



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTILÁN

INGENIERÍA EN ALIMENTOS

Evaluación del efecto antimicrobiano de la nisina,
natamicina y lactato de calcio en la vida útil de queso
panela.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
INGENIERO EN ALIMENTOS

PRESENTAN:

CITLALTEPETL MELGAREJO CARRANZA

BRAYAN DANIEL RAMOS TREJO

ASESORA: M. en C. María Guadalupe Amaya León

CO ASESORA: Dra. Sara Esther Valdés Martínez

Cuatitlán Izcalli, Estado de México

2016



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: M. EN A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO
Jefe del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Evaluación del efecto antimicrobiano de la nisina, natamicina y lactato de calcio en la vida útil de queso panela.

Que presenta el pasante: Citlaltepeltl Melgarejo Carranza
Con número de cuenta: 302237155 para obtener el Título de la carrera: Ingeniería en Alimentos

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 04 de Noviembre de 2015.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	I.B.Q. Saturnino Maya Ramírez	
VOCAL	Dra. Carolina Moreno Ramos	
SECRETARIO	M. en C. María Guadalupe Amaya León	
1er. SUPLENTE	Dr. Enrique Martínez Manrique	
2do. SUPLENTE	M. en C. María Elena Pahua Ramos	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

IHM/cga*



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: M. EN A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO
Jefe del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Evaluación del efecto antimicrobiano de la nisina, natamicina y lactato de calcio en la vida útil de queso panela.

Que presenta el pasante: Brayan Daniel Ramos Trejo

Con número de cuenta: 409022188 para obtener el Título de la carrera: Ingeniería en Alimentos

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 04 de Noviembre de 2015.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	I.B.Q. Saturnino Maya Ramírez	
VOCAL	Dra. Carolina Moreno Ramos	
SECRETARIO	M. en C. María Guadalupe Amaya León	
1er. SUPLENTE	Dr. Enrique Martínez Manrique	
2do. SUPLENTE	M. en C. María Elena Pahua Ramos	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

AGRADECIMIENTOS

A mis padres.

Quienes con su gran esfuerzo y determinación, me han impulsado a terminar una carrera profesional, al igual que lo hicieron con mis hermanos. Gracias por ser los pilares que apuntalaron mi desarrollo académico pero sobretodo mi crecimiento personal, con sus enseñanzas y las experiencias que he vivido junto a ustedes.

Gracias padre por siempre indicarme el camino con tu sabiduría, tus consejos y recomendaciones. Te admiro y tú gran personalidad me inspiran para ser mejor persona.

Gracias mamá por tu gran cariño, por sobre poner nuestro bienestar a costa del tuyo, por inculcarme el gran valor del trabajo y ser clave esencial en el crecimiento de esta familia.

Gracias padres por empujarme a seguir adelante, por apoyarme, espero poder retribuirles el gran esfuerzo que han hecho y siempre se sientan orgullosos de mí.

A mi esposa y mi hijo.

A quien admiro mucho por ser una gran mujer inteligente y hermosa. Gracias Beatriz Ivon por tu compañía, por tu gran amor, por ser la madre de mi hijo que tanto adoro, gracias Kinich por llenar mi vida de alegrías y felicidad al igual que tu madre, gracias a ambos por ser el motor que me impulso a terminar la tesis, siempre con la finalidad de brindarles bienestar, los amo.

A mis hermanos.

Quienes han sido mi ejemplo a seguir. Gracias España y Jasy por ser como mis segundas mamás. Gracias a Eucario y Axayacatl, por compartir conmigo sus experiencias y por orientarme hacia esta profesión. Gracias a todos por haber hecho mi infancia muy feliz.

A mis maestros.

Gracias a todos por su entrega, dedicación y el gran compromiso de formar profesionistas. Gracias especialmente a la Dra. Sara Valdés y a la M. en C. Guadalupe Amaya quienes con su asesoría, trasmisión de conocimientos y recursos académicos hicieron posible la conclusión de este proyecto de investigación, sin dejar a un lado la armonía y amistad que nos brindaron.

A mis amigos.

Iván, Fabián, Oscar, Ernesto, Jorge, David, Mario, Héctor, Said, Oscar Alejandro, Pepe, Yos, Parra, Adri, Areli, Maña, Cesar, Rodrigo, Ulises, Eliseo, Neto, Arturo. Gracias por hacer muy amena mi estancia en la universidad, por enriquecerme con sus distintas formas de pensar, por la compañía y la amistad y por las fiestas de cada fin de semana que era lo que más me gustaba. Gracias a mis compañeros del taller Alina, Martin, China, Dulce, Tania, Adriana e Ivonne y especialmente a mi compañero de tesis Daniel por su dedicación y su gran trabajo en equipo.

A mis primos.

Pepe, Julio, David, Pancho, Erick. Gracias porque además de ser mis primos también son mis amigos, gracias porque han sido parte de mi formación y crecimiento emocional e intelectual.

CITLALTEPETL MELGAREJO CARRAZA

AGRADECIMIENTOS

Primeramente quiero agradecer a mis padres por siempre estar junto de mi apoyándome y guiándome por el camino correcto. A ti mamá por levantarte cada mañana y desvelarte a esperar mi regreso, por darme tu cariño y amor incondicional. A ti papá por darme un ejemplo a seguir, por tus consejos que han hecho de mí un hombre mejor; y a mi querida hermana gracias por tu grandiosa amistad y esas risas que me hicieron olvidarme de lo cansado que llegaba. Y también gracias a ese cachorro que llegó a mi vida, Jack, que me ha impulsado a ser una persona más responsable y consciente de la vida. A todos los amo.

Y como olvidarme de esos grandiosos amigos que la vida me dio la oportunidad de conocer, gracias por sus innumerables risas, sus regaños, sus chistes tontos y esa gran amistad que durara toda una vida, gracias Ivonne, Arely, Julia, Andrea, Adri, Nelly, Chino, Nata. Especialmente gracias Citla por tu compromiso y dedicación en este trabajo, eres una gran persona como profesionalista y como ser humano.

A mis maestros que durante esta gran etapa de mi vida me enseñaron a ser una mejor persona en lo profesional y en lo ético de lo que implica esta maravillosa profesión. Por dedicar su tiempo y transmitir su valioso conocimiento y porque no, por sus regaños y golpes que me ayudaron a crecer.

A ti pequeña niña Adriana por ser el complemento de mi vida, gracias por tu apoyo incondicional, por esos consejos que me levataron el ánimo, por todos esos grandes y divertidos momentos que hemos pasado juntos y claro por esos momentos tristes que nos han hecho más fuertes ya que la vida que nos espera no será fácil, pero siempre juntos superaremos cualquier muralla. TE AMO.

BRAYAN DANIEL RAMOS TREJO

ÍNDICE.

Resumen.....	1
Introducción	2
Capítulo 1. ANTECEDENTES.....	4
1.1 leche.	4
1.1.1 Definición.	4
1.1.2 Propiedades físicas.....	5
1.1.3 Composición de la leche.....	6
1.1.4 Propiedades físico-químicas.....	9
1.1.5 Microbiología de la leche.	10
1.1.6 Calidad de la leche.	10
1.1.7 Componentes peligrosos en la leche.	11
1.1.8 Alteraciones de la leche.	13
1.1.9 Tratamientos y procesos de conservación de la leche.....	13
1.1.9.1 Pasteurización.	14
1.1.9.2. Ultrapasteurización.	16
1.1.10 Producción de leche.	17
1.1.11 Derivados lácteos.	19
1.2. Queso.	20
1.2.1 Historia.	21
1.2.2 Definición.	21
1.2.3 Clasificación de los quesos (Lara, 2012 y NOM-243-SSA1-2010).....	21
1.2.4. Composición química de algunos tipos de quesos.....	25
1.2.5. Generalidades sobre tecnología quesera.....	25
1.2.5.1 Estandarización	26
1.2.5.2. Coagulación.	26
1.2.5.3 Desuerado.	28
1.2.5.4. Afinado.	29
1.2.6. Producción de queso en México.	30
1.2.7 Queso panela.	32
1.2.7.1 Origen.....	33

1.2.7.2 Definición.	33
1.2.7.3. Composición.....	33
1.2.7.4. Descripción del proceso de queso panela.....	34
1.3 Conservadores.....	37
1.3.1 Bacteriocinas.....	38
1.3.1.1 Nisina.....	39
1.3.1.2 Natamicina.....	41
1.3.1.3 Lactato de calcio.....	41
1.4 Características de microorganismos patógenos.....	43
1.4.1 <i>Escherichia coli</i>	43
1.4.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	44
1.4.3 <i>Candida albicas</i>	44
1.5 Vida de anaquel.....	45
Capítulo 2. OBJETIVOS.....	46
2.1 Objetivo general.....	46
2.1.1 Objetivos Particulares.....	46
Capítulo 3. METODOLOGIA EXPERIMENTAL.....	48
3.1 Cuadro Metodológico.....	48
3.2 Desarrollo experimental.....	49
3.2.1 O.P.1. Análisis químico y pruebas de andén a la leche.....	49
3.2.2 O.P.2. Elaboración de queso panela.....	50
3.2.3. O.P.3. Evaluación de la calidad del queso panela elaborado.....	52
3.2.4 Actividad preliminar O.P.4. Elaboración de la curva de Mc Farlan.....	53
3.2.5. O.P.4. Retos microbianos.....	55
3.2.6 O.P.5 Evaluación de la vida de anaquel.....	58
CAPITULO 4 ANALISIS Y RESULTADOS.....	60
4.1. O.P.1. Caracterización de la materia prima.....	60
4.2. O.P.3.Calidad del queso panela.....	62
4.3 Actividad preliminar O.P.4. Preparación de la escala de Mc Farlan para los retos microbianos.....	65
4.4 O.P.4. Retos microbianos de <i>E. coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Candida albicas</i>	68
4.5. O.P.5. Vida de anaquel.....	77

Conclusiones.....	80
Recomendaciones.....	82
BIBLIOGRAFIA:.....	83

ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla 1. Fases de la leche.....	5
Tabla 2. Composición química de la leche de diferentes razas de vaca.....	6
Tabla 3. Propiedades físicas de la leche.....	9
Tabla 4. Bacterias que se pueden encontrar en la leche.....	10
Tabla 5. Derivados lácteos.....	19
Tabla 6. Composición química de distintas variedades de queso.....	25
Tabla 7. Contraste de la industria quesera pequeña y la gran industria.....	32
Tabla 8. Pruebas de andén de la leche.....	49
Tabla 9. Análisis químico proximal de la leche.....	50
Tabla 10. Parámetros fisicoquímicos evaluados.....	52
Tabla 11. Condiciones de pruebas microbiológicas realizadas al queso panela...	52
Tabla 12. Elaboración de la curva de Mc Farlan	53
Tabla 13. Retos microbianos.....	56
Tabla 14. Condiciones de pruebas microbiológicas utilizadas en los retos microbianos.....	56
Tabla 15. Resultados de las pruebas de andén de la leche entera.....	60
Tabla 16. Resultados del análisis químico proximal de la leche entera.....	61
Tabla 17. Resultados del análisis químico proximal del queso panela.....	63
Tabla 18. Resultados del análisis microbiológico.....	64
Tabla 19. Resultados de la prueba de viabilidad.....	67
Tabla 20. Concentración utilizada de los conservadores.....	69
Tabla 21. Datos comparativos entre el queso con <i>E. coli</i> + nisina y en queso con nisina.....	69
Tabla 22. Datos comparativos entre el queso con <i>E. coli</i> + natamicina y en queso	

con natamicina.....	71
Tabla 23. Datos comparativos entre el queso con <i>E. coli</i> + lactato de calcio y en queso con lactato de calcio.....	73
Tabla 24. Datos comparativos del queso con <i>Staphylococcus aureus</i> + nisina contra el queso con nisina.....	74
Tabla 25. Datos comparativos del queso con <i>Candida albicans</i> + natamicina contra el queso con natamicina	
Tabla 26. Condiciones para la vida de anaquel.....	77

ÍNCICE DE FIGURAS.

Figura 1. Pasteurización y ultrapasteurización de la leche y su relación con la destrucción de microorganismos.....	15
Figura 2. Producción mundial de leche.....	18
Figura 3. Producción nacional de leche.....	19
Figura 4. Producción de queso.....	30
Figura 5. Diagrama de proceso del queso panela.....	34
Figura 6. Estructura química de la nisina.....	40
Figura 7. Proceso de elaboración del queso panela.....	51
Figura 8. Líneas de referencia.....	54
Figura 9. Obtención de la concentración inicial del inóculo.....	54
Figura 10. Proceso de elaboración de queso panela con inóculo y conservador...57	
Figura 11. Proceso de elaboración de queso panela utilizando conservador.....	59
Figura 12. Prueba de viabilidad.....	68
Figura 13. Comportamiento del queso panela con <i>E. coli</i> y nisina.....	70
Figura 14. Comportamiento del queso panela con <i>E. coli</i> y natamicina.....	72
Figura 15. Comportamiento del queso panela con <i>E. coli</i> y lactato de calcio.....	73
Figura 16. Comportamiento del queso panela con <i>Staphylococcus aureus</i> y Nisina.....	75
Figura 17. Comportamiento del queso panela con <i>Candida albicans</i> y Natamicina.....	76
Figura 18. Resultados de la vida de anaquel.....	78



Resumen

El uso de conservadores es una práctica común en la industria de los alimentos, por muchos años se han empleado conservadores sintetizados químicamente, redundando en un rechazo por parte de los consumidores de alimentos procesados, por lo cual ha surgido la necesidad de buscar otras opciones. Una de estas opciones son las bacteriocinas, que son proteínas sintetizadas por algunos tipos de bacterias, capaces de inhibir el crecimiento microbiano.

Los quesos frescos, especialmente el queso panela, son muy consumidos en todo el país, sin embargo la vida útil de este producto es muy corta. El empleo de bacteriocinas representa una alternativa para elaborar quesos frescos más duraderos. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto antimicrobiano de la nisina, natamicina y lactato de calcio en queso panela, para así definir cuál de estos conservadores logra aumentar la vida útil. Para ello se analizó tanto la leche bronca como el queso panela para comprobar su calidad química y microbiológica, después se elaboraron 6 quesos, 5 para realizar los retos microbianos y uno como control, en cada caso la leche se pasteurizó y se siguieron las buenas prácticas de manufactura. Se llevó a cabo la prueba de vida útil de cada conservador en el queso panela mediante un conteo microbiano. Tanto las pruebas químicas como microbiológicas se realizaron en base a normas oficiales mexicanas. Se encontró que la nisina tuvo un mayor efecto bacteriostático sobre la *E. coli* en comparación con los otros conservadores, mientras que en los casos donde el queso fue inoculado con *S. aureus* la nisina logró inhibir por completo el crecimiento de esta bacteria. Del mismo modo en el queso donde se inoculó con *Candida albicans* la natamicina inhibió en su totalidad este microorganismo. La nisina resultó ser más eficiente para la biopreservación del queso panela al aumentar su vida útil más tiempo que los otros dos conservadores.



Introducción

Los productos lácteos son ricos elementos nutritivos, especialmente para niños. El queso es uno de los mejores alimentos, es rico en proteína, nutrientes esenciales para la vida, contiene calcio y vitaminas, y todas las grasas necesarias para conservar el calor necesario. En México la elaboración y consumo de queso fresco es alto.

El queso es un producto fresco o maduro que se obtiene por la separación del suero de leche, que está listo para el consumo después de la fabricación, y no será sometido a ningún cambio físico o químico adicional. Los quesos frescos suaves y húmedos suelen consumirse entre los 1 y 15 días, antes de que comience a presentar alteraciones.

La importancia del queso como alimento en todas las sociedades radica en que representa una forma de consumo indirecto de la leche, además de que su tecnología es accesible. Dentro de los tipos de queso están los frescos, generalmente elaborados con leche cruda de vaca. Por esta razón los quesos suelen ser vehículo de microorganismos patógenos como *Staphylococcus aureus*, *E. coli* o *Salmonella*. La fuente más importante de contaminación es el ordeño y manejo de la leche, que sumado a las deficientes condiciones higiénicas de fabricación del queso provocan que el producto final sea riesgoso para el consumidor. Por tal razón es importante buscar alternativas que disminuyan la presencia de microorganismos patógenos y la flora responsable del deterioro del queso fresco.

Existe una tendencia mundial en consumir productos más frescos y sanos, y lo más parecidos a su forma original. Esto debido a que se ha asociado el uso de conservadores químicos, a intoxicaciones, cáncer y otras enfermedades degenerativas, como son los benzoatos, nitritos, nitratos, anhídrido sulfuroso, entre otros (Rodríguez, 2011). Esto genera la necesidad de buscar alternativas de



conservación que cubran las mismas propiedades antimicrobianas y compatibilidad con el alimento.

Para este trabajo primeramente se analizó la calidad de la leche con lo que se trabajó, después se elaboró el queso panela siguiendo un método tradicional; al igual que en la leche, también se evaluó la calidad del queso fabricado. Se realizaron retos microbianos inoculando al queso con *E. coli*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* frente a nisina, natamicina y natamicina para comprobar cual tenía mejor efecto antimicrobiano, finalmente se realizó una vida de anaquel del queso con cada uno de los conservadores para conocer con cual prologaba más la vida útil del queso panela.



Capítulo 1. ANTECEDENTES.

1.1 leche.

La leche es un alimento indispensable en la alimentación de mamíferos en sus primeros días de vida, debido a que satisface los requerimientos nutricionales. Es considerado uno de los alimentos más completos que existen, ya que contiene proteínas de alta calidad, carbohidratos, grasas, vitaminas y sales minerales de alto valor biológico; además de ser una buena fuente de energía. Las propiedades multifuncionales de la leche la convierten en un ingrediente indispensable en la elaboración de una gran variedad de productos.

Puede ser considerada un alimento que cubre todas las necesidades nutritivas del humano ya que contiene carbohidratos, proteína, grasa, vitaminas, minerales y distintos biocatalizadores necesarios para mantener y desarrollar los procesos vitales (Alais, 2003)

1.1.1 Definición.

La leche se puede definir de varias formas dependiendo el enfoque, a continuación se mencionan alguna de ellas.

Definición biológica:

“Es el producto secretado por las glándulas mamarias de una hembra lechera sana, bien alimentada y no agotada, recogida con limpieza y que no contiene calostro” (Romero, 2004).

Definición legal:

Es el producto obtenido de la secreción de las glándulas mamarias de las vacas sin calostro, el cual debe de ser sometido a tratamientos térmicos u otros procesos que garanticen la inocuidad del producto; además puede cometerse a otras operaciones tales como clarificación, homogenización u otras, siempre y cuando



no contaminen el producto y cumplan con las especificaciones de su denominación (NOM-155-SCFI-2011).

Definición tecnológica:

“Una emulsión de materia grasa en forma globular en un líquido que muestra analogías con el plasma sanguíneo, este líquido es asimismo una suspensión de materia proteica en un suero constituido por una solución neutra que contiene, principalmente, lactosa y sales minerales” (Alais, 2003).

1.1.2 Propiedades físicas.

La leche es un líquido blanco, opaco, dos veces más viscoso que el agua. Tiene un sabor ligeramente azucarado. Es un sistema biológico muy complejo que posee más de 100 sustancias, estas se pueden encontrar en suspensión, dispersión coloidal o emulsión en agua. Está compuesto por 3 fases como se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Fases de la leche.

Fase de la leche	Tipo de solución	Componentes
I	Acuosa	Contiene moléculas de lactosa disueltas, así como iones de calcio y vitaminas hidrosolubles.
II	Coloidal	Contiene dos coloides hidrofílicos; la albuminas y las globulinas; estos están asociados a un complejo de caseinato de calcio.
III	Emulsión	Contiene glóbulos de grasa, generalmente triacilglicéridos, rodeados de una membrana lipoproteica con carga negativa.

Fuente: Luquet. Leche y productos lácteos, España, Ed Acriba, 1993.

La caseína es la principal proteína que contiene la leche, se encuentra en dispersión junto con un gran número de partículas pequeñas que quedan suspendidas.



Las micelas de caseína y los glóbulos de grasa otorgan a la leche la mayoría de sus características físicas como el olor y color. Estas características se conservan en los derivados de la leche si no se ha llevado por un proceso de fermentación o se ha agregado algún aditivo para modificar estas características.

1.1.3 Composición de la leche.

En general la leche está constituida por agua, grasa, proteína, carbohidratos, vitaminas y minerales, así como otras sustancias que están presentes en menor concentración y que en conjunto forman un sistema estable de más de 450 compuestos. En la tabla 2 se muestra la concentración de componentes de distintas razas de vacas lecheras.

Tabla 2. Composición química de la leche de diferentes razas de vacas.

Raza	Agua	Grasa	Proteína	Azúcares	Ceniza
Holstein	88.1	3.4	3.1	4.6	0.71
Ayshire	87.3	3.4	3.4	4.4	0.73
Suiza café	87.3	3.9	3.3	4.6	0.72
Guernsey	86.3	4.5	3.6	4.7	0.75
jersey	85.6	5.1	3.7	4.7	0.74

Fuente: Badui. Química de los Alimentos, México, Ed Educación Pearson, 2013.

Los sólidos totales de la leche (grasa y sólidos no grasos) representan del 11 al 15% de su composición y varían de acuerdo a muchos factores, tales como la raza, la edad de la vaca, el tipo y frecuencia de alimentación, estado de lactación, temperatura ambiente, enfermedades, época del año, hora del día de la ordeña, etc. (Gil, 2010)

Algunos alimentos conducen a la presencia de ácidos grasos en la leche que otorgan diferente sabor y pueden afectar las propiedades físicas de las grasas. Algunos ejemplos de esos alimentos pueden ser el nabo, la col o la cebolla; que cuando se almacena de manera inadecuada en el silo puede llegar a afectar las grasas de la leche.



A continuación se describirán brevemente los componentes químicos de la leche.

Agua.

El contenido normal de agua es aproximadamente el 87% del total de la leche, sin embargo la variación en este valor se puede deber a una alteración en cualquiera de sus otros componentes: lactosa, proteínas y sobre todo a la grasa. Por su importante contenido de agua, la leche permite que la distribución de sus componentes sea relativamente uniforme y de esta forma, cualquier cantidad de leche contiene casi todos los componentes disponibles (Gil. 2010).

Proteínas.

Las proteínas están formadas por aminoácidos, sin embargo no todas las proteínas tienen igual valor nutritivo, ya que algunas no contienen la cantidad equilibrada de aminoácidos esenciales. Las proteínas de la leche son de alto valor nutricional ya que contienen todos los aminoácidos esenciales, además de contener pequeñas cantidades de aminoácidos que se encuentran en proteínas vegetales. Por esta razón las proteínas de la leche son una fuente proteica de un alto nivel nutricional, económico y de fácil acceso a la población en general (Villegas, 2012)

Lactosa.

La lactosa es el principal carbohidrato que contiene la leche, representa cerca del 50% de los sólidos no grasos y cerca del 30% del contenido calórico de la leche bovina. En la leche de vaca representa el 5% del contenido total. Tiene un sabor edulcorante débil, aproximadamente 6 veces menor que el de la sacarosa y es sensible al calor; al calentar la leche se produce un pardeamiento originado por la caramelización de las moléculas de lactosa, lo que puede llegar a producir una disminución en el valor nutritivo de las proteínas (Gil, 2010).

Lípidos.

La materia grasa es un componente muy importante de la leche por sus implicaciones tecnológicas y nutricionales. Los lípidos o grasa de la leche pueden



constituir desde el 3.5% hasta el 6% de la leche, esto es ocasionado por la variedad de la raza de la vaca y por el tipo de alimentación principalmente. Se encuentra en la leche en forma de pequeños glóbulos esféricos emulsionados en el suero de la leche, el tamaño de estos glóbulos varía entre 2 a 10 μm de diámetro dependiendo de factores como la raza o el periodo de lactación. Cada glóbulo de grasa contiene colesterol, vitaminas liposolubles y triglicéridos insaturados en su interior, los cuales se encuentran rodeados por una capa de triacilgliceridos sólidos, fosfolípidos y proteínas asegurando así la estabilidad de la emulsión.

Hasta hace unos años, el precio de la leche se establecía en función del contenido de grasa, y aunque hoy en día el panorama ha cambiado y ahora se consideran otros componentes como la cantidad de proteína, aun juega un papel importante; dado que el precio de la mayoría de productos depende de la cantidad de grasa que contengan. En aspecto nutritivo, además de otorgar energía, sirve como portador de vitaminas liposolubles (Belitz 2009).

Vitaminas.

Las vitaminas son sustancias orgánicas esenciales para el desarrollo de la vida y deben ser aportadas por los alimentos en cantidades suficientes. La leche figura entre los alimentos que contienen la variedad más completa de vitaminas a pesar de que algunas se encuentren en cantidades muy pequeñas o despreciables.

La leche fresca recién ordeñada contiene la mayor cantidad de vitaminas. Los tratamientos tecnológicos a los que es sometida la leche pueden disminuir el contenido vitamínico, en especial de la vitamina C. Las vitaminas liposolubles A, D, E y K se encuentran interaccionando con los glóbulos de grasa, principalmente en la membrana y su contenido en la leche depende directamente de la dieta a la cual es sometida la vaca. Por su parte en el suero se localizan las vitaminas hidrosolubles tales como la riboflavina, B₆ y B₁₂, biotina, niacina, tiamina y ácido pantoténico; sus concentraciones no dependen tanto de la dieta de la vaca, por lo que su concentración se mantiene prácticamente constante (Gil 2010).



1.1.4 Propiedades físico-químicas.

Dentro de las propiedades físico-químicas de la leche se encuentran la acidez, el pH, punto de congelación, densidad, entre otras; cada una de estas propiedades están relacionadas con la composición química de sus constituyentes de suspensión o emulsión de la leche. Estas propiedades se describen en la tabla 3.

Tabla 3. Propiedades fisicoquímicas de la leche.

Propiedad	Características	Limites
Color	La leche es blanca y opaca debido a los fenómenos de reflexión y dispersión de la luz que provocan las partículas en dispersión coloidal, este color puede estar ligeramente matizado por la mayor o menor riqueza de carotenos de la materia grasa.	Blanco a ligeramente amarillo.
Acidez	El pH de la leche suele tener un valor entre 6.5 y 6.8, un aumento o disminución de este valor puede significar una adulteración. La leche natural obtenida en condiciones higiénicas y que presenta una variación de acidez indica una riqueza proteica. Todos los componentes capaces de combinarse con iones básicos constituyen la acidez de la leche.	Acidez expresada en Ácido láctico (g/L). 1.3-1.7 g/L (NOM-155-SCFI-2011)
Punto de ebullición	El punto de ebullición está en función de la concentración de sólidos en la leche; al aumentar esta concentración el punto de ebullición también tendrá un aumento.	100.5 °C a presión atmosférica normal
Punto de congelación o punto crioscópico	El punto de congelación presenta un descenso directamente proporcional a la concentración de sales minerales en solución. La concentración de lactosa e iones como cloruro, sodio y potasio explican más del 80% de la disminución del punto de congelación. Las variaciones superiores a -0.52°C indican una adulteración.	-0.53 a -0.56 °C (NOM-155-SCFI-2011)
Densidad	La densidad debe ser medida normalmente a 30°C con el fin de que la materia grasa se encuentre líquida, de lo contrario la densidad de la leche aumentaría. La adulteración de la leche por desnatado o por dilución de leche desnatada aumenta su densidad, mientras que la dilución con agua la disminuye	1.029-1.031 g/ml (NOM-155-SCFI-2011)

Elaborado a partir de NOM-155-SCFI-2011 y Belitz, (2009)



1.1.5 Microbiología de la leche.

La leche debido a su composición química y a su elevada actividad de agua, es un magnífico sustrato para el crecimiento de una gran variedad de microorganismos. De entre los que se pueden encontrar en la leche, unos son benéficos, otros son alterantes y algunos perjudiciales para la salud. La recogida, almacenamiento y transporte de la leche son operaciones que deben realizarse con máxima higiene posible para conseguir una leche cruda de gran calidad microbiológica. Los grupos microbianos más importantes pueden dividirse como se muestra en la tabla 4.

Tabla 4. Bacterias que se pueden encontrar en la leche.

Grupo	Características
Bacterias lácticas	<ol style="list-style-type: none"> 1. Atacan la lactosa produciendo ácido láctico. 2. Participan en la degradación de proteína. 3. Producen compuestos que dan sabor y olor.
Bacterias esporuladas	<ol style="list-style-type: none"> 1. Genero Bacilus y Clostridium 2. Son destruidas a temperaturas mayores a 100°C. 3. Pueden producir gas.
Bacterias psicrótrofas	<ol style="list-style-type: none"> 1. Sobreviven a temperaturas bajas <5°C. 2. Producen cambios indeseables
Bacterias de origen fecal	<ol style="list-style-type: none"> 1. Alteran la leche acidificándola. 2. Dan mal aspecto y sabor a la leche. 3. La leche se convierte en vehículo de especies patógenas.

Fuente: Ceballos. (2009) "Manipulación de alimentos en los lácteos y derivados" España, editorial Formación Alcalá.

1.1.6 Calidad de la leche.

La leche es un producto muy sensible a la degradación producida por agentes microbiológicos que afectan su calidad y su aprovechamiento nutricional. Asimismo las enfermedades que afectan al ganado pueden influir directamente en su calidad e inocuidad, lo cual representa un peligro potencial para la salud pública si no se aplican prácticas de higiene durante las etapas de ordeño, transporte, manufactura y procesamiento.



La calidad de leche cruda destinada a la obtención de distintos productos para consumo humano depende de numerosos factores relacionados con la producción de la granja donde se encuentra el ganado lechero. La higiene personal y las normas de manipulación sanitaria, así como la desinfección y limpieza del área de trabajo son factores clave para la obtención de productos lácteos de buena calidad. Estas acciones previenen que se contamine el producto al reducir o eliminar los riesgos, garantizando de esta manera que los productos sean seguros y que no representan una amenaza para las personas que los consumen (Juárez, 2011).

Cuando la leche llega a la planta se somete a una serie de pruebas para confirmar que su calidad permite los tratamientos térmicos; dentro de estas pruebas se encuentran las denominadas “de andén”. Generalmente los análisis que se realizan sobre la leche cruda cuando llega a la industria son: (González y col. 2010).

- Características organolépticas.
- Presencia de antibióticos.
- Adulteraciones con agua.
- Contenido graso.
- Contenido de sólidos lácteos no grasos.
- Extracto seco.
- Recuento microbiano.
- Entre otras.

1.1.7 Componentes peligrosos en la leche.

Las sustancias potencialmente peligrosas pueden pasar a la leche a partir de la alimentación de las vacas, del ambiente y en el caso de algunos antibióticos. Por razones obvias, la atención se ha centrado en las sustancias cuyos efectos son más conocidos, pero se cree que las pequeñas cantidades de contaminantes ambientales que siempre están presentes pueden constituir un peligro a largo plazo.



✓ Antibióticos y otras sustancias antimicrobianas.

Se utilizan ampliamente en los tratamientos contra la mastitis, los cuales se administran por vía intramamaria, los antibióticos más empleados contra la mastitis es la penicilina G, ampicilina, tetraciclina y sulfamidas. Los residuos persisten en la leche hasta 4 días después de la administración de un tratamiento de mastitis. Los efectos a corto plazo conocidos son la posibilidad de fuertes reacciones alérgicas en las personas sensibles, la posible carcinogenicidad si la exposición es prolongada y el desarrollo por los microorganismos resistentes a los antibióticos (Villegas, 2010).

✓ Micotoxinas.

Las micotoxinas son metabolitos producidos por numerosos mohos. En muchos casos los efectos tóxicos se manifiestan como cáncer o alteración lenta de órganos debido a la ingestión durante largos periodos. Las micotoxinas pueden llegar a la leche a través del consumo de alimentos infectados con hongos. Las que aparecen en la leche con mayor frecuencia son las aflatoxinas producidas por algunas cepas de *Aspergillus flavus*, las cuales son tóxicas para el hígado y carcinogénicas.

✓ Compuestos químicos del ambiente.

Se ha comprobado que muchos compuestos químicos se degradan lentamente y se acumulan niveles importantes en el medio ambiente. Existe una preocupación especial respecto a dos tipos de contaminantes, los productos agroquímicos y los bifenoles policlorados. Se debe controlar el uso de productos agroquímicos como herbicidas y pesticidas para evitar la contaminación al entorno lechero, el descuido o el uso irresponsable representa un riesgo y es una de las causas de contaminación de la leche (Varnam, 1998).

✓ Plantas venenosas.



Las sustancias tóxicas pueden llegar a la leche como resultado de la ingestión de plantas venenosas por las vacas. En muchos casos las propias vacas se envenenan y se considera que en el buen manejo de la explotación se ha de incluir la eliminación de plantas perjudiciales del pasto. (Villegas, 2010).

1.1.8 Alteraciones de la leche.

- ✓ Agriado o formación de ácido láctico.

La formación de ácido láctico se manifiesta por un olor agrio y la coagulación de la leche, que produce una cuajada débil que libera un suero claro. Los gérmenes lácticos pueden ser homofermentativos, que proceden casi exclusivamente ácido láctico, o heterofermentativos, que produce además de ácido láctico, cantidades de productos volátiles (compuestos aromáticos) (Villegas, 2012).

- ✓ Producción de gas.

Las especies formadoras de gases más importantes son del género *Clostridium*, bacterias coliformes, aerobacilos que liberan tanto hidrógeno como dióxido de carbono y las levaduras y gérmenes que producen solo dióxido de carbono.

- ✓ Proteólisis.

La hidrólisis de las proteínas lácticas por acción microbiana se acompaña en general de la producción de un sabor amargo producido por algunos polipéptidos. Las alteraciones producidas por los microorganismos proteolíticos son la proteólisis y la producción de ácido; las enzimas bacterianas pueden producir leche cortada (Ceballos, 2009).

1.1.9 Tratamientos y procesos de conservación de la leche.

La leche es un alimento con una alta calidad nutritiva y una fuente valiosa de vitaminas y minerales, sin embargo, se deteriora con gran rapidez, la leche bronca



tiene un tiempo de conservación muy corto. Existen diversos métodos para prolongar la vida útil de la leche y sus derivados lácteos, siendo cada vez mayor el número de tecnologías que se pueden aplicar para mejorar la calidad e inocuidad de la leche (FAO/OMS, 2000).

En la leche las alteraciones de origen microbiano son más frecuentes y, sobre todo, las primeras en aparecer, por lo tanto los métodos de conservación tienden a detener la proliferación microbiana. Uno de los métodos más comunes de conservación de los alimentos es mediante un calentamiento que destruye a los microorganismos y las enzimas dañinas. Existen diferentes métodos que varían en la temperatura y el tiempo de proceso. Antes del calentamiento la leche se somete a una centrifugación para eliminar partículas extrañas como células de las glándulas mamarias, leucocitos y otros posibles contaminantes; además se somete a una estandarización del contenido de grasa mediante centrifugación.

La acción del calor se distingue de la acción del frío por el hecho de que el calor es capaz de destruir microorganismos y no solo dificultar su desarrollo. El tratamiento de la leche por el calor no es solo un método de conservación, es más un método de higienización (Badui, 2013).

1.1.9.1 Pasteurización.

En 1933, Charles Porcher definió exactamente el objetivo de la pasteurización, *“pasteurizar la leche es destruir en ella, por el empleo apropiado del calor, casi toda su flora banal y la totalidad de su flora patógena, procurando alterar lo menos posible la estructura física de la leche, su equilibrio químico, sus diastasas y vitaminas”*.

Actualmente se lleva a cabo en sistemas continuos de intercambiadores de calor de placas o de tubos. Está calculada para la reducción de 12 ciclos logarítmicos de la cuenta microbiana de *C. burnetii*. En la figura 1 se puede observar la relación del tiempo-temperatura con la destrucción de microorganismos patógenos.



La leche entera se debe de llevar a un proceso de estandarización de la materia grasa, mezclando la leche entera con leche descremada, esto con el fin de alcanzar los porcentajes exigidos por la legislación. Para evitar la separación de la capa superficial de nata y la formación de tapones de grasa, la leche se homogeniza.

Se pueden encontrar dos métodos de pasteurización de la leche:

1. Pasteurización baja: es un método lento que generalmente se realiza de manera discontinua, consiste en calentar la leche a 63°C durante un periodo de 30 minutos; con la ventaja de que no modifica las propiedades de la leche.
2. Pasteurización alta: En este caso la leche se calienta hasta alcanzar los 72 °C durante 15 segundos, provocando una coagulación parcial de las globulinas y de las albuminas.

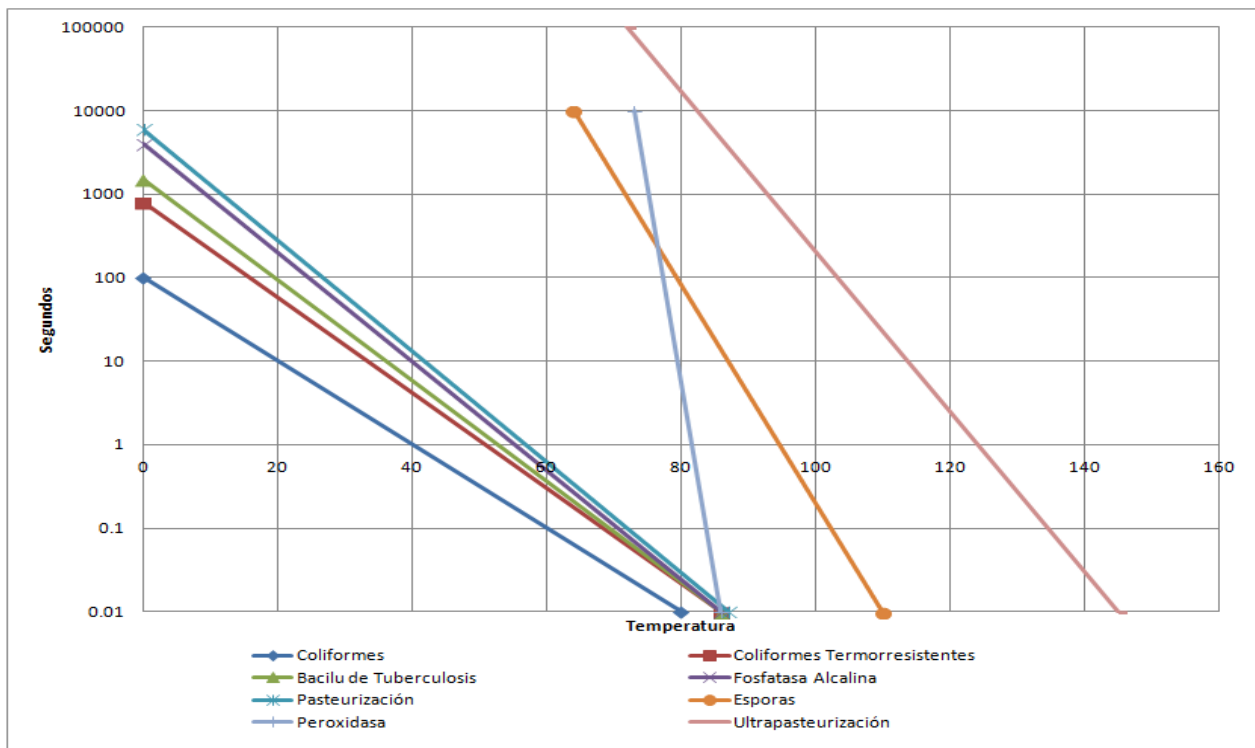


Figura 1. Pasteurización y ultrapasteurización de la leche y su relación con la destrucción de microorganismos.

Fuente: Badui (2013).



Proceso de pasteurización.

La leche que va a ser pasteurizada recibe un tratamiento térmico a través de un intercambiador de calor, que normalmente es de placas y en algunas ocasiones de tubos. Un pasteurizador de placas está constituido por cuatro secciones distintas, cada una formada por un conjunto de placas de acero inoxidable rectangulares encajadas entre sí. La leche que entra al pasteurizador a una temperatura de 4 °C, se precalienta en la sección de recuperación o regeneración, en donde el intercambio de calor se produce entre la leche fría que llega y la leche ya pasteurizada que sale del sistema. La leche precalentada pasa a la sección de pasteurización en donde se calienta a una temperatura de 72 a 75°C con agua calentada con vapor. La leche se mantiene a esa temperatura durante 15 segundos en el tubo de retención y pasa través de una válvula de desviación de flujo antes de volver de nuevo a la sección de recuperación para ceder su calor a la leche que está entrando al intercambiador.

1.1.9.2. Ultrapasteurización.

Los tratamientos de ultrapasteurización están diseñados para obtener un producto comercialmente estéril, que no contenga microorganismos patógenos y que almacenados y transportados en condiciones adecuadas, presenten muy pocas posibilidades de alterarse durante un tiempo aceptable. Este método se basa en la eficiencia bacteriológica de un tratamiento térmico a alta temperatura durante un tiempo muy corto, constituye un proceso decisivo en la preparación de las leches líquidas de larga conservación.

La temperatura de calentamiento es de 138 a 150 °C durante un tiempo de 4 a 15 segundos, seguido de un envasado aséptico. Este procedimiento térmico destruye prácticamente todos los microorganismos y las enzimas más termoresistentes. Este proceso puede extender la vida de anaquel hasta por 6 meses (Coímbra, 2010).

Existen dos métodos de ultrapasteurización:



Calentamiento indirecto: Se lleva a cabo en intercambiadores de calor de tubo o de placas. El flujo de la leche debe ser en régimen turbulento para asegurar una transferencia rápida de calor. Se precalienta la leche hasta alcanzar los 65 a 75 °C en un recuperador, después pasa a un homogeneizador que la impulsa a presión a la sección de esterilización (138°C a 150°C) y, finalmente a la sección de enfriado.

Calentamiento directo: En este caso la leche entra en contacto directo con vapor de agua grado alimenticio. La mezcla íntima de la leche y el vapor origina una elevación muy rápida de la temperatura. Sin embargo, se observa cierta condensación de vapor durante el calentamiento que provoca una dilución de la leche del orden del 10% de su peso.

1.1.10 Producción de leche.

Mundial.

El consumo y el comercio mundial de los alimentos en general y de los productos lácteos en particular está influenciado por un conjunto de factores referidos al contexto macroeconómico esperado y a la evolución de la población mundial y su localización, así como las políticas de apoyo a la producción y comercialización en los distintos países y de las negociaciones internacionales. Todos ellos afectan la demanda, la oferta y el comercio mundial (García, L., y Aguilar, A., 2005).

En la última década el crecimiento del consumo mundial de lácteos dependió en gran medida del aumento de la población mundial. Aproximadamente el 70% de los aumentos en la demanda se atribuyen a este factor. Es importante señalar que el consumo total de leche a crecido a una tasa de 1.6%. En la siguiente grafica se puede observar la producción mundial de leche en el 2013.

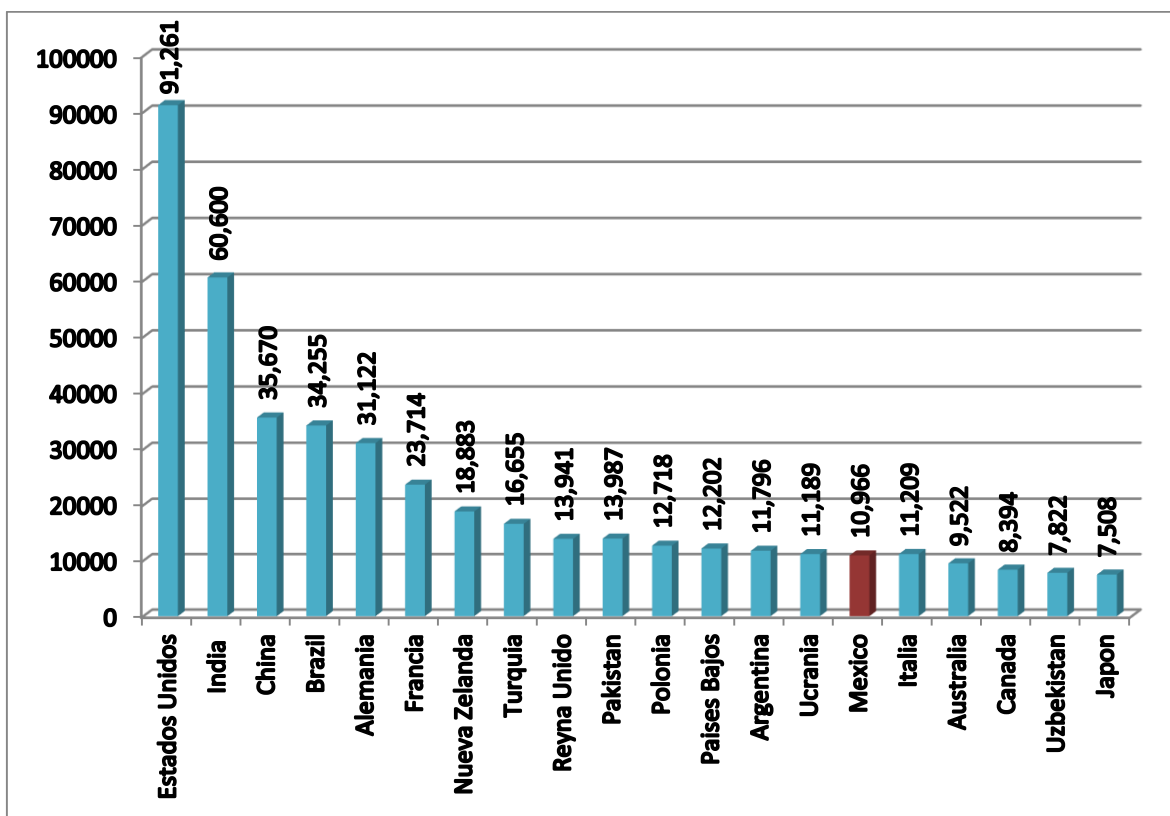


Figura 2. Producción mundial de leche fresca. Fuente Sagarpa (2015).

Nacional.

La producción de leche representa la quinta parte del valor total de la producción nacional pecuaria, siendo la tercera en importancia superando la producción de cerdo y huevo. El crecimiento en la producción primaria, a pesar de ser importante y mostrar índices superiores al crecimiento de la población, no son suficientes para satisfacer a una industria que ha logrado una transformación profunda, obtenida en base a calidad y desarrollo de nuevos productos, lo que ha provocado en la población un mayor consumo de estos productos. En la figura 3 se puede observar la producción anual de leche a nivel nacional, cabe mencionar que el año 2015 es una proyección de los resultados obtenidos hasta junio del mismo año.

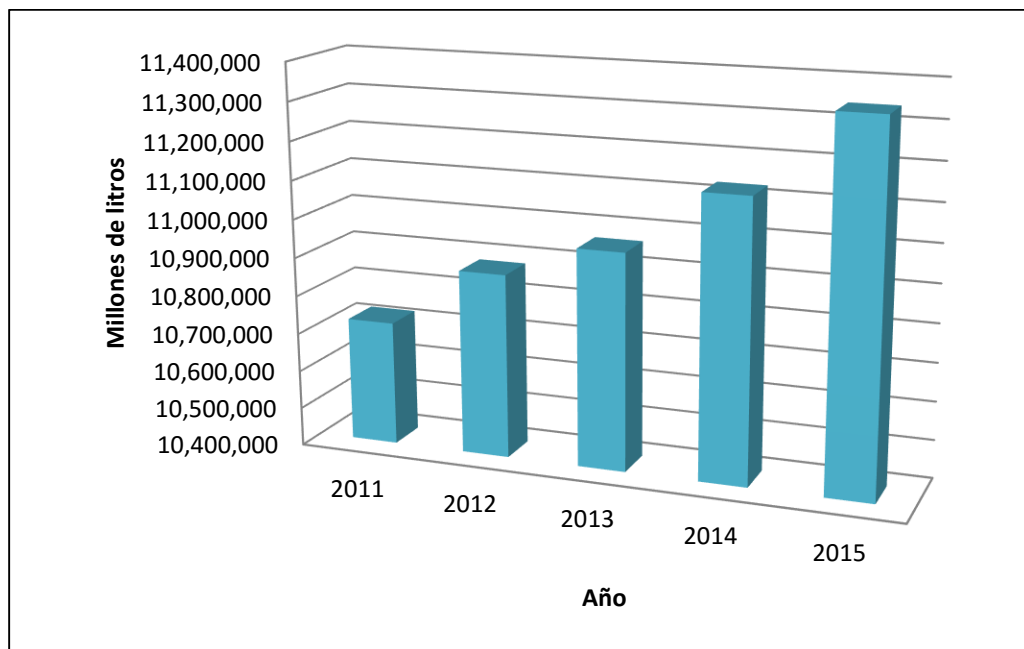


Figura 3. Producción nacional de leche fresca

Fuente. Sagarpa 2015.

1.1.11 Derivados lácteos.

Existe una amplia variedad de derivados lácteos. De manera general podemos encontrar diferentes tipos de leches, queso, mantequillas y algunos postres. En la siguiente tabla se describen algunos de estos.

Tabla 5. Derivados lácteos.

Productos	Características	Ejemplos
Leche de consumo	Es la leche procesada que no constituya un riesgo para el consumidor.	<ul style="list-style-type: none"> • Leche pasteurizada. • Leche esterilizada. • Leche ultrapasteurizada.
Leche concentrada	Es aquella a la que se le ha extraído cierta cantidad de agua.	<ul style="list-style-type: none"> • Leche concentrada azucarada no esterilizada. • Leche concentrada no azucarada.
Leche en polvo	Es la leche que se ha sometido a deshidratación.	<ul style="list-style-type: none"> • Polvo de leche entera. • Polvo de leche descremada.



Cremas.	Es una leche con elevado contenido graso.	<ul style="list-style-type: none"> • Crema para batir. • Crema para café. • Crema fermentada o ácida.
Mantequillas	Es una mezcla pastosa con un contenido graso 80% o más, que se obtiene batiendo la crema.	<ul style="list-style-type: none"> • Mantequilla de crema dulce. • Mantequilla de crema fermentada.
Leches fermentadas.	Son productos acidificados por medio de un proceso de fermentación.	<ul style="list-style-type: none"> • Yogurt • Kéfir • Mazada
Quesos	Es una mezcla de proteínas, grasa y otros componentes; dicha mezcla se separa de la fase acuosa de la leche después de la coagulación de la caseína.	<ul style="list-style-type: none"> • Queso fresco no madurado (queso panela). • Queso pasta blanda (Camembert). • Queso pasta firme (Manchego). • Queso de pasta dura (Parmesano).
Quesos procesados	Son mezclas de diferentes clases de quesos fundidos. En este proceso, se añade agua y aditivos al queso fragmentado para obtener una emulsión estable.	<ul style="list-style-type: none"> • Queso fundido en bloques (tipo Cheddar). • Queso fundido en rebanadas (queso amarillo). • Queso fundido untable (queso Philadelphia).

Fuente: Elaboración propia con información obtenida de Kirchner y col., "Elaboración de productos lácteos", 2010.

1.2. Queso.

La elaboración de queso es seguramente la forma más antigua de procesado de la leche. La producción de leche siempre va unida al intento del hombre por conservar, la tan valiosa y a la vez deteriorable proteína de la leche (Spreer, 1991).

El queso constituye una forma ancestral de conservación de las proteínas y de la materia grasa, así como de una parte del calcio y del fósforo, cuyas cualidades nutritivas y organolépticas son apreciadas por el hombre en casi todas las regiones del mundo (Mahaut, 2003).



1.2.1 Historia.

Aunque no se conoce su origen con exactitud, se cree que el queso se originó en la zona comprendida entre los ríos Tigris y Éufrates, a partir de las leches de cabra y oveja que eran transportadas en los odres de piel. Cabe suponer que los pastores empleaban estómagos de rumiantes, donde está contenido el cuajo, para transportar la leche de sus rebaños. De este modo se formaría la cuajada, de la que se separaría el suero al agitar los odres de piel. El suero era consumido como bebida refrescante, y la cuajada una rica fuente de proteínas. La domesticación de animales se remonta a 10,000 o 12,000 años antes de nuestra era, en el Neolítico cuando el hombre dejó de ser nómada y se hizo sedentario practicando la agricultura y la ganadería, es ahí donde parece seguro que el queso apareció. En el templo de la gran diosa de la vida Ninhursag, de Bagdad, se encontró el célebre friso sumerio “la lechería” que data entre 2500 y 3500 a.C. y muestra en imágenes las principales fases de la producción de queso (Lara, 2012).

1.2.2 Definición.

Los quesos son productos elaborados de la cuajada de leche estandarizada y pasteurizada de vaca o de otras especies animales, con o sin adición de crema, obtenida de la coagulación de la caseína con cuajo, gérmenes lácticos, enzimas apropiadas, ácidos orgánicos comestibles 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: frescos, madurados o procesados. (NOM- 243- SSA1-2010).

1.2.3 Clasificación de los quesos (Lara, 2012 y NOM-243-SSA1-2010).

La clasificación de los quesos puede basarse en aspectos culturales, jurídicos, dietéticos, técnicos o gastronómicos entre otros. A continuación citamos los más comunes.



Clasificación por el tipo de leche utilizada.

Esta clasificación está basada en la especie de animal productora de la que se ha obtenido la leche utilizada para elaborar queso.

- Queso de vaca.
- Queso de oveja.
- Queso de cabra.
- Queso de mezcla.

Clasificación por el tratamiento de la leche.

El tratamiento al que se somete la leche antes de empezar el proceso de elaboración del queso determina en buena medida las propiedades organolépticas del queso resultante.

- Queso de leche cruda.
- Queso de leche pasteurizada.
- Queso de leche termizada.
- Queso de leche microfiltrada.
- Queso de suero.

Clasificación por su textura.

Esta clasificación se realiza teniendo en cuenta el porcentaje de humedad sin considerar su grasa. Se denomina %HSMG (Porcentaje de Humedad Sin Materia Grasa). La designación es la siguiente.

- Queso de pasta extra dura: menos de 51% de humedad.
- Queso de pasta dura: entre 46 y 56 % de humead.
- Queso de pasta semidura: entre 54 y 63% de humedad.
- Queso de pasta semiblanda: entre 61 y 69% de humedad.
- Queso de pasta blanda: más del 67% de humedad.



Clasificación por contenido en materia grasa.

La designación es %G/ES (Porcentaje de Grasa sobre Extracto Seco). Según este criterio se distinguen los siguientes quesos:

- Queso extra graso: más de 60% G/ES.
- Queso graso: entre el 45 y 60% G/ES.
- Queso semigraso: entre 25 y 45% G/ES.
- Queso semidescremado: entre 10 y 25% G/ES.
- Queso descremado: menos del 10% G/ES.

Clasificación por tipo de producción.

Según este criterio podemos distinguir los siguientes tipos de queso:

- Quesos artesanales. Son elaborados siguiendo métodos tradicionales y en queserías pequeñas o familiares.
- Queso de granja. Son elaborados siguiendo métodos tradicionales y en la propia granja, utilizando solo la leche cruda procedente de animales criados en su explotación.
- Quesos de cooperativa. Se realizan con la leche de los propios miembros de la cooperativa, que disponen de una dimensión más amplia y la fabricación esta semiautomatizada.
- Quesos industriales. Son productos obtenidos a partir de leche adquirida en diferentes granjas. La elaboración sigue un proceso totalmente automatizado y es a gran escala.

Clasificación por tiempo de maduración.

Según su tiempo de maduración los quesos reciben los siguientes nombres:

- Queso fresco: sin maduración.



- Queso tierno: menos de 7 días.
- Queso semicurado: de 20 (menos de 1.5 Kg) a 35 días (más de 1.5Kg).
- Queso curado: de 45 (menos de 1.5 Kg) a 105 días (más de 1.5Kg).
- Queso viejo: de 100 (menos de 1.5 Kg) a 180 días (más de 1.5Kg).
- Queso añejo: más de 270 días.

Clasificación por tipo de elaboración.

Existe una categoría muy extendida, de origen francés, que divide los quesos en ocho grandes familias. Las cuales son:

- Quesos frescos. Son quesos sin maduración que se obtienen directamente de la coagulación de la leche, sin pasar por ninguna otra fase más que, en algún caso, un ligero prensado o moldeado.
- Queso de pasta fundida. Se han fabricado a partir de diferentes variedades de quesos. Estos son rallados, mezclados y calentados hasta que se funden, de manera que se les pueda dar la forma deseada. Son de fácil conservación, incluso sin refrigeración.
- Quesos de pasta blanda y corteza enmohecida. Son quesos blandos y cremosos que se caracterizan por una cuajada mixta. Después del salado, se coloca en moldes y la superficie se espolvorea con mohos, especialmente el *Penicillium candidum*.
- Queso de pasta blanda con corteza lavada. Son quesos de coagulación mixta. Durante la maduración, los quesos son volteados con frecuencia (dos a tres veces por semana), cepillados y lavados con una solución de agua y sal, vino, cerveza o aguardiente y ocasionalmente con cultivo bacteriano.
- Quesos azules. Esta característica es producida por la acción del moho *Penicillium roqueforti*, cuyo crecimiento se provoca en el interior de estos quesos durante la maduración.



- Quesos de cabra. No se distinguen por su modo de elaboración, sino por su leche y, por tanto, pueden pertenecer a las diferentes familias de elaboración.
- Quesos de pasta prensada sin cocer. Es un queso elaborado con leche cruda cuya cuajada se fragmenta, se tritura, se sala y se prensa en moldes antes de su curación.

1.2.4. Composición química de algunos tipos de quesos.

En México existe una gran variedad de quesos tanto artesanales como industriales. Los cuales, dependiendo de su composición química, pueden ser más susceptibles que otros a un crecimiento microbiano si no se cumplen las buenas prácticas de manufactura en el momento de elaboración del queso o de un mal procesamiento del mismo.

En la Tabla 6 se muestra la composición química de algunos quesos mexicanos.

Tabla 6. Composición química de distintas variedades de queso.

NOMBRE	TIPO DE PASTA	MADURACION	% H ₂ O	% SOLIDOS TOTALES	% GRASA	% PROTEINA TOTAL	% CENIZAS	% SAL
PANELA	Blanda	No	58.0	42.0	20.0	18.2	3.8	2.2
OAXACA	Hilada	No	50.7	49.3	21.2	24.4	3.7	1.9
CHIHUAHUA	Semidura	Si	37.5	67.5	36.1	23.7	2.7	2.0
TIPO MANCHEGO MEXICANO	Semidura	Si	44.0	56.5	29.6	22.7	3.7	2.3
ASADERO	Hilada	No	49.0	52.0	23.5	24.0	3.5	1.8
COTIJA	Dura	Si	39.4	62.6	25.3	28.8	6.5	4.5
ADOBERA	Blanda	No	49.0	53.0	23.5	23.9	3.6	-

Fuente: Villegas de Gante. "Tecnología quesera", 2012.

1.2.5. Generalidades sobre tecnología quesera.

La fabricación de queso comprende 4 grandes etapas:



1. Estandarización.
2. Coagulación (enzimática y/o láctica).
3. Desuerado.
4. Afinado (maduración).

1.2.5.1 Estandarización

La calidad de la leche de quesería puede definirse como la aptitud para producir un buen queso en condiciones normales de trabajo con un rendimiento satisfactorio (Mahaut, 2003).

Con la finalidad de satisfacer las variaciones fisicoquímicas y biológicas de la leche se estandariza el contenido de sus componentes principales (grasa, proteína y calcio) y también la calidad higiénica de la misma.

- Proteínas de la leche. Se regulan entre 35 y 40 g/L por medio de diferentes técnicas: eliminación del agua por evaporación u osmosis inversa, concentración por nanofiltración, por ultrafiltración, por microfiltración o por enriquecimiento en caseinatos (Mahaut, 2003).
- Grasa de la leche. Se puede estandarizar, mezclando leche entera con leche descremada (Spreer, 1991).
- Equilibrio del calcio. Las industrias utilizan el CaCl_2 a una dosis que varía entre 50 y 200 mg/L de leche, mejorando de esta forma la aptitud para la coagulación de la leche.
- Calidad higiénica. Consiste en la estandarización biológica por tratamiento térmico, bactofugación o microfiltración, seguida de la adición de flora controlada (Mahaut, 2003).

1.2.5.2. Coagulación.

Existen principalmente dos vías o formas de precipitar las caseínas de la leche: por medio de la renina o cuajo, o bien, acidificación cercana al punto isoeléctrico de las caseínas (pH=4.6) (Badui, 2013).



Coagulación ácida.

Consiste en la precipitación de las caseínas en su punto isoeléctrico ($\text{pH} = 4.6$) por acidificación biológica con la ayuda de fermentos lácticos que transforman la lactosa en ácido láctico o por la adición de ácidos orgánicos (Mahaut, 2003).

La acidificación acarrea una disminución de las cargas negativas de las micelas y por lo tanto una disminución de la capa de hidratación y de las repulsiones electrostáticas, así como una solubilización del calcio y del fósforo mineral, lo que supone una pérdida de estructura de las micelas de caseína con una reorganización de las proteínas para formar una red tridimensional o gel (Mahaut, 2003).

Cuando el pH se ajusta a 4.6, ocurre una protonación de los carboxilos libres (de las caseínas), la consecuente eliminación de las cargas negativas y la interacción y precipitación de las proteínas (Badui, 2013). En este punto, el fosfocaceinato de calcio disperso coloidalmente se convierte en un gel. Cuando se forma el gel, las moléculas de caseína se unen en puntos estratégicos para formar espacios capilares que atrapan el líquido (Charley, 2012). El gel que se forma, presenta una elevada friabilidad, junto con una elasticidad y una plasticidad prácticamente nulas, debido a la falta de estructuración de la red. Las uniones son de poca energía de tipo hidrofóbico y poco resistentes ante tratamientos mecánicos (Mahaut, 2003). Si esta leche cuajada o coagulada se rompe por el batido o al cortarse, el líquido sale y el gel se separa en dos fases, la parte acuosa de la leche llamada suero y la parte rica en caseína llamada cuajada (Charley, 2012).

Coagulación enzimática.

Consiste en transformar la leche del estado líquido al estado de gel por la acción de enzimas proteolíticas, casi siempre de origen animal (Mahaut, 2003).

Este fenómeno se distingue en tres fases:

- Primera fase o enzimática: desencadena la coagulación mediante la hidrólisis (rompimiento) de la caseína κ a nivel de la unión entre la



fenilalanina (105) y la metionina (106) (Mahaut, 2003). Lo que origina dos péptidos con propiedades marcadamente diferente:

- El macropeptido o caseinomacropéptido (CMP), que comprenden los residuos 106-109, es una molécula hidrofílica y soluble que se desprende de la micela de caseína y se difunde en el suero.
- La para- κ -caseína, formada por los residuos 1 a 105, es una molécula fuertemente hidrofóbica, que tras la hidrólisis permanece atada a la micela (Villegas, 2012).
- Segunda fase: corresponde a la coagulación propiamente dicha y comienza cuando, a un pH de 6.6, el 80-90% de la caseína κ es hidrolizado. El CMP se separa de la caseína κ y la micela pierde su carácter hidrófilo. Las uniones hidrófobas y electroestáticas se estabilizan entre las micelas modificadas y preparan la formación del gel.
- Tercera fase: Las micelas agregadas experimentan profundas reorganizaciones por la aparición de uniones fosfocálcicas y posiblemente por puentes disulfuro entre las paracaseínas (Mahaut, 2003). Esto se traduce en la estructuración en forma de malla o red tridimensional, que constituye la matriz de la cuajada quesera (Villegas, 2012).

Coagulación mixta.

Resulta de la combinación del cuajo y la acidificación. La multitud de combinaciones que conducen a los distintos estados de equilibrio específicos está en el origen de la gran diversidad de quesos de pasta blanda y de pasta prensada no cocida (Mahaut, 2003).

1.2.5.3 Desuerado.

Esta fase consiste en la eliminación, parcial del lactosuero atrapado ente las mallas de gel formado por la vía ácida y/o enzimática. El desuerado comienza en las tinas o recipientes de coagulación, prosigue en los moldes y posteriormente en el secado.



- Desuerado del gel láctico. Es lento y da lugar a una cuajada heterogénea, teniendo en cuenta que en la cuajada se produce un escaso desuerado debido a una estructura desmineralizada. La red poco estructurada sólo experimenta una débil contracción. Estas cuajadas no pueden soportar las acciones mecánicas fuertes. Sin embargo el coágulo es desuerado según diversos procedimientos (desuerado en bolsas de tela, centrifugación, ultrafiltración).
- Desuerado del gel enzimático y del gel mixto. Presenta una cohesión, una elasticidad y una porosidad fuerte, pero una escasa permeabilidad. Con la finalidad de obtener una cuajada con un elevado contenido en materia seca, es necesario realizar diversas operaciones, como el corte, la agitación, el calentamiento, el prensado, el salado y el secado. (Mahaut, 2003).

1.2.5.4. Afinado.

El afinado o maduración corresponde a una fase de digestión enzimática de los constituyentes de la cuajada. Se trata de un proceso bioquímicamente complejo:

- Por un lado, la matriz procedente de la coagulación y del desuerado de la leche presenta una gran heterogeneidad fisicoquímica.
- Por otro lado, las enzimas que intervienen en el afinado tienen distintos orígenes. Pueden estar presentes desde el principio en la leche (plasmina, lipasa, etc.), ser añadidas a la leche (enzimas coagulantes, microorganismos), o producidas durante el afinado por síntesis microbiana (bacterias, levaduras y mohos).

Constituye un ecosistema complejo y un biorreactor imperfecto. El afinado está dominado por tres grandes fenómenos bioquímicos:

- La fermentación de la lactosa.
- La hidrólisis de la materia grasa.
- Y la degradación de proteínas.



Las transformaciones confieren a la pasta del queso nuevas características. Modifican su aspecto, su composición, su consistencia. Al mismo tiempo, se desarrolla el sabor, el aroma y la textura (Mahaut, 2003).

1.2.6. Producción de queso en México.

En México, el queso se ha elaborado desde tiempos de la colonia, cuando los conquistadores españoles trajeron los primeros rebaños de cabra y ovejas, y luego ejemplares de ganado bovino. Actualmente, en México se elabora más de una treintena de tipos diferentes de queso, la mayor parte artesanal y de difusión regional. Los quesos de mayor preferencia entre los mexicanos, en orden decreciente en el lapso 2000-2008 fueron: el panela, el doble crema, el tipo Manchego y el Oaxaca (Villegas, 2012).

Al concluir el mes de mayo del 2015, la elaboración de quesos alcanzó un volumen de 144 mil 678 toneladas, con un valor en el mercado de 6 mil 464 MDP. Siendo los más producidos en este periodo el queso panela con 17%, fresco con 16% y Chihuahua con el 16% (SAGARPA, SIAP, 2015). En la figura 4 se muestra la participación de los diferentes quesos producidos en México durante el periodo de Enero a Mayo del 2015.

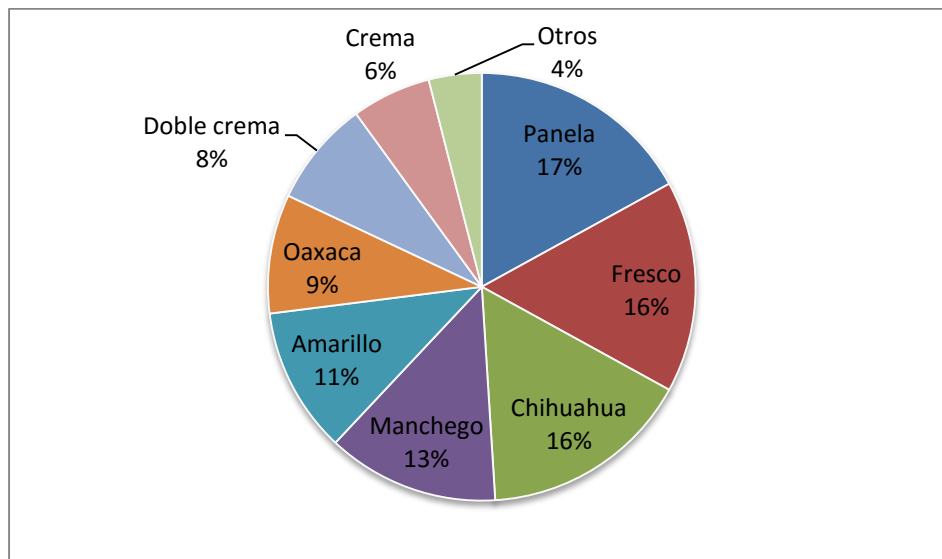


Figura 4. Producción de queso en México (Enero-Mayo 2015). Fuente: SIAP, SAGARPA junio 2015.



En México, de forma convencional, se puede clasificar a la industria quesera en tres extractos, según el volumen de leche que procesan diariamente:

- Pequeña. Transforma volúmenes menores de 2000 Lt./día.
- Mediana. Procesa entre 2000 y 20 000 Lt./día.
- Gran industria. Trata volúmenes mayores a 20 000 Lt./día.

Es necesario poner énfasis en el contraste entre la industria quesera pequeña y artesanal, y la gran industria, algunas veces transnacional. La industria mediana posee rasgos intermedios.

De tal manera que mientras existen escasas empresas (algunas de ellas de capital extranjero) en donde se controla con esmero la calidad de la leche y se estandariza su contenido empleando instrumental de laboratorio adecuado, a la par que se controla rigurosamente el proceso de elaboración, existen innumerables queserías familiares que tratan leche cruda en las que se desconoce aún el término calidad.

Las primeras elaboran un producto bien presentado, más o menos homogéneo todo el año, estandarizado en composición y por mucho dentro de las normas legales sanitarias vigentes, las segundas se enfrentan a problemas de conservación, presentación, heterogeneidad, sanidad constante y comercialización del producto.

En la tabla 7 se trata de resumir o simplificar algunos rasgos contrastantes entre la gran industria quesera y la pequeña.



Tabla 7. Contraste de la industria quesera pequeña y artesanal y la gran industria.

Gran industria	Pequeña industria
Plantas transformadoras de grandes volúmenes de leche, mayores a 20, 000 L/día. (v.g. Caperucita, Industrias Club, La Esmeralda, La Vaquita, Dos Laguna, LACMENO, etc.). Son escasas en el país.	Plantas transformadoras de bajos volúmenes de leche (menores de 2000 L/día)
Presentan mayor nivel tecnológico <ul style="list-style-type: none"> - Mayor presencia de equipo. - Más moderno. - Mayor conocimiento técnico. - Mayor organización empresarial. 	Disponen de menor nivel tecnológico: <ul style="list-style-type: none"> - Menor equipo. - Mayor obsolescencia. - Predomina el conocimiento empírico. - Deficiente organización empresarial.
Produce derivados con leche pasteurizada, cultivos lácticos, emplea aditivos y ejerce mayor control de calidad en materia prima, proceso y producto.	Elaboran productos con leche cruda o bronca, no emplea aditivos, el control de calidad en materia prima, proceso y producto es muy limitado o inexistente.
Presenta menores problemas de abastecimiento de leche debido a: <ul style="list-style-type: none"> - Mejor articulación con productores. - Presencia de ganado especializado. - Mayor disponibilidad de forraje. - Mejores vías de colecta. 	Se enfrenta a mayores problemas de abastecimiento debido a: <ul style="list-style-type: none"> - Escasa articulación con productores. - Presencia de ganado criollo y de doble propósito. - Disponibilidad de forraje, dependiendo de la estación.
Es más sensible al cambio tecnológico, administrativo, etc.	Es más conservadora, poco sensible a innovaciones.
Elaboran quesos genuinos, pero también quesos extendidos.	Fabrican predominantemente quesos genuinos.
Sus productos tienen marca.	A menudo sus quesos no poseen marca.
Difusión comercial de amplio alcance en el mercado nacional.	Alcance comercial regional
Elabora quesos más homogéneos y de mayor vida de anaquel.	Productos más heterogéneos, y de menor vida de anaquel.
Cumple o tiende a cumplir la normatividad.	Desconoce, evade o incumple la normatividad.
Gran importancia económica, por los volúmenes que procesa.	Importancia no solo económico, sino social.

Fuente: Villegas Tecnología quesera, 2012.

1.2.7 Queso panela.

Es uno de los quesos más consumidos en México, se produce en todos los estados del país para autoconsumo y comercialización. Es un queso con grandes características organolépticas:



- Olfato. Láctico, con mucho aroma a suero de leche.
- Gusto. Sutil, con sabor a leche fresca.
- Textura. Fresca, masticable, húmeda y granular (Yescas, 2013).

1.2.7.1 Origen.

No se sabe con certeza cuál es el origen de este producto, algunos lo ubican en la región de Los Balcanes, en donde se elaboran ciertos quesos rústicos moldeados en cestos, lo mismo sucede en la Península Itálica y aun en la India. Incluso al mismo nombre, “panela”, es difícil seguirle la huella (Villegas, 2012).

Su nombre original era queso de la panela o queso del canasto. Estos nombres hacían referencia a los moldes que se utilizaban para el drenado de la cuajada al elaborar estos quesos. La panela, así como el canasto, estaban elaborados con ramas o palmas, las cuales se llenaban de cuajada, y al drenar el exceso de suero, la pasta adquiría la forma del molde. El nombre “de la panela” existe en algunos recetarios coloniales donde se menciona este queso y su sencilla elaboración (Yescas, 2013).

1.2.7.2 Definición.

Es un queso fresco, de pasta blanda, autoprensado, elaborado con leche pasteurizada de vaca (ocasionalmente de vaca/cabra) entera o parcialmente descremada. De forma troncocónica invertida, en piezas que van desde 0.5 hasta 2 Kg. Muestra un color blanco brillante, una pasta fácilmente tajable y un sabor lácteo ligeramente agrisalado, pero agradable (Villegas, 2012).

1.2.7.3. Composición.

Su composición incluye un porcentaje elevado de agua (hasta 58%) y por ello es altamente perecedero, de ahí que tiene que conservarse bajo refrigeración desde el momento de su elaboración (Villegas, 2012). A causa de tal humedad, no se conserva durante mucho tiempo. Además, por la falta de un proceso de maduración es preciso pasteurizar la materia prima para evitar que los gérmenes patógenos, puedan desarrollarse en el producto (Kirchner y col., 2010). A semejanza de otros quesos frescos, este es de alto rendimiento, entre 13 y 15 %



Kg/100L de leche, debido a que el trabajo de grano y el prensado no son pronunciados (Villegas, 2012).

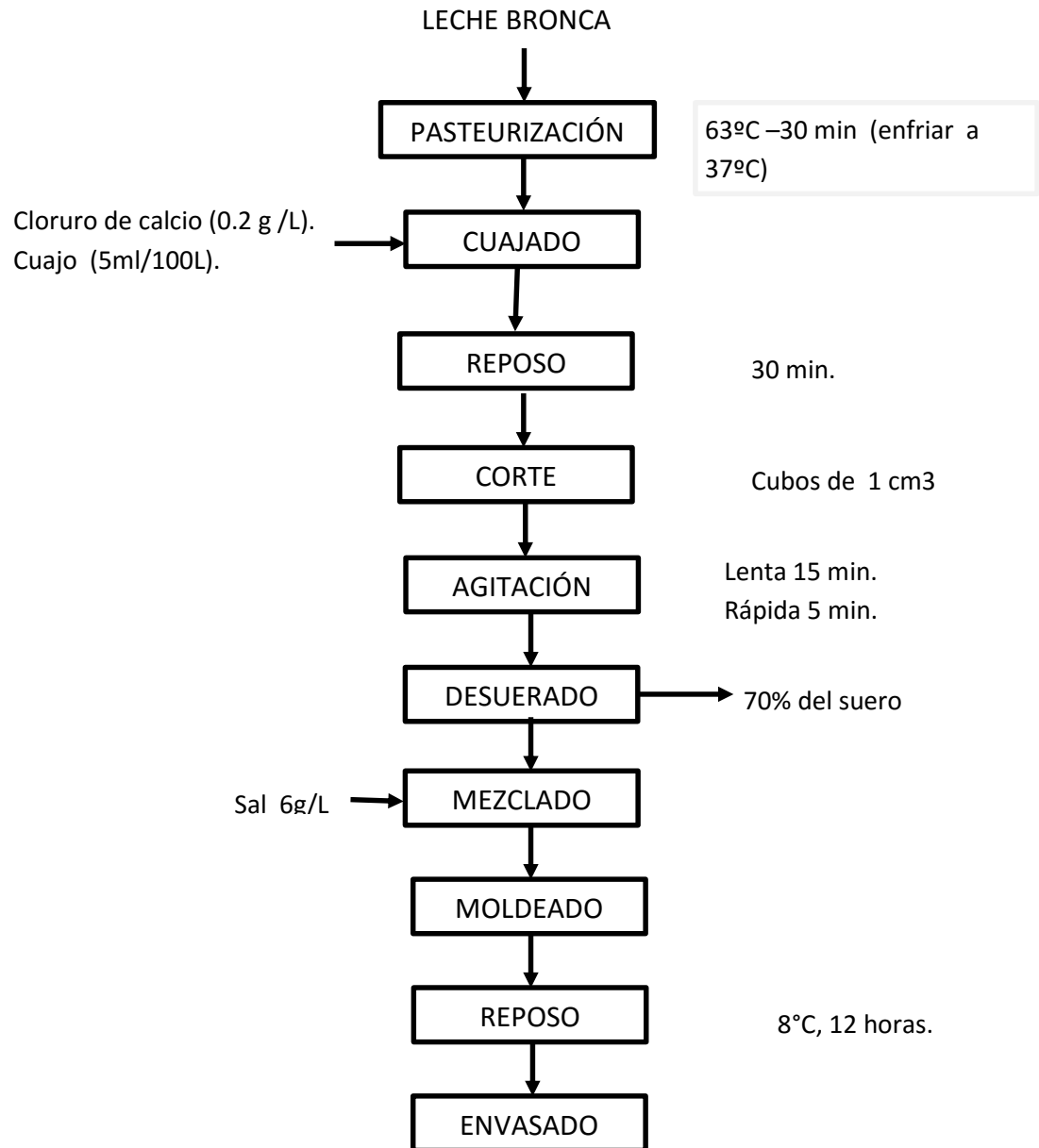


Figura 5. Diagrama de proceso de queso panela.

1.2.7.4. Descripción del proceso de queso panela.

Recepción de la leche: Implica la medición volumétrica, el muestreo y la admisión de la leche cruda. La leche que se lleva a la planta quesera debe pasar



por un tamiz para eliminar partículas gruesas. Almacenándose en refrigeración 4°C antes de su tratamiento.

Pasteurización: La pasteurización se lleva a cabo a 65°C durante 30 minutos, con el objetivo de eliminar a todos los microorganismos patógenos y abatir considerablemente la carga de microorganismos no patógenos (en más del 90% de la flora original). Asimismo, destruir una elevada proporción de enzimas nativas, que pueden tener injerencia en la conservación del queso.

Adición de cloruro de calcio: El cloruro de calcio se añade a la leche pasteurizada con el objeto de mejorar su capacidad de coagulación. La cantidad agregada es de 0.2g de CaCl_2 por litro de leche.

Tras la pasteurización el calcio iónico de la fase plasmática (suero) se inmoviliza, al transformarse las sales fosfocálcicas solubles (y por tanto, altamente ionizables) en compuestos fosfocálcicos más insolubles. Lo que ocasiona alteraciones en la capacidad de cuajado, formando un gel muy delicado, flojo, que no soporta la manipulación. Por eso, a toda la leche pasteurizada para quesería se le agrega CaCl_2 (Villegas, 2012).

Coagulación de la leche: La coagulación es el paso fundamental en la elaboración de queso. En esta etapa se añade el cuajo a la leche cuya actividad enzimática hace que coagule esta, en un tiempo de 30 a 45 minutos, a una temperatura de 38 a 40 °C. La cantidad agregada de cuajo dependerá del tipo de cuajo utilizado:

- Una fuerza o título. (1/10 000) 1 ml de cuajo puede coagular 10 000 ml de leche a 35°C en 40 minutos.
- Doble fuerza. (1/20 000) 1 ml de cuajo puede coagular 20 000 ml de leche a 35°C en 40 minutos.

La aplicación de cuajo se lleva acabo utilizando el de doble fuerza por lo que se añade 5ml de cuajo por cada 100 L de leche.



Corte de la cuajada: El coágulo o gel, es cortado en la propia tina o recipiente con utensilios de corte (liras verticales y horizontales) en pequeños granos con un tamaño uniforme de 1 cm³.

Primera agitación: Se procede a una primera agitación lenta, se realiza así para evitar romper en exceso los coágulos formados ya que a este tiempo aun no tienen la fuerza suficiente para resistir impactos mecánicos severos.

Reposo: Se deja reposar 5 minutos para fortalecer el coágulo.

Segunda agitación: La segunda agitación se realiza con mayor velocidad, para ayudar a la salida del suero, gracias a estos tratamientos se produce gran parte de la separación del suero, que es un líquido rico en lactosa y sales minerales.

Desuerado parcial: Se desuera parcialmente el 70% del suero presente en la tina o recipiente, para simplemente dejar la cuajada, se recomienda que el suero restante se utilice como vehículo para el salado.

Saldo: El salado se lleva acabo con el cuajado en la tina, realizando una agitación para permitir una mezcla homogénea y que todos los granos contengan la misma cantidad de sal, se recomienda utilizar de 6 a 8 gramos de sal por litro de leche.

Moldeado: Después de la eliminación de gran parte del suero, los granos de leche cuajada y salada se colocan en moldes de plástico.

Desuerado: Se deja desuerear en los moldes permitiendo drenar el suero, se puede utilizar el autoprensado colocando uno sobre otro.

Volteos: Se voltea el queso después de los 30 minutos de autoprensado y dos volteados más separados por 15 minutos cada uno.

Refrigeración: Se pone a refrigeración a 4°C durante 24 horas con todo y molde.

Desmoldado: Se desmolda el queso panela, adquiriendo la forma del molde.



Empacado: El queso debe empacarse, para ello, hay diferentes tipos de empaque, los cuales pueden ser bolsas de plástico de polietileno o bolsas para envasar al vacío. Este paso se realiza antes de su salida al punto de venta.

1.3 Conservadores.

El uso generalizado que la industria alimentaria, actualmente hace del tipo de sustancias, obliga a establecer mecanismos de control que regulen su correcta utilización y que verifiquen sus resultados. Para que una sustancia sea admitida como aditivo alimentario, debe de estar bien caracterizada químicamente y debe superar los controles toxicológicos establecidos por parte de los organismos sanitarios correspondientes. Ha de demostrarse su necesidad, de tal modo que su uso suponga ventajas tecnológicas y beneficios para el consumidor (Ibáñez y Torre. 2003); los cuales pueden ser:

- ❖ Conservar la calidad nutritiva de un alimento.
- ❖ Proporcionar alimentos con destino a un grupo de consumidores con necesidades dietéticas especiales.
- ❖ Aumentar la estabilidad de un alimento o mejorar sus características organolépticas.
- ❖ Favorecer los procesos de fabricación, transformación o almacenamiento de un alimento, siempre que no se enmascare materias primas defectuosas o prácticas de fabricación inadecuadas.

El motivo principal de deterioro de los alimentos es el ataque de microorganismos (bacterias, hongos y levaduras), lo cual produce grandes pérdidas económicas tanto para los fabricantes (deterioro de materias primas y productos elaborados antes de su comercialización) como para distribuidores y consumidores. Se calcula que el 20% de los alimentos producidos en el mundo se pierden a causa de los microorganismos (Cubero y Monferrer. 2002).

El uso de conservadores es una práctica muy antigua, sin embargo, los alimentos conservados con ellos no son imperecederos, tan solo se mantienen inalterados



por un periodo de tiempo, debido a que a las concentraciones utilizadas el crecimiento microbiano se ve retardado pero no inhibido totalmente.

Los conservadores se definen como un grupo de sustancias que se añaden a los alimentos para mantenerlos comestibles durante un periodo prolongado. Su mecanismo de acción consiste por lo general en prevenir la proliferación de bacterias, hongos y levaduras. Los conservadores suelen presentar una toxicidad muy baja y son de gran utilidad por su capacidad de reducir o prevenir los riesgos de contaminación por microorganismos. La efectividad de los conservadores depende de diversos factores, entre ellos están:

- ❖ La especificidad de acción: Si son efectivos contra un determinado grupo de microorganismos o tienen un espectro muy amplio de acción.
- ❖ La composición del alimento (pH, aw, fuerza iónica, etc.).
- ❖ Manipulación del producto terminado (Lucas. 2012).

Entre los conservadores químicos más empleados en la industria alimentaria se encuentra el benzoato de sodio, el ácido sorbico, sulfitos, nitritos, nitratos, peróxido de hidrogeno y cloruro de sodio.

A pesar que la mayoría de conservadores usados en alimentos son de origen químico, existen diversos productos de origen natural provenientes de plantas y microorganismos que pueden ser usados como bioconservadores en alimentos. Existen diversos productos de origen botánico los cuales poseen una actividad antimicrobiana como el ajo, orégano, mostaza, canela, albahaca, tomillo, pimienta, mejorana, chile, achiote, cebolla, cilantro, entre otras (Draughon, 2004). Además de los conservadores de origen natural provenientes de plantas existen antimicrobianos producidos por bacterias que son de origen proteico llamados bacteriocinas.

1.3.1 Bacteriocinas.

Son proteínas sintetizadas a nivel ribosómico por las bacterias, con actividad antimicrobiana sobre especies genéricamente muy relacionadas, y cuya actividad



no es letal a la célula productora (Escudero, 2002). Su síntesis se produce cuando las bacterias se encuentran en situaciones de estrés, como es habitual en las rutas metabólicas de los microorganismos. La síntesis de bacteriocinas también depende del ecosistema, pH, potencial oxido-reducción, cantidad de nutrientes, fase de crecimiento, temperatura y oxígeno disponible. Aunque las bacteriocinas se pueden sintetizar por levaduras y bacterias Gram positivas y negativas, son las producidas por bacterias ácido lácticas las que han recibido mayor atención porque, además de conservar los alimentos, provienen de un grupo bacteriano saludable (www.tecnoyalimentos.wordpress.com, 2008)

Pueden tener un efecto antimicrobiano por sí solas, aunque también existen los llamados “sistemas de dos péptidos”, en los cuales requiere de dos proteínas que son inactivas de manera aislada, pero cuando se combinan el efecto antimicrobiano se potencializa.

Las bacteriocinas son proteínas de secreción, las cuales pueden ser transportadas al exterior de la célula por proteínas del sistema ABC que usan como fuente de energía ATP. De manera general las bacteriocinas se clasifican en 4 clases. En la clase I o lantibióticos se encuentran aquellas proteínas que sufren cambios después de la síntesis de la proteína. En las clases II y III o no lantibióticos se encuentran englobadas las que no sufren modificaciones después de la síntesis proteica. En la clase IV se encuentran aquellas que están asociadas a lípidos o carbohidratos (Gerneau, 2002).

Aun cuando en la clasificación de las bacteriocinas se ha incluido la palabra antibiótico, de manera estricta difiere de ello en el sentido que no se usan en el tratamiento de alguna enfermedad. Por otro lado, desde el punto de vista ecológico las bacteriocinas les sirven a los microorganismos productores para que puedan establecerse en una comunidad, o bien para que otras bacterias no puedan invadir su nicho ecológico. (Barboza, y Vázquez, 2004).

1.3.1.1 Nisina.

La nisina es un péptido bioactivo sintetizado por cepas de *Lactococcus lactis ssp. lactis*, presente en la leche fresca de forma natural, durante la fase exponencial de



crecimiento (Cotter, 2005). Tiene una masa molar de 3.4 kD y está compuesta de 34 residuos de aminoácidos. Es soluble y estable en solución ácida, es mucho más estable frente a temperaturas de esterilización (121°C) cuando el pH del medio es bajo.

Solo es eficaz contra algunos tipos de bacterias y es comercialmente usado como un agente natural de bioconservación segura por la FDA (Food and Drugs Administration). Recibió la denominación GRAS (Generalmente Reconocido como Seguro) en 1988. La nisina al ser ingerida es destruida rápidamente por la digestión y sus aminoácidos constituyentes se metabolizan junto con los procedentes de otras proteínas, además no brindan sabor o color al alimento.

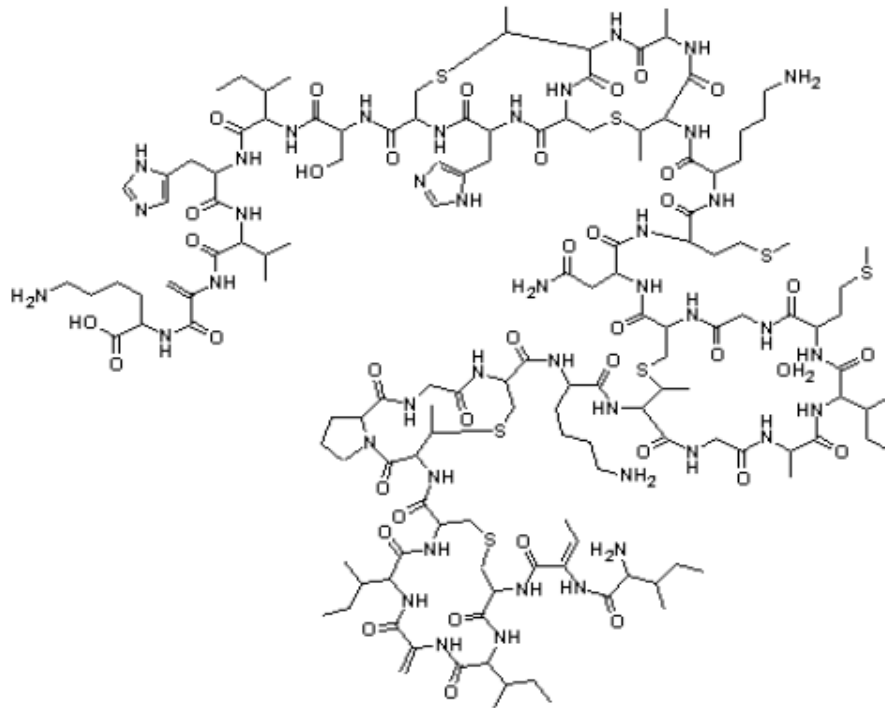


Figura 6. Estructura química de la nisina.

Fuente: Parada. "Bacteriocins from lactic acid bacteria: Purification, preparation and use by preservatives"



1.3.1.2 Natamicina.

Es un antibiótico natural producido por una fermentación realizada con *Streptomyces natalensis*.

Pertenece a un grupo de antibióticos con doble enlace con propiedades fungicidas que se fijan al ergosterol en la membrana citoplasmática de los hongos, alterando su estructura y su función. Es efectiva contra una extensa lista de cepas de hongos y levaduras, mejorando la apariencia estética y la vida de anaquel de los alimentos (Codex Alimentarius, 2000)

Reduce el riesgo de producción de micotoxinas y no afecta en lo más mínimo el sabor, olor, color o apariencia de los alimentos. No interfiere con la actividad deseada de cultivos en la producción de alimentos fermentados y los organismos indeseados no generan resistencia frente al compuesto y es mucho más efectivo que los conservadores químicos (Cubero y Monferrer, 2002)

1.3.1.3 Lactato de calcio.

El lactato es la forma ionizada del ácido láctico. El lactato de calcio ($C_6H_{10}CaO_6$) es una sal de calcio que suele utilizarse como conservante natural en la industria alimentaria. Se presenta como un polvo granulado de color blanco y olor suave.

De forma comercial se produce fermentando almidón y melazas utilizando bacterias. De forma natural, el cuerpo humano produce lactato de calcio por la actividad de las bacterias presentes en el intestino grueso.

Su ingesta no representa ningún peligro, por lo que se puede consumir ilimitadamente, excepto en el caso de niños y bebés que aún no han desarrollado las enzimas encargadas de metabolizar el lactato de calcio.

Características del lactato de calcio.

El lactato de calcio presenta las siguientes características:

- Polvo granulado blanco.



- Alta solubilidad en agua y etanol.
- Tiene capacidad antioxidante.
- Es absorbido fácilmente por los intestinos.
- Es una pobre fuente de calcio.
- Se puede utilizar como purgante.
- Puede tener una estructura pentahidratada.
- Es capaz de coexistir con sus estereoisómeros.

Aplicaciones del lactato de calcio en la alimentación.

El lactato de calcio suele utilizarse en la industria alimentaria como conservante natural principalmente contra hongos y levaduras, aunque también tiene aplicaciones en la fermentación de algunas frutas. También se utiliza como estabilizante de la estructura de frutas y verduras durante su procesamiento industrial previniendo la pérdida de agua (Valverde, 2007).

Debido a que el lactato de calcio es una sal orgánica con buenas propiedades de solubilidad se utiliza mucho en bebidas claras y otras bebidas como jugos, leche de soya, néctares, leche fortificada, entre otras. En este campo, si se mezcla el lactato de calcio con otras sales de calcio puede funcionar como estabilizador de las bebidas.

Sirve para mejorar la textura de algunas frutas, remineraliza los dientes al ser incluido en chicles y ayuda a prevenir su caída cuando se agrega en alimentos que no contienen azúcar.

El departamento de Administración de Drogas y Alimentos (FDA), por sus siglas en inglés, ha aprobado el uso de lactato de calcio, en productos cárnicos y productos alimenticios en general, con una concentración de 0.6% en la formulación del producto. Excepto formulas y comida para infantes (9 CFR 424,21).



El Codex alimentarius, en su norma para los productos a base de caseína alimentaria, establece la utilización de lactato de calcio en dosis, referidas como niveles máximos permitidos, como (limitada por las BPF).

Sus características de preservación del lactato de calcio, constan de varios mecanismos de acción, incluyendo la inhibición de la regeneración, la acumulación intracelular, interferencia con el traslado de protones por la membrana celular, y bajar la actividad de agua de los productos (Valverde, 2007).

Alimentos en los que se puede usar el lactato de calcio.

El lactato de calcio puede ser usado, entre otros, en los siguientes alimentos:

- Leche en polvo.
- Queso.
- Bebidas lácteas como el yogur.
- Suero líquido.
- Helados.
- Polvos para hornear.
- Productos de panadería.
- Mantequilla de maní o crema de cacahuete.
- Postres elaborados a base de huevo.
- Vinos.
- Licores destilados con más de 15% de alcohol.
- Cerveza y bebidas de malta.
- Algunos complementos alimenticios (Quiminet, 2011).

1.4 Características de microorganismos patógenos

1.4.1 *Escherichia coli*.

Es una bacteria Gram negativa y anaerobia facultativo, la temperatura ideal de crecimiento es de 37°C pero puede crecer a temperaturas superiores o inferiores a esta. Se encuentra comúnmente en el intestino del ser humano y animales de



sangre caliente. Debido a su alta presencia en el intestino se utiliza como el indicador principal para detectar y medir la contaminación fecal en la evaluación de inocuidad del agua y de los alimentos. (FAO, 2012)

Las cepas de *Escherichia coli* son una parte común de la microflora anaeróbica facultativa normal del tracto intestinal de las personas y animales. La mayoría de los brotes humanos por *Escherichia coli* han sido relacionados con el consumo de carne mal cocida, con menor frecuencia con leche pasteurizada, ya que algunas cepas de *Escherichia coli* son resistente al calor, pero la pasteurización de la leche es un tratamiento eficaz que destruye más de 10^4 células por ml (Doyle, 2001).

1.4.2 *Staphylococcus aureus*.

Se caracteriza por ser un anaerobio facultativo Gram- positivo, fermenta en azúcar con producción de ácido sin generar gas. Es considerado omnipresente, encontrándose en las mucosas y en la piel de la mayoría de animales de sangre caliente. En el ser humano el principal reservorio es la cavidad nasal, localizándose también en brazos, manos, cara, garganta e intestino, pasando de estas localizaciones al aire, polvo ropa, utensilios y equipos, llegando así a contaminar los alimentos. En concentraciones superiores a 10^4 UFC/ml puede producir toxinas que generan brotes de intoxicación alimentaria (Rivero y González, 2001)

La intoxicación alimentaria estafilocócica, se clasifica como una de las causas más frecuentes de gastroenteritis en todo el mundo. Resulta de la ingestión de una o más enterotoxinas estafilocócicas, preformadas en el alimento que contiene *Staphylococcus aureus* (Doyle, 2001).

1.4.3 *Candida albicas*.

Es un hongo dimorfo, es decir, se desarrolla de distinta forma en función de la temperatura de crecimiento, como levadura, normalmente es a 37°C en el huésped y como hongo de aspecto filamentoso, a 25°C en la naturaleza. En forma



de levadura presenta un aspecto de células redondas u ovaladas de 3-8 micras de tamaño, agrupadas en pequeños grupos; mientras que en forma de hongo filamentoso, las células se alargan y se diversifican tomando la apariencia de filamentos.

El diformismo le permite evadir los mecanismos de defensa relacionados con la inmunidad celular del huésped. En forma de levadura convive en simbiosis con el huésped, mientras que en forma de hongo filamentoso se comporta como un parásito patógeno produciendo síntomas (Stainer, 1996).

1.5 Vida de anaquel.

La vida útil de un alimento es el tiempo finito después de la producción en condiciones controladas de almacenamiento, en las que un alimento tiene una pérdida de sus propiedades sensoriales, nutritivas y fisicoquímicas, así como un cambio en su perfil microbiológico. Entre los factores que pueden influenciar la vida útil de un alimento se encuentran: la calidad de la materia prima, la formulación del producto, el proceso aplicado, las condiciones sanitarias durante el proceso, en envasado, almacenamiento, distribución del producto y las prácticas de los consumidores (Carrillo y Mondragon, 2011). La vida útil se determina al someter a estrés un alimento siempre y cuando las condiciones de almacenamiento sean controladas. Se pueden realizar las predicciones de la vida útil mediante modelos matemáticos, pruebas en tiempo real (para alimentos frescos de corta vida útil), y pruebas aceleradas (para alimentos con mucha estabilidad) (Charm, 2007).

En el queso el tiempo de vida útil es afectado por factores ambientales y fisicoquímicos, por el método de fabricación y por el uso de compuestos activos empleados para prolongar su vida útil, pero principalmente por la calidad de la materia prima de la que procede. Otro factor que determina la vida útil de los quesos es la temperatura de almacenamiento durante su comercialización.



Capítulo 2. OBJETIVOS.

2.1 Objetivo general.

Evaluar el efecto antimicrobiano de nisina, natamicina y lactato de calcio para prolongar la vida de anaquel de queso panela.

2.1.1 Objetivos Particulares.

Objetivo particular 1.

Analizar leche fresca de vaca mediante un análisis químico proximal, pruebas de andén y pruebas fisicoquímicas para establecer su calidad.

Objetivo particular 2.

Elaborar queso panela aplicando las buenas prácticas de manufactura para su posterior análisis.

Objetivo particular 3.

Realizar un análisis químico proximal (humedad, carbohidratos, grasa y cenizas) y un análisis microbiológico mediante técnicas de laboratorio referenciadas en la NOM-243-SSA1-2010 al queso panela para conocer su calidad.

Objetivo particular 4.

Realizar tres retos microbianos en queso panela inoculando con *E. coli*, utilizando tres conservadores (nisina, natamicina y lactato de calcio), un segundo reto microbiano inoculando con *Staphylococcus aureus* y empleando nisina como conservador, un tercer reto microbiano inoculando con *Cándida albicas* y como conservador natamicina mediante conteos microbianos según la norma NOM-243-SSA1-2010 para la evaluación de la efectividad de los conservadores en la extensión de la vida útil del queso.

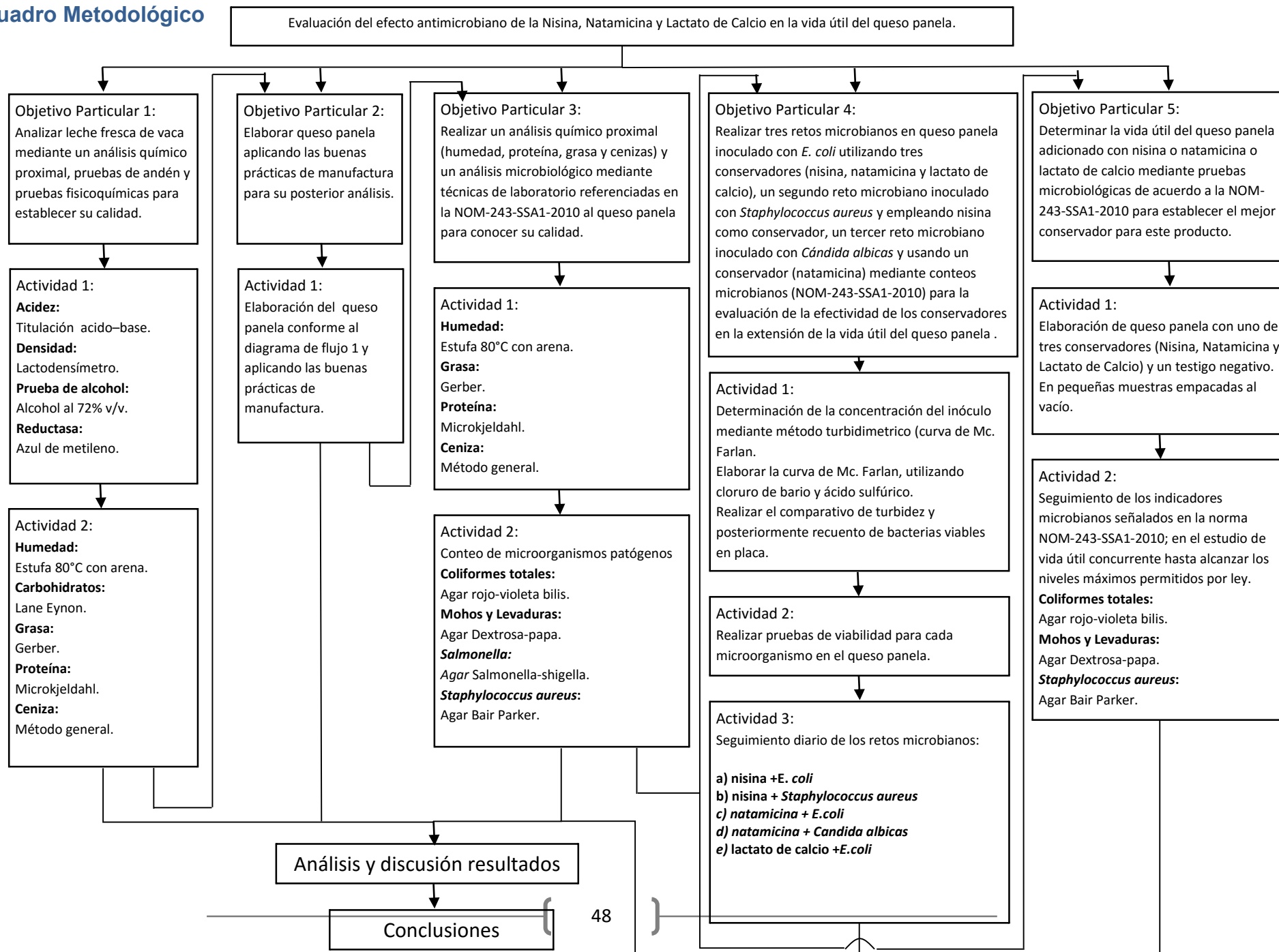


Objetivo particular 5.

Determinar la vida útil de queso panela adicionado con nisina o natamicina o lactato de calcio mediante pruebas microbiológicas de acuerdo a la NOM-243-SSA1-2010 para establecer el mejor conservador para este producto.



3.1 Cuadro Metodológico





El objetivo general y los objetivos particulares están detallados en el cuadro metodológico.

3.2 Desarrollo experimental.

Material biológico: leche cruda obtenida del rancho ubicado en Santa Rosa de Lima Cuautitlán Izcalli, la cual se refrigeró inmediatamente después del ordeño y se trasladó en envases de plástico sellados y refrigerados. Una vez en el laboratorio se realizaron los análisis fisicoquímicos, químicos y pruebas de andén como se muestra en las tablas 8 y 9, para comprobar la calidad de la leche.

3.2.1 O.P.1. Análisis químico y pruebas de andén a la leche.

En base a los objetivos planteados en este trabajo de investigación primeramente se realizó la prueba de azul de metileno para conocer la calidad microbiológica de la leche con la que se trabajó, también se realizaron las pruebas de densidad, estabilidad al alcohol y acidez como se muestra en la tabla 8.

Tabla 8. Pruebas de andén de la leche.

Pruebas de anden		
Parámetro	Método	Referencia
Densidad	Lactodensímetro	NOM-155-SCF-2012
Reductasa	Degradación del azul de metileno	NMX-F-700-COFOCALEC-2012
Prueba de estabilidad al alcohol	Precipitación de las proteínas	NMX-F-700-COFOCALEC-2012
Acidez	Titulación ácido-base	NOM-155-SCF-2012

Posteriormente se realizó un análisis químico proximal a la leche de acuerdo a la normatividad vigente como se muestra en la tabla 9. Con el propósito de conocer la calidad de la leche y si esta era apta para la realización del queso panela, en todos los casos cada prueba se realizó por triplicado y los resultados fueron analizados empleando un Anova con un nivel de confianza del 95% para lo que se utilizó el programa de Excel.

**Tabla 9. Análisis químico proximal**

Pruebas químicas		
Parámetro	Método	Referencia
Humedad	Estufa a 80°C con arena	NOM-116-SSA1-1994
Proteína	Micro-kjeldahl	NOM-155-SCFI-2003
Grasa	Gerber	NMX-F-387-1982
Carbohidratos	Lane Eynon	NOM-155-SCFI-2003
Cenizas	Método general 500-550°C	NMX-F-066-S-1978

3.2.2 O.P.2. Elaboración de queso panela.

Después de realizar los análisis a la leche se llevó a cabo la elaboración del queso panela de forma semi-industrial detallando las condiciones del proceso; el cual es representado en la figura 7.

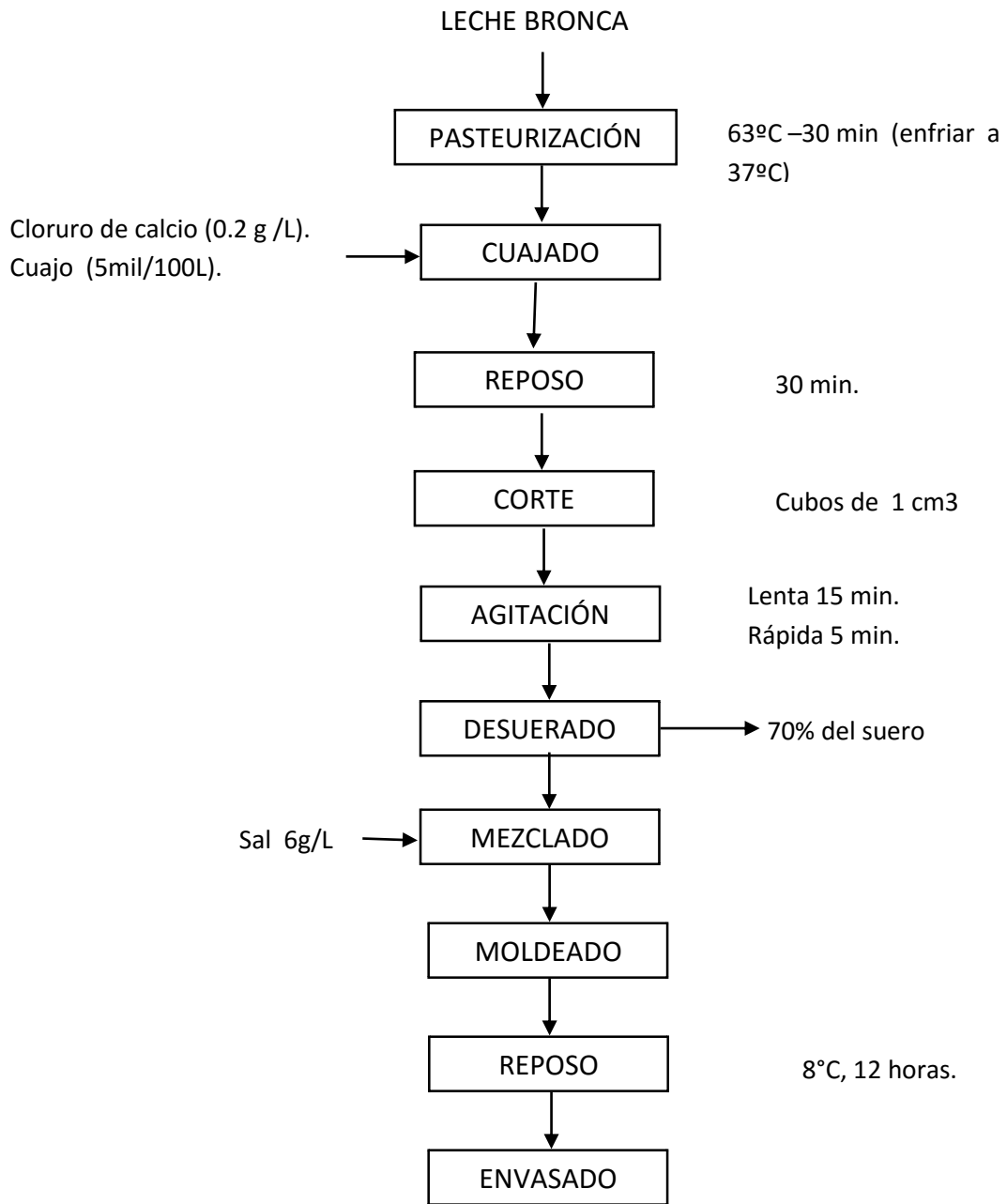


Figura 7. Proceso de elaboración de queso panela.



3.2.3. O.P.3. Evaluación de la calidad del queso panela elaborado.

Análisis químico proximal del queso panela.

Habiendo elaborado el queso panela se realizaron las pruebas de humedad, proteína, grasa, carbohidratos y cenizas mediante técnicas oficiales, para conocer si el queso elaborado cumple con lo estipulado en la norma vigente para este tipo de producto.

En la tabla 10, se muestran las técnicas empleadas para realizar las determinaciones, en todos los casos cada parámetro se analizó por triplicado y los resultados se analizaron con un Anova del 95% en el programa Excel.

Tabla 10. Parámetros fisicoquímicos evaluados.

Pruebas químicas		
Parámetro	Método	Fuente
Humedad	Estufa a 80°C con arena	NOM-116-SSA1-1994
Proteína	Micro-kjeldahl	NOM-155.SCFI-2003
Grasa	Gerber	NMX-F-100-1984
Carbohidratos	Lane Eynon	NOM-155-SCFI-2003
Cenizas	Método general 500-550°C	NMX-F-066-S-1978

Determinación del conteo de microorganismos patógenos.

En la segunda actividad se realizaron pruebas de coliformes totales, mohos y levaduras, salmonella y Staphylococcus aureus. Para cada microorganismo se empleó un medio de cultivo específico, así como condiciones de prueba diferentes, las cuales se describen en la tabla 11.

Tabla 11. Condiciones de pruebas microbiológicas realizadas al queso panela.

Microorganismo	Medio de cultivo	Temperatura de incubación	Tiempo de incubación	Expresión de resultados
Coliformes totales	Agar rojo violeta bilis	35°C	24 h	UFC/g o ml
Mohos y levaduras	Agar papa dextrosa	25°C	24 -26 h	UFC/g o ml



Salmonella	Agar salmonella-shigela	35-37°C	24-48 h	Ausencia o presencia en g o ml de muestra
Staphylococcus aureus	Agar Bair-Parker	35°C	48 h	Ausencia o presencia en g o ml de muestra

Una vez comprobado que el queso panela cumple con las especificaciones descritas en la normatividad mexicana vigente se prosiguió con la resolución del objetivo particular 4.

3.2.4 Actividad preliminar O.P.4. Elaboración de la curva de Mc Farlan.

Para la realización de los retos microbianos con *E. coli*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicas* es necesario controlar y conocer la concentración de dicho microorganismos para después ser inoculados en el queso panela. Para dicho propósito se elaboró la curva de Mc Farlan que se basa en la precipitación de cloruro de bario en presencia de ácido sulfúrico, la turbidez generada por esa reacción tiene una relación con una posible concentración de muestra bacteriana. Para elaborar la curva de Mc Farlan se preparó una solución de BaCl₂ al 1% y otra de H₂SO₄ al 1% las cuales se mezclaron e identificaron en viales transparentes del 1 al 10 según la concentración como se indica en la tabla 12.

Tabla 12. Elaboración de la curva de Mc Farlan.

Clave del tubo	BaCl ₂ 1% ml	H ₂ SO ₄ 1% ml	UFC representadas x10 ⁶ /ml
1	0.1	9.9	300
2	0.2	9.8	600
3	0.3	9.7	900
4	0.4	9.6	1200
5	0.5	9.5	1500
6	0.6	9.4	1800
7	0.7	9.3	2100
8	0.8	9.2	2400
9	0.9	9.1	2700
10	1.0	9.0	3000

Una vez teniendo la cepa pura (*E. coli*, *Staphylococcus aureus* o *Candida albicas* dependiendo del reto) en una caja Petri sembrada con dilución americana, se



tomaron las colonias aisladas con una asa estéril y se diluyeron en un vial con solución salina hasta llegar a la turbidez similar del tubo 1 de la curva de Mc Farlan, utilizando la figura 8 de fondo y a contra luz, a este tubo se le nombro A, que equivale a 300×10^6 UFC. Este a su vez se diluyo a la mitad para obtener 150×10^6 UFC , a este tubo se le denomino B; de esta concentración se realizaron diluciones decuples, las cuales se sembraron en cajas Petri con agar y se dejaron incubar 24 horas para encontrar la concentración deseada de 1×10^6 . Encontrando la concentración en el tubo 6 como se muestra en la figura 8.



Figura 8. Líneas de referencia para la comparación de la turbidez estándar de Mc Farlan

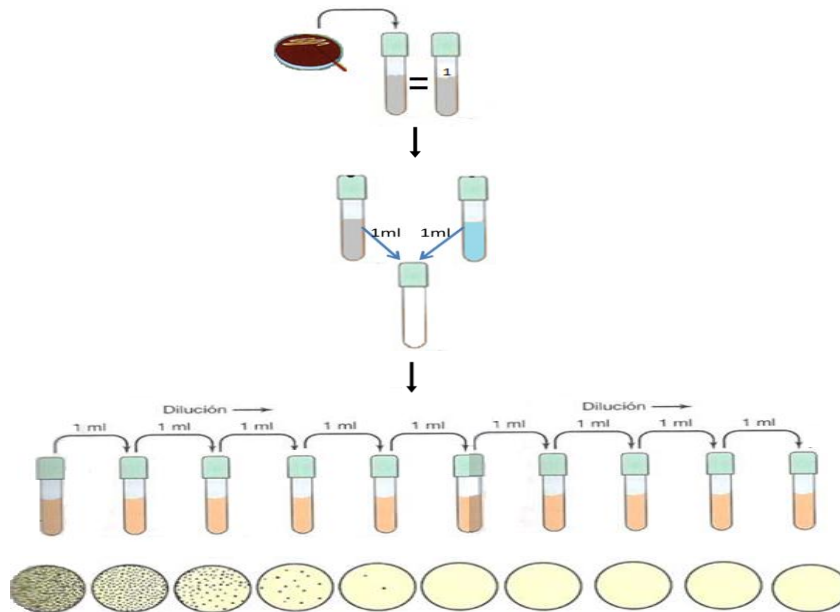


Figura 9. Obtención de la concentración inicial del inóculo



Prueba de viabilidad del inóculo en queso panela.

Una vez obtenida la concentración del inóculo de 10^6 UFC, *E. coli* en agar rojo violeta bilis, *Staphylococcus aureus* en agar Bair Parker y *Cándida albicas* en agar papa-dextrosa. Como segunda actividad se realizó una prueba de viabilidad para verificar que en el queso panela se podían obtener 10^6 UFC.

Se elaboró queso panela agregándole el inóculo de acuerdo al proceso marcado en la figura 5, donde la inoculación de la cepa se realizó después de la pasteurización de la leche. Para cada microorganismo empleado se llevó a cabo la prueba por duplicado, una vez transcurridas las 24 horas de reposo para el queso panela se procedió a tomar muestra y realizar diluciones decuples hasta alcanzar la dilución 10^{10} . Las diluciones se sembraron en el agar correspondiente a cada microorganismo y se dejaron incubar 24 h.

Transcurrido ese tiempo se observó cada una de las cajas de cada dilución y se realizó el conteo de las unidades formadoras de colonia (UFC/g.) para cada uno de los microorganismos empleados, esto con el fin de obtener el estándar de 10^6 UFC/g. de cada microorganismo en el queso panela para poder seleccionarlo y emplearlo en los retos microbianos.

3.2.5. O.P.4. Retos microbianos.

Como tercera actividad del objetivo particular 3 se realizaron 5 retos diferentes con los microorganismos y conservadores antes mencionados como se muestra en la tabla 13. Las cepas fueron obtenidas de casos clínicos de animales como donativo del Departamentos de Bacteriología y Micología de la FMVZ de la UNAM.

Tabla 13. Retos microbianos.

Numero de experimento	Condiciones
1	<i>E. coli</i> + nisina
2	<i>E. coli</i> + natamicina
3	<i>E. coli</i> + lactato de calcio
4	<i>Staphylococcus aureus</i> + nisina
5	<i>Cándida albicas</i> + natamicina



Para cada experimento se elaboró queso panela de acuerdo a la figura 10. Una vez transcurridas las 24 horas de reposo del queso panela se procedió a envasarlo en bolsas especiales para el vacío con ayuda de una envasadora Oaster food saver modelo 3800 con tamaño de muestra de 10g.

Todas las muestras se mantuvieron en refrigeración a 10°C a lo largo del experimento, tomando una para cada determinación a lo largo de la experimentación. Diariamente se tomaba un queso de 10g y se realizaban diluciones decuples. Cada dilución se sembraba por duplicado y se incubaban a las condiciones específicas de cada microorganismo como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 14. Condiciones de pruebas microbiológicas utilizadas en los retos microbianos.

Experimento	muestra	Agar empleado	Tiempo de incubación	Temperatura de incubación	Método de sembrado
<i>E. coli</i> + nisina	10 g	Agar rojo violeta bilis	24h	35°C	Vaciado en placa
<i>E. coli</i> + natamicina	10g	Agar rojo violeta bilis	24h	35°C	Vaciado en placa
<i>E. coli</i> + lactato de calcio	10g	Agar rojo violeta bilis	24h	35°C	Vaciado en placa
<i>Staphylococcus aureus</i> + nisina	10g	Agar Bair-Parker	48h	35°C	Extensión en superficie
<i>Cándida albicans</i> + natamicina	10g	Agar papa-dextrosa	24 h	25°C	Vaciado en placa

Los muestreos se realizaron diariamente para realizar el seguimiento de la eficiencia del conservador en el control del microorganismo con el que se llevó a cabo cada uno de los retos.

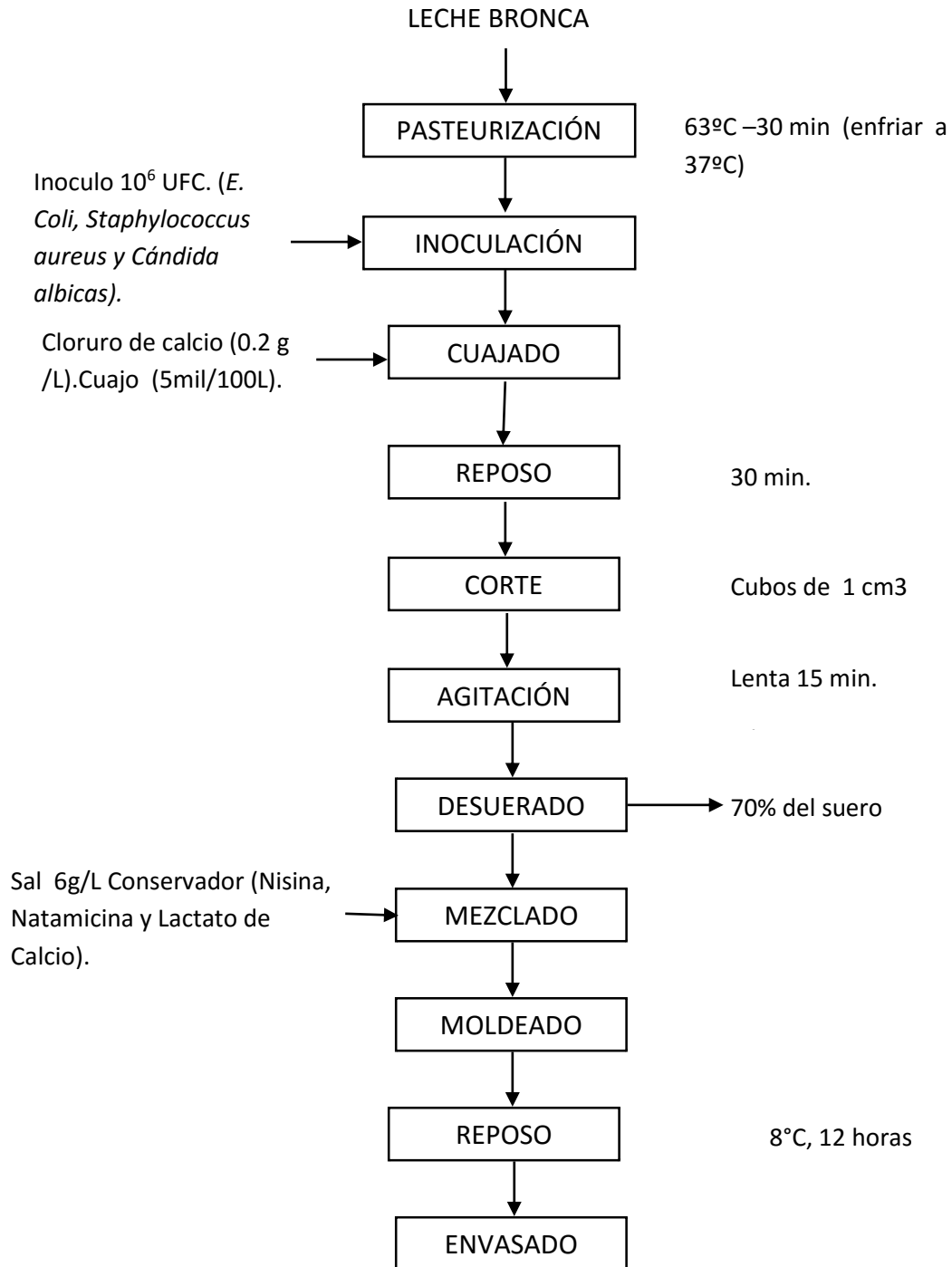


Figura 10. Proceso de elaboración de queso panela con inoculo y conservador.



3.2.6 O.P.5 Evaluación de la vida de anaquel.

Se llevó a cabo la elaboración de 4 tipos diferentes de queso panela,

1. 1 sin conservador y sin inóculo
2. 1 con natamicina y sin inóculos
3. 1 con nisina y sin inóculo
4. 1 con lactato de calcio y sin inóculo.

En todos los casos se siguió el diagrama que se muestra en la figura 11. Cada uno de los quesos fue cortado y empacado al vacío en muestras de 10 g con ayuda de una empacadora oaster food saber modelo 3800 y refrigeradas a 4°C aproximadamente durante toda la actividad. Diariamente se realizaron análisis microbiológicos de coliformes *Staphylococcus aureus*, hongos y levaduras de acuerdo a la normatividad vigente a cada tipo de queso por duplicado hasta detectar los límites máximos permitidos en la norma oficial NOM-243-SSA1-2010. Fecha en la que se marca el fin de la vida de anaquel.

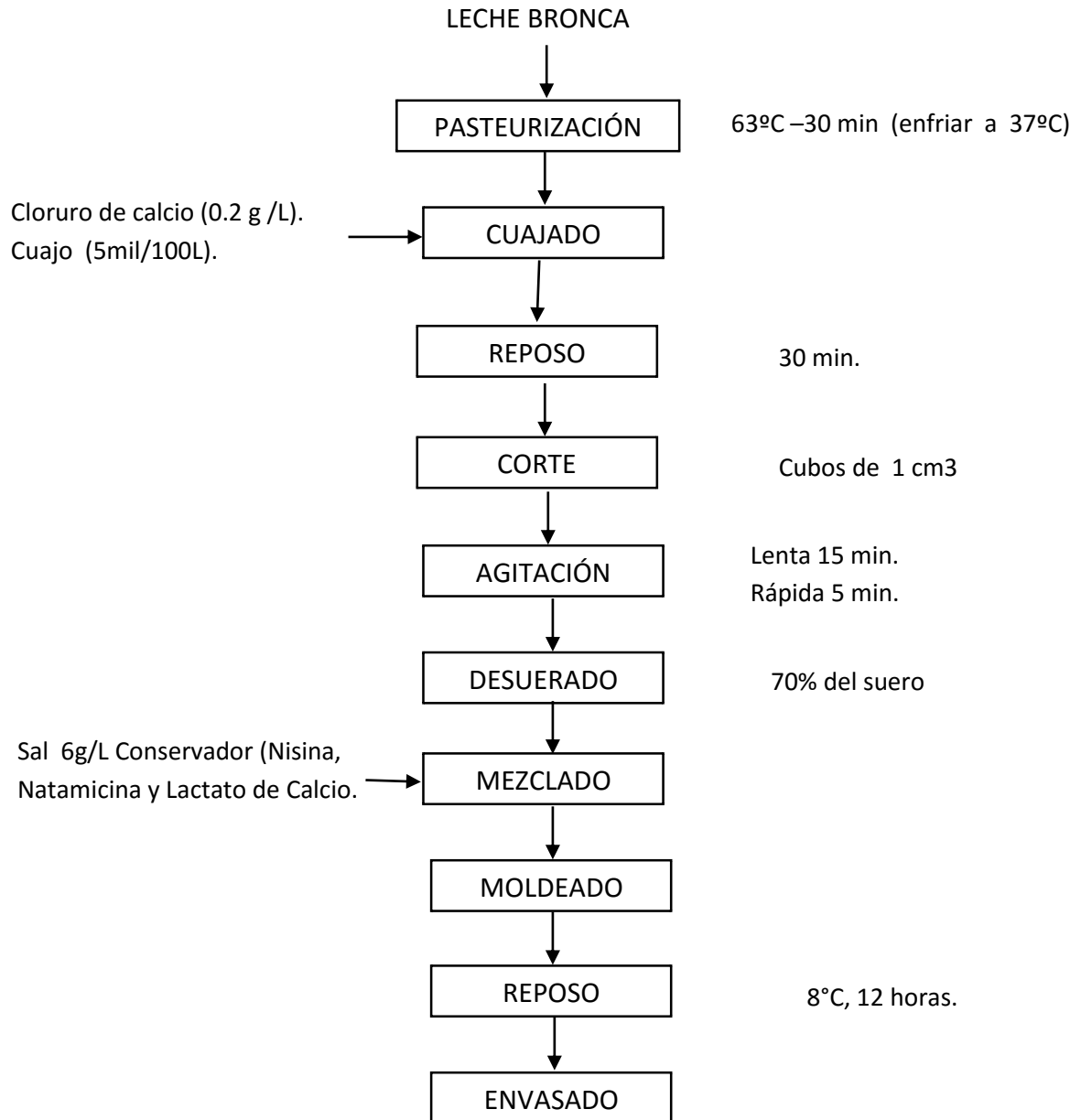


Figura 11. Proceso de elaboración de queso panela utilizando conservador.



CAPITULO 4 ANALISIS Y RESULTADOS

4.1. O.P.1. Caracterización de la materia prima

Se llevó acabo el análisis químico proximal de la leche y la determinación de las pruebas de andén para así poder determinar su calidad.

Pruebas de andén

En la tabla 15, se condensan los resultados de las pruebas de andén realizados a la leche entera, con el fin de determinar la calidad de la misma.

Tabla 15. Pruebas de andén de la leche entera.

Pruebas de andén.	Especificaciones Normativas.	Promedio.	Desviación Estándar.	Coefficiente de Variación.
Acidez (g/L de Ac. Láctico).	1.3 a 1.6	1.3873	0.010	0.781
Densidad (g/ml) 15°C	1.026 a 1.033	1.026133	4.71E-5	0.0045
Alcohol al 72% v/v	Negativa	Negativa	-	-
Reductasa (Azul de Metileno).	Mínimo 2 hrs.	3.33hrs.	0.2357	7.07106

Como se puede observar la acidez está dentro del rango establecido indicando que la leche es fresca y no ha sido almacenada, esto indica que la carga microbiana no transformó la lactosa en ácido láctico por lo que el pH se mantuvo estable evitando así la coagulación de las proteínas (González y col., 2014). La densidad se encuentra dentro de los límites, demostrando que no existe alguna adulteración. La prueba de alcohol dio negativa, lo que indica que la carga microbiana en la leche no ha iniciado el proceso de descomposición, por lo que es apta para la pasteurización. Por su parte la prueba de reductasa, utilizando azul



de metileno, fue aceptada como buena ya que la decoloración por efecto del metabolismo de microorganismos presentes en la leche se obtuvo has las 3.3hrs promedio, indicando una carga microbiana aproximada de menos de 500 bacterias/ml. Por tal motivo la leche utilizada es de calidad (González y col., 2014).

Determinación del análisis químico proximal de la leche entera.

Una vez obtenidos los resultados de las pruebas de andén y sabiendo que la leche cumplía con lo establecido en la norma NOM-243-SSA1-2010, se prosiguió a realizar un análisis químico proximal, por medio de técnicas oficiales con el objetivo de determinar la calidad de la misma. Las pruebas se realizaron por triplicado para dar confiabilidad estadística, calculando la desviación estándar y el coeficiente de variación de cada uno de los componentes analizados. Presentando los resultados obtenidos de forma condensada como se muestra en la tabla 16.

Tabla 16. Análisis químico proximal de la leche entera.

Componente	Promedio %	Desviación estándar	Coefficiente de variación	Valor teórico *
Humedad	87.161	0.069	0.0007	87.6
Grasa	3.033	0.04714	0.015	3.7
Proteína	3.757	0.251	0.66	3.2
Carbohidratos	4.733	0.039	0.008	4.8
Cenizas	0.708	0.008	0.012	0.7

*Valor obtenido de la norma NOM-155-SCFI-2011

Como se puede observar el contenido de humedad, cenizas y carbohidratos están dentro de lo establecido en norma NOM-243-SSA1-2010. En cuanto a los resultados de grasa, este se encuentra por debajo del valor teórico, esto se puede deber a dos razones principalmente; la primera debido al tipo de alimentación y



ración con que fueron alimentadas las vacas (Alais, 2003), y una segunda respuesta puede ser atribuida a un ligero desnatado debido al enfriamiento. A baja temperatura (5°C), se forman grandes agregados proteicos que hacen que los glóbulos de grasa se asocien (Badui, 2013). Los glóbulos de grasa se asocian en acúmulo que luego se hacen tan grandes que las fuerzas que los unen a la fase de agua son insuficientes para contrarrestar el efecto de la diferencia en densidad entre la fase de aceite y la fase de agua (Charley, 2012).

El desnatado se lleva a cabo en la primera hora de enfriamiento debido a la capacidad de asociación de las inmunoglobulinas. Esta nata o crema separada de la fase acuosa se queda pegada en las paredes del contenedor lo que pudo ocasionar que la leche quedara con un bajo valor en grasa.

El contenido de proteínas es mayor lo cual puede ser atribuido a la alimentación y la raza del ganado (Jersey) que tiene un porcentaje de proteína del 3.7 (Badui 2013).

Los valores obtenidos experimentalmente de cada uno de los componentes de la leche, fueron promediados, se les calculó la desviación estándar y coeficiente de variación para determinar la variación de muestra. Los promedios obtenidos fueron similares a los valores teóricos. Con respecto a la desviación estándar y coeficiente de variación son lo suficientemente bajos para asegurar la homogeneidad de las muestras analizadas (Montgomery, 1991), por tal motivo podemos decir que los resultados obtenidos son confiables.

4.2. O.P.3. Calidad del queso panela

Determinación del análisis químico proximal al queso panela elaborado.

Como parte del objetivo particular 3 se determinó el análisis químico proximal al queso panela mediante técnicas oficiales, las cuales se realizaron por triplicado y se presentan en la tabla 17.

La prueba de humedad se determinó en estufa a 80°C , la prueba se realizó por triplicado obteniendo la desviación estándar y varianza.



Tabla 17. Resultados del análisis químico proximal del queso panela.

Componente	Promedio	Desviación e.	Coefficiente de v.	Valor teórico*
Agua	59.53	0.381	0.145	58 %
Proteína	20.55	0.139	0.013	20 %
Grasa	16.66	0.577	0.222	20 %
Cenizas	3.23	0.206	0.028	3.8 %

*Valor obtenido de la norma NMX-F-742-COFOCALEC-2010

De acuerdo a los valores obtenidos se puede observar que la humedad y la proteína son muy cercanos a los valores de 58% y 20% respectivamente, que son los teóricos, además la desviación estándar de cada uno es 0.381 y 0.139 respectivamente lo que indica que los resultados obtenidos son confiables.

En cuanto a los resultados de grasa, este se encuentra por debajo del valor teórico, debido a que la leche analizada anteriormente, tuvo como resultado un bajo contenido de sólidos grasos por tal motivo el queso panela tuvo un bajo contenido en grasa. Con respecto al contenido de agua, proteína y ceniza se encuentran dentro de lo referenciado a la norma NMX-F-742-COFOCALEC-2010.

Determinación del análisis microbiológico al queso panela.

La calidad microbiológica del queso panela es de suma importancia para garantizar la inocuidad de este, así como para cumplir los estándares existentes. Por medio de la norma NOM-243-SSA1-2010 expedida por la secretaria de salud, establece los parámetros microbiológicos de debe cumplir el queso panela.

Una vez realizado el análisis químico proximal se procedió a realizar un análisis microbiológico basado en el recuento de *coliformes totales*, *Staphylococcus aureus*, *mohos* y *levaduras*; así como la presencia o ausencia de *Salmonella*, para establecer que el queso panela se hizo bajo las condiciones higiénicas necesarias para su consumo, los resultados de este análisis se muestran en la Tabla 18.



Tabla 18. Resultados del análisis microbiológico.

Microorganismo	Límite máximo permitido*	Resultado a las 24 hrs.
Coliformes totales	<10 UFC/g o ml	Ausente
<i>Staphylococcus aureus</i>	1000 UFC/g o ml	Ausente
Mohos y levaduras	500 UFC/g o ml	Ausente
<i>Salmonella</i>	Ausente en 25 g o ml	Ausente en 25 g o ml

*Valor obtenido de la norma NOM-243-SSA1-2010

Como se puede observar en la tabla anterior, los resultados obtenidos fueron los esperados por lo que el queso panela cumple con las especificaciones marcadas en la normatividad vigente. En cuanto a coliformes totales no se encontraron colonias en la dilución de 10^{-1} para las tres muestras evaluadas. Siendo la *E. coli* el primer indicador de sanidad en los alimentos, al estar continuamente presente en el estiércol del establo (Yumar E. 2012). Lo que nos da una idea de que el lugar donde se obtuvo la leche y el lugar donde se elaboró el queso panela cumplen con las condiciones higiénicas necesarias; además de que la pasteurización a la cual fue sometida la leche fue efectiva dando como resultado un producto seguro al consumidor.

Para el caso de *Salmonella* spp las tres muestras evaluadas cumplen con los establecidos en norma que es ausente en 25 ml de producto. El monitoreo de esta bacteria es de gran importancia para los quesos y otros derivados lácteos por diversos casos de contaminación como lo reportan Alcázar y colaboradores (2006), demostraron que este microorganismo es uno de los principales causantes de enfermedades gastrointestinales por consumo de quesos frescos y semi-madurados en distintos puntos de venta en la ciudad de México, lo que puede ser una factor de riesgo para el consumidor ya que algunos subtipos de *Salmonella* pueden llegar a ocasionar la muerte.



Para el caso de quesos frescos también es importante el conteo de *Staphylococcus aureus* por ser un microorganismo patógeno que comúnmente se encuentra en productos lácteos y derivados. De acuerdo a la NOM-243-SSA1-2010, el límite máximo permitido es de 1000 UFC/ g de producto, pues para que este microorganismo patógeno produzca la dosis necesaria de enterotoxina (1-5 μg) capaz de provocar una intoxicación alimentaria se requiere como mínimo 10^5 UFC/g de *Staphylococcus aureus* por gramo de producto contaminado. El resultado obtenido fue ausente en las 3 muestras evaluadas, considerando así que el queso panela obtenido es de buena calidad.

Además de los 3 parámetros microbiológicos descritos anteriormente también fue importante cuantificar los mohos y levaduras contenidas en el queso panela elaborado. De acuerdo con la tabla 18 se permiten hasta 500 UFC/g de producto obteniendo como resultado ausencia en las tres muestras realizadas. La cuantificación de mohos y levaduras es de gran importancia porque son las responsables de alteraciones como cambios en coloraciones, olores y sabores extraños, rancidez y formación de gas debido a la lactosa residual que se mantiene después del proceso de elaboración (Frank. 1997).

4.3 Actividad preliminar O.P.4. Preparación de la escala de Mc Farlan para los retos microbianos.

Se realizó la curva de Mc Farland para la estandarización del inóculo inicial, obteniendo una concentración de 10^6 UFC/ml. Recordando que las suspensiones bacterianas dispersan la luz, al igual que cualquier partícula pequeña suspendida en agua (efecto Tyndall). La dispersión de la luz, es dentro de ciertos límites, proporcional a la masa de bacterias; obteniendo un medio ligeramente turbio (Prescott, 2000).

En esta actividad se determinó la concentración a utilizar de *E. coli*, *Staphylococcus aureus* y *Cándida albicans* para los retos microbianos. Para todos los retos se empleó el tubo 1 de la escala de Mc Farlan (BaCl_2 1% 0.1 ml, H_2SO_4 1% 9.9ml; 300×10^6 UFC/ml) utilizando la metodología descrita en la sección 3.2.4 del capítulo 3.



- ***E. coli.***

Para éste microorganismo una vez que se sembró en Agar Rojo Violeta Bilis sus diluciones decimales del vial “B”, se observó que después de 24 horas se encontraron 10 colonias de *E. coli* en la dilución 10^6 . Después se llevó a cabo una prueba de viabilidad para corroborar si en el queso panela se podía obtener una concentración mínima de 10^6 UFC/g como se muestra en la página 54. Con este dato obtenido se procedió a obtener la dilución 10^6 , para que a partir de este inocular el queso panela para el reto microbiano.

- ***Staphylococcus aureus.***

En el caso de éste microorganismo, las diluciones decuples obtenidas a partir del vial “B” se sembraron en Agar Bair Parker, después de 48 horas se observó el crecimiento de 2 colonias en la dilución 10^6 . Enseguida se llevó a cabo una prueba de viabilidad de la bacteria en el queso panela para obtener una concentración mínima de 10^6 UFC/g. Con esta comprobación se procedió a elaborar nuevamente el vial “B” y obtener la dilución de 10^6 , el cual se ocupó para inocular el queso panela para este reto microbiano.

- ***Cándida Albicas***

Para este microorganismo las diluciones decimales obtenidas a partir del vial “B” se sembraron en agar papa dextrosa, después de 24 horas de incubación se observó el crecimiento de 3 colonias en la dilución de 10^6 . Igualmente que en los casos anteriores se realizó la prueba de viabilidad para comprobar si en el queso panela se obtenía la concentración mínima de 10^6 UFC/g A partir de este valor se procedió nuevamente a preparar el



vial “B” y obtener la dilución 10^6 para inocular el queso panela en este reto microbiano.

Prueba de viabilidad

Tanto la metodología de la prueba de viabilidad y los retos microbianos se realizaron en base a lo señalado en el artículo “*Efecto de la incorporación de la nisina sobre la supervivencia de Staphylococcus aureus en queso de mano*” por Roland, 2007.

Como se mencionó anteriormente se llevó a cabo una prueba de viabilidad para cada uno de los microorganismos empleados. (*E. coli*, *Staphylococcus aureus* y *Cándida albicas*) para verificar que cada una de estas bacterias podía crecer en el queso hasta alcanzar mínimamente 10^6 UFC/ g de queso panela, obteniendo los siguientes resultados:

Tabla 19. Resultados de la prueba de viabilidad.

microorganismo	Resultado
<i>E. coli</i>	10×10^6 UFC/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	2×10^6 UFC/ml
<i>Cándida albicas</i>	1×10^6 UFC/ml

Después de estandarizar la concentración del inóculo mediante la curva de Mc Farlan se agregó al proceso de elaboración de queso panela, verificando que todos los microorganismos fueron capaces de crecer a una concentración igual o mayor de 10^6 UFC/g., como se muestra en la figura 11, esto debido a que el queso es un excelente medio de cultivo que favorece la proliferación bacteriana al contener proteína carbohidratos vitaminas y un contenido de humedad elevado (Badui, 2013).



Figura 12. Prueba de viabilidad.

4.4 O.P.4. Retos microbianos de *E. coli*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*.

Los retos microbianos consistieron en la confirmación de la efectividad de los conservadores naturales (nisina, natamicina y lactato de calcio) frente a microorganismos patógenos, empleados en la elaboración de queso panela mediante pruebas *in vitro* de acuerdo a la tabla de retos microbianos. Cada reto se realizó monitoreando diariamente el queso inoculado con cada una de la sepas y el conservador y un queso solo con conservador como testigo negativo.

Los conservadores empleados (nisina, natamicina y lactato de calcio) se utilizaron en las concentraciones mostradas en la Tabla 20. En los 3 casos se emplearon las concentraciones que recomendó el proveedor para queso panela.



Tabla 20. Concentración utilizada de los conservadores.

CONCENTRACIÓN UTILIZADA DE LOS CONSERVADORES.		
Conservador.	Rango de empleo. (mg/kg)	Concentración utilizada. (mg/kg)
Nisina.	1.25-12.5	12.5
Natamicina.	30-40	40
Lactato de calcio.	6,000	6,000

E. coli

Para el caso de este microorganismo se realizó el reto con los 3 conservadores utilizados (nisina, natamicina y lactato de calcio) como se describió en el capítulo 3 sección 3.2.5.

***E. coli* + nisina.**

Como se mencionó anteriormente en cada reto microbiano se monitoreo el queso con conservador e inculo y el queso únicamente con conservador, para este caso, en el primer día se observó una disminución de la concentración de inculo hasta alcanzar 30 UFC/g. Como se observa en la tabla 21. Sin embargo al pasar los días el crecimiento de la bacteria se ve incrementado a tal grado que duplica la concentración inicial del inculo, mientras que en el queso que solo tenía el conservador no mostro ningún crecimiento a lo largo del reto.

Tabla 21. Datos comparativos entre el queso con *E. coli* + nisina y el queso con nisina.

Nisina + <i>E. coli</i>.		
DIAS	A (UFC/g)	B (UFC/g)
0	0	10,000,000
1	0	30
2	0	3,000
3	0	100,000



4	0	3,000,000
5	0	20,000,000

A: Queso panela + conservador.

B: Queso panela + conservador e inoculo.

Algunos estudios han demostrado que los tratamientos con nisina en presencia de bacterias Gram negativas sensibilizan la membrana externa (Castro y col., 2009) evitando así que la nisina pueda actuar sobre el peptidoglicano del espacio periplasmico de la célula bacteriana como ocurre en las bacterias Gram positivas (Piña, 2011). Sin embargo este efecto detiene momentáneamente el crecimiento de las bacterias, las cuales después de cierto tiempo logran adaptarse y continúan con un crecimiento exponencial.

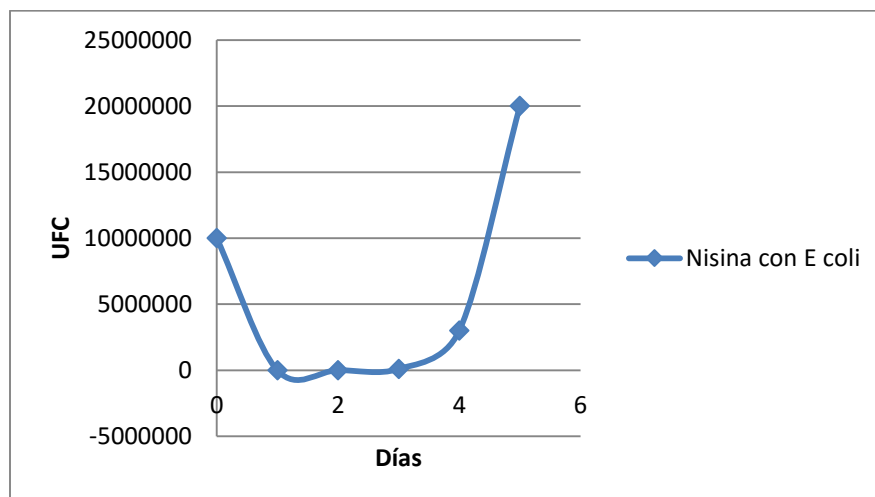


Figura 13. Comportamiento del queso panela con *E. coli* y nisina.

***E. coli* + natamicina**

En el caso de este reto microbiano igualmente se observó una disminución significativa el primer día, de 10×10^6 UFC/ml a 200 UFC/ml. Al segundo día se obtuvo una disminución del 50% con respecto al día anterior, sin embargo en el tercer día el conteo microbiano aumento a 700 UFC/ml. Para el cuarto día el conteo de microorganismos llego a 1×10^4 UFC/ml, a partir del quinto día del reto el crecimiento de la *E. coli* fue prácticamente exponencial como se muestra en la



figura 14. En cambio el queso que solo tenía conservador no presento ningún crecimiento a lo largo del reto.

La natamicina no tiene un efecto contra las bacterias (Codex alimentarius, 2000), sin embargo a lo largo del reto microbiano se demostró que si logra disminuir la concentración inicial de *E. coli* como ya se describió, pero después de unos días esta crece exponencialmente. Esto puede ser debido a que el método de acción de la natamicina consiste en formar un enlace con los esteroides (estos están ausentes en las bacterias) de la membrana celular del hongo para producir un cambio en la permeabilidad de la misma, provocando así la pérdida de materiales celulares esenciales (Obregón, 2004).

La natamicina pudiera actuar de la misma manera en la pared de la célula de la *E. coli* fijándose a un compuesto lipídico similar a los esteroides, lo que podría provocar cambios en la pared externa de la célula dando como consecuencia la disminución en la concentración de la bacteria. Este efecto no causa la inhibición total de la bacteria por lo que se podría considerar como un bacteriostático.

Tabla 22. Datos comparativos entre el queso con *E. coli* + natamicina contra el queso con natamicina.

Natamicina + <i>E. coli</i> .		
DIAS	A (UFC/g)	B (UFC/g)
0	0	10,000,000
1	0	200
2	0	100
3	0	700
4	0	10000
5	0	140,000
6	0	100,000
7	0	4,000,000

A: Queso panela + conservador

B: Queso panela + conservador e inculo.

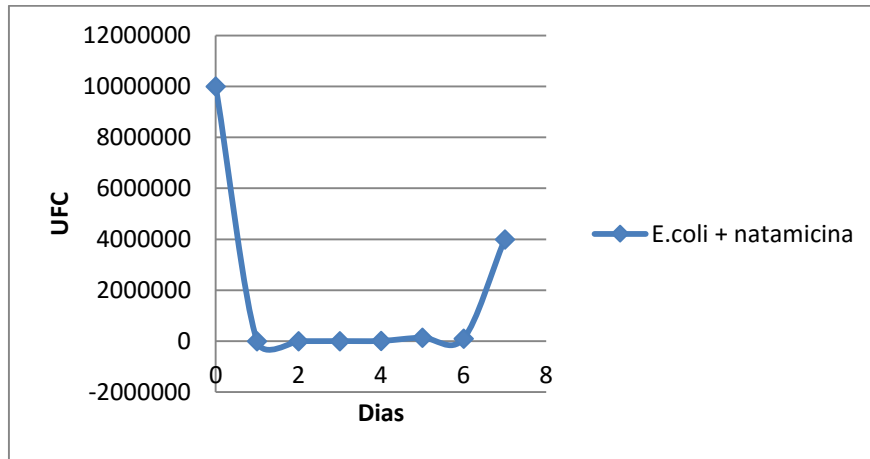


Figura 14. Comportamiento del queso panela con *E. coli* y natamicina.

***E. coli* + lactato de calcio.**

En este reto microbiano la disminución inicial de la *E. coli* en el primer día fue considerable hasta alcanzar una concentración de 3×10^3 UFC/g, sin embargo esta disminución fue mucho menor que en el caso de los retos donde se empleó nisina y natamicina. Al segundo día del reto, el crecimiento de la bacteria fue en aumento y así continuo hasta el cuarto día donde se alcanzó una concentración de tres veces mayor al inóculo inicial, 30×10^6 UFC/g, como se observa en la figura 15. En el caso de la muestra que solo contenía lactato de calcio no se mostró ningún crecimiento a lo largo del reto microbiano.

Esto pudo ser atribuido a sus características de preservación del lactato de calcio que consta de varios mecanismos de acción. Entre los principales podemos encontrar la inhibición de la regeneración, la acidificación intracelular, interferencia con el traslado de protones por la membrana celular, y bajar la actividad de agua de los productos (Valverde, 2007). Teniendo propiedades antimicrobianas frente a microorganismos patógenos como *E. coli*, *C. botulinum*, *L. monocytogenes* (Freixanet, 2010).



Estudios realizados en cárnicos han demostrado que productos derivados del ácido láctico, incluyendo el lactato de calcio, pueden extender la fase logarítmica y disminuir el rango de crecimiento microbiano (Ok-kyung, Mallory y col. 2012).

Sin embargo la concentración del inoculo inicial de 10×10^6 UFC/ml es demasiado para el lactato de calcio, no logrando retardar lo suficiente la fase logarítmica de *E. coli*, y en un periodo de dos a tres días se observa un crecimiento exponencial de la misma.

Tabla 23. Datos comparativos entre el queso panela con lactato de calcio + *E. coli* contra el queso panela con lactato de calcio.

Lactato de Calcio + <i>E. coli</i> .		
DIAS	A (UFC)	B (UFC)
0	0	10,000,000
1	0	3000
2	0	300000
3	0	1,000,000
4	0	30,000,000

A: Queso panela + conservador.

B: Queso panela + conservador e inoculo.

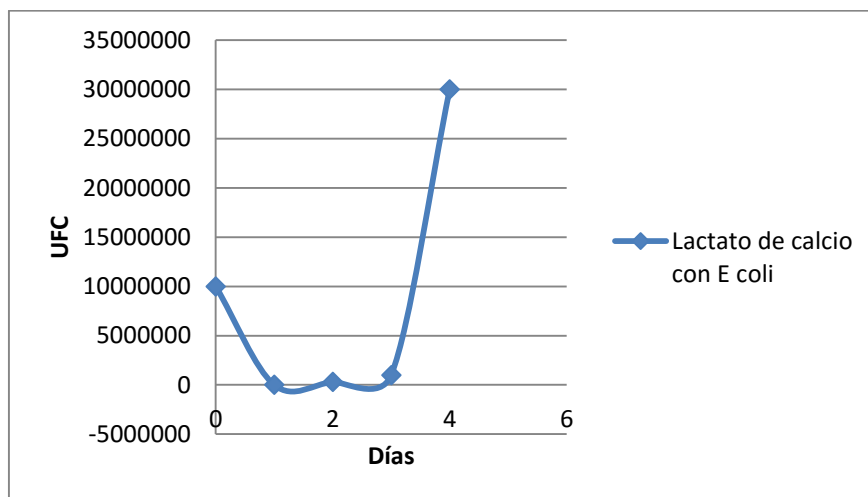


Figura 15. Comportamiento del queso panela con *E. coli* y lactato de calcio.



***Staphylococcus aureus* + nisina.**

Para el siguiente reto microbiano en donde se utilizó *Staphylococcus aureus* como inóculo se observó una disminución de 2×10^6 UFC/g a 2×10^3 UFC/g en el primer día del reto microbiano. Para el segundo día se alcanzó la concentración de 300 UFC/g y a partir del tercer día la concentración del inóculo fue cero: así continuó el experimento hasta alcanzar el séptimo día de experimentación (figura 16); para corroborar el comportamiento del *Staphylococcus aureus*. A su vez también se monitoreó el queso panela únicamente con la nisina como testigo, obteniendo concentraciones de 0 UFC/g a lo largo de todo el reto microbiano.

Este comportamiento es debido a que la nisina se acumula en la mono capa externa de lípidos de la membrana celular, lo que conlleva a la unión con el precursor del peptidoglicano, el lípido II. Este enlace de la nisina y el lípido II forman un poro híbrido compuesto de ocho moléculas de nisina y cuatro del lípido II, provocando la pérdida de pequeños componentes citoplasmáticos como aminoácidos y ATP, lo que provoca un colapso en el gradiente de iones, y este a su vez un desbalance en el gradiente de pH; llegando con esto a la lisis de la célula bacteriana. (Piña, M. 2011).

Tabla 24. Datos comparativos del queso panela con *Staphylococcus aureus* + nisina contra el queso panela con nisina.

Nisina + <i>Staphylococcus aureus</i> .		
DIAS	A (UFC/g)	B (UFC/g)
0	0	2,000,000
1	0	2,000
2	0	300
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0	0



7	0	0
---	---	---

A: Queso panela + conservador.

B: Queso panela + conservador e inculo.

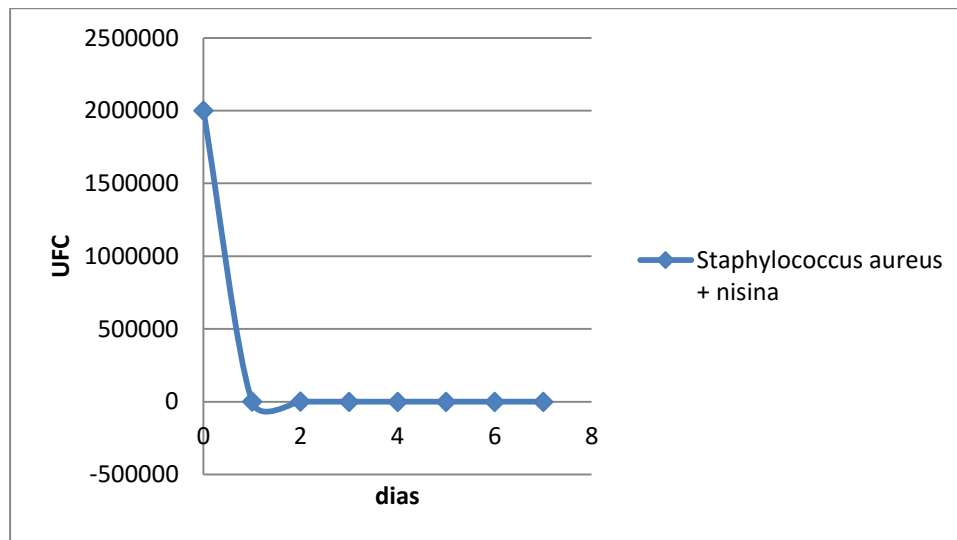


Figura 16. Comportamiento del queso panela con *Staphylococcus aureus* y nisina.

***Cándida albicas* + Natamicina.**

En el caso de este reto microbiano se observó un comportamiento similar al reto anterior, la disminución en el primer día fue considerable de 3×10^6 UFC/ml a 0 UCF/ml. El reto continuo a lo largo de 7 días para observar el comportamiento del microorganismo, sin embargo no hubo cambio aparente. Al mismo tiempo se analizo es queso panela únicamente con natamicina, el cual no tuvo ningún crecimiento a lo largo de todo el reto (tabla 25).

Algunos estudios clínicos han demostrado que la natamicina es altamente eficaz contra el crecimiento de *Candida albicas* tal y como lo menciona Saleem (2007), donde presenta una inhibición total de este hongo a los 5 días aplicándole natamicina para su tratamiento. Este estudio clínico se llevó a cabo en conejos lo



que podría explicar que la velocidad de acción de la natamicina es menor en comparación con el reto microbiano en el queso panela.

Tabla 25. Datos comparativos entre el queso panela con *Candida albicans* + natamicina contra el queso panela con natamicina.

Natamicina + <i>Candida albicans</i>		
DIAS	A (UFC/g)	B (UFC/g)
0	0	3,000,000
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0

A: Queso panela + conservador.

B: Queso panela + conservador e inculo.

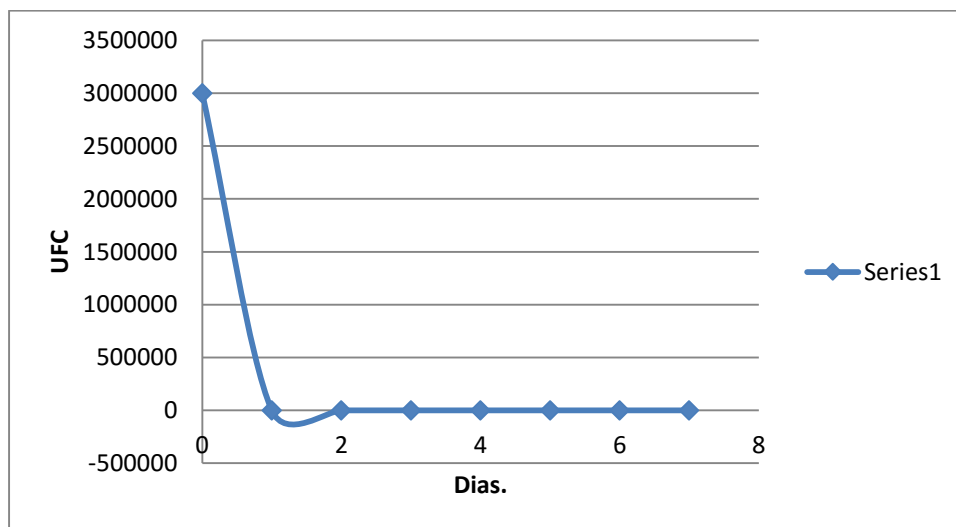


Figura 17. Comportamiento del queso panela con *Candida albicans* + natamicina.



4.5. O.P.5. Vida de anaquel.

Como parte del quinto objetivo particular se planteó realizar la vida de anaquel del queso panela en presencia de cada uno de los conservadores empleados como muestra la tabla 26.

Tabla 26. Condiciones para la vida de anaquel.

Experimento	Condiciones	Almacenamiento (°C)
1	Queso sin conservador	4°C
2	Queso con nisina	4°C
3	Queso con natamicina	4°C
4	Queso con lactato de calcio	4°C

En todos los casos se siguieron las actividades descritas en el apartado 3.2.6 del capítulo 3 evaluando en los 4 casos coliformes totales, mohos y levaduras y *Staphylococcus aureus*. Sin embargo a lo largo de toda la vida de anaquel no se registraron datos de hongos y levaduras ni de *Staphylococcus aureus* por lo que los resultados mostrados solo están enfocados a coliformes totales. La norma oficial mexicana NOM-243-SSA1-2010 señala que para queso fresco el valor de coliformes totales debe de ser menor a 100 UFC/g. Tomando esto como referencia si en algún experimento de los ya citados, sobrepasaba este valor se daba por terminado el experimento ya que se considera fuera de norma y no puede ser consumido. En la figura 18, se muestran los valores obtenidos de coliformes totales en los 4 casos. En el caso del queso sin conservador no se observó crecimiento hasta el sexto día donde obtuvo un valor de 2 UFC/g, sobrepasando el valor de la norma hasta el octavo día con un valor de coliformes de 110 UFC/g. Para el queso panela con lactato de calcio presentó el primer crecimiento hasta el séptimo día con 10 UFC/g en los días posteriores el valor de coliformes fue en aumento hasta alcanzar las 125 UFC/g en el día catorce del experimento. El queso panela con natamicina tuvo crecimiento hasta el día once, este crecimiento fue de manera más lenta en comparación con los 2 casos anteriores, logrando



alcanzar las 143 UFC/g en el día 20 de experimentación. En el queso panela donde se utilizó nisina el tiempo en el que presento el mayor crecimiento de coliformes fue a los 23 días con 131 UFC/g.

A pesar de que la leche fue pasteurizada, no se eliminaron por completo todos los microorganismos que esta pudiera contener; sobreviviendo microorganismos resistentes a temperaturas altas, principalmente bacterias mesofilas y algunas especies de cocos. El proceso de elaboración del queso se llevó a cabo bajo las buenas prácticas de manufactura, sin embargo no se realizó en un área totalmente estéril por lo que el queso pudo haberse contaminado después de la pasteurización. Otro punto importante es que el queso panela es un producto con alto contenido de humedad, aproximadamente el 58% y nutrientes, principalmente proteína (18%) (NMX-F-742-COFOCALEC-2010). Lo que genera un medio idóneo para el crecimiento bacteriano. Es por eso que el queso panela sin conservador solo duro 7 días antes de sobrepasar el límite de coliformes según la norma mexicana NOM-243-SSA1-2010. El queso panela tiene una vida útil de 7 días (Yescas, 2013) por lo que los datos obtenidos fueron esperados.

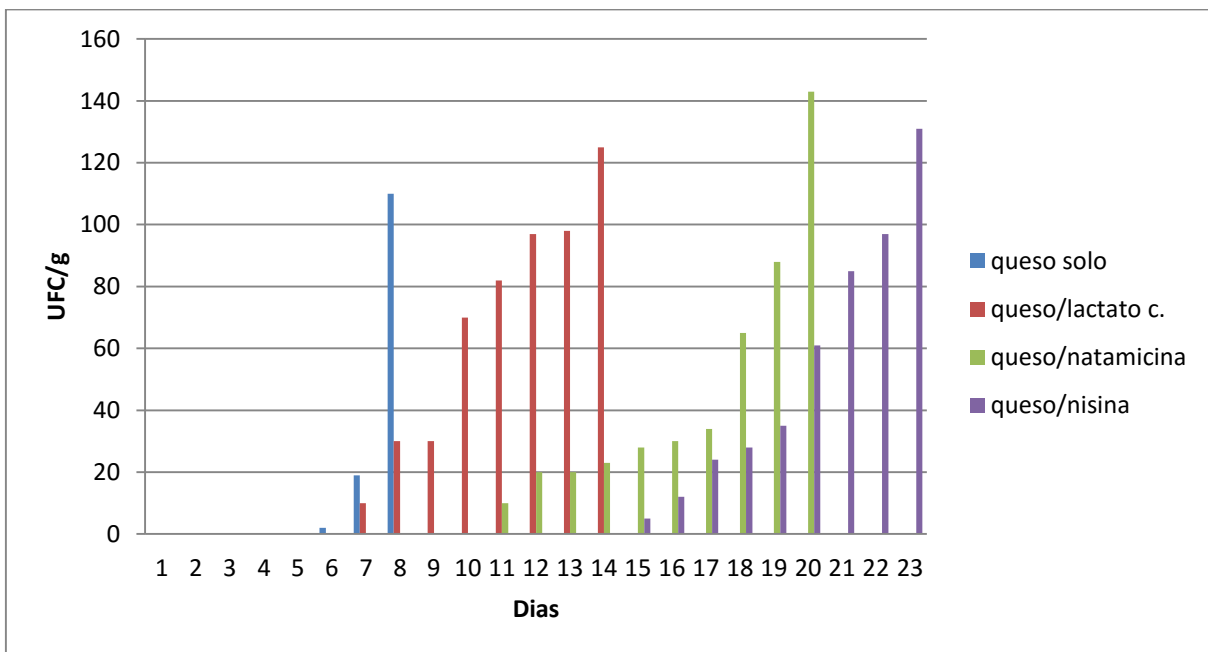


Figura 18. Resultados de la vida de anaquel.



De acuerdo con el objetivo particular 4 donde se evaluaron los conservadores en presencia de *E. coli*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* se demostró que la nisina, natamicina y lactato de calcio tienen un efecto inhibitorio sobre estos microorganismos. Es por esto que al someter al queso panela a una vida de anaquel en presencia de estos conservadores lograron extenderla. La diferencia entre el tiempo de vida útil de cada queso panela es debido principalmente al método de acción de cada conservador.

En base a los resultados obtenidos del presente trabajo se puede decir que, a pesar de que la concentración inicial del inóculo fue alta, los conservadores disminuyeron, y en algunos casos inhibieron totalmente, a los microorganismos. Tomando esto como referencia se puede decir que si por algún motivo durante el proceso de elaboración del queso panela, se llegara a contaminar con alguno de estos microorganismos estudiados (*E. coli*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*) los conservadores podrían inhibirlo, ya que la concentración sería relativamente baja; sin dejar de lado las buenas prácticas de manufactura durante el proceso de elaboración.



Conclusiones

- Los resultados obtenidos del Análisis Químico Proximal y de las pruebas de andén de la leche son semejantes a las especificaciones señaladas en la norma NOM-155-SCFI-2010, lo que indica que la leche empleada fue de buena calidad.
- El proceso de elaboración de queso panela empleado fue adecuado para obtener un producto final con las características propias de este producto.
- Los resultados del análisis microbiológico del queso panela cumplen con lo señalado en la norma NOM-243-SSA1-2010, lo que indica que el proceso se llevó a cabo con buenas prácticas de manufactura.
- En los retos microbianos de nisina, natamicina y lactato de calcio frente a *E. coli* se comprobó que los conservadores inhibieron parcialmente el crecimiento de la bacteria, sin embargo, fueron incapaces de eliminarla totalmente, una vez que la bacteria se adaptó su crecimiento fue muy rápido.
- La natamicina tuvo mayor efecto inhibitorio contra *E. coli* en comparación con la nisina y el lactato de calcio.
- La nisina tuvo un efecto inhibitorio total cuando se retó frente a *Staphylococcus aureus* en el queso panela, ya que es específico para bacterias Gram positivas, sin embargo, logro mostrar un efecto de inhibición frente a bacterias Gram negativas, como lo es la *E. coli*.
- La natamicina logro inhibir totalmente el crecimiento de *Candida albicas* en queso panela.
- El lactato de calcio logro disminuir y retardar el crecimiento microbiano, sin embargo, su efecto fue menor en comparación con la nisina y la natamicina.
- El queso panela sin conservador sobrepaso los límites microbiológicos permitidos por la norma NOM-243-SSA1-2010 a los 7 días, lo que corresponde a la vida de anaquel de un queso fresco.

Queso Panela



- El lactato de calcio logro preservar el queso panela durante 13 días, mientras que la natamicina logro alargar su vida 19 días, sin embargo la nisina logro conservar durante 22 días, siendo este último el más eficaz.
- El empleo de conservadores naturales es una opción para prolongar la vida de anaquel del queso panela, siempre y cuando se lleven a cabo las buenas prácticas de manufactura.
- El uso de conservadores no sustituyen las buenas prácticas de manufactura



Recomendaciones

- Realizar estudios de nisina y lactato de calcio frente a mohos y levaduras para ver si tiene efecto contra estos microorganismos
- Estudiar el efecto de la nisina, natamicina y lactato de calcio frente a otros microorganismos patógenos.
- Realizar un análisis sensorial al queso panela con los conservadores empleados durante la vida de anaquel para comprobar que sus características organolépticas no cambian, y así, ser aceptado por el consumidor.
- Comprobar si la mezcla de 2 o más conservadores, provocan un efecto sinérgico, ampliando la vida útil del queso panela.
- Emplear los conservadores en otro tipo de queso para verificar si logran aumentar la vida útil.



BIBLIOGRAFIA:

1. Alais, C. (2003). "Ciencia de la leche". España. Editorial Reverte. Pp 857
2. Alcázar C., Rubio M., Núñez F., Alonso R., (2006) "Detección de Salmonella ssp y Listeria monocytogenes en quesos frescos y semimadurados que se expanden en vía pública en la ciudad de México". 4(37) 418-427.
3. Badui, S. (2013). Química de los alimentos. México. Editorial Pearson Educación, pp 744.
4. Barboza J.E. y Vázquez H. (2004) "Probióticos y conservadores naturales en alimentos". Acta Universitaria, 14(3):32-38.
5. Belitz. (2009). "Química de los alimentos". España. Editorial Acribia. pp 824.
6. Bóllela, V. (1999). "McFarland nephelometer as a simple to estimate the sensitivity of the polymerase chain reaction using Mycobacterium tuberculosis as a research tool". Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 32, 1073-1076.
7. C., I., & P., T. (2003). "Aditivos alimentarios". SEDCA, 1-10.
8. Carrillo, M. y Mondragón, F. (2011). "Estudio de vida útil del queso asadero". Revista salud pública y nutrición. 12(3).
9. Castro, G., Valbuena, E. (2009). "Comparación del empleo de nisina y cultivos de Lactococcus lactis sub. lactis. Para la biopreservación de queso blanco". Redalyc, 19(2), 201-209.



10. Ceballos, R. (2009). Manipulación de alimentos en los lácteos y derivados. España, Editorial Formación Alcalá.
11. Charley, Helen. (2012). "Tecnología de los alimentos: Procesos químicos y físicos en la preparación de alimentos". México: Limusa, pp 767.
12. Charm, S. (2007). "Food engineering applied to accommodate foods regulations quality and testing". Alimentos, ciencia e ingeniería 16(1):5-8.
13. Coímbra, J., Teixeira, J.A. (2010). "Engineering Aspects of milk and dairy products". Ed. CRC Press Taylor and Francis Group.
14. Cotter, P. (2005). "Bacteriocins: Developing innate immunity for food". Nature Reviews. 3:777-787.
15. Cubero, N., y Monferrer, A. (2002). "Aditivos alimentarios". España: Mundi prensa.
16. Draughon, F. (2004). "Use of botanical as biopreservatives in foods" Food technology. 59(2):20-28.
17. Dolores, P. (2011). "Producción de nisina por Lactococcus lactis UQ2 usando suero lacteo suplementado y Evaluación de su actividad despues del secado por aspersion". *ciencia*, 2, 47-55.
18. Doyle, M., Beuchat, L., Monville, T. (2001). "Microbiología de los alimentos: Fundamentos y fronteras". España, Editorial Acribia. pp 816.
19. Escudero, B.I. (2002). "Bacteriocinas de bacterias lácticas: biosíntesis y transporte. Revista de educación bioquímica". 21(1):12-20.
20. FAO. "Manual sobre el uso de lactoperoxidasa en la manipulación y conservación de la leche". Roma, Italia.



21. FAO. (2012). "Prevención de la *E. coli* en los alimentos". pp 10.
22. Frank, J.F. (1997) Milk and Dairy products. Food Microbiology. 101-116
23. Freixanec, L. (2010). Aditivos e ingredientes en la fabricación de productos cárnicos cocidos de musculo entero. Metalquimica.
24. Garcia, L., & Aguilar, A. (2005). La globalizacion productiva de la leche y sus derivados lacteos. México: plaza y valdes.
25. Gardeau S. (2002). Two peptide bacteriocins produced by lactic acid bacteria. Biochimic. 84:577-582.
26. Gil A. 2010. "Tratado de nutrición: Composición y calidad nutritiva de los alimentos. Madrid: Medica Panamericana.
27. González, G., Sánchez, B. y Vázquez, R. (2010). Calidad de la leche cruda. Primer foro de ganadería lechera en la zona lata de Veracruz. Universidad Veracruzana.
28. Gustavo, G. y colaboradores (2009)"Comparación del empleo de nisina y cultivos de *Lactococcus lactis* subsp *lactis* para la biopreservación de queso blanco" Redalyc, Vol. 19(2):201-209.
29. <http://www.codexalimentarius.org/>
30. <http://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/c06b5a78-f24c-4de1-9a0c-dbbcf4a4571f/88-026F.pdf?MOD=AJPERES>
31. <http://www.quiminet.com/articulos/el-lactato-de-calcio-en-la-alimentacion-2601627.htm>



32. http://www.siap.gob.mx/pdfjs/web/viewer.php?file=b_leche_abrjun2015.pdf
33. Ibáñez, C. y Torre, P. (2003). Aditivos alimentarios. SEDCA, 1-10.
34. Juárez, M. (2011). Manual 1. Buenas prácticas de ordeño. Guatemala. FAO.
35. Kirchner, F., Usami, C., Johan, Ir., Medina, J. (2010). Elaboración de productos lácteos. México: Trillas: SEP, PP 124.
36. Lara, I. (2012). D.O. España Quesos. España: (sic) idea y creación editorial, pp 255.
37. Luquet, F.M. (1993). Leche y productos lácteos. España. Editorial Acribia. pp 542.
38. Lucas, B.F. (2012). Toxicología de los alimentos. México. Instituto Nacional de Salud Pública.
39. Mahaut, M., Jeantet, R., Brulé, G. (2003). Introducción a la tecnología quesera. España: Acribia, pp 189.
40. Maldonado, R. (2007). Efecto de la incorporación de nisina sobre la supervivencia de *Staphylococcus aureus* en queso de mano. Fac. Agron(33), 147-163.
41. Montgomery, D. (1991). Probabilidad y estadística aplicadas a la ingeniería. México. Editorial Mc Graw Hill.
42. Necla, A. (2001). The effect of calcium and sodio lactate on growth from spores of *Bacillus cereus* and *Clostridium prefindes* in a "sous-vide" beef



- goulash under temperature abuse. International journal of food microbiology (63), 117-123.
43. NMX-F-742-COFOCALEC-2010. Sistema producto leche- Alimentos lácteos- Queso panela, Denominaciones, especificaciones y métodos de prueba.
44. NOM-155-SCFI-2011, Leche, denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba.
45. NOM-243-SSAI-2010, Productos y servicio. Leche, formula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.
46. Obregón, C. (2009). Métodos de conservación en cárnicos y lácteos. Revista Mundo Lácteo y Cárnico.
47. Ok-kyung, K., Mallory E. et. al. (2012). "Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against *Listeria monocytogenes* on frankfurters formulated with or without lactate/diacetate" meat science 92:533-537.
48. Parada. L. (2007) Bacteriocins from lactic acid bacteria: Purification, preparation and use by preservatives". Brazilian archives of biology and technology, 50(3):521-542.
49. Piña, D. (2011). Producción de nisina por *Lactococcus lactis* UQ2 usando suero lácteo suplementado y Evaluación de su actividad después del secado por aspersión. Ciencia, 2, 47-55.
50. Prescott, L. (2000). Microbiología. España. Editorial Mc. Graw-Hill.
51. Recuperado 10 de junio del 2015 www.sagarpa.com



52. Recuperado el 14 de junio del 2015 www.tecnoyalimentos.wordpress.com
53. Rivero, C. y González, B., (2001), “*Staphylococcus aureus* en queso blanco fresco y su relación con diferentes microorganismos indicadores de calidad sanitaria”, *Revista salud pública y nutrición*, 2(3):1-9.
54. Rodríguez, E. (2011). “Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas”. México. *Ra Ximhai* 7(1):153-170.
55. Romero, R. y Mestres, J. (2004). *Productos lácteos. Tecnología*. España. Editorial UPC.
56. Ronald, M. (2007). Efecto de la incorporación de nisina sobre la supervivencia de *Staphylococcus aureus* en queso de mano. *Fac. Agron(33)*, 147-163.
57. Salem, M. (2007). “Tratamiento con natamicina en un tratamiento de queratomitosis inducida mediante *Candida albicans* en conejos”, *Wets Indian Medical Journal*, 56(6):526.
58. Spreer, E. y Dignoes, O. (2000) “*Lactología industrial*”. España. Editorial Acribia. pp 617.
59. Spreer, E. (1991). “*Lactología industrial. Leche preparación y elaboración. Maquinas, instalaciones y aparatos*”. Productos lácteos. España: Acribia, pp 617.
60. Stainer R.Y. (1996). “*Microbiología*”. España. Editorial Reverte.



61. Valverde, J. (2007). "Efecto del lactato de sodio y calcio en las características físico-químicas y sensoriales de un producto de res listo para consumir". Escuela agrícola Panamericana El Zamorano Honduras, pp 27
62. Varnam, A; Sutherland, J (1998). "Leche y productos lácteos". España, editorial Acribia, pp 476.
63. Villegas, A. (2010). "Calidad de la leche cruda". México, editorial Trillas, pp 96.
64. Villegas, A. (2012). "Tecnología quesera". México, editorial Trillas, PP 405.
65. Yescas, C. (2013). "Quesos mexicanos". México, editorial Larousse, pp 128.
66. Yumar, E. (2012). "Inhibición de *Echerichia coli* aislada de leche de vaca con mastitis utilizando extractos acuosos de hojas de Neem en Valledupar Colombia". Revista colombiana de microbiología tropical. Vol. 2(2):22-34