

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

**DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE
ALIMENTOS**



**"CUENTA TOTAL MICROBIOLÓGICA EN QUESO DE
CABRAS EN AGOSTADERO"**

Por:

CLAUDIA MARIN YAÑEZ

TESIS

**Presentada como Requisito Parcial para obtener el título de:
INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Diciembre de 2010

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

"ANTONIO NARRO"

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

"CUENTA TOTAL MICROBIOLÓGICA EN QUESO DE CABRAS EN AGOSTADERO"

TESIS:

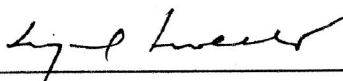
Que se somete a consideración del Jurado examinador como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Presentada por:

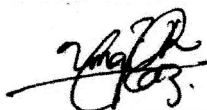
CLAUDIA MARÍN YAÑEZ

APROBADA:

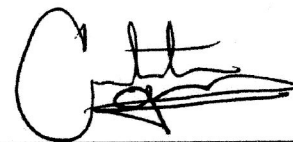


Dr. MIGUEL MELLADO BOSQUE

Presidente del Jurado



Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez
Sinodal



Dr. Antonio Aguilera Carbó
Sinodal



MC. Lorenzo Suárez García

Coordinador Interino de la División de Ciencia Animal

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Diciembre 2010

Universidad Autónoma Agraria
"ANTONIO NARRO"



COORDINACION DE
CIENCIA ANIMAL

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a dios por darme la fortaleza para terminar satisfactoriamente mis estudios y por concluir esta etapa de mi vida.

A mi Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por formarme y brindarme enseñanza y educación.

A mi asesor principal Dr. Miguel Mellado del Bosque, por su infinita paciencia y su ayuda para concluir con este trabajo, por confiar en mí, pero sobre todo por la amistad brindada.

A la Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez por su asesoría, ayuda y paciencia, por que sin su ayuda no hubiera podido concluir con el presente trabajo.

A Laura Maricela Lara por su inmensa paciencia, ayuda, consejos y por la amistad que me brindo durante todo este tiempo, por que ella es una de las muchas personas que quiero y estimo.

A mis maestros del departamento de Alimentos, Dra. Lourdes Caballero, M.C María Hernández Gonzales, M.C. Xochilt Rúelas Chacón, Dr. Antonio Aguilera Carbó, QFB. Oscar Noé Reboloso, por ayudar a mi formación y por ser una fuente de inspiración para el perfeccionamiento profesional y el enriquecimiento de experiencias gratas.

A mis compañeros de la carrear y amigos (Juan Castro, Ana Lilia Rodríguez, Ivon Luna, Candelaria Molina, Ana Lilia Velázquez, Lorena Pedraza, Paul Gómez, Elvia Sampayo) porque gracias a ellos que fungieron como una fuente importante para seguir adelante con mi carrera, gracias a todos, los quiero.

DEDICATORIA

Agradezco a mis padres:

Carlos Marín Palacios

Florentina Yáñez Alonso

Como un testimonio de gratitud por haber significado la inspiración que necesitaba para concluir mi carrera profesional, prometiendo superación y éxito sin fin, Gracias por confiar en mí y por estar siempre a mi lado apoyándome en todo momento “los amo”.

A mis hermanos con amor y mucho cariño porque son una fuente de inspiración y porque gracias al apoyo incondicional no desistí y pude concluir mi carrera profesional.

Mayte Marín, Luis A. Marín, Lorena Marín y Carolina Marín

Gracias dios, porque me diste la familia que toda persona puede desear.

Con mucho amor, cariño y respeto a mi novio José Gpe. Luna por el apoyo, comprensión y amistad que me brindo durante toda la carrera pero sobre todo porque fue la inspiración para cumplir mis metas. Gracia por estar siempre a mi lado te amo mi niño.

Con amor a mis Abuelitos

Teresa Alonso Paredes

Merced Yáñez Albarillo

Faustina Palacios Mendoza

Gracias a sus consejos, amor y algunas veces regaños porque con su ayuda pude lograr satisfactoriamente la carrera profesional.

Con respeto y admiración a Alejandro Martínez porque gracias a su amistad, consejos y apoyo brindado logre una más de mis metas, Gracias Ale.

Con cariño a mi familia en general por el apoyo incondicional brindado durante todos estos años.

Con cariño y amor a la familia Reyes Dávila, Reyes Vázquez, Gaytan Sánchez y familia Covarrubias Morales porque gracias a su amistad, apoyo durante mi estancia en la escuela pude lograr mi objetivo.

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto del estadio de la lactancia de cabras mestizas (cabras criollas x cabras lecheras) en agostadero sobre el conteo de microorganismos totales que existen en el queso de cabra elaborados con leche “fresca” sin pasteurizar. Se colectaron muestras de quesos obtenidos en agosto, septiembre y octubre (segundo, tercero y cuarto mes de lactancia; la lactancia de estas cabras dura 5 meses), las cuales fueron sometidas al conteo microbiano utilizando la técnica cuenta total de microorganismos.

El conteo microbiano de los quesos fue de 1, 120,000, 640,000, y 470,000 UFC/ ml diluidas a 10^{-4} para agosto, septiembre y octubre, respectivamente, no existiendo diferencia significativa entre muestreos. Las características de los quesos en estos meses fueron iguales a las de un queso fresco. Las bacterias detectadas en los quesos fueron cocobacilos Gram- y + y bacilos Gram - y +. Se concluyó que la estación del año (estadio de lactancia) no influye en la carga microbiana de los quesos de leche de cabras elaborados artesanalmente, en sistemas de producción de cabras característicos de las zonas áridas de México. Se considera que los conteos microbianos y las bacterias encontradas en estos quesos no constituyen un riesgo para la salud de los humanos.

Palabras clave: Queso de cabra, Cuenta total microbiana, Bacterias lácticas.

INDICE DE CONTENIDO

Resumen.....	<i>vi</i>
Índice de Figuras.....	<i>x</i>
Índice de Cuadros.....	<i>xi</i>
I. INTRODUCCION.....	1
1.1. Importancia de la leche de cabra	2
1.1.1 Entidades federativas con mayor produccion de leche de cabra.....	2
1.2. Hipotesis.....	3
1.3. Objetivos	3
1.4. Descripcion del area experimental	3
1.4.1. Clima	4
1.4.2 .Suelos	4
1.5. Periodo de muestreo	5
1.6.Ordeña de las cabras y elaboracion de los quesos	5
1.6.1. Procedimiento para la optencion de la leche	5
1.6.2. Proceso para elaboracion del queso de cabra	6
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	7
2.1. Generalidades del proceso de la leche de cabra	7
2.2. Características de la leche de cabra	7
2.3. Estudio microbiologico de queso blanco curado leche de cabra	9
2.4. Caracterización de lactococci y lactobacilli aislados del queso de cabra ..	9

2.5. Calidad bacteriológica en quesos de cabra maduros, suaves	10
2.6. Características fisicoquímicas, microbiológicas, sensoriales, y principales minerales durante la maduración y almacenaje de queso artesanal	11
2.7. Composición microbiológica, compuestos volátiles y características sensoriales de quesos elaborados con leche de cabra	11
2.8. Efecto de la higiene en el cuajo y la definición de una cepa iniciadora sobre proteólisis, textura y propiedades sensoriales en queso de cabra.	12
2.9. Propiedades enterotoxigénicas de <i>Staphylococcus aureus</i> aislados en queso de cabra	13
2.10. Calidad microbiológica de la leche de cabra usada en la producción de queso artesanal	14
2.11. Evaluación bacteriológica de la leche y el queso de cabra.....	15
2.12. Calidad bacteriológica de la leche cruda de cabra	16
2.13. Calidad Sanitaria en queso artesanal tipo “telita”	17
2.14. Características microbiológicas de queso de cabra en diferentes estaciones	18
2.15. Composición microbiana incluyendo la incidencia de patógenos durante el tiempo de lactancia	18
2.16. Diagnóstico sanitario y tecnológico del proceso artesanal de queso fresco de cabra	19
2.17. Metodología típica para la elaboración del queso “fresco” de cabra	19
2.18. Norma Oficial Mexicana NOM-121-SSA1-1994 para quesos frescos ...	24

III. MATERIALES Y MÉTODOS.	26
3.1. Características del queso de prueba	26
3.2. Materiales utilizados para la evaluación de la muestra	26
3.3. Soluciones utilizadas para la evaluación de la muestra	27
3.4. Metodología para cuenta total e identificación de características microscópicas y macroscópicas	27
3.4.1. Preparación de agar Nutritivo	27
3.4.2. Esterilización de material	28
3.4.3. Llenado de cajas petri.....	28
3.4.4. Peso de muestra (queso de cabra)	29
3.4.5. Maceración del queso de cabra	29
3.4.6. Dilución del queso de cabra	30
3.4.7. Siembra	31
3.4.8. Incubación de microorganismos en cajas petri.....	31
3.4.9. Cuenta total de microorganismos	32
3.4.10. Identificación de características macroscópicas	32
3.4.11. Aislamiento de microorganismos	33
3.4.12. Tinción de Gram.	34
3.4.13. Identificación de características microscópicas	35
3.4.14. Resiembra.	36

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	37
4.1. Cuenta total microbiologica en queso de cabra.....	39
4.2. Representación grafica de la cuenta total de bacterias en queso de cabra.	40
4.3. Resultados de características macroscopicas	40
4.4. Características microscopicas en queso "fresco" de cabra	42
V. CONCLUSIÓN.	43
VI. LITERATURA CITADA	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. No.	Pág.
3.1. Pesaje y preparacion de agar nutritivo	28
3.2. Esterilización de material	28
3.3. Llenado de ajas petri con agar nutritivo	29
3.4. Cortado y pesado del queso de cabra	29
3.5.Maceración y mezclado del queso de cabra	30
3.6. Dilución del queso de cabra.....	30
3.7. Siembra de las diluciones	31
3.8. Incubación de las cajas petri.....	32
3.9. Equipo utilizado para el conteo e colonias	32

3.10. Identificación macroscópica	33
3.11. Siembra estría abierta cruzada	33
3.12. Tincion de Gram.	35
3.13. Características microscópicas	35
3.14. Diferencia entre celula gram + y gram -.	36
4.1. Representacion del conteo total de bacterias en queso de cabra	40

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro No.	Pág.
1.1. Número de cabras en los estados con mayor población.....	1
2.1. Composicion de la leche de cabra	7
2.2. Comparacion de la leche de cabra y la leche de vaca	8
3.1. Composición del Agar Nutritivo.....	27
4.1. Características Macroscopicas del queso fresco de cabra	41
4.2. Características microscopicas en queso “fresco” de Cabra	42

I. INTRODUCCIÓN

Las cabras son animales rumiantes que se alimentan principalmente de forrajes, particularmente en condiciones de agostadero. Es importante mencionar que la alimentación de estos animales varía dependiendo del tipo y finalidad productiva, así como del sistema de explotación en que se encuentren.

La mayoría de los productores de cabras en zonas áridas del norte de México se dedican a conducir sus cabras al pastoreo diariamente, sin recibir los animales complemento alimenticio alguno.

Según las últimas estimaciones del Sistema de Información Agrícola y Pesquera de SAGARPA (SIAP, 2008), en México hay una población de 8, 870,312 cabras; de ellas el 87% se ubica en el área rural, en las regiones áridas y semiáridas, sitios donde se explotan el mayor número de hatos de cabras (Cuadro 1.1). Cinco son los estados de mayor importancia por la cantidad de caprinos: Oaxaca, Coahuila, San Luis Potosí, Puebla y Nuevo León, que en conjunto contribuyen con el 47% del inventario nacional. Por otro lado, la región norte-centro aporta aproximadamente el 45% de la producción nacional de leche de cabra (DGEA, 1989).

Cuadro 1.1. Número de cabras en los estados con mayor población de esta especie. (Censo agropecuario 1991)

Estado	Nº de cabras	Nº de cabras (%)	Nº de cabras (% acumulado)
Oaxaca	951,776	10.9	10.9
Coahuila	949,178	10.7	21.6
San Luis Potosí	854,867	9.7	31.3
Puebla	730,771	8.3	39.6
Nuevo León	688,282	7.8	47.4

1.1 importancia de la leche de cabra

La leche de cabra es la segunda más producida en México, pero a diferencia de la leche de vaca, la leche caprina es principalmente transformada en queso o cajeta. En México, la leche de cabra como tal, es poco apreciada por los consumidores, debido a su sabor y olor característicos, pero existen otras opciones para la diversificación de productos. El yogurt y los helados son alimentos lácteos de probada aceptación. En algunos países se ha empleado la leche de cabra para la fabricación de yogurt, helados y jabones, donde no sólo han sido altamente aceptados, sino que se han generado productos con valor agregado debido a las características especiales de la leche caprina.

1.1.1 Las entidades federativas de México con mayor población caprina son:

Las entidades federativas con mayor población caprina en México, es Puebla con el 15.4 % de la población total nacional, Oaxaca con el 12%, San Luís Potosí con el 10.5%, Guerrero con el 7.9% y Zacatecas con el 6.1% (SAGARPA 2010). Las cabras en México producen anualmente 42,859 toneladas de carne y 163.6 millones de litros de leche. Dentro de los Estados más productores de leche, sobresalen Coahuila con el 37.2 % del total nacional, Durango 21%, Guanajuato 16.8%, Nuevo León 9.9%, Jalisco 3.7% y Zacatecas 3.2 % (SAGARPA 2010).

Dado que Coahuila aporta la mayor cantidad de leche de cabra al país, y que la mayor parte de esta leche se destina a la fabricación de quesos, es importante caracterizar la calidad de estos productos. Uno de los rubros a caracterizar, por su importancia zoonótica, es la presencia de microorganismos en los quesos artesanales de cabra. Lo anterior tiene relevancia porque los quesos artesanales de cabra se elaboran con leche “fresca”, sin pasteurizar. Por lo anterior, se consideró pertinente establecer el conteo bacteriano de quesos

artesanales elaborados con leche de cabra, en diferentes etapas de la lactancia de las cabras mantenidas en agostadero.

1.2. Hipótesis

La estación del año afecta la cuenta total microbiológica en quesos de cabra elaborados artesanalmente (con leche sin pasteurizar producida en condiciones de agostadero).

1.3 Objetivos

El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto del estadio de la lactancia sobre el conteo de microorganismos totales que existen en el queso de cabra “fresca” elaborado con leche sin pasteurizar.

1.4. Descripción del área experimental

El presente estudio se realizó en el ejido Jaguey de Ferniza, Municipio de Saltillo, Coahuila. Este se ubica en los 25° 11' 47" latitud Norte y 100° 55' 21" longitud Oeste (INEGI, 2000), a 24 km de la ciudad de Saltillo, Coahuila. La altitud del terreno presenta variaciones entre 2040 a 2450 msnm, existiendo valles y lomeríos. La sierra “El Tapanquillo” es la parte más alta con 2850 msnm y la más baja el poblado del Ejido Jaguey de Ferniza con 2230 msnm (CETENAL 1976).

El tipo de vegetación predominante a nivel macro es: Bpi-Mli, cuya clasificación comprende: bosque (B), pastizal inducido (pi), chaparral (MI), y matorral inerme (i), (CETENAL, 1976). Así mismo, a nivel de micro ambiente, el tipo de vegetación se caracteriza como matorral parvifoio inerme, donde la especie predominante es la gobernadora

(*Larrea tridentata*). Otros arbustos comunes en esta área son: ocotillo (*Fouquieria splendens*), mezquite (*Prosopis glandulosa*), huisache (*Acacia farnesiana*), mariola (*Parthenium incanum*), hojases (*Flourensia cernua*) y lechuguilla (*Agave lechuguilla* Torr.).

Las gramíneas más abundantes son: navajita azul (*Bouteloua gracilis*), zacate tres barbas (*Aristida arizonica*), zacate arenero (*Muhlenbergia arenicola*) y zacate búfalo (*Buchloe dactyloides*). Las herbáceas predominantes son: hierba del negro (*Sphaeralcea angustifolia*), hierba del mediodía (*Sida abutilifolia*), hierba del gato (*Croton dioicus*) y trompillo (*Solanum elaeagnifolium*)

1.4.1 Clima

Las características del clima en la región según Köppen modificado por García (1973) son: clima C x' b (e) g. Cuya descripción es la siguiente: clima templado sub húmedo, con lluvias escasas todo el año, verano fresco, largo y muy extremoso. Por otro lado, Mendoza (1984) hace mención que para esta región la temperatura media anual es de 13.4° C, con lluvias en verano principalmente en julio y agosto, cuyo promedio es de 320 mm en los últimos diez años. El periodo de heladas se presenta entre octubre y abril, así mismo, las temperaturas más bajas son en enero, aproximadamente 12° C (promedio diario). Junio se considera como el mes más caluroso, con temperaturas máximas de 34° C, media de 18.1° C y mínima de 10.4° C; la evaporación promedio es de 200 mm/mes; la humedad relativa es de 60% y ocasionalmente de 70 %, con vientos predominantes del sureste.

1.4.2. Suelos

Son tipo siete, para uso exclusivo forestal o pecuario en forma limitada, de acuerdo a la clasificación FAO/UNESCO, modificada por (CETENAL, 1976), con clave E + Hc / 2, cuyo significado es: E= Rendzina; Hc= feozem calcárico y 2= clase textural media, con fase física=petro cálcica y geológica= suelos aluviales (CETENAL, 1976)

1.5. Períodos de muestreo

Los muestreos de los quesos se realizaron en tres épocas del año: agosto, septiembre, y octubre. Al inicio del estudio las cabras se encontraban en su segundo mes de lactancia, y dado que la lactancia de las cabras en esta zona es de 5 meses, el periodo de muestreo correspondió a la mitad y fase final de la lactancia.

1.6. Ordeña de las cabras y elaboración de los quesos

El ordeño de las cabras se hacía en el mismo corral, se empezaba a partir de las 6:00 de la mañana, y la recolección se hacía en una cubeta de acero inoxidable.

1.6.1. Procedimiento para la obtención de leche:

- Se identifica la cabra a ordeñar.
- Se dan golpes suaves en las ubres de la cabra para sacudir el estiércol que pudiera tener.
- Se hace la ordeña (la temperatura inicial 29°C) y se recolecta en cubeta de 5 L.
- Ya terminada la ordeña, la leche se pone en una cubeta de 20 L para ser filtrada con un paño limpio.

1.6.2. Proceso para la elaboración del queso de cabra

- Ya obtenido el producto en la cubeta de 20 L y filtrado se agrega el cuajo (95- 100 ml por cada 20L de leche).
- Se deja reposar la leche (previamente agregado el cuajo) de 40 min a 1 hora para cuajar.
- Después del reposo, la leche se somete a fuego lento hasta llegar a una temperatura de 36 °C.
- Al estar sometiéndolo a fuego lento se compacta la cuajada con las manos para poder unirla.
- La proteína insoluble o cuajada se pone en un molde (aro) y se compacta con las manos, para darle forma al queso.
- Ya elaborado el queso, éste se almacena en una mesa cubierto con un paño para su venta (debido a que las temperaturas en el lugar donde se fabrican los quesos no son muy calientes no hay necesidad de someterlos a refrigeración).

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Generalidades del proceso de la leche de cabra

De los productos que se pueden obtener de la actividad solamente se consideran la producción de leche y queso, por ser los dos productos de interés para la presente investigación

2.2. Características de la leche de cabra

La cabra es el animal que produce mayor cantidad de leche, proteína y grasa por unidad de peso vivo, y su leche es un fluido compuesto de grasa, lactosa, proteínas, vitaminas y minerales disueltos en agua; la proporción de lactosa es mayor que otras leches de mamíferos, y el nivel de colesterol es menor; es un producto muy digestible. Después del parto de la cabra, el primer líquido que sale de la ubre constituye el calostro y sirve únicamente para alimentar a la cría; no se utiliza para el consumo humano, después de 3 a 5 días ya reúne las características propias de la leche. En el cuadro 2.1 se muestra la composición de la leche de cabra y en el cuadro 2.2 se hace una comparación de la leche de cabra y de vaca.

Cuadro 2.1 Composición de la Leche de Cabra

Componente	Composición g/kg
Agua	856-890
Lactosa	40-50
Grasa	35-50
Proteína	28-35
Sales minerales	07-09

Fuente: Valdez Silva R.2001, Problemática y oportunidades de la caprinocultura y ovinocultura en la región sureste del estado de Coahuila, FOFAEC-UAAAN

Cuadro 2.2. Comparación de la leche de cabra y la leche de vaca.

	cabra	vaca
Rendimiento (litros)	500- 1000	3500 - 5000
Materia seca (g)	115 – 130	115 - 130
Lactosa %	40 – 50	45 - 50
Nitrógeno %	28 – 35	30 - 35
Grasa %	30 – 38	35 – 40
Minerales %	7 – 9	7 - 9

Ohiokpehai, 2003.

En general, en México gran parte de la producción de leche de cabra se destina a la elaboración de quesos. A diferencia de la leche de vaca, la leche de cabra carece o tiene niveles muy bajos de beta caroteno de ahí la coloración blanca de esta leche, y por consiguiente, de su queso. El aroma y sabor de los quesos maduros de la leche de cabra es característico y muy apreciado, detectándose la presencia de cantidades importantes de ácidos grasos de cadena corta, liberados por la acción de lipasas.

En algunos países se elaboran productos coagulados las proteínas del suero con o sin la adición de leche descremada, suero de mantequilla o leche entera, para mejorar la consistencia y las características sensoriales. A partir del suero de la leche de cabra se elabora el requesón el cual se caracteriza por ser un queso que no es madurado y de alta humedad, además es versátil a la hora de consumirlo, destinado a consumo directo o como ingredientes de preparaciones culinarias.

Los quesos de cabra corresponden a quesos sin fermentación o con fermentación láctica natural que se consumen frescos o en un periodo de 15 a 20 días. El consumo de queso fresco de leche de cabra sin pasteurizar ha sido asociado con la principal causa de brucelosis. Asociación que ha perjudicado esta actividad.

2.3. Estudio microbiológico de queso blanco curado elaborado con leche de cabra.

La microflora de un queso blanco curado, hecho de la leche cruda de cabra fue estudiada por Litopoulou-Tzanetaki *et al.* (1992) durante un periodo de maduración de 90 días. Las altas cuentas de bacterias aerobias, las bacterias de ácido láctico, psychrotrophs, proteolíticas y bacterias lipolíticas fueron registradas en el queso maduro. Después de 15 días de maduración, las bacterias productoras de ácido láctico predominaron. Bajos niveles de pH (4.5) y alto contenido de NaCl (la concentración de salmuera era de 5.8- 6.2 %) después de 75 días afectó el crecimiento de la mayoría de los grupos microbianos, lo que resultó en cuentas muy bajas hasta por 3 meses. *Leuconostocs* son el grupo que con más frecuencia se encontró en la cuajada, *lactococci* dominó por 15 días y después de este lactobacillo predominó otra bacteria productora de de ácido láctico. *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* y *enterococcus faecium* son las especies predominantes.

2.4. Caracterización de *lactococci* y *lactobacilli* aislados de queso de cabra semimaduros

Varias cepas de *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus plantarum* aisladas del queso tradicional de las cabras, fueron estudiadas para la acidez titulable, proteólisis en la leche y actividad enzimática, por Requena *et al.* (1991). La actividad de

aminopeptidos fue medida con células enteras y células permeables con Triton X-100. La actividad caseinolítica fue investigada usando la electroforesis en el gel poliacrilamida con dodecyl sulfato de sodio. *L. lactis subsp. lactis* presento un nivel de actividad proteolítica en la leche desnatada mayor que la de *L. casei*, mientras esta actividad en *L. plantarum* fue muy bajo. La actividad de alanina aminopeptidasa fue casi inexistente para todas las cepas probadas, mientras que la actividad de lisina aminopeptidasa apareció ser de origen fundamentalmente intracelular. La actividad de leucina aminopeptidasa fue también mayor en las células que habían sido permeabilizadas que en células enteras para la *L. casei* y *L. plantarum*. *L. lactis subsp. lactis*. La actividad de leucina aminopeptidasa fue mayor en células enteras. Ninguna hidrólisis significativa de caseína fue encontrada con *L. casei* I FPL 725 y *L. plantarum* IFPL 722 permeabilizado con Triton X-100 después de 24 h de incubación con caseína entera bovina.

2.5. Calidad bacteriológica en quesos de cabra maduros, suaves o semi suaves obtenidos de granjas de cabras lecheras

La calidad bacteriológica de 198 quesos de cabra maduros, suaves o semi suaves obtenidos de granjas de cabras lecheras y el comercio minorista fue investigado en Suecia por Thaml *et al.*, 1990). Los quesos fueron examinados para determinar las cuentas totales de bacteria aeróbica, bacteria coliforme (37 y 44 °C, respectivamente), *Enterococcus*, *Staphylococcus coagulasa positiva*, *Bacillus cereus* y *Clostridium perfringens*. Los quesos obtenidos de granjas de ganado lechero también fueron evaluados para el potencial de hidrógeno. En términos de todas las pruebas, los quesos hechos de leche tratada por calor con cultivos tenían las mejores perspectivas para alcanzar los criterios "apto para el consumo". Los quesos hechos de leche cruda sin cultivo de inicio fue el grupo más insatisfactorio desde un punto de vista de higiene de alimentos.

2.6. Características fisicoquímicas, microbiológicas, sensoriales, y los principales minerales durante la maduración y el almacenaje de quesos artesanal de cabra Xinotyri

En un estudio de Bontinis *et al.* (2008) se evaluaron las características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales, evolución de lipólisis midiendo el valor de grado ácido (ADV) y los principales minerales durante la maduración y el almacenaje de quesos artesanal de cabra Xinotyri. Los quesos se caracterizaron por un alto contenido de sólidos total (TS; 83 %) y grasa (59% de TS), y un pH muy bajo (4.0), actividad acuosa (0.87) y la humedad (17 %). La proteína y el contenido de sal al final de almacenaje eran de 31% y 2.8%, respectivamente. La lipólisis aumentó durante el proceso de maduración; lo mismo ocurrió con Ca, P, Mg y Zn durante la maduración y el almacenaje. Los quesos estuvieron libres de *Salmonella* y *Listeria*, mientras que el contenido de *Enterobacteria*, *Pseudomonas*, y *Staphylococcus* coagulase-positivo fue de <100 ufc/g. Bacterias mesofílicas de ácido láctico aumentaron por arriba de 8 log UFC/g antes del día 6, pero disminuyeron 2-3 log en queso madurado (45 días) y de 3-4 log durante el almacenaje de queso a 4°C durante 180 días.

2.7. Composición microbiológica, compuestos volátiles y características sensoriales de quesos de leche de cabra semiduros en Italia

Di Cagno *et al.* (2007) estudiaron cuatro quesos de leche de cabra semiduros en Italia: Flor di Capra (FC), Caprino di Cavalese (CC), Caprino di Valsassina (CV) y Capritilla (C). Estos fueron comparados para el perfil de nutrientes, microbiológico, compuestos volátiles y características sensoriales. Entre ellos Hubo una variación de valores para la composición de los quesos. Al final de la maduración, los quesos contuvieron 7.98-8.51 log₁₀ UFC/g de no bacteria de ácido

láctico no iniciadoras de la fermentación. *Lactobacillus paracasei*, *L. casei* y *L. plantarum* fueron dominantes en casi todos los quesos. Un total de 72 componentes volátiles fueron identificados por la extracción de destilación de vapor seguida de la espectrometría de gas de masas de cromatografía. Los ácidos grasos libres y ésteres cualitativamente y cuantitativamente indicaron diferencias entre los quesos CV y CC. Las concentraciones más bajas de componentes volátiles se encontraron en el queso FC. El análisis descriptivo sensorial que usa 17 atributos de sabor fue realizado por un panel entrenado. Atributos de sabor diferentes distinguieron los 4 quesos y se encontraron correlaciones entre componentes volátiles y características bioquímicas y tecnologías aplicadas a su elaboración.

2.8. Efecto de la higiene en el cuajo y la definición de una cepa iniciadora sobre proteólisis, textura, y propiedades sensoriales de queso de cabra semi maduro

Higiene en pasta de cuajo (HRP) y una cepa iniciadora, incluyendo *Lactobacillus casei* subsp. *casei* IFPL como el adjunto, fue considerada para fabricar mayor cantidad de queso, una variedad española tradicional hecha de la leche de cabra. La influencia de ambos factores sobre características fisicoquímicas, proteólisis, propiedades reológicas y sensoriales, fue evaluada a través de la maduración. Los quesos producidos industrialmente (IL) o de manera artesanal (AL-) fueron comparados con la parte experimental (EL), que incluyó HRP y el iniciador IFPL en su fabricación. Los resultados mostraron un nivel bajo de proteólisis primario, expresado un contenido bajo de nitrógeno de no caseína (NCN), en quesos experimentales. A pesar de la textura ligeramente pobre (dura y desmenuzable) relacionado con alto contenido de TS y el contenido de sal, general mente una aceptabilidad buena fue lograda para EL (la parte experimental), con resultados mejores para el aroma e intensidades de sabor alcanzadas en 30 días de maduración. De hecho, el panel sensorial descubrió el sabor "picante" (típico de la

variedad de queso artesanal) en EL (parte experimental) después de 15 días de maduración.

2.9. Propiedades Enterotoxigenicas de *Staphylococcus aureus* aisladas de queso elaborado con leche de cabra

Akineden *et al.* (2008) analizaron quesos de leche de la cabra (n = 181) de un mercado de Alemania. Se determinó la presencia de *Staphylococcus (S). aureus*, y 14 fueron encontrados positivos. De estas muestras, se aislaron 64 *S. aureus* las cuales fueron caracterizadas bioquímicamente y genéticamente, incluyendo su potencial para producir enterotoxinas estafilocócicas (SE). SE fue estudiado por PCR y la expresión génica fue evaluada por transcriptasa reversiva (RT)-PCR. La producción de SEA-SEE fue determinada por inmuno ensayo enzimático (EIA). Se detectó un SEA en una de las muestras y se aislaron 18 (de 4 muestras) el SEC producido, mientras SEB, SED, Y SEE no fueron encontrados. La producción de toxinas era de acuerdo al PCR y los resultados de RT-PCR para la presencia y la expresión, respectivamente de los genes de la toxina correspondientes. Los genes de transacción-SE *seg*, *sei*, *selm*, *seln*, y *selo* fueron descubiertos en 14 porciones de 4 muestras de queso, exclusivamente como racimos. Estas muestras eran de los productores en pequeña escala que directamente o indirectamente llevan sus productos regionales al mercado. El aislamiento no fue positivo para *seh* o *sej*. RT-PCR detectó la presencia de mRNA correspondiente para todos los genes, excepto *selo*, confirmando la posibilidad de que proteínas respectivas realmente se produjeron en el cultivo. Los resultados de estos autores sugieren que *S. aureus* en el queso de leche de las cabras potencialmente producen proteínas parecidas a SE, además del SEA y SEC.

2.10. Calidad microbiológica de leche de cabra usada en pequeña escala para la producción de queso artesanal en Vermont: Efecto de características de granja y prácticas de manejo

En un estudio de D'Amico et al. (2010) se evaluó la calidad total de leche y prevalencia de 4 patógenos (*Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., y *Escherichia coli* O157:H7) en la leche cruda usada en pequeña escala para la elaboración artesanal de quesos en Vermont, USA. También se examinaron las características de las granjas y prácticas de manejo y su efecto sobre cuentas de célula bacterianas y somáticas (SCC). Muestras de leche crudas fueron recogidas semanalmente de 21 operaciones de queso artesanal (6 orgánicas) en el estado de Vermont que fabricaban queso de leche cruda de la vaca (12), de cabra (5), o la oveja (4). Muestras individuales fueron examinadas para la cuenta de placa estándar (SPC), cuenta de coliformes (CC), y SCC. Las muestras también fueron evaluadas para patógenos particulares tanto cuantitativamente como cualitativamente por observación directa y PCR. En general, el 86 % de las muestras tenía SPC <10,000 ufc/mL, con el 42% <1,000 ufc/mL. Además, el 68% de las muestras probadas estaba dentro de las normas de leche pasteurizada para coliformes, bajo las normas de los Estados Unidos para leche pasteurizada (<10 cfu/mL). Log₁₀ SPC y CC no difirieron considerablemente entre especies. Asimismo, el método de entrega de la muestra (embarcado o recogido), el tipo de granja (orgánica o convencional), y la duración del ordeño (durante todo el año o estacional) no fueron diferentes para log₁₀ SPC, CC, o SCC. Se observaron correlaciones altas positivas entre el tamaño del hato y log₁₀ SPC, y entre log₁₀ SPC y CC así como SCC cuando los datos de toda las especie de animales fueron combinados. Aunque SCC para la leche de vaca fue considerablemente inferior a los de la cabra y oveja, 98, 71, y el 92 % de la leche de vaca, oveja, y cabra

estuvieron dentro de los estándares de la norma de los Estados Unidos. Catorce de las 21 granjas (el 67%) resultaron positivas para *S. aureus*, descubiertas en el 38 % de muestras en un nivel medio de 20 cfu/mL. Ningún *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7, o la *Salmonella* spp. fue descubierto en cualquiera de las 101 muestras probadas. Los resultados de estos autores indican que la mayoría de la leche cruda producida para la elaboración de queso artesano en pequeña escala era de alta calidad microbiológica sin presencia de patógenos, a pesar del muestreo repetido de las granjas.

2.11. Evaluación bacteriológica de la leche y queso de cabra distribuido en el área metropolitana de San José, Costa Rica.

Araya *et al.* (2008) indican que en los últimos años, se ha dado en Costa Rica y a nivel mundial, una creciente producción, industrialización y consumo de leche de cabra y sus derivados. No obstante, a nivel nacional no se ha realizado una caracterización de estos, por lo que el objetivo de este estudio fue determinar las características microbiológicas de la leche y el queso fresco de cabra que se distribuye en el área metropolitana de San José, Costa Rica, y así evaluar su potencial impacto en el plano económico y a nivel de salud pública. Se analizó un total de 25 muestras de leche cruda de cabra obtenida por ordeña manual y proveniente de cinco explotaciones diferentes, analizados en cinco fechas diferentes y 15 muestras de queso de cabra elaborado con leche pasteurizada, provenientes de tres productores costarricenses que distribuyen el queso comercialmente y también analizados en cinco épocas distintas. El estudio abarcó el análisis de microorganismos de deterioro (bacterias aerobias mesófilas y bacterias lácticas), indicadores de higiene (coliformes totales), de contaminación fecal (coliformes fecales), de manipulación (*Staphylococcus aureus*) y patógenos (*Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp.). Los resultados para el recuento total aerobio mesófilo y de bacterias lácticas de las muestras de leche y queso resultaron elevados,

indicando una disminución en la vida útil del producto. En cuanto a coliformes totales, el 100% las muestras de leche presentaron recuentos que superaron los límites establecidos por la legislación para leche cruda de consumo humano costarricense, y el 76% presentó coliformes fecales. Contrario a lo anterior, todas las muestras de queso, excepto una, fueron negativas para coliformes totales y fecales, lo cual sugiere que el queso es elaborado bajo buenas prácticas higiénicas. Los recuentos obtenidos para *S. aureus* fueron relativamente bajos y no se logró aislar *Salmonella* spp. ni *Listeria monocytogenes* a partir de las muestras de leche y queso analizadas.

2.12. Calidad bacteriológica de la leche cruda de cabra producida en la parroquia Faría, municipio Miranda, estado Zulia, Venezuela.

García *et al.* (2009) indican que el tipo y número de bacterias en la leche a nivel de finca está asociado a condiciones de manejo higiénico de las unidades de producción y sanidad de los animales, afectando su calidad microbiológica. Con el objetivo de estudiar la calidad bacteriológica de leche cruda de cabra, producida en Zulia, Venezuela, estos autores colectaron 100 muestras a nivel de pezón, de 50 cabras pertenecientes a 10 unidades de producción, y 10 correspondientes al pool de cada unidad. En la leche del pezón se identificaron las bacterias presentes por pruebas bioquímicas. En el pool se determinaron conteos de aerobios mesófilos (AM), coliformes totales (CT), psicrófilos (PS), termófilos (TER) y termodúricos (TED) por los métodos de la APHA. También en estas muestras se identificaron, con pruebas bioquímicas, los coliformes presentes. Los géneros aislados del pezón fueron: *Staphylococcus* sp (54,84%) (*St. coagulasa* negativa (32,26%) y *St. aureus* (22,58%)), *Streptococcus* (22,58%) (*Streptococcus* spp (19,35%) y *Str. agalactiae* (3,23%)), *Micrococcus* (16,13%) y *Pseudomonas* (6,45%). Los recuentos promedios en el pool fueron: 1.8×10^7 , $8,3 \times 10^5$, 2.5×10^3 , 1.8×10^4 y

1.1×10^4 (ufc.mL⁻¹) para AM, CT, PS, TER y TED, respectivamente. Los coliformes encontrados fueron: *E. coli* (40%), *Enterobacter sakazakii* (25%), *Citrobacter* spp. (20%), *Enterobacter* spp. (10%) y *Klebsiela* (5%). Estos autores concluyeron que en la leche de cabra producida en Zulia, Venezuela, predominan especies asociadas a infecciones intramamarias, y elevados recuentos bacterianos, que evidencian una baja calidad bacteriológica de la leche, representando su uso en la elaboración de queso blanco fresco, a partir de la leche cruda, un riesgo para la salud pública.

2.13. Calidad sanitaria en queso artesanal tipo “telita”.

En un estudio de Rodríguez et al. (2009) se investigaron microorganismos indicadores de calidad sanitaria en queso artesanal tipo “telita” en el estado de Bolívar, Venezuela. Se analizaron 60 muestras y se investigaron estafilococos coagulasa positivos (*Staphylococcus aureus*) según la Norma Venezolana COVENIN 1292-89 como indicador de manipulación; bacterias coliformes según Norma Venezolana COVENIN 1104-96 y presencia de *Escherichia coli* como indicador de contaminación fecal. Todos los crecimientos bacterianos correspondieron a estafilococos coagulasa negativos con recuentos de hasta 10^4 diluciones decimales. Coliformes totales mostraron recuentos de hasta $\leq 10^5$ NMP/g y coliformes fecales en concentración $\leq 10^4$ NMP/g. *Escherichia coli* se presentó en 43.3% de los quesos. Se concluyó que el queso artesanal tipo “telita” que se expende en el estado de Bolívar, evidencia fallas en la manipulación e higiene posterior a su elaboración; y podría representar un alto riesgo microbiológico para el consumidor.

2.14 Características microbiológicas de queso de cabra Crottin hecho en diferentes estaciones

En un estudio de Tamagnini et al. (1996) en Argentina, se determinaron los perfiles generales de bacterias del queso Crottin, así como su variación con la estación del año. Los microorganismos que se determinaron fueron: mesofílicos, proteolíticos, halotolerantes, psicrotroficos, coliformes, levaduras y *Staphylococcus aureus*. La presencia de *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Yersinia enterocolitica* y pH y humedad también fueron analizados. *E. coli*, *Salmonella* spp. y *Y. enterocolitica* no fueron detectados. El queso elaborado en invierno presentó diferencias significativas en microorganismos mesofílicos, halotolerantes y psicrotroficos, así como levaduras entre quesos. Lo anterior no ocurrió en el verano, lo que indica que la estación modifica sustancialmente la población microbiana de estos quesos.

2.15. Composición microbiana, incluyendo la incidencia de patógenos de leche de cabra destinada a la fabricación de queso en Bérnago, Italia durante tiempo de lactancia

Foschino et al. (2002) llevó a cabo un estudio con 60 muestras de leche de cabra destinada a la fabricación de queso en Bergamo, Italia, durante 6 meses. Las fuentes de variación que se estudiaron fueron el origen de los quesos y el periodo de lactancia. Las variables que se determinaron fueron el conteo de células somáticas y pH, además del conteo bacteriano. El conteo fue como sigue: conteo estándar de placa 5.0×10^4 UFC/ml; levadura, 2.5×10^2 UFC/ml; coliformes, 9.1×10^2 UFC/ml; *Escherichia coli*, 2.9 células/ml; *Enterococci*, 1.1×10^2 UFC/ml; *Lactococci*, 3.4×10^3 UFC/ml; *Lactobacillus*, 3.0×10^3 UFC/ml; bacterias halotolerantes, 8.2×10^3 UFC/ml; esporas de bacterias aerobias

mesofílicas, 11 UFC/ml; SSC, 9.9×10^5 Células/ml; pH, 6.63. *Staphylococcus aureus* se detectó a un nivel $>10^2$ UFC/ml en 26 muestras (43%) con una media de 1.2×10^3 UFC/ml, mientras que *staphylococcus coagulasa* negativos se encontraron en 54 muestras (90%) con una media de 1.3×10^3 UFC/ml.

2.16. Diagnóstico Sanitario y Tecnológico del Proceso Artesanal del Queso Fresco de Cabra en Chile.

Camacho y Sierra (1988) realizaron un diagnóstico sanitario y tecnológico del proceso artesanal del queso fresco de cabra en Chile. Para ello, se tomaron muestras de leche, cuajada, cuajar, cuajo artesanal, agua y queso del 10% de las queserías rurales de dos localidades áridas en dos temporadas agrícolas. Además, se hicieron diluciones de los utensilios y de las ubres de las cabras. Las muestras se sometieron a análisis microbiológico de recuento de bacterias aerobias mesófilas, número más probable de coliformes totales y fecales, y detección de *Staphylococcus aureus* coagulasa (+), *Salmonella typhi* y *Brucella melitensis*. Se realizaron también análisis químicos proximales y determinaciones de cloruro de sodio y acidez en leche, queso, cuajada y cuajo. La leche de cabra fue objeto de un análisis de densidad. Estos autores encontraron que existen graves fallas sanitarias en todo el proceso de elaboración, aunque la mayor contaminación con bacterias ocurre durante el ordeño, seguido por las etapas de corte de la cuajada y llenado de moldes en las cuales hay excesiva manipulación y falta absoluta de higiene. No se encontró *B. melitensis* en la leche.

2.17. Metodología típica para elaboración de quesos “fresco” de cabra.

El quesillo o queso fresco de cabra es una de las tantas variedades de queso existentes, sus características son de queso no madurado y de alta humedad, además es versátil a la hora de consumirlo,

destinado a consumo directo o como ingrediente de preparaciones culinarias.

La elaboración de queso se basa en la coagulación de proteínas de la leche por la acción de cuajo, formando un gel uniforme de apariencia similar a un flan, que es cortado para eliminar cantidades reguladas de suero, para ser posteriormente salado, moldeado y prensado.

1. Recepción de materia prima

- Obtención de la leche de cabra proveniente de animales de genotipo indefinido (cruzas de razas lecheras y criollas) mantenidas en el agostadero.

2. Materiales

- Ollas de acero inoxidable, de diferentes tamaños.
- Pala para homogenizar la leche.
- Estufa de gas
- Mesa de trabajo
- Mesa desueradora
- Moldes
- Prensa
- Paños limpios
- Coladores
- Recipientes
- Termómetros (100°C mínimo)

3. Ingredientes

- Cuajo (rumen de cabrito seco)
- sal yodatada

4. Procesamiento

Recepción de la leche: la leche debe ser proveniente de la ordeña del día, en caso de contar con poca cantidad, pasteurizar la leche y

refrigerar a menos de 5°C para juntar con la producción del día siguiente.

La leche debe ser de características sensoriales normales (olor, color, apariencia en general), de animales sanos. Procurar realizar una ordeña lo mas inocua posible.

Medir la leche para calcular rendimientos.

Filtración: mediante el empleo de paños limpios, filtrar impurezas que puedan alterar el producto final, contaminando los quesos.

Pasteurización: calentar la leche a baño maría, a 65 °C por 30 minutos (pasteurización lenta) o 72 °C por 15 a 20 segundos (pasteurización rápida), no se recomiendan temperaturas más altas de pasteurización por un efecto en la calidad sensorial del queso. El objetivo es prolongar la vida útil de la leche. Esta etapa es de mucha importancia en al objetivo de obtener un producto inocuo para quien lo consuma.

Enfriamiento: terminada la pasteurización enfriar la leche hasta 35 – 27°C mediante rebalse de agua fría. Se recomienda enfriar a 32°C y mantener esta temperatura hasta el final del proceso.

Agregación de cloruro de calcio: debido al tratamiento térmico de pasteurización, la leche ha perdido calcio, y es por ello que agregamos cloruro de calcio, cuando la leche tenga una temperatura alrededor de 32°C, a razón de 2 gramos por cada 10 litros de leche. (0.2 gramos por litro de leche) con la agregación de cloruro de calcio facilitamos la coagulación, mejoramos el rendimiento y en definitiva la calidad final del queso.

Preparar el cloruro de calcio en una taza de agua hirviendo antes de ser agregado. Se debe agregar el cloruro de calcio unos 15 minutos antes de incorporar el cuajo, agitar por 2-3 minutos para distribuir bien.

Agregación del cuajo: el cuajo se puede obtener en el comercio en forma líquida o en polvo, o fabricar en forma casera utilizando el estomago de los cabritos lactantes.

Agregar 0.25 gramos (la punta de un cuchillo) de cuajo en polvo por cada 10 litros de leche a coagular.

Al agregar el cuajo a la leche se deberá agitar por unos 4-6 min para distribuir bien el cuajo.

El tiempo de coagulación debe ser cercano a los 45 minutos, evitar coagulaciones rápidas aumentando la temperatura del proceso ya que afectaran al producto final.

Esperar con la olla tapada el inicio de la coagulación. Este se determina de la siguiente manera:

- Dejar caer gotas de agua de una distancia pequeña, si se ha formado la cuajada, la gota se mantendrá individual y transparente en la superficie, si no se ha formado la cuajada se mezclara con la leche.

Para determinar el final de la coagulación se puede emplear los siguientes procedimientos, considerando que la practica y experiencia mejora la técnica:

- Presionar con el dedo en posición horizontal la cuajada al borde de la olla, presionando hacia el centro de la olla, si la cuajada se desprende sin dejar restos pegados en la pared de la olla, esta lista.
- Con un cuchillo hacer un corte en V, levantar el trozo con la punta del cuchillo, el corte debe ser nítido y la superficie brillante, dejando salir suero de aspecto semitransparente.
- Introducir un dedo en la cuajada en forma vertical y levantar hacia delante del dedo, la cuajada se debe cortar nítida y de superficie brillante para estar lista.

Corte de la cuajada: Para este efecto se puede contar con “liras” que son marcos metálicos con una maya de hilo de pescar separados a 2.5 o 3 cm de distancia. Debido a que la cuajada se encuentra en una olla y la forma circular de esta dificulta el empleo de liras, se recomienda cortar con un cuchillo plano, introduciéndolo hasta el fondo de la olla, cortando cada 2.5 o 3 cm horizontalmente hasta abarcar toda la superficie de la olla, luego cortar verticalmente a la misma distancia por toda la superficie de la olla, se observara un cuadrulado en la superficie de la cuajada. Dejar reposar unos 10 minutos.

Agitación: Los granos de cuajada liberaran suero lentamente, y a medida que esto ocurre los granos aumentaran su densidad volviéndose más pesados. Para que no se depositen en el fondo de la olla y formen una nueva cuajada afectando el desuerado, es que se debe agitar lentamente en un comienzo de manera de no afectar la velocidad de eliminación del suero, reteniendo la mayor cantidad de grasa posible.

Calentamiento de la cuajada: Los granos de cuajada que son agitados constantemente se deberán calentar, aumentando la temperatura del baño maría de 1 a 4° C (originalmente estaba a 32° C), para realizar el aumento de la temperatura se recomienda agregar con un jarro agua hirviente dentro del baño maría (no directo a los granos) agitar y medir la temperatura, cuidar de subir temperatura a una velocidad de 1° C por cada 3 minutos, no acelerar el proceso.

Desuerado: Se detiene la agitación, se espera que los granos se depositen en el fondo de la tina y por medio de un jarro se puede eliminar parte del suero, alrededor de 1/3 del volumen inicial de leche.

Moldeado: Se fabrican moldes de madera o de acero inoxidable, de forma de cajas con pequeñas perforaciones para facilitar eliminar pequeñas cantidades de suero.

Refrigeración: Almacenar el producto a temperaturas de refrigeración, no superiores a los 5° C, debido a que es un producto fresco y con la refrigeración se detiene cualquier fermentación o posible deterioro, su durabilidad es variable y depende de que tan riguroso se fue con la elaboración.

En las diferentes partes del país donde se produce queso de cabra, se siguen procesos tradicionales, propios de las regiones de producción, sin embargo todas tienen un proceso similar al anterior, ya que la materia prima y el proceso utilizado están destinados al mismo propósito, la producción de quesos frescos de leche de cabra.

2.18. Norma Oficial Mexicana NOM-121-SSA1-1994 para quesos “frescos”

La Norma Oficial Mexicana tiene como propósito, establecer las especificaciones sanitarias para los quesos frescos, con el fin de reducir los riesgos de transmisión de enfermedades causadas por alimentos, así como propiciar que se procesen productos de la calidad sanitaria para garantizar la salud del consumidor y la nutrición. Esta es de observancia obligatoria en el territorio nacional para las personas físicas o morales que se dedican al procesamiento de la leche para la producción de queso fresco.

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

- La leche de cabra o de otras especies animales o sus mezclas deben de estar libres de toda sustancia ajena a su composición y ser pasteurizada de acuerdo a lo establecido en esta norma. La pasteurización se define como el proceso al que es sometido el producto en una adecuada relación de temperatura y tiempo para destruir la flora bacteriana patógena y casi la totalidad de la flora banal.

- Los quesos son de consistencia entable hasta rebanable, de aroma y sabor característico sin olores y sabores ajenos.
- Los productos objeto de esta norma no deben rebasar 12 UFC/g de fosfata residual.
- Los productos objeto de esta norma deben estar exentos de materia extraña.
- En la etiqueta de los productos objeto de esta norma, debe figurar la leyenda “manténgase en refrigeración” o “consérvase en refrigeración”.
- Cuando en la elaboración de los productos objeto de esta norma se emplea leche de cabra, se indicara su origen.
- Debe figurar la leyenda “fecha de caducidad”.
- Se debe usar material resistente que ofrezca la protección adecuada a los empaques para impedir su deterioro exterior, a la vez que facilite su manipulación, almacenamiento y distribución.
- El transporte foráneo o local de los productos objeto de esta Norma Oficial deben ser en vehículos que cuenten con el sistema de refrigeración o material térmico adecuado que conserve los productos a una temperatura máxima de 7°C.
- La exhibición y venta de los quesos objeto de esta norma se permiten en locales que tengan las condiciones de higiene, limpieza y que cuente con un equipo de refrigeración para conservar el producto a la temperatura máxima de 7°C.

El procedimiento de fabricación de los quesos de cabra, esta muy lejos de cumplir con la NOM antes descrita, sin embargo, se estima que el 80 % de la producción se comercializa y tiene buena aceptación en las diferentes comunidades y en las áreas urbanas.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Características del queso de prueba

Se utilizaron quesos “frescos” obtenidos de leche de cabras mestizas sanas, elaborados con leche recién colectada, un día antes de evaluar la muestra, el peso promedio del queso “fresco” era de 400-600 g.

3.2. Materiales utilizados para la evaluación de la muestra

- Autoclave
- Mecheros
- Morteros
- Bascula
- Espátulas
- Cajas petri
- Micropipetas
- Termómetros
- Matraz erlenmeyer
- Microscopio
- Tapón de gasa
- Gorrito de papel
- Papel aluminio
- Pipetas
- Vaso de precipitado
- Refrigerador
- Estufa
- Azas
- Tubos con tapón
- Puntillas
- Probetas de 100 ml
- Porta objetos
- Cubre objetos
- Cuenta colonias
- Electroscopio

3.3. Soluciones utilizadas

- Agua esterilizada
- Agar nutritivo (AN)
- Solución cristal violeta
- Solución de lugol
- Solución de alcohol acetona
- Solución de safranina
- Aceite de inmersión

3.4 Metodología para la obtención de cuenta total de microorganismos e identificación de características macroscópicas y microscópicas

3.4.1. Preparación de agar nutritivo

Se utilizó agar nutritivo, por cada 20 g del mismo se agregaron 1000 ml de agua (se peso 6 g de agar se le agrego 300ml de agua), se agitó y se disolvió al calor (Fig.3.1), para posteriormente esterilizarlo.

Cuadro 3.1 composición del agar nutritivo

El agar nutritivo tiene la siguiente composición:

Extracto de levadura	2 g/l
Extracto de carne	1 g/l
Peptona	5 g/l
CINa	5 g/l
Agar	20 g/l
pH	7.4



Fig. 3.1. Pesaje y preparación del agar nutritivo.

3.4.2. Esterilización del material

Para esterilizar el material y las soluciones (agua y agar nutritivo) éstos se introdujeron en una autoclave esta se muestra en la figura 3.2 a 1 atm (121°C) por 15 minutos.

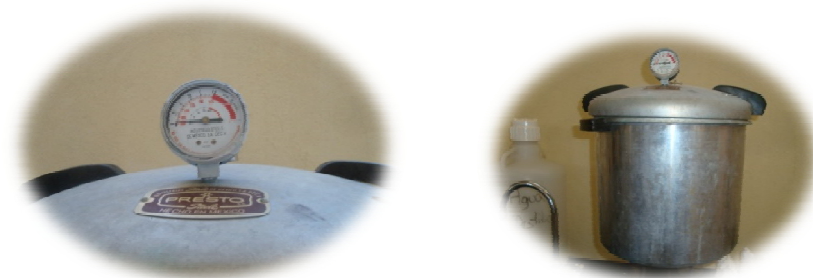


Fig. 3.2. Material de esterilización utilizado en el estudio.

3.4.3. Llenado de cajas petri.

Previamente esterilizado el agar nutritivo se llevó a cabo el llenado de cajas, a las cuales se les agrego aproximadamente 20 ml (Fig.3. 3).



Fig. 3.3. Llenado de cajas Petri con la solución agar nutritivo previamente esterilizado.

3.4.4. Peso de la muestra (queso de cabra)

Después de que el material y las soluciones estaban completamente estériles se procedió a pesar la muestra (queso completo) de esta muestra se recolectaron 10 g de cuatro diferentes partes del queso, para obtener muestras representativas (Fig.3. 4)



Fig. 3.4 cortado y pesado de muestra (queso fresco de cabra)

3.4.5. Maceración de la muestra (10 g de queso de cabra)

Ya obtenidos los 10 g de muestra se procedió a macerar ésta en un mortero previamente estéril.

Al estar macerando el queso se añadieron 90 ml de agua, se mezcló concienzudamente y se recolectó en un matraz erlenmeyer de 125 ml. (Fig.3. 5)

En esta etapa se llevó acabo una agitación del matraz con muestra.



Fig. 3.5. Maceración de muestra y mezclada en 90 ml de agua estéril.

3.4.6. Dilución de la muestra

Posteriormente se tomaron 1000 microlitros de la muestra con una micropipeta.

Se invirtió en un tubo de 10 ml los cuales contenían 7 mil de agua estéril.

Se agitó el tubo para tener una mezcla homogénea y de este tubo se pasaron 1000 microlitros a otro tubo y así consecutivamente hasta llegar al tubo 7 (fig.3.6) Identificar las cajas.



Fig.3. 6. Diluciones de la muestra (agregada con una micropipeta y disuelta en un tubo que contenía 7 ml de agua estéril)

3.4.7. Siembra

De cada tubo se agregaron 500 microlitros a una caja petri (esta caja contiene 20 ml de agar nutritivo)

La muestra se expandió con una varilla en forma de L. Todo este procedimiento se hizo lo más cercanamente posible a un mechero para evitar contaminación en la siembra (Fig.3. 7).



Fig. 3.7. Método de siembras de las diluciones de las muestras del queso.

3.4.8. Incubación

Se incubaron las cajas, respectivamente sembradas, en una estufa a una temperatura de 37 °C. Se incubaron por 24 horas. (Fig.3.8)

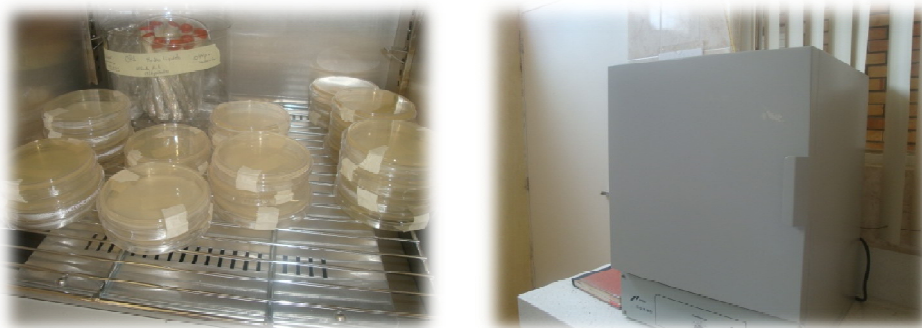


Fig. 3.8. Incubación de cajas Petri para el crecimiento de microorganismos contenidos en el queso.

3.4.9. Cuenta total de microorganismos

Después de la incubación por 24 horas, se colocaron las cajas en un cuenta colonias (esto facilita ver y poder contar las colonias) Fig. 3.9.



Fig. 3.9. Equipo utilizado para el conteo de colonias de bacterias.

3.4.10 Identificación de características macroscópicas (electroscopio).

Ya obtenida la cuenta total de los microorganismos, se identificaron las diferentes colonias.

Se observaron las características de los cultivos (Fig.3.10).



Fig.3.10. identificación de características de las diferentes colonias de bacterias obtenidas.

3.4.11 Aislamiento de microorganismos

A partir de una solución de microorganismos se realizaron estrías abiertas cruzadas en placas de medio solido (AN) todo este procedimiento se hizo junto al mechero (Fig.3.11) Las placas se incubaron luego a 37°C durante 24 horas

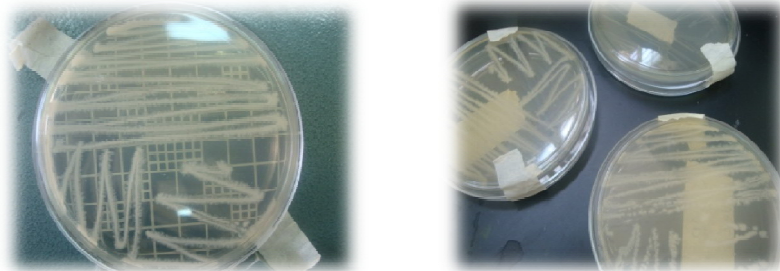


Fig. 3.11. Forma en que se hace la siembra por estría abierta cruzada.

3.4.12 Tinción de Gram

De gran importancia en microbiología porque permite diferenciar dos grandes grupos de bacterias (Gram + y Gram -), según se comporten ante su tinción. El fundamento radica en las diferente estructura de la pared celular de ambos grupos: las bacterias Gram + tienen una capa gruesa de peptidoglicano en su pared, mientras que las bacterias Gram – tiene una capa de peptidoglicano mas fina y una capa lipopolisacaridaca externa. Tras la tinción con el primer colorante (cristal violeta) se efectúa un lavado con etanol que arrastrara el colorante sólo en las **Gram (-)**, mientras que en las **Gram (+)** el colorante queda retenido y las células permanecerán azules. Las células a **Gram (-)** se teñirán después con un colorante de contraste **safranina** para que puedan observarse.

- **Extensión:** poner una gota de agua en el portaobjetos y extender en ella la muestra utilizando el asa de siembra.
- **Fijación:** pasar el portaobjetos varias veces por encima de la llama del mechero, sin permitir que llegue a hervir, hasta que seque.
- **Añadir:** cubrir los frotis con **cristal violeta** y dejarlo actuar durante un minuto.
- **Lavar:** escurrir el colorante y enjuagar con agua.
- **Cubrir:** agregar a los frotis **lugol** y dejar actuar durante 1 minuto.
- **Lavar:** escurrir el colorante y enjuagar con agua.
- **Decoloración:** decolorar con alcohol cetona de (cubrir y dejar por 5 segundos)
- **Cubrir:** agregar safranina y dejarlo actuar durante 1 minuto
- Escurrir y lavar con agua
- Secar al aire libre



Fig. 3.12. Preparaciones de muestras para la prueba de tinciones de Gram.

3.4.13 Identificación de características microscópicas

- Agregar aceite de inmersión para observar características al microscopio.(observar con el objeto 100x).(ver Fig.3.13)

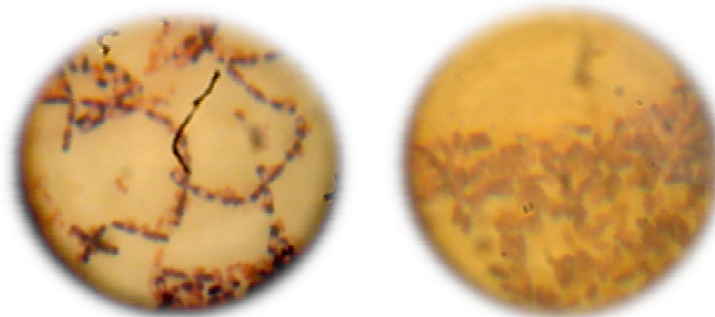


Fig. 3.13. Forma en que se observan los microorganismos en el microscopio.

- Como al observar al microscopio los microorganismos se tiñeron de diferente color, eso decir que no se obtuvo un cultivo puro, por lo tanto, se hizo una **resiembra** (mismos pasos empezando de la 3.4.10 hasta la 3.4.12, se realizó 3 veces este procedimiento hasta que se obtuvo el cultivo puro).

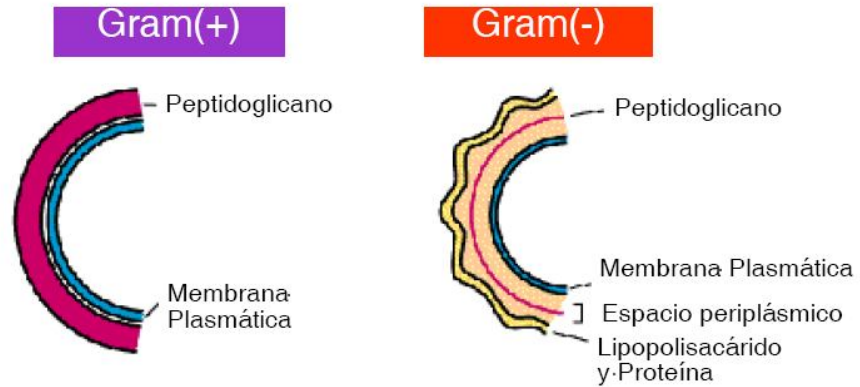


Fig. 3.14 diferencias entre una célula Gram + y una célula Gram –

3.4.14 Resiembra

- A partir de una de los microorganismos sembrados anteriormente, se tomó una muestra de estos microorganismos y se realizó una siembra de estrías cruzadas en placas de medio solido (AN).
- Las placa se incubaron luego a 37°C durante 24 horas
- Se volvió a realizar la tinción de Gram para ver, si el cultivo ya era puro.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Fig.4.1 se anotan las cuentas totales bacterianas de los quesos elaborados con leche de cabras en diferentes estadios de su lactancia. Estos datos indican que no existieron diferencias estadísticas en el contenido microbiano de los quesos, a medida que avanzaba la lactancia de las cabras. Lo anterior refuta la hipótesis planteada, ya que ni las condiciones climáticas de los periodos de muestreo, ni el incremento de los sólidos totales de la leche de las cabras a medida que avanza la lactancia, modificaron las cuentas bacterianas. Estos resultados no concuerdan con lo observado por Tamagnini et al. (1996) en Argentina, quienes detectaron un efecto marcado de la estación sobre el conteo microbiano de quesos de leche de cabra. El resultado de este estudio en Argentina fue que el queso elaborado en invierno presentó diferencias significativas en microorganismos. Lo anterior no ocurrió en el verano, lo que indica que la estación modifica sustancialmente la población microbiana de estos quesos. La diferencia del estudio mencionado y el presente estudio puede deberse a que las condiciones climáticas de ambos estudios difirieron marcadamente.

El conteo microbiano encontrado en el presente estudio es más bajo al encontrado por Tamagnini. Camacho y Sierra (1988) realizaron un diagnóstico sanitario y tecnológico del proceso artesanal del queso fresco de cabra en Chile, ellos afirman que la mayor contaminación se da durante el ordeño, seguido por las etapas de corte de la cuajada y llenado de moldes en las cuales hay excesiva manipulación y falta absoluta de higiene.

En el presente estudio se detectaron dos microorganismos cocobacilos y bacilos. Esto es distinto a lo encontrado por otros autores, quienes han encontrado una gama más amplia en quesos elaborados con leche de cabra. Foschino et al. (2002), por ejemplo, encontraron que en el queso Bergamo (Italia), había, conteo estándar

de placa 5.0×10^4 UFC/ml; levadura, 2.5×10^2 UFC/ml; Coliformes, 9.1×10^2 UFC/ml; *Escherichia coli*, 2.9 células/ml; *Enterococci*, 1.1×10^2 UFC/ml; *Lactococci*, 3.4×10^3 UFC/ml; *Lactobacillus*, 3.0×10^3 UFC/ml; bacterias halotolerantes, 8.2×10^3 UFC/ml; esporas de bacterias aerobias mesofílicas, 11 UFC/ml; SSC, 9.9×10^5 células/ml; pH, 6.63. *Staphylococcus aureus* se detectó a un nivel $>10^2$ UFC/ml en 26 muestras (43%) con una media de 1.2×10^3 UFC/ml, mientras que *Staphylococcus coagulans* negativos se encontraron en 54 muestras (90%) con una media de 1.3×10^3 UFC/ml. Cabe resaltar que en el presente estudio no se detectaron coliformes.

4.1. Cuenta total microbiológica

Queso 15 de agosto

Caja 10^{-4} 112 colonias

Multiplicadas por la inversa 1, 120,000 colonias.

Queso 15 de septiembre

Caja 10^{-4}

63 colonias

Multiplicadas por la inversa 630,000 colonias.

Queso 15 de octubre

Caja 10^{-4}

47 colonias

Multiplicadas por la inversa 470,000 colonias.

En el cuadro 4.1 se muestran las características macroscópicas de los microorganismos localizados en los quesos “frescos” de cabra.

En el cuadro 4.4 se muestran las características microscópicas de las diferentes colonias encontradas en los distintos quesos de cabra.

4.2. Representación grafica de la cuenta total de bacterias en queso de cabra en los diferentes meses.

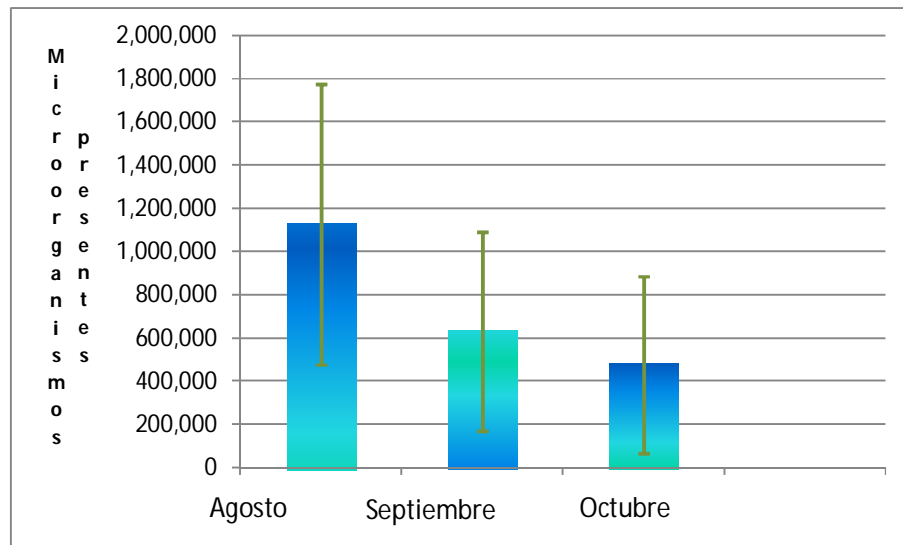


Fig. 4.1 Contenido total de bacterias en quesos elaborados con leche de cabras sin pasteurizar mantenidas en agostadero. Las barras son desviaciones estándar. No se detectaron diferencias estadísticas entre muestreos ($P > 0.05$).

4.3. Características Macroscópicas de microorganismos en queso de cabra sin pasteurizar

Cuadro 4.1. Características macroscópicas de los microorganismos localizados en los quesos “frescos” de cabra, en condiciones de agostadero en el norte de México.

Características	*Q1 C 1	Q1 C 2	**Q1 C 3	Q1C 4	**Q2 C 1	Q2C 2	Q3 C1	**Q3 C 2	Q3C 3
Tamaño	5ml	3ml	.5ml	4ml	1.5ml	4ml	1.5ml	1ml	6ml
Color	Beige claro	Trasparente	Beige claro	Blanco	Beige claro	Beige oscuro	Beige claro	Beige claro	Blanco
Forma	Irregular	Circular	Circular	Circular	Circular	Circular	Circular	Circular	Irregular
Elevación	Plana	Convexa	Plana	Plana	Plana	Plana	Plana	Plana	Plana
Superficie	Rugosa	Lisa	Lisa	Lisa	Lisa	Lisa	Lisa	Lisa	Rugosa
Aspecto	Húmedo	Húmedo	Húmedo	Creimoso	húmeda	Húmedo	Húmedo	Húmedo	Seco
Bordes	Irregulares	Enteros	Enteros	Enteros	Enteros	Enteros	Enteros	Enteros	Irregulares
Luz reflejada	Brillante	Brillante	Brillante	Brillante	brillante	Brillante	Mate	Brillante	Mate
Luz transmitida	Opaca	Traslucida	Opaca	Traslucida	Opaca	Opaca	Traslucida	Opaca	Traslucida
Consistencia	Suave	Suave	Suave	Suave	Suave	Suave	Suave	Suave	Dura

*la sigla “Q” corresponde a la palabra Queso, el numero corresponde al mes (1 agosto, 2 septiembre, 3 octubre) la sigla “C” corresponde a la colonia y el numero que le sigue a la sigla “C” corresponde al numero de colonia.

En el cuadro 4.1, se muestran las características macroscópicas de las diferentes colonias encontradas en los quesos elaborados artesanalmente en diferentes meses (agosto, septiembre y octubre; segundo, tercero y cuarto mes de lactancia de las cabras), se puede ver que una colonia (**tienen mismas características) predomina en los 3 meses.

4.4. Características microscópicas en queso “fresco” de cabra

Queso	Colonia	Característica
Agosto	1	Bacillos Gram +
Agosto	2	Cocobacilos Gram -
Agosto	3	Cocobacilos Gram -
Agosto	4	Bacillos Gram +
Septiembre	1	Cocobacilos Gram-
Septiembre	2	Cocobacilos Gram -
Octubre	1	Bacillos Gram -
Octubre	2	Cocobacilos Gram-
Octubre	3	Bacillos Gram +

El cuadro 4.2 representa las características microscópicas de los microorganismos, se observa que en agosto predominó el cocobacilo gram -, así como también en septiembre, mientras que en octubre bacillos con la diferencia de que uno es positivo (+) y el otro negativo (-)

V. CONCLUSIÓN

La época del año (o estadio de la lactancia) en que se obtiene la leche de cabra no tiene influencia en las características microbiológicas del queso, lo cual implica que, ni la temperatura ni la composición de la leche (a menor cantidad de leche se concentran más los nutrientes) influyen en la carga microbiana de quesos frescos elaborados con leche de cabras sin pasteurizar, y mantenidas en agostadero. Las cargas microbianas detectadas en los quesos del presente estudio no ponen en riesgo la salud de los humanos que consumen este producto.

VI. LITERATURA CITADA

Aguilera C.A. C.F.; Rincon J.I., Mendez de Lara R.M.; Bamuelos S., Meza-Herrera V.R. 2008. Situación actual y perspectivas de la producción caprina ante el reto de la globalización. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*: 9 (1). 1-14.

Araya, V., L. Gallo, C. Quesada, C. Chaves y M.L. Arias. 2008. Evaluación bacteriológica de la leche y queso de cabra distribuidos en el área metropolitana de San José, Costa Rica. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 58, 182-186.

Akineden, Ö., Ahmed Hassan, A., Schneider, E., and Usleber, E., 2008. Propiedades Enterotoxigenicas de *Staphylococcus aureus* aisladas de quesos de leche de cabra. *International Journal of Food Microbiology* 124, 211-216.

Bontinis, T.G., H. Mallatou, E. Alichanidis, A. Kakouri, J. Samelis. 2008. Physicochemical, microbiological and sensory changes during ripening and storage of Xinotyri, a traditional Greek cheese from raw goat's milk. *International Journal of Dairy Technology* 61, 229–236.

Calvo, M.V., I. Castillo, V. Díaz-Barcos, T. Requena and J. Fontecha. 2007 Effect of a hygienized rennet paste and a defined strain starter on proteolysis, texture and sensory properties of semi-hard goat cheese. *Food Chemistry* 102, 917-924.

Camacho, L., Sierra, C. 1988. Diagnóstico sanitario y tecnológico del proceso artesanal del queso fresco de cabra en Chile. *Archivo Latinoamericano de Nutrición*. 38, 935-945.

D'Amico, D.J., C.W. Donnelly. 2010. Microbiological quality of raw milk used for small-scale artisan cheese production in Vermont: Effect of farm characteristics and practices. *Journal of Dairy Science*. 93, 134-147.

Di Cagno, R., R.E. Miracle, M. De Angelis, F. Minervini, C. G. Rizzello, M. A. Drake, P.F. Fox, M. Gobbetti. 2007. Compositional, microbiological, biochemical, volatile profile and sensory characterization of four Italian semi-hard goats' cheeses. *Journal of Dairy Research* 74, 468-477.

Foschino, R., Invernizzi A., Barucco R., Stradiotto, K. 2002. Microbial composition, including the incidence of pathogens, of goat milk from the Bergamo region of Italy during a lactation year. *Journal of Dairy Research* 69, 213-225.

Fundación para la Innovación Agraria. 2000. Elaboración de productos con leche de cabra. Ministerio de Agricultura. Santiago, Chile, 111p.

García, A., J. Rivero, González, K. Valero-Leal, P. Izquierdo, A. García y C. Colmenares. 2009. Calidad bacteriológica de la leche cruda de cabra producida en la parroquia Faría, municipio Miranda, estado Zulia, Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía Zulia (LUZ)* 26, 59-77.

Litopoulou-Tzanetaki, E., N. Tzanetakis. 1992. Microbiological study of white-brined cheese made from raw goat milk. *Food Microbiology* 9, 13-19.

Ohiokpehai O. 2003. Processed food products and Nutrient Composition of Goat Milk. *Pakistan Journal Nutrition*: 2 (2). 68-71

Requena, T., C. Peláez, M.J. Desmazeaud. 1991. Characterization of lactococci and lactobacilli isolated from semihard goats' cheese. *Journal of Dairy Research* 58, 137-145.

Rodríguez, C., L. Caldas, P. Ogeerally. 2009. Calidad sanitaria en queso artesanal tipo "telita". Upata, estado Bolívar, Venezuela. *Revista Social Venezolana de Microbiología* 29, 98-102

Tamagnini, L.M., G.B. de Sousa, R.D. González, C.E. Budde. 1996. Microbiological characteristics of Crottin goat cheese made in different seasons. *Small Ruminant Research* 66, 175-180.

Thaml, W.A., L.J. Hajdu, M.L.V. Danielsson–Thaml. 1990. Bacteriological quality of on-farm manufactured goat cheese. *Epidemiology and Infection* 104, 87-100.