero se hace más grosera y puede separarse con mayor facilidad del resto del suero. La acidificación puede llevarse a cabo con ácido cítrico o acético, existen distintas propuestas en cuanto a la cantidad de ácido a añadir, que tienen que ver con el rendimiento del requesón, las más comunes son 6 mL de una solución al 50% de ácido cítrico o 20 mL de una solución de ácido acético al 40% en 10 litros de suero.

Se debe incorporar el medio acidificante con suavidad y sin remover para no destruir el precipitado grueso que ha comenzado a formarse.

Si el suero es ácido ya no es necesario acidificarlo. Al cabo de 5 o 6 minutos de mantener la temperatura a 90°C el requesón está hecho, se deja en reposo de 20 a 30 minutos, periodo en el cual la capa de requesón aumenta y la proteína sérica se hace bastante consistente y sobrenada en la superficie en su mayor parte. A continuación se filtra por un fino tamiz o un paño y se comprime ligeramente. A las 6 horas aproximadamente se separa el suero restante del requesón por compresión, el cual ya está en condiciones de consumirse (Cantú, 1975; Scholz, 1995; Valencia, 2001 y Hernández *et al*, 2003).

Después de su elaboración se puede agregar sal, azúcar o miel, envasar y refrigerar a 4°C durante toda la cadena de frío. Se debe tener especial cuidado en su elaboración y manipulación ya que al ser un producto rico en proteína es muy perecedero (FAO, 2011).

1.3.5 Composición química y aporte nutritivo

Al ser un derivado del lactosuero su composición química depende de la composición de este, por lo que es muy variada. Las tablas 12 y 13 muestran la composición química del requesón según distintos autores.

Tabla 12: Composición química y aporte nutritivo de requesón por 100g.

Componentes primarios	
Agua	68.6 g
Carbohidratos	3.3 g
Grasas	5.6 g
Proteínas	20.9 g
Cenizas	1.6 g
Minerales	
Potasio (K)	0.1409 g
Sodio (Na)	0.132 g
Calcio (Ca)	0.117 g
Magnesio (Mg)	0.069 g
Hierro (Fe)	0.050 g
Fósforo (P)	0.198 g
Azufre (S)	0.289 g
Cloro (Cl)	0.301 g
Cobre (Cu)	0.125 g
Vitaminas	
Vitamina B1 (Tiamina)	0.03 mg
Vitamina B2 (Riboflavina)	0.2 g
Vitamina B3 (Niacina)	0.1 g

Fuente: Mataix *et al*, 2003.

Tabla 13: Composición química y aporte nutritivo de requesón por 100g.

Componentes primarios	
Agua	78 g
Carbohidratos	2.68 g
<u>Grasas</u>	4.51 g
AGS	2.85 g
AGM	1.28 g
AGP	0.14 g
Colesterol	15 mg
Proteínas	12.49 g
Minerales	
Calcio (Ca)	60 mg
Hierro (Fe)	0.14 mg
Magnesio (Mg)	5 mg
Zinc (Zn)	0.37 mg
Sodio (Na)	4.5 mg
Potasio (K)	84 mg
Fósforo (P)	132 mg
Cobre (Cu)	0.03 mg
Cloro (Cl)	550 mg
Selenio (Se)	9 µg
Vitaminas	
Vitamina B1 (Tiamina)	0.02 mg
Vitamina B2 (Riboflavina)	0.16 mg
Vitamina B3 (Niacina)	3.3 mg
Vitamina B5 (Pantotenato)	0.21 mg
Vitamina B6 (Piridoxina)	0.07 mg
Vitamina B12(Cianocobalamina)	0.62 µg
Ácido fólico (Folato)	12 µg
Vitamina A (Retinol)	48 µg
Vitamina D (Calciferol)	0.03 µg
Vitamina E (Tocoferol)	0.12 mg

Fuente: Farran *et al*, 2004.

En las tablas anteriores podemos observar que la cantidad de grasa presente en el requesón es mucho menor que en la mayoría de los quesos que contienen de 10% siendo desnatados hasta 60% de grasa considerándose extra grasos (NOM-121-SSA1-1994), además los ácidos grasos saturados presentes no exceden más de una tercera parte de los ácidos grasos consumidos como en la mayoría de los quesos (NOM-043-SSA2-2005). El requesón es uno de los derivados lácteos que aporta menos calorías al organismo, por estas características es un alimento recomendable para personas con problemas de obesidad.

Es un alimento rico en proteína (cuatro a cinco veces más que la leche), además sus proteínas contienen todos los aminoácidos esenciales y en muchos casos en mayor cantidad que las caseínas del queso común, los cuales tienen que ser ingeridos con la alimentación, ya que nuestro organismo no los sintetiza: isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina (Mendoza & Calvo, 2010).

Su contenido de carbohidratos no es elevado por lo que presenta un índice glucémico muy bajo (prácticamente la carga glucémica es nula), lo que lo convierte en un alimento ideal para diabéticos (NOM-015-SSA2-1994).

En cuanto a micronutrientes minerales destacan el calcio, fósforo y potasio que son esenciales para el organismo, además de que los tres pertenecen al grupo de los macrominerales, por lo que el cuerpo requiere que sean consumidos en mayor cantidad que los otros (Ca: 800-1200 mg/día, P: 800-1200 mg/día y K: 2000 mg/día). El 99% del calcio y el 80% del fósforo del cuerpo forman huesos y dientes, previniendo también enfermedades como osteoporosis, raquitismo y caries dental; el calcio también tiene un papel importante en la contracción muscular, renovación de tejidos orgánicos, coagulación de la sangre y mejora la transmisión de impulsos nerviosos; el fósforo

ayuda al cuerpo a producir ATP, molécula que el cuerpo necesita para almacenar energía y el potasio regula el pH y la osmolaridad (mantiene la presión normal en el interior y exterior de las células), es importante para el metabolismo de proteínas y carbohidratos y participa en el mecanismo de contracción y relajación de músculos (De Cos *et al*, 2005).

Destacan también las vitaminas del grupo B, principalmente riboflavina (B2), niacina (B3) y pantotenato (B5), que participan en el metabolismo de macronutrientes. Además la riboflavina participa en la regeneración y conservación de tejidos y en la función de las glándulas suprarrenales y el ojo, la niacina participa en el metabolismo del etanol y en la síntesis de ácidos grasos y colesterol y el pantenonato o ácido pantenónico es esencial en la síntesis del grupo “hemo” de la hemoglobina y se relaciona con el funcionamiento del sistema nervioso (Marín, 2000)

1.3.6 Calidad

En primera estancia para obtener un producto conforme, el requesón debe elaborarse con el suero obtenido de leche que cumpla todos los aspectos que determinan la calidad de la leche citados en la tabla 3 (página 15), ya que esta determina la calidad de cualquier derivado lácteo (Oliszewski *et al*, 2001).

- **Calidad composicional o química:** La calidad composicional del requesón no tiene un rango, está en función de la riqueza de las sustancias químicas que lo caracterizan, principalmente el contenido proteico y el contenido de grasa, se considera de mayor calidad entre más proteína y menos grasa contenga. Seguida de la cantidad de vitaminas y minerales que contenga (calcio, fósforo, potasio y vitaminas del grupo B) (Barioglio, 2001).

- Calidad microbiológica:** Recién hecho, el requesón es prácticamente estéril, todas las bacterias y microorganismos dañinos mueren durante la larga ebullición del suero. Pero una vez terminado, la manipulación y las condiciones de transportación y almacenamiento que se le den pueden contaminarlo (De Santos, 2009). Además la calidad composicional del requesón, así como su pH favorecen la proliferación de dichos microorganismos y muchos de estos pueden ser patógenos. Es por esto que la mala calidad microbiológica no solo representa un problema de calidad si no de seguridad. Un alimento seguro, es aquel que no representa riesgo a quien lo consume (Forsythe, 2003), por esta razón la Secretaría de Salud establece límites permisibles para cada tipo de alimento.

En la tabla 14 se muestra el límite máximo de microorganismos permitido por la Secretaría de Salud para que el requesón sea un producto apto para consumo, según la NOM-035-SSA1-1993 y la NOM-243-SSA1-2010.

Tabla 14. Límite máximo permitido de patógenos en requesón.

Microorganismo	Límite máximo
Coliformes Totales	<100 UFC/g
<i>Staphylococcus aureus</i>	1000 UFC/g
<i>Salmonella spp</i>	Ausente en 25 g
<i>Listeria monocytogenes</i>	Ausente en 25 g
<i>Vibrio cholerae</i>	Ausente en 50g
Mohos y levaduras	500 UFC/g

Fuente: NOM-243-SSA1-2010 y NOM-035-SSA1-1993.

- **Calidad organoléptica:**

El requesón debe presentarse a simple vista como una masa suave, de color blanco, sin materia extraña y debe tener un sabor neutro (De Santos, 2009).

Puede presentar diversos defectos, que pueden estar asociados a la materia prima o al proceso de elaboración y deben estar ausentes en su totalidad.

La calidad organoléptica dependerá de la acertada elección y aplicación de los factores que intervienen en su producción. La tabla 15 muestra los defectos más comunes en el requesón.

Tabla 15. Defectos más comunes en requesón.

DEFECTO	CAUSA
Grasa inestable	Mala agitación y manipulación.
Manchas de color claro	Inclusión de granos de caseína.
Color marrón oscuro	Calentamiento excesivo.
Textura corta	Grasa láctea dura, leche agria o mezcla no uniforme de grasa, proteína y agua.
Textura dura (seca)	Contenido de materia seca excesivamente alto por desuerado demasiado pronunciado, sinéresis causada por bacterias.
Textura blanda (fluyente)*	Contenido de materia seca bajo por desuerado insuficiente (por bajas temperaturas, presencia de residuos químicos etc.) o grasas excesivamente blandas.
Textura arenosa	Por enfriamiento rápido que produce grandes cristales de lactosa.
Hinchamientos precoces	Se presenta como una multitud de pequeños agujeros. Lo causan gérmenes productores de gas a través de la fermentación de la lactosa (levaduras como <i>Kluyveromyces</i> , bacterias coliformes y bacterias lácticas fermentativas).

Continuación tabla 15

DEFECTO	CAUSA
Defectos de origen fúngico*	-Manchas azuladas, verdosas causadas o pardas por <i>Penicillium</i> . -Manchas negras debido a las esporas de <i>Mucor</i> .
Defectos de sabor y olor por bacterias (alteración de alimentos).	Se debe al crecimiento no deseado de microorganismos normalmente no patógenos que durante su metabolismo producen compuestos volátiles detectados por olfato y gusto.
Sabor ácido	Por uso de leche agria o suero demasiado acidificado.
Sabor a quemado	Por temperatura demasiado alta

*Son los más comunes.

Fuente: Mahaut *et al*, 2003 y Robinson *et al*, 2002.

1.3.7 Buenas Prácticas de Manufactura

Para evitar daños tanto al alimento como al consumidor por los microorganismos mencionados en la tabla 15 y otros materiales, se deben seguir una serie de lineamientos llamados Buenas Prácticas de Manufactura (BPM's), que son las medidas necesarias para garantizar la inocuidad de los productos, esto quiere decir aquello que no hace o causa daño a la salud (NOM-251-SSA1-2010).

Existen cuatro eslabones en los cuales deben llevarse a cabo las BPM's (Armendáriz, 2012):

- Producción primaria: encargados de obtener la materia prima (leche).
- Industria alimentaria: fabricación, manipulación, envasado, almacenamiento y transporte.
- Comercialización: manipulación y almacenamiento en los puntos de venta.
- Consumidor: es responsable de la forma en que adquiere los alimentos, los conserva y los prepara.

La tabla 16 muestra el resumen de las BPM's básicas que deben llevarse a cabo en la elaboración de requesón:

Tabla 16. Buenas Prácticas de Manufactura para elaboración de requesón.

Instalaciones y áreas	Deben evitar la contaminación tanto de la materia prima como del producto, contando con pisos, paredes y techos limpios, sin grietas, encharcamientos en piso y condensaciones en paredes y techo; puertas y ventanas con protección que no permitan entrada de suciedad y plagas del exterior y evitando que cables, tuberías, etc. pasen por el área de producción; evitar que haya materiales ajenos al proceso.
Equipos y utensilios	Deben estar limpios y desinfectados y ser resistentes a la corrosión. Los equipos de refrigeración y congelación deben encontrarse limpios, sin escurrimientos y con termómetro (los termómetros digitales deben calibrarse con regularidad).
Servicios	El agua en contacto con los alimentos debe ser potable y se debe contar con instalaciones apropiadas para almacenarla y distribuirla sin contaminarla; los baños deben estar fuera de áreas de producción y los drenajes deben proveerse de trampas contra olores y otras que eviten entrada de plagas; se debe contar con área de lavado y desinfección de manos; la ventilación debe evitar condensación, así como acumulación de polvo y suciedad y debe contarse con iluminación adecuada que permita la realización de operaciones de manera higiénica, los focos y lámparas deben tener protección contra estallamiento.
Salud e higiene personal	El personal debe estar aseado, usar ropa y calzado limpio, mantener uñas cortas, limpias y sin barniz, usar cofia y cubrebocas, no se debe comer, beber, mascar chicle y fumar en área de producción, evitar joyería, productos personales y maquillaje, en caso de cortadas o heridas cubrirse adecuadamente con un material impermeable, evitar estornudar y toser sobre el producto, lavarse las manos adecuadamente cuando se empiece a elaborar el producto y al regreso de cada ausencia del área de producción y evitar tener contacto con el requesón o materias primas si se tiene una enfermedad contagiosa, sobre todo si se trata de ETA's.

Continuación de tabla 16.

Control de materia prima	No debe aceptarse leche o suero en descomposición, con materia extraña u olor, sabor y color que no sean característicos, deben permanecer en envases limpios y cerrados y almacenarse a temperatura adecuada (4°C); respetar primeras entradas primeras salidas (PEPS).
Control de operaciones	Se deben respetar las temperaturas del proceso para acabar con microorganismos; los equipos de refrigeración deben mantenerse máximo a 4°C; el requesón terminado no debe estar en contacto con materia prima no procesada (leche, suero) o producto en elaboración (evitar contaminación cruzada); el paño o tamiz para la obtención de requesón debe encontrarse limpio y estéril; proteger el requesón tapándolo para evitar contaminación por el ambiente o materiales extraños y no debe depositarse ropa u objetos personales en área de producción.
Envasado	Debe hacerse en condiciones que no contaminen el requesón; los envases deben encontrarse limpios y deben ser de materiales adecuados; deben contener una etiqueta de identificación, así como fecha de caducidad.
Almacenamiento	Deben evitar la contaminación del producto; encontrarse lejos de agentes químicos y utensilios (escobas, trapos, etc.) para lavado y desinfección; del requesón debe colocarse en estructuras limpias y desinfectadas y por ningún motivo en el piso; debe permanecer en refrigeración a no más de 4°C y respetar PEPS-
Control de plagas	No se debe permitir la presencia de animales domésticos y el área debe encontrarse libre de insectos, roedores, aves, etc. (incluye área de transporte); tomar medidas preventivas contra infestación; si hay patios deben evitarse condiciones que favorezcan proliferación de plagas (chatarra, hierbas, desperdicios, etc.); los drenajes deben tener cubierta apropiada para evitar plagas provenientes del alcantarillado; en caso de plaga se deben tomar medidas para su erradicación.
Transporte y distribución	El requesón debe estar transportado en condiciones que eviten su contaminación física, química o biológica; los vehículos deben estar limpios; el requesón no se debe transportar en el piso; se debe mantener temperatura de refrigeración (4°C) y proteger contra la humedad.

Fuente: NOM-251-SSA1-2010 y NOM-120-SSA1-1994.

1.4 Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA´s) y microorganismos patógenos presentes en requesón

Las Enfermedades Transmitidas por alimentos se presentan cuando se ingieren alimentos contaminados con microorganismos patógenos (causantes de daño a la salud) o sus toxinas. Cuando ocurre un daño a la salud por el consumo de estas toxinas, se habla de “toxiinfecciones alimentarias”. Los síntomas más comunes son molestias estomacales, náuseas, vómitos, diarrea y fiebre. Solo una pequeña porción de los casos son atendidos, esto se debe a que muchos microorganismos originan una sintomatología leve (Forsythe, 2003).

Mundialmente y sobre todo en países en vías de desarrollo, las infecciones gastrointestinales causadas por el consumo de alimentos contaminados son una de las principales causas de mortalidad, que afecta a grupos de cualquier edad, pero sobre todo niños y ancianos (Hernández *et al*, 2011).

En México las ETA´s son uno de los principales problemas de salud pública (Hernández *et al*, 2011). A continuación se muestran datos estadísticos sobre estas, para comprender la importancia de microorganismos presentes en alimentos que en muchos casos pueden comercializarse y/o elaborarse bajo malas prácticas de higiene:

- La Organización Mundial de la Salud (OMS, 2011) estima que cada año tienen lugar 1,500 millones de episodios en países en vías de desarrollo, México es uno de ellos, resultando de estos en 1,5 millones de muertes.
- En México un estudio gubernamental realizado en 2003 reportó 4,556 decesos causados por infecciones intestinales.

- En 2011 la Secretaría de Salud (SSA, 2011) informo que las enfermedades gastrointestinales, ocasionadas por bacterias o parásitos, ocupaban la segunda causa de morbilidad a nivel nacional, aumentando anualmente, y los estados con mayor problemática eran: Chiapas, Oaxaca, Guanajuato, Veracruz, Puebla, Jalisco, Nuevo León, Estado de México y Distrito Federal.
- De acuerdo con estadísticas del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), las infecciones como gastroenteritis, salmonelosis, tifoidea y cólera representan un severo problema de salud pública en nuestro país.

La tabla 17 muestra las incidencias reportadas por la Secretaría de Salud de enfermedades gastrointestinales para 2011.

Tabla 17. Incidencias por enfermedades gastrointestinales en 2011.

Población						
Estado	General		Masculina		Femenina	
	Casos	Incidencia	Casos	Incidencia	Casos	Incidencia
AGS	104,393	8,873.87	49213	8,620.45	55,180	9,112.80
Baja California	119,663	3,582.55	54,445	3,111.75	65,218	4,100.47
BCS	35,371	5,965.72	16,125	5,178.81	19,246	6,836
Campeche	69,123	8,488.17	31,919	7,956.46	37,204	9,004.44
Coahuila	180,006	6,714.95	78,853	5,895.41	101,153	7,531.07
Colima	47,589	7,724.76	22,468	7,261.42	25,121	8,192.29
Chiapas	240,129	5,221.74	103,180	4,589.99	136,949	5,825.87
Chihuahua	223,673	6,480.82	93,971	5,341.40	129,702	7,665.55
Distrito Federal	421,546	4,763.05	192,264	4,498.53	229,282	5,010.08
Durango	135,019	8,652.31	59,355	7,753.85	75,664	9,517.42
Guanajuato	239,708	4,691.30	109,780	4,554.15	128,928	4,814.77
Guerrero	214,917	6,871.89	95,223	6,349.76	119,694	7,352.89
Hidalgo	125,693	5,140.75	58,176	4,986.61	67,517	5,281.42
Jalisco	375,131	5,266.68	173,277	4,942.72	201,854	5,580.67
México	672,361	4,417.02	307,732	4,047.88	364,629	4,785.31

Continuación de tabla 17

Michoacán	209,057	5,314	93,115	4,957.99	115,942	5,639.21
Morelos	101,695	5,983.42	46,263	5,574.53	55,432	6,373.59
Nayarit	92,396	9,485.05	42,270	8,754.22	50,126	10,203.37
Nuevo León	252,571	5,544.89	113,789	4,969.25	138,782	6,126.81
Oaxaca	261,820	7,383.80	117,216	6,976.22	144,604	7,750.86
Puebla	241,471	4,193.45	106,639	3,856.12	134,832	4,505.13
Querétaro	92,602	5,198.63	41,398	4,756.26	51,204	5,621.37
Quintana Roo	78,887	5,593.37	35,535	5,027.90	43,352	6,161.37
San Luis Potosí	145,226	5,796.52	65,493	5,424.51	79,733	6,142.54
Sinaloa	198,932	7,481.97	85,187	6,370.52	113,745	8,606.52
Sonora	180,328	7,060.84	81,885	6,326.07	98,443	7,815.96
Tabasco	169,114	8,168.48	75,607	7,454.19	93,507	8,854.54
Tamaulipas	167,480	5,126.69	73,821	4,517.78	93,659	5,736.04
Tlaxcala	61,271	5,262.72	27,259	4,851.31	34,012	5,646.49
Veracruz	319,377	4,369.15	139,553	3,997.64	179,824	4,708.75
Yucatán	143,719	7,296.40	66,594	6,813.90	77,125	7,771.58
Zacatecas	107,679	7,829.66	47,893	7,228.44	59,786	8,388.57
Total	5,283,896	4,837.85	2,705,498	5,048.05	3,321,449	5,971.15

Fuente: SSA, 2011.

Las figuras 5, 6, 7 y 8 muestran algunos ejemplos de cifra relacionadas con Enfermedades Transmitidas por Alimentos del año 2000 al 2008.

En las figuras 5 y 6 se observa que de 2002 a 2006 el número de casos de intoxicaciones alimentarias en México aumentó considerablemente, en 2007 el número descendió y al parecer se ha mantenido constante.

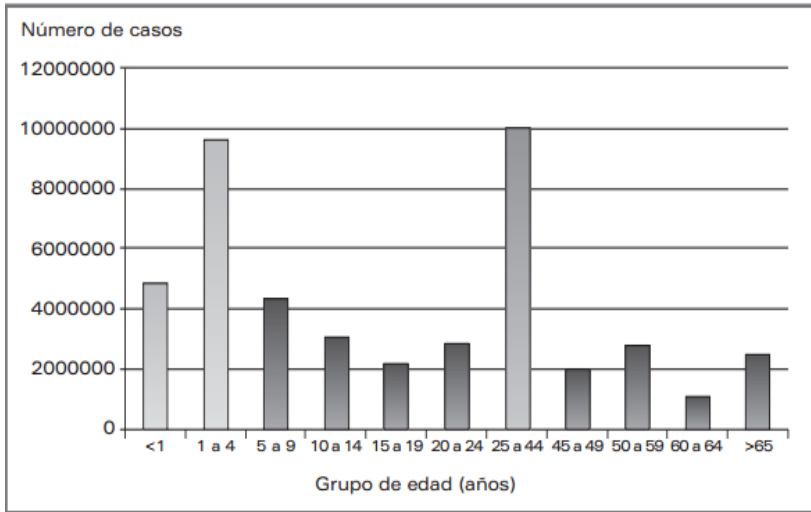


Figura 5. Número de casos de enfermedades del tracto intestinal. Datos recopilados de 2000 a 2008 (Hernández *et al.*, 2011).

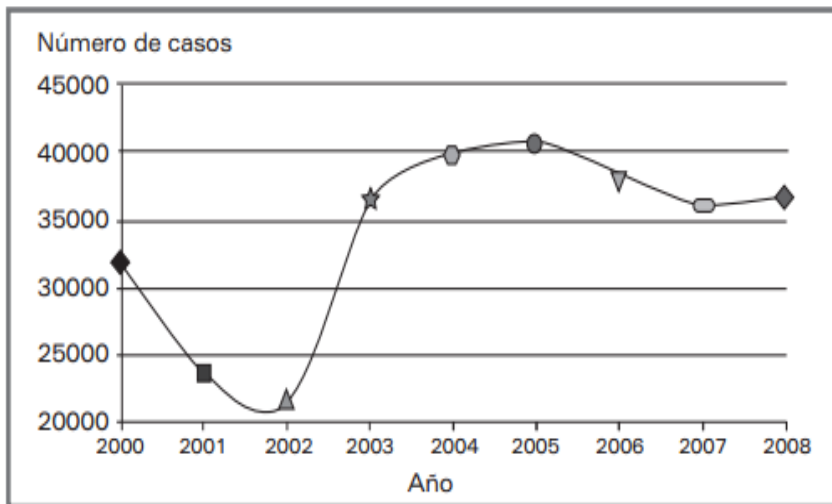


Figura 6. Distribución de casos de intoxicación alimentaria bacteriana por año (Hernández *et al.*, 2011).

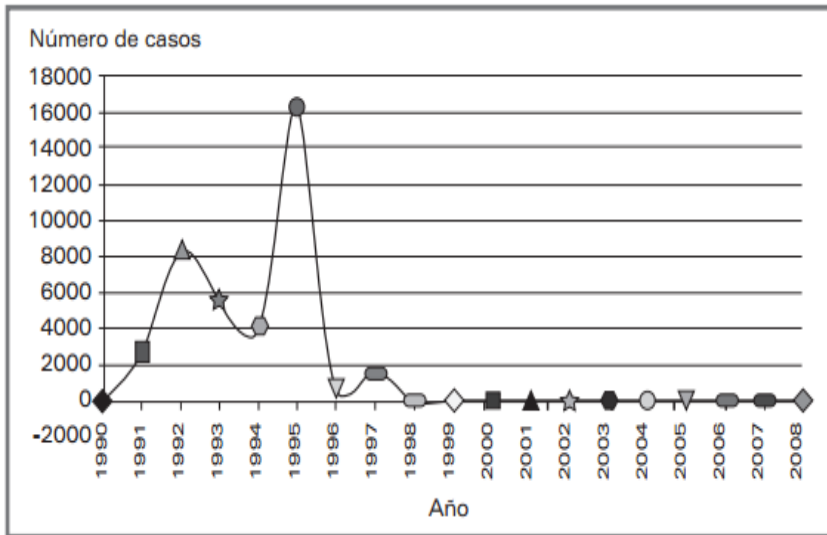


Figura 7. Número de casos de cólera presentados en la República Mexicana entre 1990 y 2008 (Hernández *et al*, 2011).

Después del brote de cólera presentado en la década de los 90's y gracias a los diversos programas de vigilancia epidemiológica para la prevención y control del cólera, se observa una disminución de las toxiinfecciones provocadas específicamente por este patógeno, sin embargo, en el año 2013 nuevamente se presentaron casos.

Contrario al cólera se encuentra el caso de la fiebre tifoidea y otras salmonelosis, que cada año aumentan como la figura 8.

Es importante mencionar que en México no existen estadísticas confiables en cuanto a las ETAS's, ya que incluso organismos como la SSA y la OMS reconocen que por cada ETA reportada, hay aproximadamente 99 que no lo son.

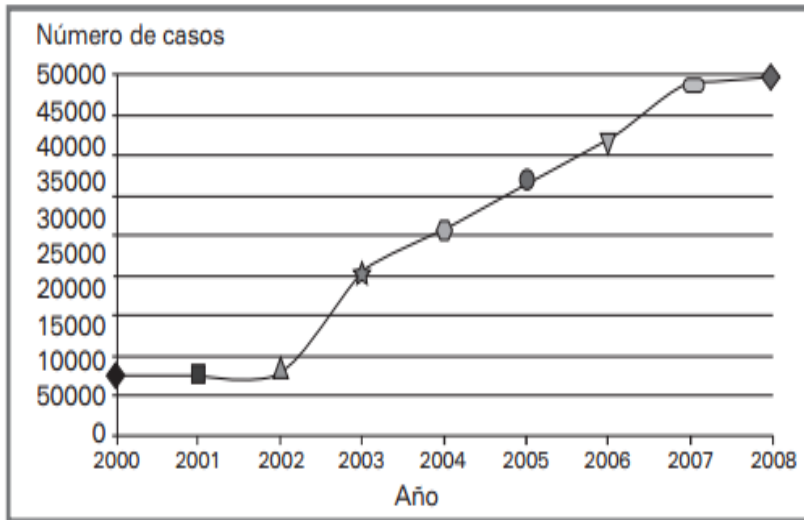


Figura 8. Número de casos de fiebre tifoidea de 2000 a 2008 (Hernández *et al*, 2011)

1.4.1 *Salmonella spp*

La *salmonella* es un género de la familia *enterobacteriaceae*, son bacilos gramnegativos, anaerobios facultativos, no forman endosporas y la mayor parte son móviles (poseen flagelos peritricos) excepto *Salmonella pullorum* y *Salmonella gallorum*, poseen fimbrias y pilis, su metabolismo es oxido fermentativo y de la glucosa, suelen producir ácido sulfhídrico y gas, son catalasa positivas y oxidasa negativas, utilizan el citrato como única fuente de carbono y descarboxilan la lisina, la arginina y la ornitina (Gutiérrez *et al*, 2010 y Bourgeois *et al*, 1994).

La mayoría de los alimentos involucrados con contaminación por *salmonella* (figura 9) son los de origen animal (carnes de abasto, pollo, mariscos, leche, huevos y subproductos de origen animal).

Se encuentra presente en la superficie de los canales de los animales como consecuencia de contaminación por contenido intestinal, al igual puede estar presente en patas, piel y pelo, también en carnes elaboradas mediante fermentación, ya que resisten este proceso, y en alimentos sanos que se contaminan con productos en malas condiciones de salubridad o son mal manipulados (Pascual, 2005).



Figura 9: Colonias de *Salmonella spp* en agar XLD

1.4.1.1 Salmonelosis

Las *salmonellas* invaden el intestino delgado, donde se multiplican. Después atraviesan la sección final del intestino delgado (íleon) y en menor grado el colon, donde se produce una reacción inflamatoria, los folículos linfáticos pueden aumentar de tamaño y se pueden ulcerar. Los ganglios mesentéricos con frecuencia se inflaman, a veces atraviesan las barreras mucosa y linfática, llegan a la corriente sanguínea y originan abscesos en varios tejidos. Las cepas invasoras como *Salmonella typhi* atraviesan la mucosa intestinal, pasan al sistema linfático y son englobadas por los fagocitos, en cuyo interior se multiplican, después vuelven a entrar en la corriente sanguínea causando septicemia (Baird-Parker *et al*, 1998).

El tipo de síndrome clínico está determinado por los factores de defensa del huésped, la cepa y el número de microorganismos ingeridos (Romero, 2007). Las formas de infección se pueden dividir en cinco grupos principales (Lundbeck *et al*, 2000 y Romero, 2007):

- 1) **Infecciones asintomáticas agudas:** se presentan síntomas muy leves o ninguno.
- 2) **Bacteriemia:** presencia de bacterias en la sangre que invaden y pueden diseminarse y afectar tejidos como corazón, riñones y pulmones. Algunas *Salmonellas* conducen a septicemia que es la respuesta inflamatoria a la infección y es una combinación de sepsis y bacteriemia.
- 3) **Estado de portador crónico asintomático:** no se presenta infección al portador, pero si se puede transmitir.
- 4) **Las fiebres tifoideas y paratifoideas (causadas por *Salmonella typhi* y *Salmonella paratyphi*):** fiebre de 39 a 40°C, acompañada de taquicardia, dolor de cabeza, estreñimiento, dolores abdominales, náuseas, vómitos y falta de apetito, ocasionalmente diarrea y manchas en abdomen y tórax.
- 5) **Las infecciones entéricas (causadas principalmente por *Salmonella enteritidis*):** son las más comunes, afectan el intestino delgado y la primera porción del intestino grueso, colonizando la pared intestinal y se caracterizan por náuseas, vómito y diarrea acuosa muy fétida y a veces sanguinolenta.

Los síntomas de las infecciones anteriores son muy variados dependiendo del tipo de infección y de especie de *Salmonella* involucrada y pueden presentarse algunos de los siguientes: ritmo cardiaco lento, fiebre, falta de apetito, dolor de cabeza, dolor abdominal, dolor y espasmos musculares, náuseas, vómito, estreñimiento, diarrea acuosa, diarrea sanguinolenta y manchas rosadas en abdomen tórax.

Estas infecciones pueden tener complicaciones en casos muy graves como perforación de intestino, hepatitis, necrosis hepática, etc. (Gutiérrez *et al*, 2010 y Romero, 2007).

1.4.2 *Escherichia coli*

Al igual que *Salmonella* pertenece al género *enterobacteriaceae* y al igual que todas las bacterias de este género son bacilos gramnegativos con tamaño promedio de 0.5 μ de ancho y 3 μ de largo, no forman esporas y la mayoría son móviles, es una bacteria anaerobia facultativa, la mayoría forma fimbrias y pilis, fermenta glucosa y otros azúcares con producción de gas, son catalasa positivos, oxidasa negativos y reducen nitratos a nitritos. Tienen información genética en los plásmidos que son responsables por la producción de toxinas y la resistencia a antimicrobianos (Romero, 2007 y Gutiérrez *et al*, 2010)

Es la bacteria anaerobia facultativa más común de la microbiota intestinal, su nicho ecológico natural es el intestino delgado y grueso, por lo que se encuentra en las materias fecales del hombre y muchas especies animales. Se encuentran en calidad de saprobio sin causar daño, por el contrario muchas cepas de *Escherichia coli* producen sustancias útiles para el huésped como las colicinas, que tienen efecto inhibitorio sobre otras cepas patógenas (Romero, 2007), sin embargo en personas inmunosuprimidas o cuando las barreras que presenta el tracto gastrointestinal son alteradas y la bacteria sale de su hábitat natural, pueden infectar y causar enfermedad (Gutiérrez *et al*, 2010).

Las infecciones por *Escherichia coli* se adquieren principalmente por ingestión de alimentos o agua contaminados con desechos humanos y animales. Se ha aislado de gran variedad de alimentos como café, carne de cerdo y pollo, carne de cordero y oveja, salsas, embutidos, leche, jugos, hortalizas regadas con aguas contaminadas, etc.

Esta bacteria puede ser un indicador de mala manipulación de alimentos por parte de portadores y al poder desarrollarse en gran variedad de alimentos es uno de los mayores riesgos para la salud pública (Lundbeck *et al*, 2000 y Pascual, 2005).

La *Escherichia coli* Se clasifica con base en sus propiedades de virulencia como: enterotoxigénica (ETEC), enteropatógena (EPEC), enteroinvasiva (EIEC), enterohemorrágica (EHEC) o enteroagregativa (EAEC). Cada grupo causa enfermedad por mecanismos diferentes y los síndromes difieren por lo común en cuanto a sus manifestaciones clínicas (Ray & Ryan, 2011).

1.4.2.1 Infecciones por *E. coli*

Existen dos formas de esta infección, la primera producida por cepas toxigénicas y la segunda por cepas invasoras. Algunas cepas pueden ser tanto toxigénicas como invasivas y existen dos clases de toxinas: termoestable (ST) y termolábil (LT) (Lundbeck *et al*, 2000).

Puede ser responsable de infecciones urinarias (en más del 70% de los casos), enteritis, enterocolitis, bacteriemia, septicemias, infecciones nosocomiales en varios sitios del cuerpo (causa más frecuente por gramnegativos), meningitis, sobre todo neonatal, etc. (Romero, 2007 y Forbes *et al*, 2009).

La tabla 18 muestra en resumen las características de las infecciones para cada enteropatógeno.

Tabla 18. Enfermedades causadas por *E. coli*

Microorganismo	Espectro de enfermedades infecciosas
<i>E. coli</i> enterotoxigénica (ETEC)	Diarrea del viajero y de la infancia, caracterizada por diarrea acuosa. Se transmite a través de alimentos (principalmente crudos) y agua contaminados.
<i>E. coli</i> enteroinvasora (EIEC)	Disentería (necrosis, ulceración e inflamación del intestino grueso): por lo general en niños pequeños (<5 años) que viven en zonas con servicio sanitario deficiente.
<i>E. coli</i> enteropatógena (EPEC)	Diarrea que puede llegar a ser diarrea crónica, principalmente en lactantes de países en vías de desarrollo.
<i>E. coli</i> enterohemorrágica	Inflamación y sangrado de la mucosa del intestino grueso que causa diarrea sanguinolenta (colitis hemorrágica), también puede producir el síndrome urémico hemolítico por daño renal mediado por toxinas. Su principal transmisión es por carne mal cocida y leche cruda.
<i>E. coli</i> enteroagregativa (EAEC)	Diarrea acuosa que en algunos casos puede ser prolongada (>14 días), en ocasiones con sangre y moco. Se da mayoritariamente en lactantes y niños. No se observan células inflamatorias.

Fuente: Forbes *et al*, 2009 y Ray & Ryan, 2011.

1.4.3 *Listeria monocytogenes*

La *Listeria monocytogenes* es una bacteria con bacilos cortos, gramnegativos positivos, no esporulados y anaerobios facultativos. Contienen flagelos y son móviles a 25°C pero no a 35°C, resiste condiciones muy diversas a pesar de no ser esporulada como pH ácido, altas concentraciones de sal, deshidratación, calor y congelación (Forsythe, 2003), pudiendo multiplicarse a temperaturas de refrigeración hasta alcanzar cifras significativas si transcurre suficiente tiempo, por lo que se debe tener especial cuidado durante el almacenamiento, además tiene alta capacidad de formar biopelículas lo que hace que las superficies y empaques sean más difíciles de descontaminar (Buchanan *et al*, 2004 y Koneman & Allen, 2008). Esta bacteria produce una zona estrecha de hemólisis en medios de agar sangre (β -hemolítico) (Baker, 2009).

La *Listeria monocytogenes* está ampliamente extendida en el ambiente y en los alimentos, que son el principal vector de infección humana por esta bacteria (Buchanan *et al*, 2004), ha sido aislada en una gran diversidad de hábitats, entre los que se incluyen el suelo, las aguas residuales, ambientes donde se elaboran alimentos, las carnes crudas y las heces de las personas y de animales sanos (Baird- Parker *et al*, 1998).

Es un patógeno oportunista que casi siempre afecta a personas con una enfermedad o circunstancia subyacente grave como: VIH, diabetes, afecciones crónicas como la cirrosis, a mujeres embarazadas, fetos, recién nacidos y personas mayores.

No se conoce con exactitud la dosis infecciosa mínima pero se cree que es elevada (>100 células viables), varía con la cepa y la sensibilidad de la víctima (Ahmed & Carlstrom, 2006).

Los alimentos más comunes contaminados con *Listeria monocytogenes* son: leche, quesos frescos no pasteurizados, comidas rápidas, vegetales crudos no lavados, carnes blancas mal cocidas, embutidos y alimentos marinos (Baker, 2009).

Los principales factores de virulencia son las proteínas de superficie asociadas con la invasión, denominadas internalinas, así como una citotoxina formadora de poros, la listeriolisina O (LLO) (Ahmed & Carlstrom, 2006).

1.4.3.1 Listeriosis

La listeriosis es una enfermedad poco común, que ataca principalmente a personas con enfermedades graves, mujeres embarazadas, niños y ancianos (Baker, 2009).

Por lo general la listeriosis no presenta síntomas hasta que existe una infección diseminada, aunque en ocasiones se presentan manifestaciones gastrointestinales de infección primaria tales como náuseas, dolor abdominal, diarrea y fiebre (Ray & Ryan, 2011). La tabla 19 describe en general los síntomas de la enfermedad.

Tabla 19: Tipos de listeriosis

Tipo de listeriosis	Síntomas
Enfermedad neonatal	<p>Puede ser enfermedad de comienzo precoz, adquirida en el útero por vía transplacentaria y que puede ocasionar aborto y la enfermedad de comienzo tardío, que se adquiere en el nacimiento o poco después de este, durante la lactancia o el parto vaginal.</p> <p>Los síntomas son variados y pueden ser formación de abscesos, lesiones cutáneas y granulomas diseminados en múltiples órganos, fiebre, meningitis y septicemia. La tasa de mortalidad es muy alta con ambos tipos</p>
Enfermedad en adultos	<p>En adultos sanos normalmente la enfermedad es asintomática o en forma de enfermedad leve tipo gripal o con síntomas digestivos. Sin embargo en personas con deficiencias de la inmunidad celular las formas más frecuentes son mediante sepsis aguda, meningitis y encefalitis, aunque los síntomas con este microorganismo no son específicos. En pacientes con inmunodeficiencias se asocia con alta mortalidad (20-50%)</p>
Bacteriemia primaria	<p>Pueden presentarse escalofríos y de fiebre, o una forma de presentación más aguda con fiebre elevada e hipotensión. Solo los pacientes con inmunodepresión grave y los recién nacidos de mujeres embarazadas con sepsis parecen tener riesgo de muerte.</p>

Fuente: Baird-Parker *et al*, 1998; Murray *et al*, 2009 y Forsythe, 2003.

1.4.4 *Vibrio cholerae*

Son bacilos mesófilos, con temperatura óptima de 37°C, gramnegativos curvos o rectos, cortos, no esporulados, aerobios o anaerobios facultativos, muy móviles, se mueven con rapidez, tienen largos pelos filamentosos, baja tolerancia al ácido, pero crecen bajo condiciones alcalinas (pH 8.0-9.5) que inhiben a muchas bacterias, también presentan baja tolerancia al calor y la radiación (Lundbeck *et al*, 2000 y Ray & Ran, 2011).

Se distingue de los demás *Vibrio* por sus reacciones bioquímicas y por su producción de la toxina cólera (Ray & Ryan, 2011).

Vibrio cholerae tiene dos biotipos (*cholerae* clásico y el Tor) que se diferencian basándose en el carácter hemolítico y otras propiedades (Lundbeck *et al*, 2000). Existen más de 150 serotipos antigénicos O, solo dos de los cuales (O1 y O139) causan cólera, el Tor es una variante de O1, el resto se llaman *Vibrios* no aglutinables o *Vibrios* no coléricos (Ray & Ryan, 2011).

Tiene una difusión muy amplia en ríos y aguas marinas cercanas a costas, por lo que los principales factores de riesgo son los alimentos de origen acuático, principalmente el marisco de moluscos y crustáceos, otro medio de riesgo son las aguas residuales y alimentos en contacto con esta, como hortalizas (Baird-Parker *et al*, 1998).

1.4.5.1 Cólera

La infección asintomática es muy frecuente (Ray & Ryan, 2011), pero en su forma grave es una enfermedad intestinal aguda, se caracteriza por un comienzo repentino de diarrea acuosa, profusa sin dolor (inicialmente de color café, después se torna clara y con moco tomando aspecto de agua de arroz, con olor fétido), vómitos

ocasionales, debilidad, ansiedad, calambres musculares, y en casos no tratados deshidratación rápida (en casos graves hasta 1L de agua por hora con evacuaciones de 10 a 30 al día) y desequilibrio de electrolitos, acidosis, colapso circulatorio, hipoglucemia en niños e insuficiencia renal (Gutiérrez *et al*, 2010). Estos efectos provienen de la toxina del cólera secretada por *Vibrio cholerae*, a pesar de los efectos fisiológicos extremos, no hay fiebre o inflamación, ni se produce daño directo a la mucosa intestinal (no hay invasión).

En niños son comunes los casos leves, en donde solo se presenta diarrea, pero en casos graves no tratados, la persona puede morir en horas, con una tasa de letalidad por arriba del 50% que con tratamiento apropiado se reduce a 1%. Su periodo de incubación es de 1 a 5 días (Gutiérrez *et al*, 2010).

A fin de producir cólera *Vibrio cholerae* debe llegar el intestino delgado, nadar al interior de las criptas intestinales, multiplicarse y producir factores de virulencia. En personas sanas se requiere de la ingesta de grandes cantidades para superar la barrera de ácido en el estómago. La característica sobresaliente es la capacidad que las cepas virulentas tienen para producir la TC, que es la responsable de la enfermedad (Ray & Ryan, 2011). Esta toxina determina que el revestimiento intestinal segregue grandes cantidades de fluido isotónico que se excreta en forma de diarrea acuosa en la que hay hasta 10^8 células de *Vibrio cholerae* por mL. Todas las manifestaciones clínicas mencionadas anteriormente son producidas por la secreción de este fluido isotónico, rico en potasio y bicarbonato. Si no se recuperan tanto el agua como los constituyentes iónicos perdidos por administración oral o intravenosa se puede sufrir un choque hipovolémico; se agotaran las reservas del organismo en potasio y se producirá la acidosis metabólica. Una falta de fluidos mayor del 12% en el organismo acarrea la muerte (Lundbeck *et al*, 2000).

1.4.5 *Staphylococcus aureus*

El género *Staphylococcus* incluye alrededor de 42 especies diferentes. Algunas de ellas forman parte de la flora microbiana normal de la piel y mucosas en humanos y otros solo entre la flora de mamíferos y aves. (Pahissa, 2009).

El *Staphylococcus aureus* se encuentra comúnmente en el conducto nasal y en la garganta del hombre, así como en ropa y objetos personales, también está presente en las manos y en la piel, especialmente en heridas infectadas. Por eso se dice que esta bacteria es un problema asociado directamente al hombre (Bravo, 2004).

Son cocos, gran positivos, en forma de racimo de uvas de 0.5 a 1.5 μ m de diámetro que se agrupan en forma irregular (Figura 10), bacterias mesófilas con temperatura óptima de 37°C y de 40 a 45° para la producción de enterotoxinas, β -hemolíticas (figura 11), productores de enzima coagulasa la cual que permite coagular el plasma, inmóviles, no forman esporas, no poseen cápsula y son anaerobios facultativos. Esta bacteria es sensible a la acidez, pero resiste altas concentraciones de cloruro sódico y reducidas actividades acuosas (Aw).

Es uno de los principales patógenos involucrados en intoxicaciones alimentarias (Pahissa, 2009 y Baird-Parker *et al*, 1998).

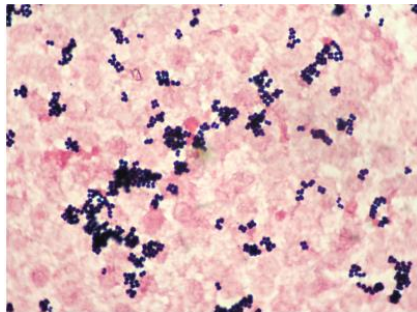


Figura 10. Agrupación característica en “racimo de uvas” de *S. aureus* (Prats, 2008).

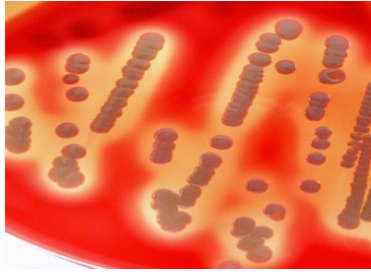


Figura 11. Colonias β -hemolíticas de *S. aureus* en agar sangre (Prats, 2008).

Produce una gama amplia de sustancias (agresinas y exotoxinas) asociadas con infecciosidad, pero las enterotoxinas llamadas A y D son las responsables de la intoxicación alimentaria (Baird- Parker *et al*, 1998).

1.4.5.1 Intoxicación alimentaria estafilocócica

Los alimentos más susceptibles a contaminación por esta bacteria son: carne de mamíferos y aves cocinada, queso, natillas, productos de pastelería, leche, leche en polvo y alimentos a base de huevo (Lundbeck *et al*, 2000).

Aunque esta bacteria se caracteriza por una amplia variedad de enfermedades como: neumonía, osteomielitis, meningitis, endocarditis, mastitis, bacteremia, abscesos, enterocolitis, síndrome del choque séptico, etc., la más común por ingesta de alimentos es la intoxicación alimentaria (Gutiérrez *et al*, 2010).

Es un síndrome causado por enterotoxinas estafilocócicas caracterizado por náuseas, vómitos, espasmos abdominales y diarrea, en casos menos frecuentes hay dolor de cabeza, mareo y debilidad., no suele haber fiebre, incluso en algunos casos la temperatura se encuentra por debajo de lo normal; los síntomas se manifiestan de 1 a 7 horas después de consumir el alimento (Calderón & Pascual, 2000).

Raramente es mortal, los casos graves pueden complicarse, presentándose deshidratación, cefalea y colapso (Lundbeck *et al*, 2000).

El modo de acción de la toxina no ha sido esclarecido del todo pero se cree que tanto los vómitos como la respuesta diarreica son el resultado de la estimulación de neurorreceptores locales existentes en el tracto intestinal y de la transmisión de los estímulos al centro del vómito del cerebro a través del vago y otras partes del sistema nervioso simpático. La cantidad de toxina que causa enfermedad depende del peso y sensibilidad individual, pero generalmente se encuentra entre 0.1-1.0 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ (Baird-Parker *et al*, 1998).

1.4.6 Micotoxinas y micotoxicosis

Las micotoxinas son compuestos altamente tóxicos que son el resultado de un metabolismo secundario de origen fúngico, es decir, compuestos que no son esenciales para el desarrollo y crecimiento de los hongos, y que son producidos en diferentes sustratos bajo ciertas condiciones de humedad, temperatura, pH y tiempo (Martínez & Anadón, 2012).

La presencia de hongos, no siempre indica que están presentes las micotoxinas y viceversa no es necesario que esté presente el hongo que las libere y un hongo puede liberar más de una micotoxina (Romero, 2007).

Las micotoxinas tienen lugar cuando la fase de crecimiento de un moho llega a su etapa final y durante la fase estacionaria (figura 12), son moléculas relativamente pequeñas ($P_m < 700$), que pueden contaminar los alimentos originando un grupo de enfermedades y trastornos, denominados micotoxicosis.

Además la presencia de estas micotoxinas en los alimentos puede ser individual o simultánea con otras, lo que puede provocar efectos sinérgicos en su acción sobre el organismo aumentando su toxicidad y representando un riesgo alto (figura 13) (Soriano, 2007).

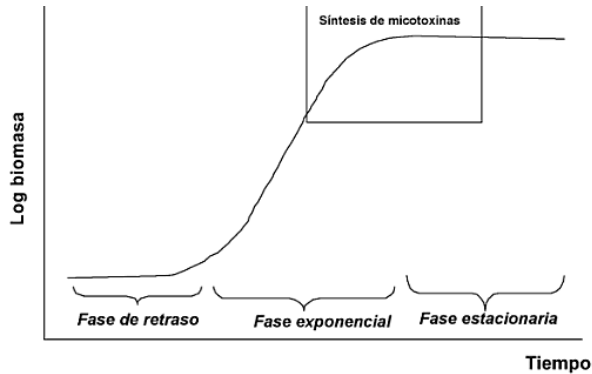


Figura 12: Fases de crecimiento fúngico

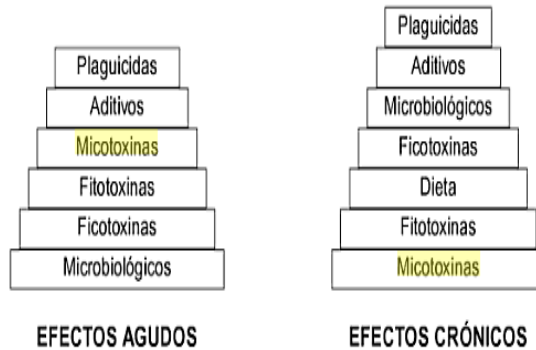


Figura 13: Riesgos para la salud humana

Los alimentos en los que se han encontrado micotoxinas incluyen: productos agrícolas, particularmente cereales, nueces y aceite de semillas, productos fermentados y alimentos madurados con levaduras, alimentos de origen animal, tales como carne, leche o huevo y en alimentos de todo tipo conservados o almacenados durante mucho tiempo en condiciones inapropiadas.

Además las micotoxinas exhiben una resistencia variable al procesamiento de alimentos (molienda, tueste, fermentación, cocción, etc.), en general son químicamente estables y resistentes (Martínez & Anadón, 2012).

La micotoxicosis puede causar efectos adversos agudos (vómito, dolor abdominal, edema pulmonar, infiltración grasa y necrosis del hígado) y crónicos (cáncer hepático, daño renal, etc.) sobre la salud, que pueden afectar a distintos órganos, aparatos o sistemas, especialmente al hígado, riñón, sistema nervioso, endocrino e inmunitario. El mecanismo de acción depende del tipo de micotoxina (Soriano, 2007).

1.5 Identificación bacteriana

1.5.1 Medios de cultivo

Un medio de cultivo es un material nutritivo para el crecimiento de microorganismos. Algunos microorganismos pueden crecer bien en casi cualquier medio de cultivo y otros requieren medios especiales, cuando estos se introducen en un medio de cultivo se denominan inóculo (Tortora *et al*, 2007).

Los medios de cultivo deben contener los nutrientes necesarios, la mayoría son ricos en proteínas o derivados como proteasas, peptonas, péptidos o aminoácidos, también se incluye extracto de carne que es básico en muchos medios, además de carbohidratos y sales minerales (Gamboa *et al*, 2005), pueden ser sólidos, líquidos o semisólidos (para conservación de cepas).

Antes de preparar un medio para cualquier microorganismo, es necesario entender sus necesidades básicas; los componentes básicos de cualquier medio son:

Agua, carbono, energía, nitrógeno, minerales, determinado pH y factores de crecimiento que el organismo no pueda sintetizar (Olivas & Alarcón, 2004). La tabla 20 muestra una de las clasificaciones más utilizadas para medios de cultivo.

Tabla 20. Clasificación de medios de cultivo

TIPO DE MEDIO	CARACTERÍSTICAS	MEDIOS MÁS COMUNES
Medios simples	Poseen los requisitos nutricionales mínimos para permitir el desarrollo bacteriano en general.	Agar nutritivo, caldo nutritivo, agar y extracto de hígado, caldo de triptona y soya, agar sabouraud dextrosa.
Medios enriquecidos	Son medios simples a los que se añaden componentes como sangre, suero, huevo, glucosa, vitaminas, etc. Que permiten el aporte de factores de crecimiento o sustancias que neutralizan agentes inhibidores de crecimiento, en bacterias exigentes nutricionalmente.	Agar sangre, agar chocolate, caldo de suero, agar de suero, agar infusión cerebro corazón, medio de Levinthal, agar proteosa, agar de Mueller-Hinton.
Medios selectivos	Inhiben el crecimiento de bacterias no deseadas y favorecen el de las deseadas. Se logra añadiendo reactivos nocivos para las bacterias cuyo crecimiento no interesa o alterando las condiciones físicas del medio, permitiendo el aislamiento de unas cuantas.	Agar Mac Conkey, agar Thayer-Martin, agar verde brillante, caldo lactosado bilis verde brillante, medio de Lowenstein-Jensen.

Continuación de tabla 20

TIPO DE MEDIO	CARACTERÍSTICAS	MEDIOS MÁS COMUNES
Medios diferenciales	Contienen sustancias nutritivas o indicadoras que permiten desarrollar a las bacterias con una apariencia colonial distintiva, permiten diferenciar unas especies de otras.	Agar sangre, agar eosina azul de metileno, agar Salmonella-Shigella, agar Baird-Parker, DLA.
Medios de enriquecimiento	Son por lo general medios líquidos enriquecidos que contienen sustancias inhibitoras, con lo que se crea un ambiente favorable, más bien estrechos de bacterias.	Caldo tetrionato, caldo de Thioglicolato, caldo de bilis, caldo de Muller-Kauffman.
Medios de mantenimiento	Preservan la viabilidad de los organismos, conteniendo concentraciones limitadas de nutrientes. Evita que se reproduzcan alterando la muestra inicial.	Medio de Stuart.

*Un mismo medio puede pertenecer a más de una categoría (medios mixtos).

Fuente: Gamboa *et al*, 2005; Montoya, 2008 y Bailon *et al*, 2003.

1.5.2 Colonias características.

Al ser cada microorganismo distinto y con necesidades específicas, crecen y se desarrollan en medios distintos, en los que establecen colonias típicas, con esto y con la ayuda de pruebas de identificación denominadas pruebas bioquímicas, es posible identificar el tipo de microorganismo, así como la cantidad aproximada de unidades formadoras de colonias presentes en un alimento.

La tabla 21 muestra las colonias características en distintos medios de cultivo para los microorganismos encontrados en requesón.

Tabla 21. Colonias características de microorganismos presentes en requesón.

Microorganismo	Medios de cultivo	Colonias características
Coliformes totales	Agar rojo violeta bilis (RVBA)	Color rojo oscuro, rodeadas de un halo de precipitación de color rojo claro o rosa debido a las sales biliares, con un diámetro de 0,5 a 2,0 mm.
<i>Staphylococcus aureus</i>	Medio de Baird-Parker	Negras, circulares, brillantes, convexas, lisas, de diámetro de 1 a 2mm y muestran una zona opaca y un halo claro alrededor de la colonia.
<i>Salmonella spp</i>	Agar XLD	Rosas o rojas que pueden ser transparentes con o sin centro negro o completamente negras.
	Agar verde brillante	Rojas o rosas que pueden ser transparentes rodeadas por medio enrojecido. Las fermentadoras de la lactosa dan colonias amarillas.
	Agar entérico Hektoen	Verdes o azul-verdes con o sin centro negro.
	Agar sulfito de bismuto	Cafés, grises o negras; con o sin brillometálico. Generalmente el medio circundante (halo) es café, tornándose posteriormente negro. Algunas cepas producen colonias verdes sin halo.
	Agar Salmonella-Shigella	Translúcidas opacas, algunas dan centro negro.

<i>Listeria monocytogenes</i>	Medio LPM	Color blanco o azul iridiscentes.
	Agar Oxford (OXA)	Negras, con halo negro. Algunas pueden aparecer con un tono café oscuro
<i>Vibrio cholerae</i>	Agar tiosulfato citrato bilis sacarosa (TCBS)	Grandes, lisas, amarillas (positivas para la fermentación de la sacarosa) y ligeramente achatadas, con el centro opaco y los bordes translúcidos.
<i>Escherichia coli</i>	Caldo lauril	Turbidez y producción de gas.
	Agar McConkey	Típicas fermentadoras de color rojo rodeadas de un halo opaco de precipitación de sales biliares.
Mohos y levaduras	Agar papa dextrosa	El medio es acidificado, no apto para bacterias. Las colonias de mohos son de tipo aterciopelado y las levaduras son colonias muy redondeadas cremosas.

Fuente: NOM-243-SSA1-2010 y Restrepo *et al*, 2003.

1.5.3 Pruebas bioquímicas

En caso de la existencia de colonias características, se procede a identificar con pruebas bioquímicas o serológicas, que se basan en las actividades metabólicas y enzimáticas de las bacterias. Cada microorganismo posee características únicas que permiten su identificación, e incluso pueden separarse por especie, no únicamente por género (Tortora *et al*, 2007).

En estas pruebas se utilizan las pruebas del metabolismo bacteriano, donde intervienen enzimas, las cuales son específicas para cada microorganismo. La identificación bacteriana se puede realizar de la siguiente manera (García & Silva, 2004):

- Sembrando la bacteria en un medio que contenga el sustrato a investigar con posterior incubación en condiciones adecuadas (indol, citratos, etc.).
- Cultivando la bacteria en un medio que no contenga el sustrato y después de obtener colonias aisladas, se pone directamente en contacto con el (oxidasa, catalasa, etc.).

En ambos casos, si se altera el sustrato sobre el que actúa la enzima, indica que la bacteria no posee la enzima estudiada.

La tabla 22 muestran las características más representativas de las bacterias que nos conciernen, que permiten su identificación y se pueden determinar mediante pruebas bioquímicas primarias (para identificación de género) y secundarias (para identificación de especie). Algunas de dichas pruebas se muestran en las tablas 23 y 24.

Tabla 22. Características metabólicas de bacterias.

Microorganismo	Características	Resultado
<i>Listeria monocytogenes</i>	Movilidad	+
	Catalasa	+
	Reducción de nitratos	-
	Dextrosa	+
	Esculina	+
	Maltosa	+
	H ₂ S	+
	Rojo de metilo	+
	Voges Proskauer	+
	Manitol	-
	Gelatina	-
	Ureasa	-
	CAMP* (Hemólisis)	+

Continuación de tabla 22.

Microorganismo	Características	Resultado
<i>Escherichia coli</i>**	Indol	+
	Rojo de metilo	+
	Voges Proskauer	-
	Citratos	-
	Movilidad	+
	Fermentación de glucosa	+
	Gas	+
	Ureasa	-
	H ₂ S	-
<i>Vibrio cholerae</i>	Aglutinación con antiseros O o I***	+
	Motilidad	+
	Oxidasa	+
	Gas	-
	Fermentación de glucosa	+
	Indol	+
	Gelatinasa	+
	Reducción de nitratos	+
	Manitol	+
	Inositol	-
	Sacarosa	+
	Manosa	+
	Lisina descarboxilasa	+
	Ornitina descarboxilasa	-
	Arginina dihidrolasa	-
	Arabinosa	-
H ₂ S	-	

Continuación tabla 22.

Microorganismo	Características	Resultado
<i>Staphylococcus aureus</i>	Coagulasa	+
	Termonucleasa	+
	Fosfatasa	+
	Manitol	+
	Trealosa	+
	CAMP (Hemolisis)	+
<i>Salmonella spp.</i>	H ₂ S	+
	Indol	+
	Movilidad	+
	Gas/Glucosa	+
	Fermentación lactosa	-
	Descarboxilación lisina	+
	Citratos	-
	Rojo de metilo	+
	Voges Proskauer	-
	Malonato*	-
	Ureasa	-

**Salmonella arizonae* es positivo.

** Prueba IMViC: indol, rojo de metilo, Voges-Proskauer, citratos.

***Antisueros monoespecíficos Ogawa e Inaba.

Fuente: NOM-243-SSA1-2010; MacFaddin, 2003; Prats, 2008 y Forbes *et al*, 2009.

Tabla 23. Pruebas bioquímicas primarias.

PRUEBA BIOQUIMICA	FUNDAMENTO
Catalasa	La catalasa es una enzima que descompone el peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua. El peróxido de hidrógeno se forma como uno de los productos finales del metabolismo oxidativo aeróbico de los carbohidratos.
Óxido-Fermentación (OF)	Permite diferenciar las bacterias según el rol del oxígeno atmosférico en la utilización de carbohidratos.
Oxidasa	El sistema citocromo oxidasa está constituido por hemoproteínas capaces de catalizar la oxidación de un citocromo reducido por el oxígeno molecular. Las bacterias que obtienen su energía por respiración y utilización del oxígeno molecular como aceptor final de electrones contienen diferentes sistemas citocromo oxidasa, en tanto que las bacterias anaerobias obligadas no contienen tales sistemas.
Fermentación de la glucosa	Estudia la fermentación de la glucosa. Se añade glucosa a un caldo a una concentración final de 1% y rojo de fenol como indicador de pH, la incorporación de una campana de Durham (invertida) permite detectar la producción de gas.

Fuente: NOM-243-SSA1-2010; Bailon *et al*, 2003; Prats, 2008 y MacFaddin, 2003.

Tabla 24. Pruebas bioquímicas secundarias.

PRUEBA BIOQUÍMICA	FUNDAMENTO
Coagulasa	Se estudia la presencia de coagulasa libre determinando la capacidad del microorganismo de coagular el plasma de conejo.
Indol	Se produce a partir del triptófano. El indol se detecta al añadir una solución alcohólica de p-dimetil-amino-benzaldehído (reactivo de Kovacs) y se combina con el aldehído para dar lugar a una coloración roja de la fase alcohólica.
Citrato Simmons	Es un medio sintético que lleva como única fuente de carbono el citrato sódico y azul de bromotimol, como indicador. Las bacterias capaces de utilizar el citrato como única fuente de carbono y energía crecerán alcalinizando el medio.
Movilidad, Indol, Ornitina (MIO)	El medio semisólido contiene glucosa, ornitina, triptófano y púrpura de bromocresol como indicador. La bacteria utiliza el azúcar acidificando el medio que vira a amarillo. Si se produce decarboxilación de la ornitina, se alcaliniza el medio compensando la acidez, por lo que el medio no varía de color (lila). La movilidad se manifiesta por el crecimiento de la bacteria (Enturbiamiento). Si se añade reactivo de Kovacs, se detectara la producción de indol a partir del triptófano
Voges- Proskauer	Detecta la producción de acetoina a partir del ácido pirúvico en la degradación de la glucosa. La producción de acetoina se detecta añadiendo una solución alcohólica de α -naftol al 5% (intensificador de color) y en segundo lugar una solución acuosa de KOH al 40% (oxidante). La acetoina es oxidada a diacetil, que a su vez se combina con determinados compuestos de las peptonas virando el color del reactivo a rojo en cinco minutos.

Continuación de tabla 24

<p>Agar lisina-hierro (LIA)</p>	<p>Formulado para detectar en las especies de enterobacterias la producción de lisina descarboxilasa (LDC), lisina de aminasa (LDA) y la producción de H₂S. El medio se incuba en pico de flauta.</p> <p>Contiene glucosa y lisina y el indicador de pH es el púrpura de bromocresol. La fermentación de la glucosa produce catabolitos ácidos y la base del medio vira de violeta amarillo. Si la lisina es descarboxilada, se producen catabolitos alcalinos (cadaverina) que neutralizan los ácidos y dejan el medio del color inicial. La desaminación de la lisina alcaliniza con mayor intensidad el medio y vira el indicador en la pendiente a rojo. La producción de H₂S da lugar a un precipitado negro.</p>
<p>Rojo de metilo</p>	<p>Se basa en el empleo de un indicador de pH para determinar la concentración de iones hidrogeno presentes cuando un organismo fermenta la glucosa.</p>
<p>Ureasa</p>	<p>La ureasa descompone la urea en dos moléculas de amonio.</p>

Fuente: NOM-243-SSA1-2010; Bailon *et al*, 2003; Prats, 2008 y MacFaddin, 2003.

CAPÍTULO II. METODOLOGÍA

2.1 Problema de investigación

Determinar la calidad microbiológica y composición química proximal de requesón, tanto artesanal, como comercial elaborado en el Estado de México para determinar la conformidad de dichos productos con la legislación vigente en México para este tipo de productos.

2.2 Justificación

Desde tiempos históricos la elaboración de requesón se ha implementado como una de las principales formas de aprovechar el suero de leche sobrante de la producción de queso, que en caso contrario se desecha, desaprovechando así los nutrientes de alto valor biológico que contiene, contaminando el medio ambiente y repercutiendo en pérdidas monetarias. Su producción, no solo en México, sino en todos los países en los que se consume ha sido de manera artesanal y aún con el tiempo, aunque el proceso ha mejorado, no se han logrado erradicar las malas prácticas de fabricación.

Lo anterior provoca que el requesón artesanal se comercialice con cargas elevadas de microorganismos patógenos que pueden impactar en la salud de quien lo consume y causar daños en el organismo humano (ETA's), que dependiendo del microorganismo que las provoca, pueden ser graves e incluso letales, además de que en México como lo observamos en la tabla 17 (página 34) las incidencias provocadas por patógenos, consecuencia de las malas prácticas de higiene son numerosas, por lo que resulta de interés realizar un estudio sobre el requesón elaborado artesanalmente, al ser este un producto tan perecedero, que en su mayoría se adquiere en mercados ambulantes y al mismo tiempo tan nutritivo para el organismo humano.

2.3 Objetivos

GENERAL

Evaluar y comparar la calidad microbiológica y la composición química proximal de nueve variedades de requesón expendidos en el Estado de México (siete artesanales y dos industriales), con base en la normatividad vigente para este tipo de alimentos (NOM-243-SSA1-2010 y NOM-F-713-COFOCALEC-2005), para establecer la conformidad de dichos productos con la legislación vigente.

PARTICULARES

- 1) Determinar la composición química (humedad, grasa, proteína y cenizas) de siete variedades de requesón artesanal expendidos en el Estado de México, mediante un Análisis Químico Proximal (AQP), para establecer la conformidad de dichos productos con la legislación vigente (NOM-F-713-COFOCALEC-2005 y NOM-243-SSA1-2010) y comparar con dos quesos elaborados a nivel industrial.
- 2) Determinar la calidad microbiológica (hongos, coliformes totales y fecales, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp*, *Vibrio cholerae* y *Listeria monocytogenes*), de siete variedades de requesón artesanal expendidos en el Estado de México con base en los análisis microbiológicos descritos en la NOM-243-SSA1-2010, para establecer la conformidad de dichos productos con la legislación vigente (NOM-F-713-COFOCALEC-2005 y NOM-243-SSA1-2010) y comparar con dos quesos elaborados a nivel industrial.

2.4 Materiales y métodos

2.41. Muestreo

Las muestras estudiadas fueron adquiridas en distintos establecimientos ubicados en el Estado de México, las muestras fueron analizadas entre los meses de Marzo y Junio del 2013 y se realizaron observaciones de las condiciones higiénicas y sanitarias de los puntos de venta, únicamente se visitó el taller artesanal en el cual se elaboró el requesón artesanal 1 en Jilotepec, Estado de México, al resto de los talleres no se tuvo acceso. Las muestras se transportaron y mantuvieron en frío, almacenándose en un envase estéril desde su adquisición hasta su análisis en el laboratorio. El procedimiento de muestreo del requesón se sujetó a lo establecido en la NOM-110-SSA1-1994. La tabla 25 muestra el lugar de procedencia de los nueve requesones artesanales analizados.

Tabla 25. Lugar de procedencia de requesones analizados.

Requesón	Lugar de procedencia
Requesón artesanal 1	Jilotepec, Estado de México.
Requesón artesanal 2	Cuautitlán Izcalli, Estado de México.
Requesón artesanal 3	Cuautitlán Izcalli, Estado de México.
Requesón artesanal 4	Cuautitlán Izcalli, Estado de México.
Requesón artesanal 5	Cuautitlán Izcalli, Estado de México.
Requesón artesanal 6	Cuautitlán de Romero Rubio, Estado de México.
Requesón artesanal 7	Toluca, Estado de México.
Requesón industrial 1	Cuautitlán Izcalli, Estado de México.
Requesón industrial 2	Cuautitlán Izcalli, Estado de México.

Para el análisis de los resultados obtenidos se realizó un análisis de varianza de un factor (ANOVA), con la ayuda del software MINITAB 16.

2.5 Análisis Químico Proximal

AQP: Consiste en un procedimiento analítico que permite cuantificar de una forma aproximada los grupos de nutrientes o componentes que constituyen un alimento. Estos son: humedad, proteína, grasa, cenizas o minerales y carbohidratos (Baez, 1993).

En la tabla 26 se muestran las referencias en donde se encuentra paso a paso la metodología llevada a cabo en el presente trabajo para la determinación del Análisis Químico Proximal. Cada una de las determinaciones se realizó por triplicado.

Tabla 26. Técnicas de AQP.

Componente	Técnica	Referencia
Humedad	Estufa	NOM-116-SSA1-1994
Cenizas	Método general	NMX-F-066-S-1978
Proteína	Micro Kjeldahl	NOM-155-SCFI-2012
Grasa	Roese-Gottlieb (Hidrólisis alcalina)	NOM-086-SSA1-1994
Carbohidratos	Lane y Eynon	NOM-155-SCFI-2012

2.5.1 Prueba de lugol para determinación de almidones

Este método se basa en la identificación de la presencia de almidones o féculas por la aparición de una coloración azul. Esta coloración se debe a una reacción química que resulta de la formación de cadenas de poliyoduro a partir de la reacción del almidón con el yodo presente en la solución de lugol. La amilosa, el componente del almidón de cadena lineal, forma hélices donde se juntan las moléculas de yodo, formando un color azul oscuro a negro (Morrison & Boyd, 1998).

Tabla 27. Reactivos, materiales y equipo para prueba de yodo.

Reactivos	Materiales	Equipo
Yodo	Matraz aforado de 200 mL	Microscopio CELESTRON
Yoduro de potasio	Cubreobjetos	
Agua destilada	Portaobjetos	
	2 pipetas	

Preparación de lugol: Se disolvió 1g de yodo en 2 gramos de yoduro de potasio y se aforó a 200 mL con agua destilada.

Procedimiento: Con una pipeta se tomó una gota del suero presente en el requesón y se colocó en el portaobjetos, se agregó una gota de lugol y se homogenizó la mezcla, se colocó el cubre objetos y se llevó al microscopio con lente 10x. El resultado se expresó como positivo al observarse una coloración azul y negativo cuando no se observó dicha coloración (NMX-F-374-1983 y Morrison & Boyd, 1998).

2.6 Análisis microbiológico

Análisis microbiológico: Permite conocer un número estimado de microorganismos presentes en un alimento, así como identificar el tipo de microorganismo, por medio de técnicas específicas para cada alimento y microorganismo.

La tabla 28 muestra las referencias (norma) y el apartado de la norma en donde se encuentra paso a paso la metodología del análisis microbiológico llevada a cabo para el presente trabajo, esta metodología incluye las pruebas bioquímicas de identificación para cada bacteria en caso de ser necesarias. Cada una de las determinaciones se realizó por duplicado.

Tabla 28. Técnicas de análisis microbiológico

Microorganismo	Técnica	Referencia	Apartado
Coliformes Totales	Cuenta en placa	NOM-243-SSA1-2010	B.10
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cuenta en placa	NOM-243-SSA1-2010	B.11
<i>Salmonella spp</i>	Método convencional	NOM-243-SSA1-2010	B.12
<i>Listeria monocytogenes</i>	Método convencional	NOM-243-SSA1-2010	B.13
<i>Vibrio cholerae</i>	Método convencional	NOM-243-SSA1-2010	B.14
Hongos	Cuenta en placa	NOM-243-SSA1-2010	B.17
Coliformes fecales	NMP	NOM-243-SSA1-2010	B.18

CAPÍTULO III. RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1 ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL

Los resultados obtenidos y el análisis estadístico del Análisis Químico Proximal de las nueve muestras de requesones analizados (siete artesanales y dos elaborados a nivel industrial) se muestran en la tabla 29 para facilitar su comprensión.

La norma que se incluye en la tabla es la NOM-F-713-COFOCALEC-2005, ya que no hay otra norma que de especificaciones composicionales para quesos de suero o específicamente requesón.

M se refiere al promedio de las tres muestras analizadas de cada requesón y las letras “a-e” indican si existen o no diferencias significativas entre la composición de los nueve distintos requesones, indicando “a” el porcentaje menor de cada componente y “f” el porcentaje mayor del mismo.

El signo + representa la composición química de requesón reportado en la bibliografía. Cabe mencionar que al existir muchas composiciones diferentes para este producto, se tomó la que más se asemeja a los requesones analizados en el presente estudio.

Tabla 29. Análisis estadístico comparativo de AQP.

AQP	1	2	3	4	5	6	7	Industrial 1	Industrial 2	Requesón referencia	NORMA
	M%	M%	M%	M%	M%	M%	M%	M%	M%	%	%
Humedad	70.37 ^a	73.15 ^c	70.10 ^a	74.97 ^d	74.57 ^d	71.33 ^b	71.20 ^b	72.56 ^c	72.82 ^c	68.6 ⁺	< 80
Proteína	21.06 ^{e+}	19.36 ^d	22.05 ^{e+}	15.31 ^b	18.07 ^{cd}	19.84 ^{d+}	17.70 ^c	7.53 ^a	16.30 ^c	20.90 ⁺	> 10
Grasa	5.11 ^{b+}	4.17 ^{ab+}	4.73 ^{abc+}	5.82 ^{cd+}	3.98 ^a	5.29 ^{bcd+}	6.45 ^{d+}	11.49 ^e	5.05 ^{bc+}	5.60 ⁺	>2 y <10
CHOS	1.83 ^a	2.12 ^{ab+}	1.45 ^{a+}	2.08 ^{a+}	2.33 ^{ab+}	2.09 ^{a+}	3.82 ^{bc+}	7.44 ^d	4.83 ^{c+}	3.30 ⁺	No específica
Cenizas	1.62 ^{c+}	1.20 ^a	1.67 ^{c+}	1.82 ^c	1.05 ^a	1.45 ^{b+}	1.00 ^a	0.98 ^a	0.99 ^a	1.60 ⁺	No específica

Con los resultados obtenidos, de la tabla 29 se pueden destacar algunos puntos relevantes:

Todos los requesones artesanales se apegan en su composición química a lo establecido en la NOM-F-713-COFOCALEC-2005 para quesos de suero.

Se puede observar que el componente mayoritario del requesón es el agua, siendo entre los artesanales la humedad más baja reportada de 70.10%, perteneciente al requesón 3 y la más alta es de 74.97% en el 4, presentando entre ellos una diferencia estadística a un nivel de significancia del 95%.

Como era de esperarse, conforme esta humedad disminuyó el resto de los componentes aumentó, reflejándose principalmente en la proteína, la cual representa el compuesto más importante en los requesones y el segundo componente con mayor porcentaje. Como también se esperaba, los artesanales de menor humedad (1 y 3) resultaron con mayor porcentaje de proteína en comparación con el resto y los de mayor humedad (4 y 5) contienen el porcentaje de proteína más bajo. El artesanal 3 contiene el porcentaje más alto de proteína con un porcentaje de 22.05% y la menor lo contiene el requesón artesanal 4 de 15.31%, entre ellos existe un cv de 0.25.

Aunque todos los requesones analizados presentan una composición química diferente, existen similitudes entre ellos. El requesón artesanal 1 y 3 son los más parecidos entre sí en su composición al no presentar diferencias significativas en su composición, después de estos se encuentran los artesanales 2 y 5, los cuales presentan diferencia significativa únicamente en el contenido de humedad. El requesón artesanal 7 es el de menor similitud con el resto, ya que contiene el mayor porcentaje de grasa y carbohidratos, razón por la que presenta diferencia significativa con la mayoría de los requesones artesanales, los cuales contienen menos de 6% de grasa y 3% de carbohidratos en todos los casos.

En cuanto a grasa el artesanal 7 contiene 6.45%, contrastando con el porcentaje más bajo de 3.98% que está en el requesón artesanal 5, con un cv entre ellos de 0.33 y en cuanto a carbohidratos contiene 3.82%, contrastando con el artesanal 3 que contiene 1.45%.

En cuanto al contenido de cenizas, estas se encuentran en diversas concentraciones, el requesón artesanal 4 presenta el mayor porcentaje, siendo este de 1.82% y el más bajo con una valor de 1% le corresponde al artesanal 7.

En la tabla 29 también se observa que ninguno de los requesones tiene la misma composición química que la reportada en la bibliografía, los requesones artesanales 3 y 6 son los más similares, presentando únicamente diferencia significativa en la humedad; además este componente es el único con el que ninguno de los requesones coincide con la bibliografía, siendo más alta en todos los casos.

La grasa es el único componente en el que la mayoría de los requesones (excepto 5) son iguales al requesón de referencia (reportado en la bibliografía).

En cuanto a la comparación en composición química de los requesones elaborados a nivel industrial con los artesanales, podemos destacar lo siguiente:

Los dos requesones industriales analizados varían mucho entre sí, ya que solo coinciden sin presentar diferencia significativa en el porcentaje de humedad y de cenizas. El industrial 2 es el requesón que más se asemeja a los artesanales, sin embargo el requesón industrial 1 presenta diferencias significativas con la mayoría y en casi todos los componentes, como se menciona a continuación.

En promedio el contenido de humedad es igual entre artesanales e industriales, la proteína de los requesones artesanales es 2.75% menor que el requesón industrial 2, pero 11.25% menor que el industrial 1, en contenido de carbohidratos la diferencia es de 2.6% con el industrial 2 y de 5.2% con el industrial 1, siendo mayor en los elaborados a nivel industrial.

Con relación a grasa prácticamente no hay diferencia entre los requesones artesanales y el industrial 2, sin embargo con el comercial 1 la diferencia es de 6.41% y finalmente en el porcentaje de cenizas la diferencia promedio entre los artesanales y ambos comerciales es de 0.5%. Este último componente es el más parecido entre el industrial 1 y los requesones artesanales, al no presentar diferencia significativa con los requesones artesanales 2, 5 y 7, ni con el requesón industrial 2; el segundo componente que más se asemeja con el resto de requesones es la humedad, que aunque es parecida, estadísticamente presenta diferencias significativas con todos, excepto con el artesanal 2 y el industrial 2.

Los requesones artesanales 5 y 7 son los más parecidos al industrial 2, sin diferencias significativas en tres de sus componentes: proteínas, carbohidratos y cenizas.

El contenido de grasa del industrial 2 no presenta diferencias significativas con cinco de los siete requesones artesanales (1, 2, 3, 4 y 6), por lo que es el único componente que se puede considerar igual entre los requesones elaborados a nivel industrial y los artesanales.

El segundo componente que mayoritariamente se asemeja es el contenido de cenizas, que al igual que en el industrial 1 no presenta diferencias con los artesanales 2, 5 y 7.

Como se puede ver el requesón industrial 1 tiene un porcentaje muy elevado de grasa (11.49%) y de carbohidratos (7.44%) y muy bajo de proteína (7.53%) en comparación con todos los requesones artesanales analizados e incluso con el industrial 2. El requesón industrial 1 se comercializa según su etiqueta como requesón, sin embargo, al analizar los resultados anteriores se puede decir que no presenta las características que distinguen al requesón de otros tipos de quesos, las cuales deben ser alto contenido de proteínas (10% min) y bajo contenido de grasa y carbohidratos (NMX-F-713-COFOCALEC-2005).

Al igual que los requesones artesanales, los industriales tampoco coinciden con el tipo de requesón reportado en la bibliografía; el industrial 1 no se parece en ninguno de sus componentes a este y el industrial 2 únicamente coincide en contenido de grasa y carbohidratos.

Las figuras 14, 15, 16, 26 y 27 que se presentan a continuación facilitan la visualización y comparación entre las distintas variedades de requesón (siete artesanales y dos industriales).

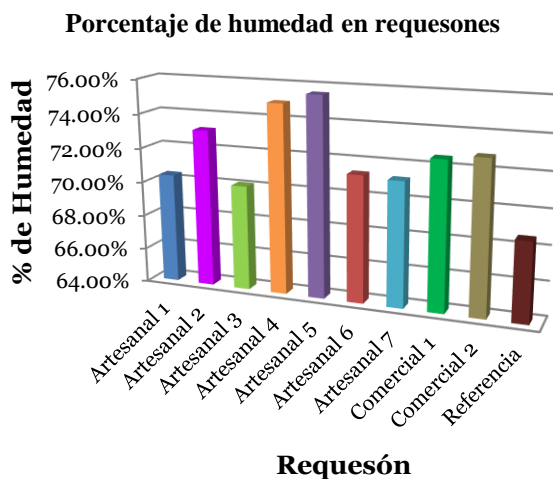


Figura 14. Comparación de porcentaje de humedad.

Como se puede ver en la tabla 29 la humedad es el componente mayoritario del requesón, esto se debe a que el requesón proviene del suero de leche (queso de suero) y estos son considerados como uno de los quesos con mayor contenido de humedad disponibles en el mercado, incluso mayor que en el queso fresco o blando que contienen un porcentaje mayor a 67% según la NMX-F-713-COFOCALEC-2005; además las proteínas del suero presentes en el requesón se componen de diversos grupos polares aportados por la mayoría de los aminoácidos que contienen, que forman enlaces con la molécula de agua y así logran retener grandes cantidades de esta (Rodríguez & Simón, 2008).

En la figura 14 se puede observar que la humedad máxima encontrada es de 74.57% en el requesón artesanal 5, por lo que todos los requesones tanto artesanales como industriales cumplen con la especificación de porcentaje de humedad estipulado en la misma norma, la cual marca que debe ser no mayor al 80%.

Este componente es el que mayor variación tiene entre los requesones y puede atribuirse a distintos factores, uno de ellos es que en la producción artesanal e incluso en algunas producciones a nivel industrial se desconoce el mamífero de donde proviene la leche y otros aspectos como raza, salud, alimentación, edad, etapa de lactancia, características de ordeño, etc., que influyen principalmente en los componentes sólidos de la leche y afectan directa o indirectamente en su contenido de humedad y por consiguiente la composición química del derivado lácteo, por lo que el rango de variación puede ser alto (Maza *et al*, 2011).

Lo anterior aplica para cualquier derivado lácteo pero se refleja mayoritariamente en el requesón, ya que aunque el término debería ser usado únicamente para el elaborado con leche de vaca, se usa indistintamente y se elabora también con leche de cabra u oveja.

El contenido de humedad para leche de vaca, cabra y oveja es de 87.3%, 86.8% y 81% respectivamente, por lo que la cantidad de agua del requesón puede variar mucho si se elabora con el suero obtenido de leche de oveja, por lo que la especie y raza del animal son un factor determinante para este parámetro (De Cos *et al*, 2005).

Otra de las razones por la que la cantidad de agua presenta estas variaciones es porque es un componente susceptible a disminuir por diversas condiciones, como son las condiciones de manipulación, transporte y almacenamiento, la humedad relativa del ambiente, temperatura, entre otros. Además el requesón, sobre todo el artesanal se comercializa en bolsas de plástico, que no tienen impermeabilidad suficiente y permiten el paso de agua en forma de vapor cuando la temperatura no es adecuada, favoreciendo pérdidas de humedad.

El proceso de elaboración y las operaciones que conlleva también son críticas para la humedad del requesón; la de mayor importancia para el parámetro de humedad es el prensado, si los requesones no son prensados lo suficiente el producto final tendrá mayor humedad. Lo anterior puede deberse a la falta de estandarización en el proceso, lo que ocurre normalmente en una producción de tipo artesanal o por otro lado, puede ser intencional para obtener un mayor rendimiento y con ello mayor ganancia.

Al ser todos los requesones elaborados con leche de animales distintos y manipulados bajo diversas condiciones durante toda su cadena de producción, transporte, almacenamiento y comercialización, eran de esperarse las variaciones en el contenido de humedad. Lo anterior también explica porque en la bibliografía existen un gran número de composiciones distintas para requesón, para fines comparativos se tomó la referencia que presentó más semejanzas con la mayoría de los requesones estudiados, aunque tanto artesanales como comerciales presentaron diferencias significativas en casi todos sus componentes con la reportada bibliográficamente. En el caso de la humedad, está fue más baja en el reporte bibliográfico y presenta diferencias con todos los requesones analizados experimentalmente.

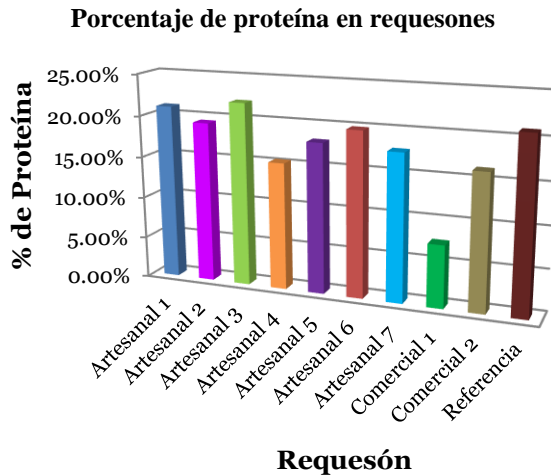


Figura 15. Comparación de porcentaje de proteína.

Después de la humedad la proteína es el compuesto que mayor variación tiene entre las variedades de requesón como se muestra en la figura 15. Este es el compuesto considerado de mayor importancia en el requesón debido al valor biológico que las seroproteínas aportan al organismo, de la misma forma y como todos los compuestos están principalmente en función de la composición de la leche con la que se elaboró el requesón. La leche de cabra y oveja por ejemplo, son más ricas en seroproteínas, lo que influye de manera determinante en la composición del requesón sobre todo si este se elabora con leche de oveja que contiene mucho menos humedad y mayor contenido en proteínas y grasas que la leche de vaca y cabra (Bylund, 2003).

Pero además también se ve afectada por la pérdida de humedad, ya que así como algunas proteínas son capaces de retener agua, estas pueden estar disueltas en la misma, como es el caso de las albúminas que son altamente hidrosolubles (Bello, 2000).

Así que con la pérdida de agua, un compuesto muy susceptible a perderse por los factores antes mencionados, también se puede perder proteína.

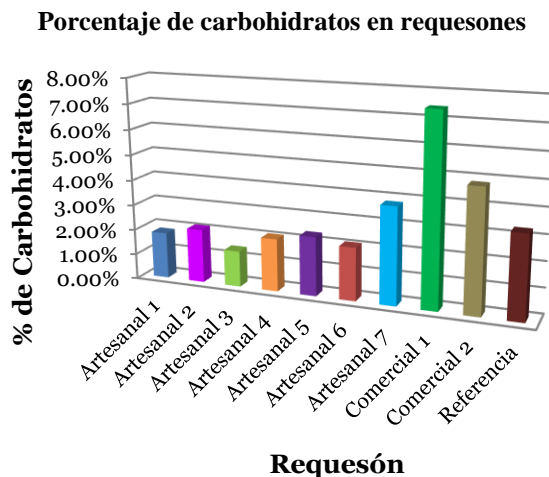


Figura 16: Comparación de porcentaje de carbohidratos.

Como se observa en la tabla 29 y la figura 16 los carbohidratos son el componente más parecido entre las distintas muestras analizadas de requesón artesanal, siendo el requesón 7 el único que presenta diferencia significativa con la mayoría. Esto se debe a que las tres distintas leches con las que es posible elaborar el requesón (vaca, cabra y oveja) contienen aproximadamente la misma cantidad de carbohidratos en su composición (entre 4.5-4.8%) y al ser tan parecido el contenido de carbohidratos entre las leches la variación en el porcentaje de carbohidratos entre los requesones tampoco es significativa.

De la misma manera se puede ver que el porcentaje de este componente es bajo en la mayoría de los requesones a pesar de que el suero de leche es rico en carbohidratos, específicamente en lactosa, siendo este carbohidrato el segundo componente más abundante en el suero después del agua, con un contenido mucho mayor que de proteína. El bajo contenido de lactosa se debe a que durante la acidificación de la leche por un medio ácido, con el fin de obtener la precipitación de las proteínas, la mayor parte de la lactosa se fermenta convirtiéndose en ácido láctico, el que posteriormente es desechado durante el prensado y desuerado, dejando al requesón con un porcentaje bajo de carbohidratos, como se muestra en la tabla 29 y figura 16 (Gil, 2010).

Sin embargo, los requesones industriales y el artesanal 7 contienen alto contenido de carbohidratos en comparación con el resto de artesanales, lo que puede deberse a que han sido adicionados con féculas o almidones con la intención de aumentar su volumen y obtener mayores ganancias económicas; estas féculas y almidones están constituidos por un gran número de azúcares combinados entre sí (polisacáridos), que por consiguiente aportan carbohidratos al alimento que las contiene y son muy comunes en la producción a nivel industrial y en los últimos años también en la producción artesanal para mejorar las propiedades organolépticas de los productos lácteos (Spong & Peterson, 2003).

La presencia de estos aditivos se ha demostrado experimentalmente por medio de la prueba de yodo o lugol. La coloración azul resultante de la presencia de almidones o féculas se muestra en las figuras 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 y 25.

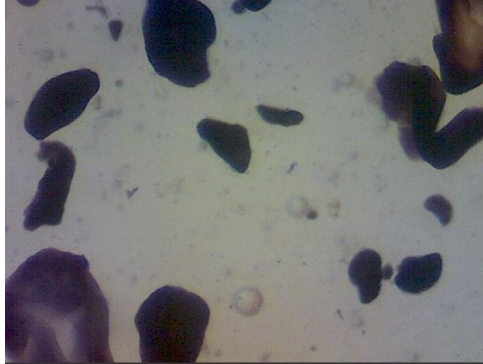


Figura 17: Presencia de almidones en requesón industrial 1

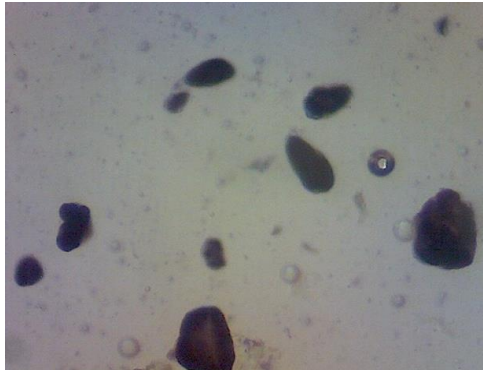


Figura 18: Presencia de almidones en requesón industrial 2.

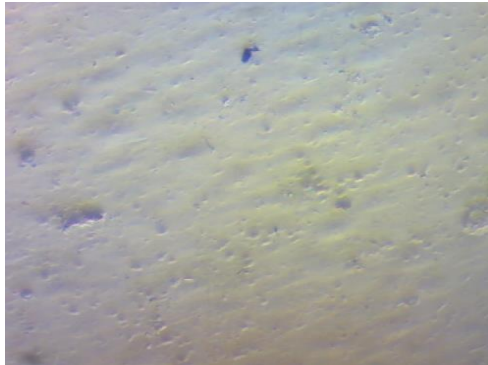


Figura 19: Ausencia de almidones en requesón artesanal 1.

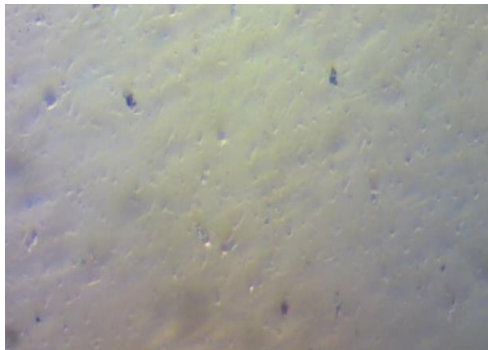


Figura 20: Ausencia de almidones en requesón artesanal 2.

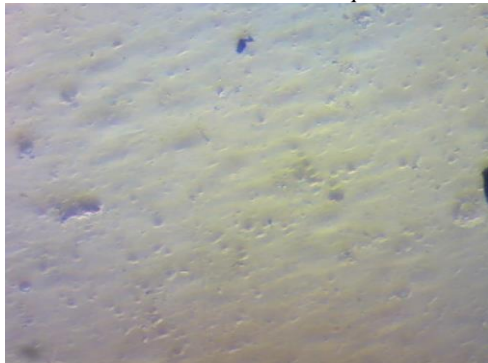


Figura 21: Ausencia de almidones en requesón artesanal 3.

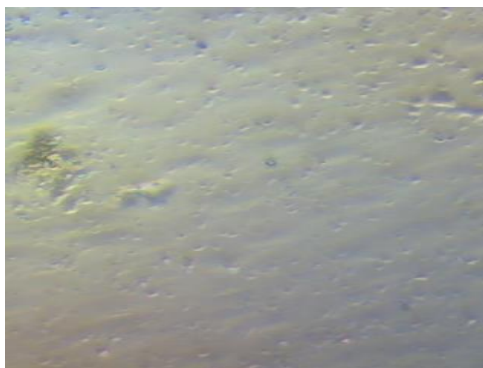


Figura 22: Ausencia de almidones en requesón artesanal 4.



Figura 23: Presencia de almidones en requesón artesanal 5

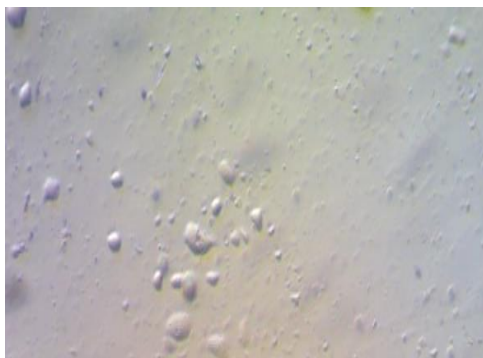


Figura 24: Ausencia de almidones en requesón artesanal 6.

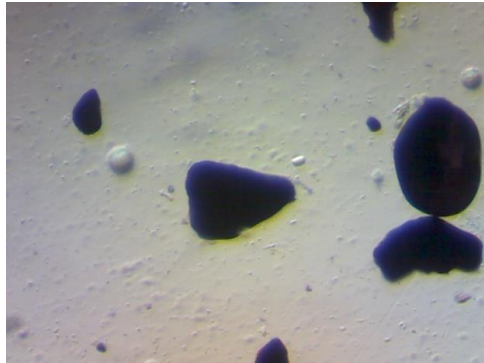


Figura 25: Presencia de almidones en requesón artesanal 7.

Se observa en las figuras 17 y 18 que ambos quesos elaborados a nivel industrial contienen almidones o féculas, pero también las figuras 23 y 25 muestran que también se encontraron estos aditivos en los quesos artesanales 5 y 7.

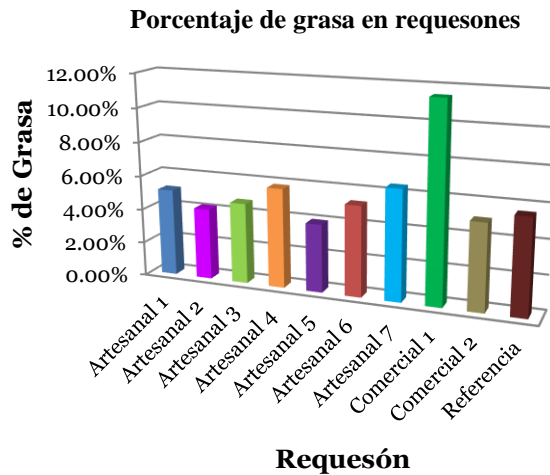


Figura 26. Comparación de porcentaje de grasas

En cuanto al contenido de grasa, la variabilidad de este componente en los quesos podría ser un indicativo del origen de la leche, ya que se han reportado diferentes contenidos de grasa en leche (leche de vaca (3.7%), cabra (4.1%) y oveja (7.9%) y la grasa es el segundo

componente, después de la humedad, con mayor variación entre las tres posibles leches con las que pudo ser elaborado el requesón (De cos *et al*, 2005).

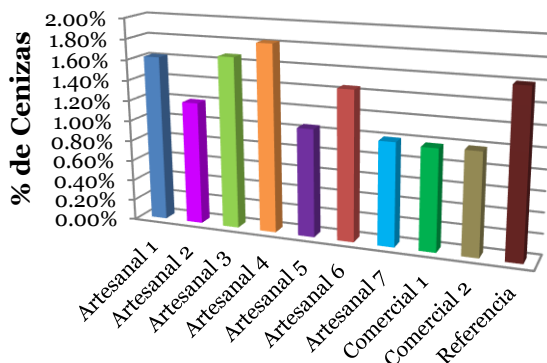
El tipo de queso del cual se obtuvo el suero, también es un factor determinante para el contenido de grasa, ya que la temperatura alcanzada en la cocción y la mayor o menor división de la cuajada hace que pasen al suero cantidades distintas de materia grasa, por esta razón los quesos de pasta dura, que exigen alta temperatura y mayor división de la cuajada, dan lugar a un suero más rico en grasa que el que produce la fabricación de quesos frescos y blandos (Cantú,1975), por lo que los requesones con mayor contenido de grasa como los artesanales 4 y 7 y el industrial 1 pudieron ser elaborados con suero obtenido a partir de queso de pasta dura.

La grasa es el segundo componente con menor diferencia significativa entre los distintos requesones, como se puede ver en la tabla 29. Al analizar las estadísticas y observar que la mayoría de los requesones no presentan diferencias significativas entre si y contienen relativamente bajo porcentaje de grasa, se puede pensar, que la mayoría de los requesones artesanales fueron elaborados con leche de vaca, además debido al bajo costo con el que se comercializa el requesón artesanal y el costo mayor de la leche de cabra y oveja en comparación con la leche de vaca, lo anterior es lo más viable.

Los requesones industriales presentan mayor contenido de grasa que los artesanales (figura 26), pudiendo explicarse por dos razones: la primera es que pudieron ser elaborados con mezclas de sueros, y la segunda y más importante es que pueden ser productos recombinados, esto quiere decir adicionados con grasa, para mejorar la textura del producto lo que es muy común en la producción a nivel industrial para aumentar las ventas. Los productos que son recombinados son aquellos a los cuales se les añade grasa láctea y en ocasiones también sólidos lácteos no grasos, los cuales mejoran las propiedades organolépticas, sobre todo en cuestión de aroma y consistencia, convirtiéndolos en productos más deseables para el consumidor (Bylund,2003).

La adición de componentes de este tipo, o las féculas mencionadas anteriormente para mejorar las propiedades organolépticas del requesón o simplemente para aumentar el volumen de producción, explican porque los requesones elaborados a nivel industrial se comercializan con un precio casi tres veces mayor que los artesanales.

Requesón vs Cenizas



Requesón

Figura 27. Comparación de porcentaje de cenizas

Las cenizas constituyen el residuo inorgánico que queda después de que la materia orgánica se ha quemado y no tienen necesariamente la misma composición que la materia mineral presente en el alimento original, ya que pueden existir pérdidas por volatilización o alguna interacción entre los constituyentes debido a las altas temperaturas del proceso (Caravaca *et al*, 2005), por esta razón el contenido puede ser muy variado y dependiendo de las condiciones de tiempo y temperatura en las que se llevó a cabo la determinación de este componente, la volatilización y pérdida de minerales mencionadas anteriormente se ven reflejadas en cada uno de los requesones, también es muy importante el cuidado con el que se manejan las cenizas a lo largo del análisis para evitar variaciones muy grandes.

Como observamos en la tabla 29 y la figura 27, el porcentaje mínimo de cenizas es de 0.98% en el industrial 1 y el máximo de 1.82% en el

artesanal 4. La tabla 29 muestra que no existen diferencias significativas entre cinco de los nueve requesones (industrial 1, industrial 2, artesanal 2, artesanal 5 y artesanal 7), tampoco hay diferencias entre los artesanales 1, 3 y 4; en cuanto a la comparación con el requesón reportado bibliográficamente, no hay diferencias con los requesones artesanales 1,3 y 6, pero si con el resto.

Se observa que la diferencia en el porcentaje de cenizas entre los distintos requesones no es tan grande (<1%) como en el resto de los componentes, ya que este componente oscila entre 1% y 2% en productos lácteos y de 1% a 5% en la mayoría de alimentos en general, por lo que un contenido de cenizas mayor a 2% en el requesón representaría un indicio de que la leche con la que se elaboró este, o el producto en sí, fue adulterado o contaminado con algún adulterante inorgánico, como nitratos, cloruro de calcio, hidróxido de calcio, etc.

La cantidad de agua, muchas veces es directamente proporcional a la cantidad de cenizas de un producto, si este es alterado, es decir, si se la ha añadido agua adicional a la que tiene de manera natural del producto, debido a que el agua también puede proporcionar minerales, lo anterior se puede observar con el requesón artesanal 4 que contiene el mayor contenido de agua y cenizas (74.97% y 1.82%) respectivamente.

3.1.1 Composición química de requesones comerciales comparada con establecida en etiqueta.

La tabla 30 y las figuras 28 y 29 muestra la comparación de los resultados de Análisis Químico Proximal obtenidos experimentalmente con los valores reportados en la etiqueta del producto, cabe resaltar que en la etiqueta no se reportan todos los componentes. Esta tabla también muestra las especificaciones que debe tener el requesón según la NOM-F-713-COFOCALEC-2005.

Tabla 30. Composición química proximal de requesón comercial comparada con lo establecido en su etiqueta.

AQP	Industrial 1 experimental	Industrial 1 etiqueta	CV	Industrial 2 experimental	Industrial 2 etiqueta	CV	NORMA
Humedad	72.56%	N/R	N/A	72.82%	Máx 76%	.030	Máx 80%
Proteína	7.53%	Mín 10%	.199	16.30%	Mín 18%	.070	Mín 10%
Grasa	11.49%	Máx 17%	.274	5.05%	Mín 5%	.007	Mín 2%
CHOS	7.44%	Mín 6%	.152	4.83%	N/R	N/A	N/E
Cenizas	0.98%	N/R	N/A	0.99%	N/R	N/A	N/E

N/R= No reportado en etiqueta.

N/E=No especificado.

N/A No aplica.

Requesón industrial 1

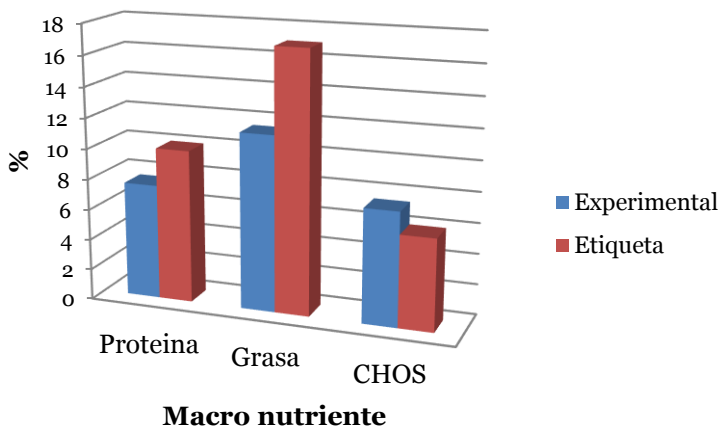
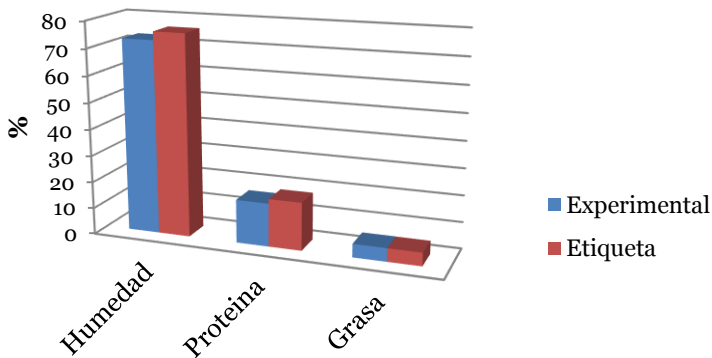


Figura 28. Comparación entre resultados experimentales y valor en etiqueta industrial 1.

*Se graficaron únicamente valores reportados en etiqueta

Requesón industrial 2



Macro nutriente

Figura 29. Comparación entre resultados experimentales y valor en etiqueta industrial 2

*Se graficaron únicamente valores reportados en etiqueta

En la tabla 30 se puede ver que los requesones industriales solo reportan en su etiqueta tres de los cinco componentes, coincidiendo en dos de ellos (grasa y proteína). El requesón industrial 2 cumple con lo especificado en la NMX-F-713-COFOCALEC-2005 para quesos elaborados con base en suero de leche, sin embargo, el industrial 1 no cumple con la especificación para el contenido de proteína.

En cuanto al etiquetado del empaque, ambos requesones comerciales cumplen con la leyenda manténgase en refrigeración”, la fecha de caducidad y el porcentaje mínimo de grasa, sin embargo el industrial 1 no cumple con la especificación de humedad, requerimientos establecidos en la NMX-F-713-COFOCALEC-2005 para quesos de suero.

También ambos requesones comerciales cumplen con la lista mínima de ingredientes, país de origen, identificación de lote, el contenido neto y con datos claros y legibles, ninguno de los dos declara alérgenos, ni composición bromatológica completa y únicamente el

industrial 2 declara contenido energético, especificaciones requeridas en la NOM-051-SCFI-SSA1-2010 para etiquetado de alimentos y bebidas no alcohólicas. Por lo que los requesones cumplen parcialmente con la normatividad para etiquetado.

En el caso del requesón industrial 1 el porcentaje de grasa y carbohidratos reportados en la etiqueta coinciden con el porcentaje obtenido mediante Análisis Químico Proximal, pasa lo mismo con el requesón industrial 2 para porcentaje de grasa y humedad. Sin embargo el porcentaje de proteína de los dos requesones comerciales se encuentra por debajo de lo que establece la etiqueta con la que se comercializan los productos.

3.2 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

La tabla 31 muestra los resultados del análisis estadístico comparativo entre las distintas variedades de requesón.

El límite máximo se obtuvo de la NOM-243-SSA1-2010, cabe destacar que no existe en la normatividad vigente un límite de coliformes fecales para quesos de suero, por lo que se usó el de quesos frescos, ya que son los más parecidos en composición. El color azul en la tabla indica que los requesones se encuentran dentro del límite máximo permitido por esta norma.

M se refiere al promedio de las dos muestras analizadas de cada requesón y las letras “a-f” indican si existen o no diferencias significativas entre los nueve distintos requesones, indicando “a” la menor cantidad de microorganismos encontrados y “f” la mayor.

Tabla 31. Análisis estadístico comparativo de análisis microbiológico.

M.O	1	2	3	4	5	6	7	Industrial 1	Industrial 2	Límite
	M UFC/g	M UFC/g	M UFC/g	M UFC/g	M UFC/g	M UFC/g	M UFC/g	M UFC/g	M UFC/g	M UFC/g
C.totales	330,000 ^f	250 ^b	950 ^c	650 ^{bc}	1600 ^d	95,000 ^e	60 ^a	250 ^b	0 ^a	<100 UFC/g
C.fecales	930 ^f NMP/g	9.1 ^a NMP/g	3.6 ^a NMP/g	430 ^d NMP/g	930 ^f NMP/g	640 ^e NMP/g	43 ^b NMP/g	93 ^c NMP/g	0 ^a	<10 NMP/g
Hongos	100,000 ^e	1,500 ^b	25,000 ^c	80 ^a	16,500 ^c	39,000 ^d	30 ^a	20 ^a	0 ^a	500 UFC/g
<i>S.aureus</i>	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	<1000 UFC/g
<i>Salmonella</i>	Ausente 25 g	Ausente 25 g	Ausente 25g	Ausente 25g	Ausente 25g	Ausente 25g	Ausente 25 g	Ausente 25 g	Ausente 25 g	Ausente 25g
<i>V.cholerae</i>	Ausente 50 g	Ausente 50 g	Ausente 50 g	Ausente 50 g	Ausente 50 g	Ausente 50 g	Ausente 50 g	Ausente 50 g	Ausente 50 g	Ausente 50 g
<i>L.monocytogenes</i>	Ausente 25 g	Ausente 25 g	Ausente 25 g	Ausente 25 g	Ausente 25 g	Ausente 25 g	Ausente 25 g	Ausente 25 g	Ausente 25 g	Ausente 25 g

Con los resultados obtenidos se puede comentar que:

El consumo de cualquiera de los siete quesos artesanales analizados representa un riesgo potencial para la salud, al contener coliformes totales, coliformes fecales y hongos y no apearse a la normatividad, por lo que no se consideran inocuos.

Se observa en la tabla 31 que los quesos artesanales 2 y 3 se encuentran dentro del límite permisible de coliformes fecales para quesos frescos establecido por la NOM-243-SSA1-2010, se utilizó esta especificación con fines comparativos, ya que como se mencionó anteriormente no existe una norma con límites de coliformes fecales para productos elaborados a partir de suero de leche. Los quesos 4 y 7 se encuentran dentro del límite permitido por la misma norma de hongos y este último (7) también se encuentra dentro del límite de coliformes totales, por lo que es el queso artesanal con menor carga microbiana y se encontró incluso con menor número de microorganismos que uno de los quesos industriales, sin embargo, no quiere decir que haya sido elaborado bajo las BPM's, ya que sobrepasa los límites de coliformes fecales. El resto de los quesos artesanales (1, 5 y 6) sobrepasan los límites en todos los casos, siendo el más riesgoso el queso artesanal 1 elaborado en Jilotepec, Estado de México, ya que presentó la carga microbiana más alta, conteniendo mayor cantidad de coliformes totales, coliformes fecales y hongos (mohos y levaduras). El queso artesanal 6 fue el segundo queso más contaminado, con gran cantidad de coliformes totales y posteriormente los artesanales 3 y 5.

Los quesos artesanales no se parecen entre sí en cuanto a su carga microbiológica, ya que todos presentan diferencias significativas, por lo menos en dos de los tres tipos de microorganismos presentes.

En ninguno de los requesones analizados hubo presencia de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Listeria* y *Vibrio*, lo que resulta conveniente, ya que los últimos tres son los microorganismos de mayor patogenicidad y que según la NOM-243-SSA1-2010 deben estar ausentes.

En cuanto a los requesones industriales se puede comentar que:

El requesón industrial 1 se encuentra dentro del límite permisible por la normatividad mexicana de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Listeria*, *Vibrio*, mohos y levaduras, sin embargo sobrepasa el límite de coliformes totales, a pesar de que las UFC presentes fueron menores que en la mayoría de los requesones artesanales (excepto en el artesanal 2 que fueron iguales y el 7 en el que fueron menores). Tampoco se encontró dentro del límite permisible para coliformes fecales, e incluso tres de los siete requesones artesanales se encuentran con un índice menor de este tipo de microorganismos (2, 3 y 7) que el industrial 1.

El requesón industrial 2 es el único que cumple con la normatividad, al no presentar ninguno de los 7 microorganismos patógenos analizados. Este requesón presenta diferencias significativas con seis de los siete distintos requesones artesanales por lo menos en dos de los tres microorganismos encontrados, excepto con el artesanal 7, el cual no presenta diferencias significativas en dos de los patógenos presentes: coliformes totales y hongos (mohos y levaduras).

Con lo anterior se puede decir que los dos requesones comerciales no se parecen entre sí en cuanto a su carga microbiana; únicamente no presentan diferencia significativa en la carga de mohos y levaduras.

3.2.1 Pruebas bioquímicas de identificación

Al encontrarse coliformes fecales en los quesones, fue necesario realizar pruebas bioquímicas para identificar el microorganismo fecal presente, para lo cual se realizó la prueba de IMViC (figura 31). Obteniéndose que en todos los casos el coliforme fecal presente fue *Escherichia coli* (figura 30).



Figura 30. Colonias características de *E. coli* en agar MacConkey



Figura 31. Prueba de IMViC para *E. coli*.

Tabla 32. Resultados de la prueba IMViC a las colonias desarrolladas en Agar MacConkey.

Requesón	IMViC				TSI*
	Indol	Rojo de metilo	Voges-Proskauer	Citratos Simmons	
1	+	+	-	-	+
2	+	+	-	-	+
3	+	+	-	-	+
4	+	+	-	-	+
5	+	+	-	-	+
6	+	+	-	-	+
7	+	+	-	-	+
Comer 1	+	+	-	-	+

* TSI: Utilización de la glucosa y lactosa, producción de gas y ácido sulfhídrico. En ningún caso hubo presencia de H₂S.

Tabla 33. Pruebas bioquímicas para identificación de *E.coli*.

Bacteria	IMViC				TSI		
	Indol	Rojo de metilo	Voges-Proskauer	Citrato Simmons	H ₂ S	Gas/Glucosa	Lactosa
<i>E.coli</i>	+	+	-	-	-	+	V*

*V: variable

Fuente: (Prants, 2005)

Tomando en cuenta que las pruebas bioquímicas realizadas dieron positivas a las pruebas de indol, rojo de metilo y gas y negativas a las pruebas citrato de Simmons y Vogues-Proskauer), se llegó a la conclusión que el coliforme fecal presente en todos los casos fue *Escherichia coli* (tabla 32 y 33).

La elevada carga microbiana en los quesos artesanales e incluso en el industrial 1 refleja las deficiencias higiénicas en el proceso y manipulación del queso artesanal que se comercializa en el Estado de México, lo cual representa un riesgo potencial para la salud de quien lo consume, como ha sido mencionado por Delgado y Torres (2003) quienes realizaron un estudio sobre enfermedades gastrointestinales en México.

De los resultados mostrados en la tabla 31 que se muestra en la página 83 se puede observar que todos los requesones a excepción del industrial 2 fueron elaborados en ausencia o con deficiencias de normas de higiene y Buenas Prácticas de Manufactura, lo que indica que la elaboración artesanal de requesón en el Estado de México se encuentra lejos de cumplir los lineamientos mínimos de la normatividad mexicana marcados en la NOM-251-SSA1-2009.

El caso particular del requesón artesanal 1 es un claro ejemplo de la falta de BPM's. Después de resultar con la mayor carga microbiana de los requesones estudiados, se visitó el taller artesanal donde se elaboró y se encontró que: el taller se encuentre cerca de un río de aguas negras, el personal no contaba con uniforme especial para producir los quesos, el sanitario y área de comida se encontraba en el exterior del taller por lo que al salir y regresar a este llevaban consigo contaminación del exterior (contaminación cruzada), el lavado de manos era deficiente y no obligatorio, los utensilios no eran lavados y desinfectados adecuadamente, en ningún momento se aplica una cadena de frío al producto, el requesón se comercializa en hojas secas de maíz que son almacenadas en el piso y se distribuye en hieleras que contienen hielo de procedencia desconocida para mantener "fresco" el producto y que al derretirse tiene contacto directo con el requesón, todo esto corrobora el incumplimiento de la NOM-251-SSA1-2009.

El resto de los requesones a excepción de los industriales se comercializan sin empaque, solo con bolsa plástica y únicamente los requesones industriales, el artesanal 4 y el 7 se encontraron almacenados en refrigeradores en el lugar donde se compraron.

El hecho de que el 85.7% de los requesones se haya encontrado contaminado puede atribuirse además de la ausencia de BPM's antes mencionadas y a muchas otras causas que no se conocieron al no tener acceso a los talleres artesanales donde fueron elaborados (a excepción del taller en el que se elaboró el requesón artesanal 1), a dos cosas en

particular que tienen que ver con su composición química y convierten al requesón en un alimento muy perecedero y potencialmente peligroso (altamente susceptible a contaminación microbiana):

- **Al alto contenido de humedad**

Los microorganismos para su desarrollo necesitan de ciertas condiciones de pH, oxígeno, presión, temperatura, nutrientes y actividad de agua (aw). Esta última es la cantidad de agua libre que contiene un alimento y la responsable de reacciones químicas, enzimáticas y microbiológicas, por lo que puede ser aprovechada por los microorganismos y tiene que ser mayor a medida que las otras condiciones sean desfavorables; En el caso del requesón es muy alta al contener también alto contenido de humedad, lo que favorece la presencia y desarrollo de microorganismos, afectando así la estabilidad del requesón.

- **Alto contenido de proteínas**

Como se mencionó los microorganismos requieren de ciertos nutrientes y estos varían según el microorganismo, ya que cada uno de ellos tiene requerimientos distintos. El requesón tiene alto contenido de proteínas y muchos hongos y bacterias son proteolíticas o lipolíticas, es decir, hidrolizan las proteínas y grasas y las usan como nutrientes (Borbolla *et al*, 2003). El requesón comercial 4 por ejemplo, es el requesón artesanal con menor proteína (tabla 29) y es uno de los que presentan menor número de microorganismos.

Por su composición un alimento como el requesón requiere condiciones especiales de almacenamiento, transporte, manipulación, entre otros, que con los resultados obtenidos se puede comprobar que no se llevaron a cabo.

De los resultados obtenidos también se puede decir que la mayor parte de la contaminación pudo darse después de la precipitación de las proteínas (obtención de requesón); durante las etapas de desuerado, envasado, almacenamiento y transporte, por mala manipulación, temperaturas de refrigeración y condiciones de los lugares de almacenamiento y transporte inadecuados, etc., ya que las bacterias encontradas son mesófilas, lo cual quiere decir que prefieren para su desarrollo y crecimiento temperaturas menores a 45°C y durante la precipitación de las proteínas se alcanzan temperaturas cercanas a los 90°C, temperatura que no es óptima para este tipo de bacterias, además en las etapas anteriores se alcanza un pH ligeramente ácido que tampoco favorece su crecimiento. Bajo estas condiciones incluso se eliminan la mayoría o en su totalidad dichas bacterias, por lo que el requesón recién hecho se encuentra inocuo, incluso si la leche con la que se realiza se encuentra ligeramente contaminada, no así si la leche tiene altos niveles de contaminación (Vera, 2003).

En el caso de los hongos, estos son más resistentes a temperaturas altas y pH ácido, sin embargo, una temperatura de 90°C es elevada aún para ellos, por lo que si se alcanzan las temperaturas adecuadas en el proceso de elaboración del requesón tampoco deben estar presentes, su presencia en los requesones se da en las etapas posteriores a la precipitación de las proteínas.

En las figuras 32 y 33, se muestra el comparativo de coliformes totales y fecales respectivamente de los distintos requesones (siete artesanales y dos industriales).

UFC/g de coliformes totales en requesones

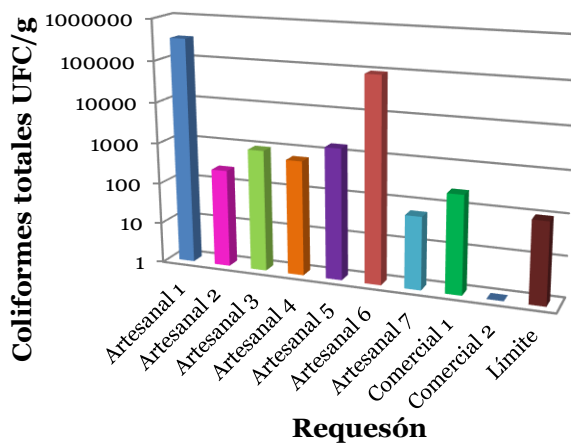


Figura 32. UFC/g de coliformes totales presentes en requesones.

NMP/g de coliformes fecales en requesones

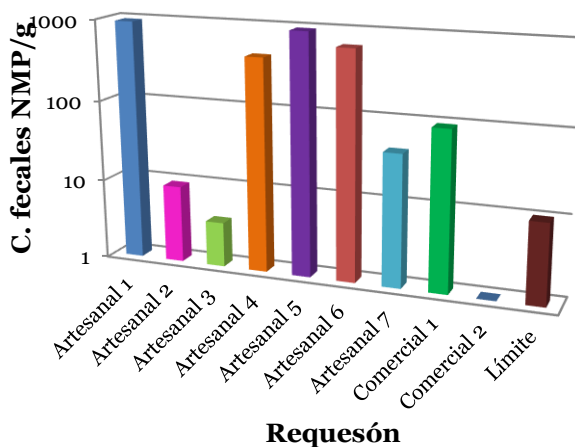


Figura 33. NMP/g de coliformes fecales presentes en requesones.

La figura 32 muestra los coliformes totales presentes en los requesones, estos son uno de los principales microorganismos indicadores de calidad sanitaria, por lo que su presencia en los requesones evidencia un alto grado de contaminación de los mismos y un riesgo potencial para la salud si se consumen (Ramírez *et al*, 2004).

La figura 33, muestra que entre los coliformes presentes en los requesones había coliformes fecales casi en todos, lo que es aún peor, su presencia habla de contaminación por heces ya que se encuentran en el intestino humano y de animales. *Escherichia coli* fue el microorganismo fecal encontrado en todos los casos, lo que no es sorprendente ya que es la bacteria más común de este grupo, su presencia es la de mayor importancia de los microorganismos encontrados en los requesones ya que causa graves ETA's; algunas especies de *E. coli* son más resistentes que el resto de las bacterias a condiciones adversas (incluso es termotolerante) y el que esté en los requesones se debe principalmente a falta de higiene del personal, por ejemplo, falta de lavado de manos sobre todo después de ir al baño y antes de manipular el requesón, otra razón puede ser una mala ubicación del lugar de producción con ventilación inadecuada que permita el paso de fauna nociva o polvo del exterior, que muy probablemente se encuentre contaminado con materia fecal de animales, drenajes desprotegidos y cerca de área de producción y por último y una de las razones más comunes por las que se contamina con este microorganismo es que el producto haya tenido contacto con agua no apta para consumo humano o contaminada ya sea durante la producción o posteriormente (Calderón & Pascual, 2005 y Ramírez *et al*, 2004), en el caso del requesón artesanal 1 la cercanía del canal de aguas negras fue determinante.

Se visitaron todos los puntos de venta de los requesones, donde se encontró que efectivamente estos se encuentran ubicados en lugares

inadecuados y la mayoría no toma medidas preventivas para evitar la contaminación de la leche y del producto terminado.

Como se mencionó anteriormente en las normas mexicanas no existe un límite de coliformes fecales para quesos elaborados a partir de suero de leche y mucho menos específicamente para requesón, sin embargo, la normatividad no debiese permitir la presencia de estos microorganismos que hablan de Malas Prácticas de Manufactura y contaminación fecal.

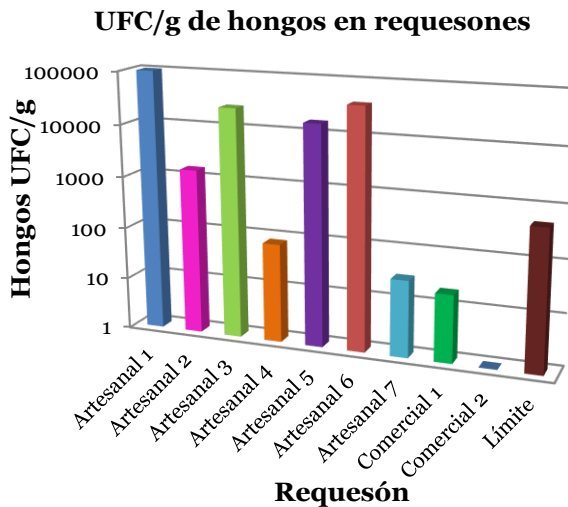


Figura 34: UFC/g de Hongos presentes en requesones.

En cuanto al contenido de hongos (figura 34) que se encontraron en seis de los requesones, tres de ellos dentro del límite permitido, se puede decir que su presencia se debe principalmente a contaminación en el medio a lo largo del proceso de elaboración y manipulación del requesón; Los mohos y levaduras están ampliamente distribuidos en la naturaleza (tierra, piso y aire) (Tortora *et al*, 2007), también se encuentran en instalaciones sucias, equipos y utensilios mal lavados,

mal sanitizados o con deterioro físico, y en paredes y techos propensos a condensaciones, por lo que estas condiciones en los talleres pudieron favorecer su presencia en el requesón.

Se puede observar de los resultados obtenidos en el presente estudio, que en la mayoría de los requesones estudiados, la cantidad de colonias de mohos y levaduras fueron más altas que las de bacterias y al igual que estas se encontraron por arriba de lo marcado por la NOM-243-SSA1-2010, lo que refuerza la falta de BPM's. A diferencia de la presencia de coliformes totales y fecales que fueron indicativos de la falta de BPM's en el personal, los hongos fueron el indicador de prácticas sanitarias inadecuadas principalmente durante la producción, ya que son termoresistentes, es decir, producen esporas y metabolitos tóxicos termoresistentes, lo que indica que las temperaturas no se alcanzaron durante la elaboración de los requesones, durante el almacenamiento y transporte, ya que los hongos se encuentran en el ambiente, principalmente en lugares sucios, con fácil acceso a contaminación del exterior y prefieren atacar alimentos que se almacenan en lugares húmedos y con poca ventilación como el requesón y por último también pueden ser indicativo del uso de materia prima inadecuada, contaminada con hongos antes de la elaboración del requesón.

Sobre las bacterias analizadas que no se encontraron podemos decir que:

Se esperaba encontrar la presencia de *Salmonella*, ya que también es un microorganismo de origen fecal y es un problema grave de salud pública mundial, sin embargo, no se detectó. La presencia de este microorganismo se evaluó, según la normatividad en 25 g de muestra tomada al azar, sin embargo, es probable que estuviera presente en mayor cantidad de muestra o que la muestra no se haya homogenizado correctamente y se tomara de partes del requesón donde no se encontraba, lo que explicaría que no se haya podido aislar.

Además se encuentra con mayor frecuencia en cárnicos crudos y pollo (Hernández *et al*, 2011).

S. aureus es indicador de contaminación post proceso usualmente debida a contacto humano o contacto con superficies indebidamente limpias y sanitizadas (Borbolla *et al*, 2003). La presencia de *S. aureus* podría indicar contaminación a partir de piel, la boca o fosas nasales de portadores de la infección y al no encontrarse se descarta que el personal que manipuló el requesón estuviera infectado (Torres & Delgado, 2003).

Si *Vibrio cholerae* se hubiese encontrado representaría una falta de normas de higiene muy grande. Su ausencia pudo deberse principalmente a que se encuentra con mayor frecuencia en aguas residuales, aunque no es fecal. Una persona enferma o portadora puede excretar entre 100 y 1000000 de *Vibrio* por gramo de heces, por lo que un manipulador portador de esta bacteria pudo contaminar fácilmente el producto con prácticas de higiene deficientes, como lo es un simple lavado de manos, por lo que se puede deducir que ningún manipulador del requesón era portador.

Además esta bacteria prefiere pH's básicos y el requesón tiene pH de ligeramente ácido a neutro, lo que le da una protección natural al requesón, además esta bacteria es más común en frutas y verduras, al ser regadas con aguas residuales y en mariscos (Lundbeck *et al*, 2000).

En el caso de *Listeria monocytogenes* no se encontró ya que suele desarrollarse principalmente en alimentos con un largo periodo de almacenamiento (incluso si se encuentran en refrigeración o congelación) (Baker, 2009), pero este no es el caso del requesón que

al ser un producto perecedero por lo regular se comercializa inmediatamente después de su producción y no se almacena por largos periodos en refrigeración por ser muy susceptible a sinéresis, ni en congelación ya que los cristales de hielo afectan de manera determinante su estructura (Bylund, 2003).

La figura 35 muestra el porcentaje de quesos contaminados microbiológicamente.

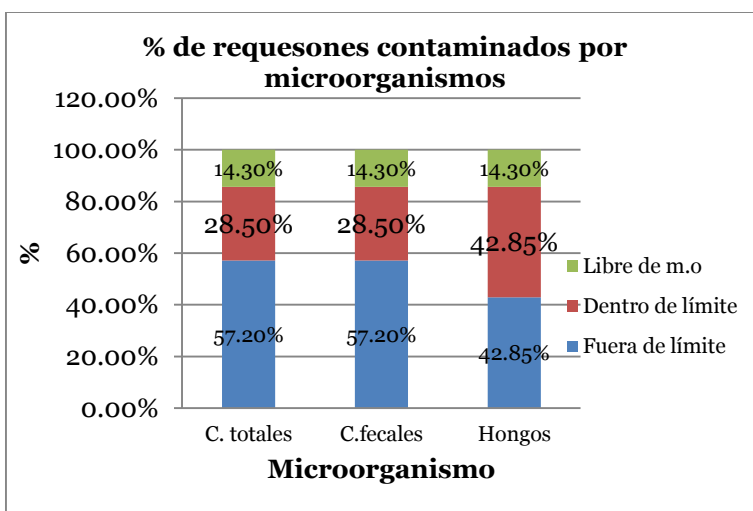


Figura 35. Porcentaje de quesos contaminados microbiológicamente.

Se puede ver en la figura 35 que el 57.2% de los quesos analizados se encontraron fuera del límite permitido por la normatividad mexicana para quesos de suero de coliformes totales y fecales y únicamente el 28.5% dentro del límite; En cuanto a hongos el 42.85% de los quesos se encontraron dentro del límite permitido y el mismo porcentaje fuera de este. Únicamente el 14.30% de los quesos analizados no tuvieron ningún tipo de microorganismo.

CONCLUSIONES

- El factor de mayor influencia en la composición química del requesón es la composición de la leche utilizada en su elaboración.
- El consumo de requesón en la dieta diaria resulta benéfico por su alto contenido de proteínas, además de que estas provienen del suero de leche y son de mayor valor biológico, es decir, mejor aprovechadas por el organismo que las caseínas de cualquier otro queso.
- El requesón contiene menor cantidad de grasa que cualquier otro queso.
- El contenido de carbohidratos y cenizas no varía mucho entre los distintos requesones debido a que el contenido de estos componentes tampoco varía significativamente entre las distintas leches (vaca, cabra y oveja) con las que se puede elaborar requesón.
- Todos los requesones artesanales se apegan a la normatividad (NOM-F-713-COFOCALEC-2005) en cuanto a su composición, no así los requesones comerciales que no reportan todos sus componentes, entre otros aspectos en la etiqueta, como lo establecen la NOM-051-SCFI-SSA1-2010 y la NOM-035-SSA1-1993, el requesón comercial 1 no tiene las características que debe tener el requesón según la norma anterior.
- Los requesones comerciales varían mucho en comparación con los artesanales en cuanto a su contenido de carbohidratos debido a la adición de almidones o féculas, entre otros componentes, que permiten obtener mayor ganancia al productor.
- Los requesones artesanales presentaron mayor contenido de proteína que los comerciales.

- No todos los requesones comerciales garantizan ser totalmente inocuos, como en el caso del comercial 1, que presentó una cantidad considerable de microorganismos. Sin embargo existen marcas reconocidas en el mercado que si aseguran la inocuidad de sus productos, como el comercial 2.
- El requesón comercial 2 fue el mejor en cuanto a calidad sanitaria y cumple las características en su composición para ser considerado requesón de buena calidad, aunque dio positivo a la presencia de almidones.
- La producción artesanal de requesón en el Estado de México no cumple con los lineamientos básico en la normatividad mexicana para su comercialización, al presentar contaminación microbiológica en el 85.7% de los casos, de los cuales el 57.2% sobrepasa los límites de coliformes totales y fecales y el 42.85 % el de hongos.
- No se detectó la presencia de algunos de los microorganismos patógenos más peligrosos (*Salmonella spp*, *S. aureus*, *Vibrio cholerae* y *Listeria monocytogenes*).
- La presencia de microorganismo en el requesón podría reducirse considerablemente mediante una adecuada higiene y la implementación de las BPM's en los sitios de elaboración, aunado a una buena manipulación en los puntos de venta.

RECOMENDACIONES

- Si los requesones se comercializaran en un empaque adecuado y se mantuviera la cadena de frío en todo momento, la carga microbiológica disminuiría considerablemente.
- Es recomendable realizar campañas de capacitación y concientización sobre hábitos higiénicos y medidas de prevención contra las infecciones intestinales transmitidas por alimentos y BPM's en los talleres artesanales.
- Que el requesón sea elaborado a nivel industrial no implica que esté libre de microorganismos dañinos para la salud, como es el caso del requesón comercial 1, por lo que se recomienda adquirir este producto de marcas reconocidas en el mercado.
- Si el requesón se elabora bajo las BPM's necesarias puede ser beneficioso para la salud debido al alto porcentaje de proteínas con alto valor biológico y bajo contenido de grasa y CHOS.
- Tomando en cuenta las altas concentraciones detectadas de *Escherichia coli* en los requesones analizados en el presente estudio, sería recomendable fijar los límites máximos de coliformes fecales y *Escherichia coli* para quesos de suero en la normatividad vigente.

REFERENCIAS

- Acevedo, D. (2010). *Gelificación fría de las proteínas del lactosuero*. Colombia: Universidad de Cartagena.
- ACOLECHE, ANALAC, ANDI, FEDECOLECHE, & FEDEGAN. (Julio de 1999). *redlactea*. Obtenido de Acuerdo de competitividad de la cadena láctea colombiana: <http://www.redlactea.org>, consultada en Mayo,2013.
- Ahmed, E., & Carlstrom, C. (2006). *Food Microbiology: A laboratory manual*. Estados Unidos: John Wiley & sons, Inc.
- Aranceta, J., & Serra, L. (2005). *Leche, lácteos y salud*. España: Médica- Panamericana.
- Armendáriz, J. (2012). *Seguridad e higiene en la manipulación de alimentos* (2da ed.). España: Paraninfo.
- Badui, S. (2006). *Química de alimentos* (4ta ed.). México: Pearson.
- Bailon, L., Cruz, R., & Cervantes, A. (2003). *Atlas de pruebas bioquímicas para identificar bacterias*. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Baird-Parker, A., Roberts, T., & Tompkin, R. (1998). *Microbiología de los alimentos*. Zaragoza: Acribia, S.A.
- Baker, C. (2009). *Atlas de enfermedades infecciosas en pediatría*. Buenos aires: Médica Panamericana.
- Barioglio, C. (2001). *Diccionario de producción animal* (2da ed.). Córdoba: Brujas.

- Barsky, & Llovet. (1982). *Pequeña producción y acumulación de capital: Los productores de papa de Carchi, Ecuador*. Quito: ICCA.
- Belitz, H., Grosch, W., & Schieberle, P. (2009). *Química de los alimentos* (3ra ed.). España: Acribia.
- Bello, J. (2000). *Ciencia bromatológica: Principios generales de los alimentos*. España: Díaz de Santos, S.A.
- Bennet, A., Lhoste, F., & Phelan, J. (2006). *Futuro de la producción lechera en pequeña escala*. Obtenido de FAO: <http://www.fao.org.gt>. Consultada en Mayo, 2013.
- Bourgeois, C., Mescle, J., & Zucca, J. (1994). *Microbiología alimentaria*. España: Acribia, S.A.
- Bravo, M. (2004). *El manejo higiénico de los alimentos: Guía para la obtención del distintivo H*. México: Limusa.
- Buchanan, R., Ross, T., Smith, M., & Whiting, R. (2004). *Risk assesment of Listeria monocytogenes in ready-to-eat food*. Roma: OMS/FAO.
- Bylund, G. (2003). *Manual de industrias lácteas*. España: Mundi-Prensa.
- Calderón, V., & Pascual, R. (2000). *Microbiología alimentaria: Metodología analítica para alimentos y bebidas* (2da ed.). España: Díaz de Santos.
- Cantú, C. (1975). *Como hacer quesos en casa*. México: Armol.
- Caravaca, F., Castel, J., Guzmán J., Delgado, M. & Mena, Y. (2005). *Bases de la producción animal*. España: Universidad de Sevilla.

- Cervantes, F., Villegas, A., & Espinoza, A. (2008). *Los quesos mexicanos genuinos: Patrimonio nacional que debe rescatarse*. México: Mundi-Prensa.
- Chamorro, M., & Losada, M. (2002). *Tecnología de alimentos: El análisis sensorial de los quesos*. Madrid: Mundi-Prensa.
- CXS-206-1999. (s.f.). *Norma general del Codex para el uso de términos lecheros*.
- CXS-283-1978. (s.f.). *Norma general del Codex para el queso*.
- De Cos, A., López, C., & Vázquez, C. (2005). *Alimentación y nutrición: Manual teórico práctico* (2da ed.). España: Díaz de Santos.
- De Santos, V. (2009). Aguas con el requesón. *La gaceta*, 9.
- FAO. (2011). *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. Obtenido de Procesos de elaboración de productos lácteos: [http:// www.fao.org.gt](http://www.fao.org.gt)
- Farran, A., Zamora, R., & Cervera, P. (2004). *Tablas de composición de alimentos del CESNID* (2da ed.). España: Mc Graw Hill Interamericana.
- Forbes, B., Sahm, D., & Weissfeld, A. (2009). *Diagnóstico microbiológico*. Buenos Aires: Médica Panamericana.
- Forsythe, S. (2003). *Alimentos seguros: Microbiología*. Zaragoza: Acribia, S.A.
- Francis, K., & Gaona, H. (1999). *Introducción a la lactología* (2 da ed.). México: Limusa.

- Gamboa, M., Rodríguez, E., Hernández, F., & García, J. (2005). *Bacteriología general: Principios y prácticas de laboratorio*. Costa Rica: Universidad de Costa Rica.
- García, M., & Silva, C. (2004). *Microbiología, enzimología e inmunología: Manual del técnico superior de laboratorio de análisis clínicos*. España: Mad, S.L.
- García, M., López, A., & Quintero, R. (2004). *Biotechnología alimentaria*. México: Limusa.
- Geankoplis, C. (1998). *Procesos de transporte y operaciones unitarias* (3 ra ed.). México: Continental.
- Gil, A. (2010). *Tratado de nutrición Tomo II: Composición y calidad nutritiva de los alimentos* (2a edición ed.). España: Panamericana.
- Gutiérrez, M., López, R., Manjarrez, E., & Molina, J. (2010). *Microbiología y parasitología médica* (3ra ed.). México: Méndez editores.
- Hernández, A., Alfaro, I., & Arrieta, R. (2003). *Microbiología industrial*. Costa Rica: UED.
- Hernández, C., Aguilera, M., & Castro, G. (Enero de 2011). Situación de las enfermedades gastrointestinales en México. *Enfermedades infecciosas y microbiología*, 31, 137-149.
- Hernández, M., & Sastre, A. (1999). *Tratado de nutrición*. Madrid: Diaz de Santos.
- INEGI. (2011). *INEGI*. Obtenido de Encuesta mensual de la industria manufacturera (EMIM): <http://www.inegi.org.mx>, consultada en Mayo, 2013.

- Jeantet, R., Roignant, M., & Brulé, G. (2005). *Ingeniería de los procesos aplicada a la industria láctea*. Zaragoza: Acribia, S.A.
- Koneman, E., & Allen, S. (2008). *Diagnóstico microbiológico: Texto y atlas en color* (6ta ed.). Buenos Aires: Médica Panamericana.
- Lundbeck, H., Elliot, R., Clark, D., Lewis, K., Olson, J., & Simonsen, B. (2000). *Microorganismos de los alimentos: Su significado y métodos de enumeración* (2da ed.). Zaragoza: Acribia, S.A.
- MacFaddin, J. (2003). *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica*. (3ra ed). Buenos Aires: Médica Panamericana.
- Mahaut, M., Jeantet, R., & Brulé, G. (2003). *Introducción a la tecnología quesera*. Zaragoza: Acribia, S.A.
- Marín, Z. (2000). *Elementos de nutrición humana*. Costa Rica: EUNED.
- Martínez, M., & Anadón, A. (2012). *Micotoxinas: Toxicología alimentaria*. España: Díaz de Santos.
- Mataix, J., Mañas, M., Martínez, E., & Llopis, J. (2003). *Tablas de composición de alimentos* (4ta ed.). España.
- Maza, M., Pastrana, M., Legorreta, P., Jiménez, A., Pelayo, H., Milke, M., Valdés, S. (2011). *El libro blanco de la leche y los productos lácteos*. . Obtenido de CANILEC: <http://www.canilec.org.mx>, consultada en Mayo, 2013.
- Mendoza, E., & Calvo, C. (2010). *Bromatología: Composición y propiedades de los alimentos*. México: Mc Graw Hill.

- Montoya, H. (2008). *Microbiología básica para el área de la salud y afines* (2da ed.). Colombia: Universidad de Antioquia.
- Morrison, R & Boyd, R. (1998). *Química orgánica*. (5ta ed). México: Addison Wesley Longman.
- Murray, P., Rosenthal, K., & Pfaller, M. (2009). *Microbiología médica* (6ta ed.). España: Elsevier.
- NMX-F-066-S-1978. *Determinación de cenizas en alimentos*.
- NMX-F-374-1983. (s.f.). *Alimentos. Almidón. Determinación cualitativa. Prueba de lugol*.
- NOM-015-SSA2-1994. (s.f.). *Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes*.
- NOM-035-SSA1-1993. (s.f.). *Bienes y servicios. Quesos de suero. Especificaciones sanitarias*.
- NOM-043-SSA2-2005. (s.f.). *Servicios básicos de salud. Promoción y educación para la salud en materia alimentaria. Criterios para brindar información*.
- NOM-116-SSA1-1994. (s.f.). *Bienes y servicios. Determinación de humedad en alimentos por tratamiento térmico. Método por arena o gasa*.
- NOM-120-SSA1-1994. (s.f.). *Bienes y servicios. Prácticas de higiene y sanidad para el proceso de alimentos, bebidas no alcohólicas alcohólicas. (NORMA DEROGADA)*.
- NOM-121-SSA1-1994. (s.f.). *Bienes y servicios. Quesos: frescos, madurados y procesados. Especificaciones sanitarias*.

- NOM-155-SCF1-2012. (s.f.). Leche. Denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba.*
- NOM-181-SCFI-2010. (s.f.). Yogurt-Denominación, especificaciones fisicoquímicas y microbiológicas, información comercial y métodos de prueba.*
- NOM-184-SSA1-2002. (s.f.). Productos y servicios. Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado. Especificaciones sanitarias.*
- NOM-185-SSA1-2002. (s.f.). Productos y servicios. Mantequillas, cremas, producto lácteo condensado azucarado, productos lácteos fermentados y acidificados, dulces a base de leche. Especificaciones sanitarias.*
- NOM-243-SSA1-2010. (s.f.). Productos servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.*
- NOM-713-COFOCALEC-2005. (s.f.). Sistema producto leche. Alimentos lácteos. Queso y queso de suero. Denominaciones, especificaciones y métodos de prueba.*
- Oliszewski, R., Toll-Vera, J., Núñez, M., & González, S. (2001). Evaluación de la calidad de leche invernal de la cuenca Tapia-Trancas en Argentina. *Información tecnológica, volumen 12*, 25-31.
- Olivas, E., & Alarcón, L. (2004). *Manual de prácticas de microbiología básica y microbiología de alimentos: Programa de nutrición*. México: Universidad Autónoma de Ciudad Juárez.

- OMS. (2011). *Estadísticas sanitarias mundiales*. Obtenido de www.who.int/es/
- Pahissa, A. (2009). *Infecciones producidas por Staphylococcus aureus*. España: ICG Marge, SL.
- Panisello, R. (2004). *Las 100 preguntas que siempre quiso hacer: Mitos y verdades en torno a la alimentación. Volumen II*. España: Glosa.
- Pascual, R. (2005). *Enfermedades de origen alimentario: Su prevención*. España: Díaz de Santos.
- Prats, G. (2008). *Microbiología clínica*. España: Médica Panamericana.
- Ray, G., & Ryan, K. (2011). *Microbiología médica*. México: Mc Graw Hill.
- Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios* . (s.f.).
- Restrepo, A., Robledo, J., Leiderman, E., Restrepo, M., Botero, D., & Bedoya, I. (2003). *Enfermedades infecciosas* (6ta ed ed.). Colombia: CIB.
- Revilla, A. (1982). *Tecnología de la leche: Procesamiento, manufactura y análisis* (2 da ed.). Costa Rica: IICA.
- Robinson, Wilbey, & Scott. (2002). *Fabricación de quesos* (Segunda edición ed.). España: Acribia S.A.
- Rodríguez, V., & Magro, S. (2008). *Bases de la alimentación humana*. España: Netbiblo, S.L.
- Romero, R. (2007). *Microbiología y parasitología humana* (3ra ed.). México: Médica Panamericana.

- SAGARPA. (2009). *Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo rural, Pesca y Alimentación*. Obtenido de Proyecciones para el sector agropecuario de México: Escenario base 2009-2018: [http://: www.sagarpa.gob.mx](http://www.sagarpa.gob.mx), consultada en Mayo, 2013.
- Santamarina, M., García, F., & Roselló, J. (1997). *Biología y botánica Tomo II*. Valencia: REPROVAL, S,L.
- Schlimme, E., & Buchheim, W. (2002). *La leche y sus componentes: Propiedades físicas y químicas*. Zaragoza: Acribia S.A.
- Scholz, W. (1995). *Elaboración de quesos de oveja y cabra*. España: Acribia S.A.
- SE. (Marzo de 2012). *Secretaría de Economía*. Obtenido de Análisis del sector lácteo en México: [http://: www.economia.gob.mx](http://www.economia.gob.mx), consultada en Mayo, 2013.
- Serra, J., & Bugueño, G. (2004). *Gestión de calidad en las pymes agroalimentarias*. Valencia: UPV.
- Soriano, J. (2007). *Micotoxinas en alimentos*. España: Díaz de Santos.
- Spicer, J. (2009). *Microbiología clínica y enfermedades infecciosas: Texto y atlas en color*. España: Elsevier.
- Spong, & Peterson. (2003). *La combinación de los alimentos*. España: Robin book.
- SSA.(2011). *Secretaría de salud*. Obtenido de <http://portal.salud.gob.mx/>
- Tortora, G., Funke, B., & Case, C. (2007). *Introducción a la microbiología* (9na ed.). Buenos Aires: Médica Panamericana.

Valencia, O. (2001). *Manual para la elaboración de productos lácteos*. México: Trillas.

Vera, G. (2003). *Introducción a la microbiología (2da ed)*. Costa Rica: EUNED.

Zadow, J. (1992). *Whey and lactose processing*. England: Elsevier.